

Über Spinnenseide.¹⁾

Von
Emil Fischer.

(Aus dem Chemischen Institute der Universität Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 30. Juli 1907.)

Der Hauptbestandteil der gewöhnlichen Seide, das sogenannte Seidenfibroin, zeichnet sich vor den anderen Proteinen dadurch aus, daß es zum größeren Teil aus den einfachsten Aminosäuren Glykokoll und Alanin zusammengesetzt ist und außer ihnen in erheblicher Quantität nur noch Tyrosin und Serin enthält. Wegen der äußeren Ähnlichkeit lag die Vermutung nahe, daß die Spinnfäden ein verwandtes Material seien; und es war deshalb längst mein Wunsch, sie einer genaueren chemischen Prüfung zu unterziehen. Aber ich bin bisher nicht in der Lage gewesen, eine ausreichende Menge in einem genügend hohen Grade von Reinheit zu sammeln, da die meisten Spinnewebe derart mit Insekten, Staub und anderen Fremdkörpern behaftet sind, daß eine Abtrennung unmöglich erscheint.

Auf der Pariser Weltausstellung 1900 hatte ich nun Kenntnis erhalten von einem seideartigen Produkt (*soie d'araignée de Madagascar*), das von einer großen Spinne in Madagaskar herrührt.

Ich habe mich längere Zeit vergeblich bemüht, eine größere Menge dieses Stoffes zu erhalten, bis es schließlich den eifrigen Bemühungen meines Freundes, des Herrn Ernest Fourneau in Paris, gelungen ist, mir ungefähr 200 g davon zu verschaffen. Sie stammen von der letzten französischen Kolonialausstellung in Marseille her und waren zum größten Teil aufgespult. Über

¹⁾ Diese Abhandlung wurde der Berliner Akademie der Wissenschaften am 16. Mai 1907 vorgelegt (Sitzungsberichte, Bd. XXIV, S. 440).

den Ursprung des Materials verdanke ich Herrn Fourneau folgende Angaben:

Es wird bereitet von «*Nephila madagascariensis*», einer großen Spinne, die in den Wäldern von Madagaskar auf den Bäumen, besonders in der Nähe der Städte, z. B. in den alten königlichen Gärten zu Tananariva, lebt. Der französische Pater Camboué ist zuerst auf den Gedanken gekommen, ihr seideähnliches Gespinnst technisch zu verwerten¹⁾ und hat zu dem Zweck eine Versuchsanstalt in Tananariva begründet, wo die Spinnen gezüchtet und von ihnen der Faden künstlich entnommen wird. Eine Spinne liefert 150—600 m Seidenfaden, im Durchschnitt 200 m jedesmal und kann in einem Monat 5—6 mal entleert werden, worauf sie dann stirbt. Die Gewinnung des Materials scheint aber doch so kostspielig zu sein, daß es mit der gewöhnlichen Seide nicht in Wettbewerb treten kann.

Nach einer gütigen Mitteilung des Herrn Professor Dahl hier zeichnet sich die Gattung *Nephila*, die in den Tropen weit verbreitet ist, durch die Größe aus; das gilt aber nur für das Weibchen, während das Männchen durch außerordentliche Kleinheit gekennzeichnet und so vor der Feindschaft der Gattin geschützt ist. Die Gespinste von *Nephila* haben meist eine natürliche gelbe Farbe, die bei *Nephila madagascariensis* in Orange hinüberspielt und besonders schön ist.

Chemische Untersuchung.

Soviel mir bekannt geworden ist, hat das mir überlassene Material keine Behandlung durch heißes Wasser, Seife u. dergl.

¹⁾ Von Hrn. Prof. Dahl wurde ich darauf aufmerksam gemacht, daß mit europäischen Spinnen solche Versuche schon vor 200 Jahren angestellt worden sind. Eine Abhandlung von Réaumur mit dem Titel «Examen de la Soie des Araignées» erschien im Jahre 1710 (*Mémoires de l'Académie Royale des Sciences*); hier wird Hr. Bon als Entdecker eines Verfahrens zur Herstellung von Geweben aus Spinnenseide genannt. Versuche mit tropischen Spinnen sind noch im 18. Jahrhundert von Raymond de Termeyer veröffentlicht worden. Die Methode des Abhaspelns wurde 1865 von B. G. Wilder vervollkommnet, der auch schon mit einer *Nephila*art experimentierte.

erfahren. Ich glaube es demnach als den ursprünglichen Faden, wie er von der Spinnwarze der *Nephila* abgesondert wird, betrachten zu können.

