

Über das Vorkommen von Pepton in Pflanzensamen.

Von

Dr. **W. R. Mack** aus Amsterdam.

(Aus der chemischen Abteilung des physiologischen Instituts der Universität Leipzig.)
(Der Redaktion zugegangen am 3. Juli 1904.)

Das Vorkommen der mit dem Namen «Pepton» bezeichneten Stoffe in Pflanzen und Pflanzenteilen ist des öfteren Gegenstand der Untersuchung gewesen. Wiederholt hat man Pepton in Pflanzen gesucht und es auch darin gefunden.

So fand Kern¹⁾ Pepton in den von ihm zur Untersuchung gebrachten Luzernen- und Wickenpflänzchen, Kellner²⁾ in den Keimlingen der verschiedensten Pflanzen, ebenso — und besonders auch in der Kartoffelknolle und Runkelrübe — Schulze und Barbieri,³⁾ wenn auch stets nur in kleinen Mengen. Dasselbe Ergebnis lieferten nach Reincke⁴⁾ junge Pflänzchen, nach Neumeister⁵⁾ auch die ruhenden Samen der Lupine, Wicke, Erbse, des Roggens und des Hafers, sowie die keimenden von Gerste, Mohn, Rübe, Mais und Weizen. Franckfurt⁶⁾ endlich findet Pepton in Wicken-, Lupinen-, Erbsen-, Gersten- und Hanfkeimlingen.

¹⁾ Angabe bei Kellner, Versuchsstation, Bd. 24, S. 439.

²⁾ Kellner, Versuchsstation, Bd. 24, S. 439.

³⁾ Schulze u. Barbieri, Journ. f. Landwirtsch., 1881, Bd. 29, S. 285.

Vgl. Ang. v. Schulze: Diese Zeitschrift, Bd. XXIV, S. 36.

Versuchsstation, 1882, Bd. 27, S. 285 u. 358.

Journ. f. prakt. Chem., 1883, Bd. 27, S. 359.

Journ. f. prakt. Chem., 1885, Bd. 32, S. 449.

Vierteljahresschr. d. Naturf.-Ges., Zürich, 1894, Bd. 39, S. 245.

Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., 1897, Bd. 30.

⁴⁾ Reincke, Unt. a. d. bot. Lab. Göttingen, 1881, Heft 2, S. 52.

⁵⁾ Neumeister, Zeitschrift für Biologie, 1894.

⁶⁾ Franckfurt, Versuchsstation, 1896, Bd. 47.

Während die Angaben früherer Autoren über das Vorkommen von Pepton in Pflanzensamen und -Keimlingen hinfällig werden, da die benutzten Methoden sich als nicht exakt erwiesen haben, ist jetzt mit Hilfe der von M. Siegfried angegebenen Methode die endgültige Lösung der Frage möglich. Es ergibt sich zunächst die Notwendigkeit, mit Hilfe der neuen Methode die Frage, ob Pepton in ruhenden Pflanzensamen vorkommt, definitiv und sicher zu beantworten und für den Fall, daß Pepton im ruhenden Samen sich fände, dieses zu charakterisieren.

Isolierung des Peptons.

Die von mir auf Veranlassung des Herrn Professor Dr. Siegfried angestellte Untersuchung zeigte, daß sich in ungekeimten Samen der Lupine, der Gerste und des Hafers ein Stoff befand, der als Pepton anzusprechen war. Doch waren dessen Mengen so gering, daß zu einer erfolgreichen Untersuchung die Verarbeitung großer Mengen der Samen erforderlich war. Es gelangten nacheinander 30 und 50 kg des ruhenden einjährigen Samens von *Lupinus luteus* zur Verwendung und zuletzt noch 10 kg zur Kontrolluntersuchung.

Der Samen wurde zuerst in einer Gewürzmühle grob zermahlen, die zum größten Teile abspringenden Hülsen durch rationelles Schütteln und Beuteln entfernt und dieses Verfahren einigemale mit dem so erhaltenen Produkt wiederholt, wodurch es gelang, die ganze Menge der Schalen zu entfernen und darauf das schalenfreie Produkt zu einem staubfeinen Pulver zu zermahlen. Da jedoch dieses Verfahren bei so großen Mengen Samen sich nicht durchführen ließ, mußte später das Mahlen, Beuteln etc. einem Mühlenwerk übergeben werden, und so wurde auch ein fast schalenfreies, feingemahlenes Produkt gewonnen.