Ähnlich der gewöhnlichen Seide ist das Material hygroskopisch. Bei 110° verlor es zu verschiedenen Zeiten einmal 8,4 und ein anderes Mal 8,8% an Gewicht. Es unterscheidet sich aber wesentlich von der Rohseide durch das Fehlen des Seidenleims, wie folgender Versuch zeigt:

Verhalten gegen heißes Wasser.

3 g Seide (mit 8,4% Wassergehalt) wurden mit 75 ccm reinem Wasser im Porzellanbecher im Autoklaven drei Stunden auf 115 — 120° erhitzt, wobei das Wasser sich schwach gelb färbte, während die Seide zu einem Klumpen zusammenballte und wohl den Glanz, aber nicht die Farbe verlor. Nachdem das Material durch Auseinanderreißen wieder gelockert war, wurde die Behandlung mit Wasser in der gleichen Weise wiederholt. Diesmal war die Lösung kaum gefärbt und die Seide nicht mehr zusammengeballt. Die vereinigten wässerigen Auszüge hinterließen beim Verdampfen nur 0,09 g trockenen Rückstand; das ist nur 3% der ursprünglichen Spinnenseide, während die gewöhnliche lombardische Rohseide bei dieser Operation ungefähr 30% löslichen Seidenleim liefert.

Bestimmung der Asche.

Beim Glühen hinterließ die Seide eine fast farblose Asche, und zwar 0,59% der trockenen Substanz. Die Asche ist in Wasser teilweise unlöslich und enthält Calcium, Phosphorsäure und etwas Schwefelsäure. Die letztere stammt vielleicht von dem Schwefelgehalt des Proteins her.

Verhalten gegen Alkalien und Ammoniak.

Übergießt man die Faser mit Normalkalilauge, so geht besonders bei ganz gelindem Erwärmen die orange Farbe in ein stark leuchtendes, gelbstichiges Rot über und die Lösung nimmt die gleiche Farbe an. Beim Kochen der Flüssigkeit wird die Farbe sowohl in der Lösung als auf der Faser schwächer, es entwickelt sich Ammoniak, die Färbung der Faser ver-

schwindet dann ziemlich bald und diese löst sich allmählich auf. Bei einer kleinen Probe war nach 20 Minuten langem Kochen eine fast klare, gelbrote Flüssigkeit entstanden.

Mit verdünntem Ammoniak übergossen färbt sich die Spinnenseide zunächst stärker orange; der Farbstoff geht aber schon bei gewöhnlicher Temperatur allmählich in die Lösung, welche rötlichgelb wird, und die Faser ist schließlich fast farblos. Ähnlich, nur etwas langsamer, wirkt kalte, wässrige Seifenlösung.

Verhalten gegen starke, kalte Salzsäure.

Das gewöhnliche Seidenfibroin wird bekanntlich von rauchender Salzsäure rasch gelöst und beim Eingießen der Lösung in Alkohol fällt ein amorphes, in Wasser fast unlösliches Produkt aus, das leicht chlorfrei erhalten werden kann und das von Th. Weyl¹⁾ den Namen Sericoïn erhielt. Ähnlich verhält sich die Spinnenseide. Da aber die Lösung schwerer erfolgt, so ist es ratsam, mehr Salzsäure anzuwenden.