Von diesem Samenpulver wurde je 1 kg mit 5 l Wasser in einer geräumigen, offenen Flasche im Brutschranke bei 40° C. 24 Stunden lang unter Zusatz von Chloroform extrahiert. Im Laufe der Untersuchung zeigte sich, daß im Interesse einer ergiebigeren Ausbeute es von Vorteil ist, diese Extraktion bei

schwach ammoniakalischer Reaktion vorzunehmen, wodurch auch das Auftreten von enzymatischen Prozessen, durch welche sich möglicherweise Peptone während der Extraktion hätten bilden können, verhütet wird. Schon die Untersuchungen von Butkewitsch¹⁾ zeigten, daß die Wirkung des in den Samen enthaltenen eiweißzerspaltenden Enzymes vornehmlich bei saurer Reaktion vor sich geht, bei abnehmend saurer Reaktion geringer wird und bei alkalischer Reaktion auf ein Minimum sinkt. Daraufhin angestellte Versuche ergaben auch hier, daß bei alkalischer Reaktion kein solcher enzymatischer Vorgang stattfindet. Einmal wurde zu einer Probe des frisch gewonnenen alkalischen Extraktes unter Chloroformzusatz eine Fibrinflocke getan und die Mischung im Brutschrank bei 40° C. sich selber überlassen. Es trat keine Lösung der Fibrinflocke ein. Weiter wurde nach der Kochprobe mit Essigsäure zuerst der Eiweißgehalt in dem ursprünglichen frischen Extrakt und dann wiederum, nachdem dieses Extrakt (unter Chloroformzusatz) 24 Stunden im Brutschrank bei 40° C. gestanden hatte, bestimmt. Der Eiweißgehalt der Flüssigkeit war derselbe geblieben, eiweißzerspaltende enzymatische Prozesse hatten also nicht stattgefunden. Zugleich bewiesen diese Versuche, daß auch das angewandte Alkali an sich keine Wirkung auf das in der Flüssigkeit anwesende Eiweiß ausübt. Man sorgt also am besten gleich zu Anfang dafür, daß die Extraktionsflüssigkeit schwach ammoniakalisch ist. Während der Extraktion wird wiederholt das ganze Gemisch energisch umgeschüttelt und umgerührt.

Das Extraktionsgemisch wurde hierauf durch ein Leinwandsehtuch kolliert und ausgepreßt. Das Extrakt stellte eine trübe, gelblichgrüne, schwach ammoniakalische Flüssigkeit dar. Es wurde in einem Emailletopf unter Zusatz von Essigsäure (schwach sauer) zwecks Koagulierung des Eiweißes aufgekocht und kalt filtriert.

Aus dem Filtrat wurden die Phosphate mit Ammoniak und Baryumchlorid, das überschüssige Baryum mit Ammoniumkarbonat oder verdünnter Schwefelsäure ausgefällt.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXII, S. 1.

Aussalzung der Extrakte.

Der Auszug wurde schwach ammoniakalisch gemacht und in großen Porzellanschalen eingeeengt. Darauf wurde mit Ammoniumsulfat in der Wärme gesättigt und zwar zuerst bei neutraler Reaktion, sodann, nachdem die Flüssigkeit erkaltet war, abgenutscht, die resultierende dunkelbraune, aber klare Flüssigkeit wieder in der Wärme mit Ammoniumsulfat gesättigt, während die Reaktion ammoniakalisch gehalten wurde. Nach Erkaltenlassen wurde wieder filtriert und das Filtrat wiederum in der Wärme bei essigsaurer Reaktion mit Ammoniumsulfat gesättigt. Es schieden sich bei den verschiedenen Sättigungen jedesmal braune Massen ab. Zu dem Filtrate wurde solange eine Mischung von 3 Teilen gesättigter Ammoniumsulfatlösung und 1 Teil konzentrierter Schwefelsäure gegeben, als noch ein Niederschlag oder eine Trübung entstand. In diese saure Flüssigkeit wurde dann trockenes Ammoniakgas eingeleitet, bis die Reaktion neutral oder nur ganz schwach sauer war, und vom sich abscheidenden Ammoniumsulfat abfiltriert.

Herstellung des Eisenniederschlags.

In dieser dunkelbraunroten, durchsichtigen Flüssigkeit wurde unter energischem Umrühren mittels eines Rührwerkes eine ammoniumsulfatgesättigte Lösung von Ferriammoniakalaun eingetragen, wodurch ein voluminöser, rotbrauner Niederschlag entstand. Bei dieser Fällung ist die Menge hinzugesetzter Eisenlösung von größter Bedeutung; setzt man zu wenig hinzu, so bekommt man schlechte Ausbeute an Eisenniederschlag, im andern Falle löst sich der Niederschlag wieder auf. Auch darf die Reaktion der Flüssigkeit nicht stark sauer werden, da er sonst ebenfalls sich wieder auflöst. Man muß daher von Zeit zu Zeit die Reaktion mit etwas ammoniakhaltiger Ammoniumsulfatlösung abstumpfen.

Dieser Eisenniederschlag wurde mit gesättigter Ammoniumsulfatlösung in einem Mörser anhaltend verrieben, darauf von der Ammoniumsulfatlösung an der Nutsche abgesaugt und zwar wiederholt so lange, bis die ablaufende Ammoniumsulfatlösung farblos war. Dieses wiederholte Auswaschen des Niederschlags

ist unbedingt nötig, weil sonst der Niederschlag nie von den in großen Mengen anwesenden Salzen und sonstigen Stoffen zu befreien ist.

Zersetzung des Eisenniederschlages.

Der nach oben beschriebener Weise erhaltene Eisenniederschlag wurde nun in stark verdünnter Schwefelsäure gelöst. Der Versuch, das Eisen mit Ammoniak zu entfernen, gelang nicht. Das Eisen ließ sich hier durch Ammoniak allein nicht ausfällen. Daher wurde nun in die Schwefelsäurelösung, welche vorher entsprechend verdünnt worden war, unter tüchtigem Umrühren mittels Rührwerkes feinpulverisiertes Barythydrat eingetragen, bis ein kleiner Überschuß von Baryt vorhanden war. Mit dem in großer Menge sich abscheidenden Baryumsulfat fällt der größte Teil Eisen mit aus. Vom Baryumsulfat wurde dann abgenutscht, das Baryumsulfat wiederholt dekantiert und auf der Nutsche abgesaugt und ausgewaschen, das Filtrat und die Waschwasser mit Ammoniumkarbonatlösung vom überschüssigen Baryt befreit, wobei auch das noch vorhandene Eisen ausfällt, und nach Filtrieren im Vacuumdestillationsapparat bei 35—40° C. eingedampft.

Darstellung des Rohpeptons.

Als Destillationsrückstand blieb ein bräunlich gefärbter Sirup, der mit etwas Eisessig angesäuert und dann nach genügendem Verdünnen mit Wasser in absoluten Alkohol unter Umrühren eingegossen wurde, worauf ein schwach gelbgefärbter, voluminöser, flockiger Niederschlag sich abschied.

Von diesem wurde der Alkohol abgesaugt, worauf er mit Alkohol, dann mit Äther wiederholt ausgewaschen und zuletzt im Exsikkator über Schwefelsäure getrocknet wurde. In dieser Weise gelang es, über 100 g des Rohpeptons zu gewinnen. Diese Substanz war nicht rein. Sie enthielt über 3% Asche und ihre Lösung in Wasser war so dunkelbraun gefärbt, daß eine Biuretreaktion nicht damit anzustellen war. Eine Elementaranalyse sowie eine Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl gaben folgende Werte:

1. 0.1988 g Substanz gaben 0,3298 g $\text{CO}_2 = 45,24\%$ C
und 0,11489 g $\text{H}_2\text{O} = 6,46\%$ H.
2. 0.2068 g Substanz gaben 0,3478 g $\text{CO}_2 = 45,86\%$ C
und 0,119 g $\text{H}_2\text{O} = 6,43\%$ H.
3. 0.2148 g Substanz erf. 21,2 ccm $\frac{1}{10}$ N. S = 13,89% N.

Gewinnung des reinen Peptons.

Versuche zur Reinigung des Rohpeptons.

Es wurde zuerst versucht, diese Substanz durch Umfällen aus absolutem Alkohol zu reinigen. So wurden z. B. 20 g der Substanz in 38 ccm Wasser gelöst und die dunkelbraune Lösung nach Zusatz von Essigsäure in 3 kg absoluten Alkohol eingetragen. Ohne Essigsäurezusatz setzt sich der Niederschlag nicht ab.