2 g Spinnenseide wurden mit 15 ccm wässriger Salzsäure, die bei 0° gesättigt war, übergossen und sorgfältig durchgerührt. Die Faser zerfiel bald, ihre Farbe verschwand und es entstand zunächst eine dicke, gallertige Masse, die allmählich dünnflüssiger wurde. Trotz sorgfältiger Mischung waren noch nach 20 Minuten einzelne gallertige Klumpen übrig. Die honiggelbe Lösung wurde deshalb abgesaugt und in 300 ccm absoluten Alkohol eingegossen, der amorphe Niederschlag abgesaugt, mit Alkohol und Äther gewaschen und im Vakuum über Natronkalk getrocknet. Das fast weiße Produkt, das in recht guter Ausbeute erhalten wird, enthält etwas Chlor, das aber beim Behandeln mit Wasser fast völlig in Lösung geht. Beim Kochen mit Wasser quillt es auf und bleibt größtenteils ungelöst; die wässrige Lösung gibt dann mit Alkali und Kupfersalz eine schwache Biuretfärbung. Auch in kaltem, verdünntem Alkali ist das Produkt größtenteils unlöslich. Man könnte es Spinnen-sericoïn nennen, da es höchstwahrscheinlich zur Spinnenseide in demselben Verhältnis steht,

¹⁾ Berichte d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XXI, S. 1407 u. 1529 (1888).

wie das Sericoïn zur gewöhnlichen Seide. Analysiert wurde es bisher nicht.

Hydrolyse der Spinnenseide mit Schwefelsäure.

10 g Faser, die 8,8% Feuchtigkeit enthielt, wurden mit einem Gemisch von 20 ccm konzentrierter Schwefelsäure und 100 ccm Wasser am Rückflußkühler gekocht. Sie verlor sehr bald ihre Farbe, zerfiel dann und ging im Verlauf von einigen Stunden in Lösung. Nach 18stündigem Kochen wurde die gelbbraune Flüssigkeit von einem geringen schleimigen Rückstand durch Filtration getrennt und nach dem Verdünnen auf 500 ccm mit einem geringem Überschuß einer konzentrierten Lösung von Baryumhydroxyd versetzt. Dabei schlug die Farbe in Rosa um, und ebenso war das gefällte Baryumsulfat gefärbt. Der ursprüngliche Farbstoff der Spinnenseide wird also durch die Säure nicht ganz zerstört; außerdem verhält er sich wie die Indikatoren der Alkalimetrie. Die Flüssigkeit wurde filtriert und der abgesaugte Niederschlag nochmals mit Wasser ausgekocht, um alles Tyrosin in Lösung zu bringen, dann aus dem Filtrat der Baryt genau mit Schwefelsäure ausgefällt, in der Hitze mit Tierkohle entfärbt und die abermals filtrierte Flüssigkeit auf etwa 75 ccm eingedampft. Nach längerem Stehen in der Kälte betrug die Menge des auskrystallisierten Tyrosins 0,65 g; die Mutterlauge gab noch 0,1 g. Mithin Gesamtausbeute 0,75 g oder 8,2% der trockenen Spinnenseide.

Zur Analyse und optischen Untersuchung war das Präparat durch Umkrystallisieren aus heißem Wasser gereinigt.

0,1537 g Subst. 0,3354 g CO₂ 0,0831 g H₂O.

C₉H₁₁O₃N Berechnet: C 59,64 H 6,12.

Gefunden: 59,51 6,05.

Die spezifische Drehung in 21%iger Salzsäure betrug $[\alpha]_D^{24} = -6,4^\circ$. Mithin handelt es sich um l-Tyrosin, dem aber eine erhebliche Menge Racemkörper beigemischt war.

Die vom Tyrosin abfiltrierte Flüssigkeit diente zum Nachweis der Diaminosäuren. Sie wurde mit Wasser auf 500 ccm verdünnt und nach Zugabe von 10 ccm konzentrierter Schwefel-

säure vorsichtig mit einer Lösung von Phosphorwolframsäure (1 : 1) bei gewöhnlicher Temperatur so lange versetzt, bis kein Niederschlag mehr entstand, wozu ungefähr 15 ccm nötig waren. Nach 5 Minuten wurde der flockige Niederschlag abgesaugt, mit Wasser gewaschen und im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure getrocknet.

Erhalten 8,1 g, die nach einer Kjeldahl-Bestimmung 1,9% Stickstoff enthielten. Die Natur der Diaminosäuren wurde nicht festgestellt.

Da bei Anwesenheit von viel Glykokoll und Alanin die Gefahr besteht, daß der Niederschlag mit Phosphorwolframsäure auch von diesen Aminosäuren etwas enthält, so ist es zur Vermeidung grober Irrtümer ratsam, ihn mit Baryt zu zerlegen und die Fällung in verdünnter Lösung zu wiederholen. Zu dem Zweck wurden 7 g des obigen Niederschlages fein zerrieben und mit 14 g krystallisiertem Barythydrat und etwa 50 ccm Wasser bei gewöhnlicher Temperatur 8 Stunden auf der Maschine geschüttelt, dann abgesaugt, der Baryt mit Schwefelsäure gefällt, das Filtrat auf etwa 100 ccm verdünnt, so viel konzentrierte Schwefelsäure zugefügt, daß die Lösung etwa 5%ig war, und dann wieder mit Phosphorwolframsäure gefällt. Dieser Niederschlag wog nach dem Trocknen im Vakuum 4 g. Da bei dieser wiederholten Fällung Verluste unvermeidlich sind, so kann man aus dem Resultat schließen, daß der ursprüngliche Phosphorwolframsäureniederschlag keine erhebliche Menge Monoaminosäuren enthielt.

Die Menge der Diaminosäuren ist demnach ziemlich beträchtlich. Macht man die willkürliche Annahme, daß nur Arginin vorhanden sei, so würde sich dessen Menge aus dem Stickstoffgehalt auf 5,24% der Spinnenseide berechnen.

Hydrolyse der Spinnenseide mit Salzsäure.

50 g (mit 8,8% Feuchtigkeit) wurden mit 200 ccm rauchender Salzsäure (spez. Gew. 1,19) übergossen und zuerst gelinde auf dem Wasserbade erwärmt. Die Farbe verschwand sofort, die Faser zerfiel, und es entstand eine dickliche, gelbe Lösung. Die bei der gewöhnlichen Seide unter den gleichen Bedingungen stets

vorübergehend auftretende dunkelblauviolette Färbung wurde hier nicht beobachtet. Beim Kochen am Rückflußkühler ging die Farbe der Flüssigkeit von Gelb in Rothbraun über. Nach sechsständigem Kochen wurde die Flüssigkeit völlig abgekühlt und filtriert. Der geringe Rückstand löste sich größtenteils in warmem Äther, und beim Verdampfen des Äthers wurden 0,3 g einer fettigen, halbfesten Masse erhalten, die wohl größtenteils aus höheren Fettsäuren bestand. Ihre Menge betrug also 0,66% der trockenen Spinnenseide. Die salzsaure Lösung wurde unter vermindertem Druck möglichst stark verdampft und in der üblichen Weise mit 150 ccm Alkohol durch Einleiten von Salzsäuregas verestert. Die anfangs klare, dunkelbraune Flüssigkeit schied später schon in der Wärme einen Niederschlag von anorganischen Hydrochloraten aus, der nach raschem Abkühlen filtriert wurde, bevor die Krystallisation des Glykokollesterchlorhydrats begonnen hatte. Seine Menge betrug 2,1 g, und davon waren 1,66 g Chlorammonium, das entspricht 1,16% Ammoniak für die trockene Spinnenseide. Die später angeführte Bestimmung des Ammoniaks durch Destillation mit Magnesiumoxyd hat nahezu den gleichen Wert gegeben.

Das salzsaure alkoholische Filtrat schied nach dem Impfen bei 16ständigem Stehen bei 0° Glykokollesterchlorhydrat ab, dessen Menge nach dem Absaugen, Waschen mit kaltem Alkohol und Trocknen über Natronkalk 26,8 g betrug. Die alkoholische Mutterlauge wurde unter vermindertem Druck verdampft und nochmals mit 75 ccm Alkohol und Salzsäuregas verestert. Sie gab dann bei 25ständigem Stehen bei 0° noch 2,2 g Glykokollesterchlorhydrat; mithin zusammen 29 g oder 34,19% Glykokoll berechnet auf die trockene Spinnenseide. Dazu kommen noch 0,43 g oder 0,94% Glykokoll, die später beim Alanin gefunden wurden; mithin 35,13% Gesamtausbeute an Glykokoll.