Bei dieser Fällung wurden aus den 20 g angewandter Substanz 16 g ungefällte Substanz gewonnen. Sie gab folgende Analysenwerte:

1. 0.2468 g Substanz gaben 0,4282 g $\text{CO}_2 = 47,32\%$ C
und 0,142 g $\text{H}_2\text{O} = 6,43\%$ H.
2. 0.2452 g Substanz gaben 0,4251 g $\text{CO}_2 = 47,28\%$ C
und 0,1384 g $\text{H}_2\text{O} = 6,31\%$ H.

Der Aschegehalt war 2,97%. Bringen wir diese bei der Berechnung in Anschlag, dann ergibt sich für aschefreie Substanz:

- Bei 1. 48,76% C und 6,63% H
 2. 48,73% C und 6,35% H

Es wurden ferner weitere 10 kg Samen in der oben beschriebenen Weise verarbeitet und überall, hauptsächlich bei der Bereitung und Verarbeitung (Auswaschen) der Eisenniederschläge, die größte Sorgfalt und Genauigkeit angewandt. Bei dieser Neudarstellung wurden aus den 10 kg Samen 40 g Substanz gewonnen, welche jedoch auch noch 1,70% Asche enthält und folgende Analysenwerte gab:

1. 0.2458 g Substanz gaben 0,4208 g $\text{CO}_2 = 47,77\%$ C
und 0,1426 g $\text{H}_2\text{O} = 6,64\%$ H.
2. 0.2022 g Substanz gaben 0,352 g $\text{CO}_2 = 47,51\%$ C
und 0,121 g $\text{H}_2\text{O} = 6,69\%$ H.

Das Resultat dieser Neudarstellung war also ein Rohprodukt mit ähnlichen Analysenwerten wie der erste und mit ebenfalls noch starkem Aschengehalt.

Reindarstellung des Peptons.

Bei der Reinigung kam es in erster Linie darauf an, den hohen Aschengehalt zu beseitigen. Die qualitative Analyse zeigte, daß die Asche aus Eisen, Calcium, Magnesium, Kalium und Natrium bestand. Nachdem durch Überführung in das Barytsalz, Reinigen mit Methylalkohol zwar die Asche vermindert, aber nicht beseitigt werden konnte, führte schließlich folgender Weg zum Ziele.

Die wässerige Lösung von 10 g der Substanz wurde mit überschüssiger Bleiacetatlösung versetzt, von sich abscheidendem Niederschlag abfiltriert und das Filtrat mit Ammoniak und weiterem Bleiacetat abwechselnd solange versetzt, bis kein hellgelb gefärbter Niederschlag mehr entstand. Dieser Bleiniederschlag wurde abgesaugt und anhaltend mit Wasser ausgewaschen. Darauf wurde er in verdünnter Essigsäure gelöst und die Lösung mittels Schwefelwasserstoffes entbleit. Nach Filtrieren, Verjagen des Schwefelwasserstoffes durch einen Luftstrom und Filtrieren vom ausgeschiedenen Schwefel wurde die Flüssigkeit im Vacuum eingedampft und der so erhaltene Sirup nach genügendem Verdünnen in absolutem Alkohol gefällt, wodurch sich ein helles, nur wenig gelbgefärbtes Präparat mit folgenden Analysenwerten ergab:

1. 0,1064 g Substanz gaben 0,1823 g $\text{CO}_2 = 46,72\%$ C
und 0,0648 g $\text{H}_2\text{O} = 6,81\%$ H.
2. 0,1253 g Substanz gaben 15,7 ccm N, Temp. 17° .
Bar. 762 = $14,89\%$ N.

Der Aschengehalt war $0,25\%$. Hieraus berechnet sich auf aschenfreie Substanz:

$46,86\%$ C, $6,83\%$ H und $14,97\%$ N.

Der Aschegehalt war also bedeutend gesunken. Gegenüber diesem entschiedenen Vorteil stand der große Nachteil, daß die Ausbeute an reinerer Substanz durch diese Verarbeitung sehr schlecht war. Es wurden nämlich aus den 10 g angewandter Substanz nur $2\frac{1}{2}$ g der letzten Substanz gewonnen. Zwar gelang es ebenfalls noch, Substanz aus dem Filtrat vom Bleiniederschlag durch erneute Fällung und Erzeugen von Blei-

salz und Zersetzen desselben zu bekommen, aber diese war wiederum stark aschehaltig (3,13%).