Zur völligen Reinigung wurde eine Probe des Esterchlorhydrats aus der sechsfachen Menge heißen Alkohols unter Zusatz von Tierkohle umkrystallisiert. Die feinen farblosen Nadeln schmolzen bei 145° (korr.).

0,2934 g Subst. verbrauchten 20,83 ccm $\frac{1}{10}$ -n-AgNO₃.

Berechnet für C₄H₉O₂N · HCl: Cl 25,40.

Gefunden: 25,17.

Die vom Glykokollesterchlorhydrat getrennte Mutterlauge wurde in der üblichen Weise unter geringem Druck möglichst vollständig verdampft und die Ester durch Alkali in Freiheit gesetzt. Die alkalische Salzmasse nahm hierbei eine starke himbeerrote Farbe an, die offenbar von dem ursprünglichen Farbstoff der Spinnenseide herrührte. Die ätherischen Auszüge waren wie gewöhnlich gelbbraun gefärbt. Sie wurden, wie üblich, zuerst flüchtig mit Kaliumcarbonat, dann mit Natriumsulfat getrocknet und nach Verdampfen des Äthers unter vermindertem Druck fraktioniert:

Fraktion

I.	(bei 12 mm)	Temperatur des Bades bis	85°	erhalten	19,6 g
II.	(» 0,4 »)	» » » »	100°	»	3,4 »
III.	(» 0,3 »)	» » » »	100—130°	»	5,0 »
					Summa 28,0 g
Rückstand (dunkelbraune zähe Masse)					6,0 g

Die I. Fraktion wurde durch mehrstündiges Erhitzen mit 100 ccm Wasser am Rückflußkühler verseift und die Lösung bis zur beginnenden Krystallisation eingedampft. Erhalten 5,6 g Alanin.

0,1778 g Subst. 0,2641 g CO₂ 0,1227 g H₂O.

Berechnet für C₃H₇O₂N: C 40,40 H 7,92.

Gefunden: 40,51 7,72.

Die spezifische Drehung des Hydrochlorates betrug

$$[\alpha]_D^{20} = + 9,6^\circ.$$

Mithin fast reines d-Alanin.

Die wässrige Mutterlauge wurde zur Trockene verdampft und mit Alkohol ausgekocht, der Rückstand betrug 5,49 g. Er wurde aus möglichst wenig heißem Wasser umkrystallisiert und die Mutterlauge (etwa 3 g) auf salzsauren Glykokollester verarbeitet. Erhalten 0,8 g = 0,43 g Glykokoll. Mithin berechnet sich die Gesamtmenge des Alanins auf 10,66 g, was 23,4% für die trockene Spinnenseide entspricht.

Die II. Fraktion der Ester enthielt Derivate des Prolins, Leucins und sehr geringe Mengen von Alanin. Um die An- oder Abwesenheit von Phenylalanin darin festzustellen, bin ich von dem üblichen Gange der Untersuchung etwas abgewichen. Denn es wurde diese Fraktion der Ester mit der fünffachen

Menge Wasser versetzt und das Gemisch mit dem doppelten Volumen Petroläther ausgeschüttelt, dann der Petrolätherauszug nochmals mit Wasser gründlich gewaschen. Die wässerigen Lösungen wurden in der üblichen Weise am Rückflußkühler gekocht, bis die alkalische Reaktion verschwunden war, dann zur Trockene verdampft und die feste Masse mit absolutem Alkohol ausgekocht. Hierbei ging der größere Teil (Prolin) in Lösung. Der Rückstand betrug nur 0,4 g. Er enthielt sehr wenig Leucin und außerdem Alanin.

Der Petrolätherauszug enthielt den Leucinester. Er wurde vorsichtig verdampft, der Rückstand mit überschüssiger Salzsäure auf dem Wasserbade verseift und das l-Leucin in der üblichen Weise isoliert.