Bessere Ausbeute gab folgendes Verfahren:

Die Lösung der Rohsubstanz in Wasser wurde mit überschüssiger Bleiacetatlösung versetzt, der entstandene Niederschlag abfiltriert und das Filtrat im Vacuumapparat bei 40° C. zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde darauf mit wenig verdünntem Alkohol zum großen Teile gelöst. Durch Zusatz größerer Mengen Alkohols entstand eine milchige Trübung, die dann durch vorsichtiges, tropfenweises Zusetzen von Wasser zum Verschwinden gebracht wurde. Diese wässerig-alkoholische Lösung von Bleisalz und überschüssigem Bleiacetat wurde nach Filtrieren unter energischem Umrühren mittels des Rührwerkes in absolutem Alkohol gefällt, wobei sich das Bleisalz der Substanz als schwach gelblich gefärbt, flockiges Pulver abschied. Dieses Bleisalz wurde abgesaugt, mit Alkohol, zuletzt mit Äther anhaltend ausgewaschen und im Exsikkator vom Alkohol und Äther befreit, darauf in Wasser und Essigsäure gelöst und mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Das Filtrat vom Schwefelblei wurde durch einen Luftstrom vom Schwefelwasserstoff befreit, filtriert und im Vacuum eingedampft, das Schwefelblei für sich anhaltend dekantiert und mit schwefelwasserstoffhaltigem Wasser ausgewaschen und die Waschwasser ebenfalls nach Vertreiben des Schwefelwasserstoffes und Filtrieren vom ausgeschiedenen Schwefel eingedampft. Der resultierende Sirup wurde nach genügendem Verdünnen in absolutem Alkohol gefällt. Die Substanz fällt dann als schönes, gelblichweißes Pulver aus. Dieses wurde abgesaugt, sehr anhaltend mit absolutem Alkohol, dann mit Äther ausgewaschen und im Vacuumexsikkator vom Alkohol und Äther befreit.¹⁾

Diese Substanz war aschefrei. Sie gab folgende Analysenwerte:

¹⁾ Die zur Analyse verwendeten Substanzen wurden stets bis zur Gewichtskonstanz bei 75° C. getrocknet, was immer 8—14 Tage in Anspruch nahm, da die letzten Spuren Alkohol sehr schwer zu beseitigen waren.

1. 0,1934 g Substanz gaben 0,336 g $\text{CO}_2 = 47,48\%$ C
und 0,119 g $\text{H}_2\text{O} = 6,88\%$ H.
2. 0,2417 g Substanz gaben 0,422 g $\text{CO}_2 = 47,62\%$ C
und 0,153 g $\text{H}_2\text{O} = 7,08\%$ H.
3. 0,3120 g Substanz gaben 38,8 ccm N, Temp. 14°C .,
Bar. 738 = $14,3\%$ N.

Obige Substanz wurde in Alkohol umgefällt und die umgefällte Substanz wieder analysiert:

1. 0,2717 g Substanz gaben 0,473 g $\text{CO}_2 = 47,48\%$ C
und 0,167 g $\text{H}_2\text{O} = 6,87\%$ H.
2. 0,2970 g Substanz gaben 0,5178 g $\text{CO}_2 = 47,55\%$ C
und 0,1836 g $\text{H}_2\text{O} = 6,91\%$ H.
3. 0,1980 g Substanz gaben 23,8 ccm N, Temp. $14,5^\circ \text{C}$.,
Bar. 736 = $13,84\%$ N.

Beim nochmaligen Umfällen aus Alkohol lieferte die Substanz folgende Analysenwerte:

1. 0,2510 g Substanz gaben 0,436 g $\text{CO}_2 = 47,37\%$ C
und 0,154 g $\text{H}_2\text{O} = 6,86\%$ H.
2. 0,2061 g Substanz erf. 20,4 ccm $\frac{1}{10}$ N.-Säure = $13,85\%$ N.

Durch Anwendung dieser Methode gelang es also, asche-freie Substanz darzustellen. Zu gleicher Zeit berechtigten die gewonnenen Resultate der Substanzanalysen zu der Annahme, daß hier ein einheitlicher Stoff vorlag. Folgende eingehendere Untersuchung bestätigte dies.

Es wurde nämlich aufs neue nach oben mitgeteilter Methode Bleisalz und hieraus Substanz dargestellt und diese analysiert. Sie gab folgende Werte:

1. 0,255 g Substanz gaben 0,445 g $\text{CO}_2 = 47,59\%$ C
und 0,1598 g $\text{H}_2\text{O} = 7,01\%$ H.
2. 0,2072 g Subst. erf. 20,7 ccm $\frac{1}{10}$ N. $\text{H}_2\text{SO}_4 = 13,98\%$ N.

Diese Substanz wurde in Alkohol umgefällt. Die angewandte Substanzmenge betrug 4,32 g, gewonnen wurden hieraus 3,34 g umgefällte Substanz, sodaß 0,98 g der Substanz in den Mutterlaugen verblieb, also 22% der angewandten Menge. Das umgefällte Produkt gab folgende Werte:

1. 0,1642 g Substanz gaben 0,285 g $\text{CO}_2 = 47,33\%$ C
und 0,103 g $\text{H}_2\text{O} = 7,01\%$ H.
2. 0,2054 g Subst. erf. 20,3 ccm $\frac{1}{10}$ N.- $\text{H}_2\text{SO}_4 = 13,83\%$ N.

Diese Substanz wurde nun noch zweimal direkt hinter einander aus Alkohol umgefällt und ergab:

1. 0,1795 g Substanz gaben 0,312 g $\text{CO}_2 = 47,40\%$ C
und 0,110 g $\text{H}_2\text{O} = 6,85\%$ H.
2. 0,1966 g Substanz erf. 19,8 ccm $\frac{1}{10}$ N.- $\text{H}_2\text{SO}_4 = 14,09\%$ N
3. 0,2170 „ „ „ 21,5 „ $\frac{1}{10}$ „ „ = 13,86 $\%$ „
4. 0,220 „ „ „ 21,8 „ $\frac{1}{10}$ „ „ = 13,87 $\%$ „

Die Zusammensetzung der Substanz war trotz des wiederholten Umfällens dieselbe geblieben, obwohl beim jedesmaligen Umfällen etwa 22 $\%$ der Substanz in den Mutterlaugen verblieb.

1. Resultate der Analysen der reinen Substanz.

| Präparate | | Gefundene Procente | | |
|--------------|-------------------|--------------------|------|-------|
| | | C | H | N |
| Präparat I | | 46,72 | 6,81 | 14,89 |
| Präparat II | | 47,48 | 6,88 | 14,30 |
| | | 47,62 | 7,08 | — |
| | einmal umgefällt | 47,48 | 6,87 | 13,84 |
| | | 47,55 | 6,91 | — |
| | zweimal umgefällt | 47,37 | 6,86 | 13,85 |
| Präparat III | | 47,59 | 7,01 | 13,98 |
| | einmal umgefällt | 47,33 | 7,01 | 13,83 |
| | dreimal umgefällt | 47,40 | 6,85 | 14,09 |
| | | | | 13,86 |
| | | | | 13,87 |

Das Baryumsalz.

Die Salze wurden dargestellt aus den Produkten jeder der nacheinander ausgeführten Umfällungen. Die Herstellung geschah folgendermaßen: Zu der wässrigen Lösung der Substanz wurde überschüssige Barythydratlösung in der Kälte hinzugesetzt, darauf sofort Kohlensäure solange eingeleitet, bis die Flüssigkeit schwachsauer reagierte, darnach rasch aufgeköcht, sofort vom Baryumkarbonat abfiltriert und das Filtrat im Vacuum eingedampft, der resultierende Sirup nach genügendem

Verdünnen mit Wasser in Alkohol gefällt. Das Baryumsalz wurde abgesaugt und mit Alkohol, darauf mit Äther ausgewaschen und im Exsikkator vom Alkohol und Äther befreit. Zur Baryumbestimmung wurden die Salze im Platintiegel im Trockenschrank bei 75° C. bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, dann verascht und die Rückstände mit Schwefelsäure abgeraucht. In dieser Weise wurde dargestellt und analysiert:

1. aus nach der Bleisalzmethode dargestellter Substanz ein Baryumsalz mit folgendem Werte:

0,1672 g Substanz gaben 0,0408 g BaSO₄ = 14,37% Ba;

2. aus einmal umgefällter Substanz ein Baryumsalz mit folgendem Baryumwert:

0,1650 g Substanz gaben 0,4060 g BaSO₄ = 14,48% Ba;

3. aus zweimal umgefällter Substanz ein Baryumsalz mit folgendem Baryumwert:

0,2110 g Substanz gaben 0,5070 g BaSO₄ = 14,47% Ba.