Nach dem Umkrystallisieren aus Wasser gab es folgende Zahlen:

0,1762 g Subst. 0,3532 g CO₂ 0,1553 g H₂O.

C₆H₁₃O₂N Berechnet: C 54,96 H 10,00.
Gefunden: 54,67 9,86.

0,1267 g Substanz gelöst in 20%iger Salzsäure. Gesamtgewicht der Lösung 4,0099 g. $d = 1,1$. Drehung im 1-dm-Rohr bei 18° und Natriumlicht 0,55° nach rechts.

Mithin $[\alpha]_D^{18} = + 15,8^\circ$.

Die Gesamtmenge des Leucins einschließlich des kleinen Restes, der aus der III. Fraktion der Ester zu gewinnen war, betrug 0,8 g oder 1,76% der trockenen Spinnenseide.

Für die Gewinnung des Prolins dienten die alkoholischen Auszüge, die, wie vorher beschrieben, aus den trockenen Aminosäuren bereitet wurden. Sie wurden verdampft, der Rückstand nochmals mit absolutem Alkohol aufgenommen und wieder verdampft. Die Menge des so resultierenden rohen Prolins betrug 1,68 g oder 3,68% der trockenen Spinnenseide. Es war ein Gemisch von viel aktivem und wenig racemischem Prolin; für die Identifizierung diente das Kupfersalz des letzteren, das nach dem Umkrystallisieren aus Wasser folgende Zahlen gab:

0,1436 g lufttrockene Subst. verloren bei 110° 0,0146 g H₂O.

C₁₀H₁₆O₄N₂Cu + 2H₂O Berechnet: H₂O 10,99%
Gefunden: 10,17%

0,1290 g trockene Subst.: 0,0352 g CuO.

$C_{10}H_{16}O_4N_2Cu$ Berechnet: Cu 21,8.
Gefunden: 21,8.

Die III. Fraktion wurde zunächst in der 5fachen Menge Wasser gelöst und mit Petroläther ausgeschüttelt. Die geringe Menge Ester, die in Lösung ging, war größtenteils Leucinderivat. Phenylalanin konnte nicht nachgewiesen werden. Die im Wasser löslichen Ester wurden in der üblichen Weise mit Baryumhydroxyd verseift und nach genauer Ausfällung des Baryts die Lösung eingedampft. Bei genügender Konzentration fielen Krystalle aus, die nach einmaligem Umkrystallisieren aus warmem Wasser reine Glutaminsäure waren:

0,1750 g Subst. 0,2609 g CO_2 0,0973 g H_2O .

$C_5H_9O_4N$ Berechnet: C 40,79 H 6,17.
Gefunden: 40,66 6,22.

Aus der Mutterlauge wurde der Rest der Glutaminsäure durch Einleiten von Salzsäure gefällt (erhalten 1,1 g Hydrochlorat). Die jetzt bleibenden Mutterlaugen waren arm an Aminosäuren, denn sie hinterließen beim Verdampfen nur 0,6 g Rückstand. Ob Asparaginsäure darin war, kann ich nicht sicher sagen. Auch die Anwesenheit von Serin war zweifelhaft, da das β -Naphthalinsulfoderivat nicht krystallisierte.

Der bei der Destillation der Ester bleibende Rückstand wurde zunächst durch Lösen in Alkohol und längeres Stehenlassen nach Einimpfen eines Kryställchens auf Serinanhydrid geprüft; das Resultat war negativ. Dagegen enthielt er Tyrosin und außerdem noch erhebliche Mengen von Glutaminsäure. Für ihre Gewinnung wurde er mit 100 ccm Wasser und 20 g krystallisiertem Barythydrat drei Stunden am Rückflußkühler gekocht, aus der filtrierten Flüssigkeit der Baryt genau mit Schwefelsäure gefällt, die Mutterlauge mit Tierkohle entfärbt und die abermals filtrierte Flüssigkeit unter vermindertem Druck stark eingedampft. Zuerst schied sich Tyrosin ab, und als die auf etwa 30 ccm eingeengte Mutterlauge mit gasförmiger Salzsäure gesättigt war, fiel in der Kälte das Hydrochlorat der Glutaminsäure aus. Erhalten 1,3 g und aus der Mutterlauge noch 0,5 g. Nach dem Umkrystallisieren gab das Salz folgende Zahlen:

0,2091 g Subst. verbrauchten 11,32 ccm $\frac{1}{10}$ -n-AgNO₃.

C₅H₉O₄N · HCl Berechnet: Cl 19,31.

Gefunden: 19,2.

0,2533 g Hydrochlorat gelöst in Wasser. Gesamtgewicht der Lösung 3,8772 g; $d = 1,02$; Drehung im 1-dm-Rohr bei 24° und Natriumlicht 1,62° nach rechts. Mithin auf freie Glutaminsäure berechnet:

$$[\alpha]_D^{24} = + 30,35^\circ.$$

Die Gesamtmenge der Glutaminsäure, die aus dem Rückstand und der Fraktion III teils als freie Säure, teils als Hydrochlorat isoliert wurde, betrug 2,77 g oder 6,1% der trockenen Spinnenseide.

Direkte Bestimmung der Glutaminsäure und des Ammoniaks.

Die Glutaminsäure läßt sich bekanntlich aus dem Gemisch der Spaltungsprodukte direkt als Hydrochlorat abscheiden, und da dieses Verfahren erheblich genauer ist als die Isolierung aus dem Ester, so habe ich es in einem besonderen Versuche benutzt und dadurch in der Tat einen erheblichen Gehalt an Glutaminsäure feststellen können. Bei dieser Gelegenheit wurde auch eine direkte Bestimmung des Ammoniaks ausgeführt, die aber fast das gleiche Resultat wie die Krystallisation des Chlorammoniums ergab.

10 g Spinnenseide (mit 8,6% Feuchtigkeit) wurden mit 40 ccm Salzsäure (spez. Gew. 1,19) 5 Stunden am Rückflußkühler gekocht und die Flüssigkeit nach dem Erkalten filtriert. Der zehnte Teil dieser Lösung diente für die Bestimmung des Ammoniaks. Er wurde verdampft, der Rückstand mit Magnesiumoxyd gekocht und das Ammoniak in der üblichen Weise in titrierter Säure aufgefangen. Gefunden 5,9 ccm $\frac{1}{10}$ -n-Ammoniak, was einem Gehalt von 1,1% Ammoniak in der trockenen Spinnenseide entspricht.

Der Rest der salzsauren Lösung wurde zunächst mit $\frac{1}{4}$ l Wasser verdünnt, durch Kochen mit Tierkohle fast vollständig entfärbt, das Filtrat auf dem Wasserbade verdampft und der zurückbleibende gelbe Sirup mit 20 ccm rauchender

Salzsäure vermischt. Nach 2 tägigem Stehen bei 0° wurde die Krystallmasse abgesaugt und mit wenig ganz kalter konzentrierter Salzsäure gewaschen. Nach dem Trocknen im Vakuum über Natronkalk betrug ihre Menge 1,65 g. Durch Lösen in verdünnter Salzsäure und Abscheiden durch Einleiten von gasförmiger Salzsäure bei niederer Temperatur konnten daraus 1,2 g reine salzsaure Glutaminsäure isoliert werden:

0,1965 g Subst. 10,7 ccm $\frac{1}{10}$ -n-AgNO₃.

C₅H₉O₄N · HCl Berechnet: Cl 19,31.

Gefunden: 19,30.

Die Ausbeute an Glutaminsäure entsprach also 11,7% der trockenen Spinnenseide.

Zusammenfassung der Resultate.

I. 100 Teile trockene Spinnenseide von *Nephila madagascariensis* gaben bei der Hydrolyse mit Säuren:

35,13	Teile Glykokoll
23,4	» d-Alanin
1,76	» l-Leucin
3,68	» Prolin
8,2	» l-Tyrosin
11,7	» d-Glutaminsäure
5,24	» Diaminosäuren (als Arginin willkürlich berechnet)
1,16	» Ammoniak
0,66	» Fettsäuren
<hr/>	
90,93	Teile

ferner beim Glühen:

0,59 Teile Asche.