Auf Grund der Analysen des Stoffes selber einerseits und des Baryumsalzes andererseits wurde für die vorliegende Säure als einfachste Molekularformel aufgestellt



Folgende Tabelle veranschaulicht, daß die gefundenen Prozentzahlen den aus der Formel C₃₂H₅₆N₈O₁₆ berechneten entsprechen.

| | Gefundene Prozenze | | | | | | | | | Ber. Proz. C ₃₂ H ₅₆ N ₈ O ₁₆ |
|---|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|
| C | 46,72 | 47,48 | 47,62 | 47,48 | 47,55 | 47,37 | 47,59 | 47,33 | 47,40 | 47,48 |
| H | 6,81 | 6,88 | 7,08 | 6,87 | 6,91 | 6,86 | 7,01 | 7,01 | 6,85 | 6,99 |
| N | [14,89] | 14,30 | 13,84 | 13,85 | 13,98 | 13,83 | 14,09 | 13,86 | 13,87 | 13,88 |

und für die Baryumsalze:

| Gefundene Prozenze Baryum | | | Ber. Proz. Ba. für C ₃₂ H ₅₄ BaN ₈ O ₁₆ |
|---------------------------|-------|-------|--|
| 14,37 | 14,48 | 14,47 | 14,55 |

Eigenschaften des Peptons.

Das Pepton stellt ein gelblichweißes Pulver dar, welches sich leicht in Wasser und in gesättigter Ammoniumsulfatlösung, schwer in Alkohol und fast gar nicht in Äther löst. Seine Lösung gibt folgende Reaktionen:

| | |
|--------------------------------|--|
| 1. Biuret-Reaktion | rein burgunderrote Färbung, nicht violett; mit Überschuß von Kupfer versetzt und nachherigem Filtrieren zeigt sich keine Biuretreaktion. |
| 2. Millonsche Reaktion | ein starker Niederschlag und schwache Millonsche Reaktion. |
| 3. Molisch-Reaktion | positiv. |
| 4. Ferrocyanal. und Essigsäure | keine Fällung. |
| 5. Bleiessig | starke Fällung. |
| 6. Pikrinsäure | eine Trübung, welche beim Erwärmen verschwindet, beim Abkühlen wieder auftritt. |
| 7. Gerbsäure | ein starker Niederschlag, löslich in Essigsäure. |
| 8. Metaphosphorsäure | keine Trübung. |
| 9. Sublimat | in konzentrierten Lösungen eine Fällung, die in Essigsäure löslich ist. |
| 10. Phosphorwolframsäure | in konzentrierten Lösungen wohl, aber in stark verdünnten Lösungen dagegen keine Fällung. |

Wegen der intensiven Färbung der Lösung vor Anwendung der Bleisalzmethode gelang der Nachweis der Biuretreaktion zuerst nicht, denn die Färbung der Lösung verdeckte die auftretende Färbung. Versuche, diese Flüssigkeit durch Schütteln mit Tierkohle zu entfärben, mißlingen, da zwar die Flüssigkeit entfärbt wurde, zu gleicher Zeit aber die ganze in ihr enthaltene Substanz von der Tierkohle absorbiert wurde.

Dagegen gab die unter Anwendung der Bleisalzmethode gewonnene reine Substanz Lösungen, mit welchen die Anstellung dieser Farbenreaktion keine Schwierigkeiten machte.

Die Lösung des Stoffes in Wasser ist, hauptsächlich bei etwas konzentrierterer Lösung, schwach bräunlich gefärbt. Auch die reinsten Präparate geben mehr oder weniger gefärbte Lösungen. Aus diesem Grunde konnte eine Bestimmung des optischen Drehungsvermögens der Lösung nicht ausgeführt werden. Die wässerigen Lösungen zeigen eine stark saure Reaktion. Der Säurecharakter des Stoffes wurde, wie oben angegeben, durch die Herstellung eines ausgesprochenen Salzes bewiesen. Der Stoff ist schwefelfrei. Zur Prüfung auf Schwefel wurde eine Probe von zwei verschiedenen Präparaten mit Ätznatron und Salpeter verschmolzen, die Lösung der Schmelze mit Salzsäure zur Trockne eingedampft, der Rückstand in Wasser gelöst und mit Baryumchlorid versetzt, worauf keine Ausscheidung von Baryumsulfat erfolgte, sondern allmählich nur eine schwache Trübung der Flüssigkeit auftrat.

Die Spaltungsprodukte.

Es wurden 20 g der Substanz mit 60 g Schwefelsäure und 120 g Wasser 12 Stunden am Rückflußkühler gekocht. Während des Kochens blieb die dunkelbraungefärbte Flüssigkeit völlig klar. Zuerst wurde dieses Produkt mittels Wasserdampfes destilliert, wodurch spurenweise ein äußerst unangenehm riechendes Öl, welches sich in der Vorlage in fester Form abscheidet, übergetrieben ward. Es wurde jedoch zu wenig davon erhalten, um es weiter untersuchen zu können. Nach beendeter Wasserdampfdestillation wurde die Flüssigkeit mit 500 ccm Wasser verdünnt und das Filtrat mit frisch bereiteter Phosphorwolframsäure gefällt.

Die entstandene reichliche Fällung wurde abgesaugt und mit 5%iger Schwefelsäure ausgewaschen.

Aus dem Phosphorwolframsäureniederschlag wurden Arginin als saures Silbersalz und Lysin als Platinsalz isoliert.

Argininsilbernitrat. Fp. gef. 182°.

Analysen:

- 0,1985 g Substanz gaben 34,5 ccm tr. N, 15,5°, 760,4 mm.
- 0,2394 g Substanz gaben 0,0649 g Ag.

| | |
|-----------|---|
| Gefunden: | Berechnet für $C_6H_{14}N_4O_2 \cdot NO_3HNO_3Ag$: |
| N 20,60% | 20,68% |
| Ag 27,10% | 26,55% |

Lysinplatinchlorid.

- 0,1850 g über H_2SO_4 getr. Substanz erf. 6,3 ccm n_{10}^20 -S.
Gefunden: Berechnet für $C_6H_{14}N_2O_2 \cdot 2HClPtCl_4$:
N 4,76% 4,67%
- 0,2327 g Substanz gaben nach Trocknen bei 110° 0,0809 g Pt.
- Nach Umkristallisieren aus Alkohol gab das Platinsalz:
0,1768 g bei 110° getr. g. 0,0616 g Pt.

| | |
|------------------|--|
| Gefunden: | Berechnet für $C_6H_{14}N_2O_2 \cdot 2HClPtCl_4$: |
| II III | |
| Pt 34,76% 34,84% | 35,07% |

Aus dem Filtrate vom Phosphorwolframsäure-niederschlag wurde nach Entfernung der Phosphorwolframsäure und Schwefelsäure mit Silbernitrat und ammoniakalischer Silberlösung das Silbersalz der Glutaminsäure abgeschieden, dasselbe lieferte nach der Zersetzung mit Salzsäure die charakteristischen, in Salzsäure schwerlöslichen Kristalle des Glutaminsäurechlorhydrates.

0,1560 g Substanz lieferte mit Silberacetat 0,1225 g AgCl und erforderten 8,43 ccm n_{10}^20 H_2SO_4

| | |
|-----------|--|
| Gefunden: | Berechnet für $C_5H_9NO_4 \cdot HCl$: |
| Cl 19,41% | 19,31% |
| N 7,56% | 7,64% |

Das Chlorhydrat besaß $[\alpha]_D^{20} = +10,1^\circ$. Da für Glutaminsäurechlorhydrat $[\alpha]_D^{20} = +31,91^\circ$ bestand die aus dem Pepton isolierte Glutaminsäure vorwiegend aus der racemischen Form.

Eine mit 2 g Pepton ausgeführte quantitative Bestimmung der Spaltungsprodukte lieferte als vorläufige Werte 5,6% Amid-N und etwas über 40% Basen-N.

Die Untersuchung hat ergeben, daß in den ruhenden Samen von *Lupinus luteus* ein Pepton vorkommt, das ebenso

wie die durch die Verdauungsenzyme entstehenden eine ausgesprochene Säure ist. Auch dieses Pepton liefert bei der Zersetzung mit Salzsäure Lysin, Arginin und Glutaminsäure.

Es sei hervorgehoben, daß das Pepton vollständig durch Tierkohle aus seinen Lösungen entfernbar ist. Es ist also nicht statthaft,¹⁾ eine mit Tierkohle behandelte Lösung auf ihre Fähigkeit, die Biuretreaktion zu geben, zu prüfen.

¹⁾ Lawrow, Diese Zeitschrift, Bd. XXVI. S. 519.