Der Gesamtwert 91,5% verringert sich aber auf 74%, wenn man das durch die Hydrolyse zutretende Wasser abrechnet, dessen Menge ich für die 5 ersten Aminosäuren gleich 1 Mol. und für die Glutaminsäure gleich 2 Mol. annehmen will.

II. Der schöne orangegelbe Farbstoff wird durch Alkalien viel intensiver, verschwindet aber bei der Wirkung von Säuren, ohne zerstört zu werden. Er verhält sich also wie ein Indikator der Alkalimetrie.

III. Die Spinnenseide unterscheidet sich von der gewöhnlichen Seide durch den Mangel an wasserlöslichen Substanzen (Seidenleim).

IV. Sie zeigt große Ähnlichkeit mit dem Seidenfibroin. Denn sie löst sich wie jenes in starker Salzsäure und gibt beim Fällern mit Alkohol ein Produkt von ähnlichen Eigenschaften wie das Sericoïn. Ferner enthält sie annähernd die gleiche Menge an Glykokoll, Alanin, Tyrosin und Leucin. Etwas größer ist die Menge des Prolins und der Diaminosäuren.

V. Hervorzuheben ist der ziemlich große Gehalt der Spinnenseide an Glutaminsäure, die in dem Seidenfibroin bisher nicht beobachtet wurde.¹⁾ Ein weiterer Unterschied besteht in dem Gehalt an Serin, das im Seidenfibroin in ziemlich beträchtlicher Menge vorhanden ist, aber in der Spinnenseide bisher nicht gefunden wurde und jedenfalls nicht in erheblicher Menge zugegen ist. Phenylalanin scheint auch in der Spinnenseide nicht zu sein, während im Seidenfibroin davon 1 $\frac{1}{2}$ 0/0 gefunden wurden.

VI. Trotz der zuletzt erwähnten Unterschiede ist im großen und ganzen die Spinnenseide dem Seidenfibroin, das den wesentlichen Bestandteil des Seidenfadens bildet, chemisch sehr nahe verwandt, so daß die äußerliche Ähnlichkeit beider Materialien nicht mehr als Zufall erscheint. Beide entstehen bekanntlich aus einem flüssigen Drüsensekret, das beim Austritt aus dem Körper des Tieres alsbald erstarrt und eine überraschende Festigkeit erlangt. Der Vorgang erinnert an die Gerinnung des Blutes. Allerdings sind die Spinnwarzen, die den Spinnfaden absondern und im Hinterteil des Tieres liegen, morphologisch wesentlich verschieden von den Drüsen der Raupe, die das Material des Seidenfadens liefern und von den Zoologen als modifizierte Speicheldrüsen betrachtet werden. Um so beachtenswerter ist vom biologischen Standpunkte aus die chemische Ähnlichkeit der beiden Sekrete; aus diesem Grunde

¹⁾ In der Rohseide habe ich neuerdings eine kleine Menge Asparaginsäure beobachtet (gefunden 36,1 0/0 C, 5,0 0/0 H, berechnet 36,1 0/0 C, 5,3 0/0 H). Es bleibt aber noch zu entscheiden, ob sie vom Seidenfibroin oder vom Seidenleim herrührt.

erscheint es mir auch wünschenswert, daß die Untersuchung auf die gleichen Produkte anderer Spinnen und Raupen ausgedehnt wird.

Gegenüber den glänzenden Errungenschaften der vergleichenden Morphologie steht die vergleichende chemische Physiologie trotz zahlreicher Anläufe¹⁾ noch in den Kinderschuhen. Aber man darf erwarten, daß mit der Verbesserung der chemischen Methoden, zumal auf dem Gebiete der Proteine, eine kräftige Entwicklung dieses Teiles der Biologie einsetzen wird, die zu ganz neuen Gesichtspunkten über die Verwandtschaft und Genesis sowohl einzelner Organe wie auch ganzer Spezies von Lebewesen führen kann.

Schließlich sage ich Hrn. Dr. Walter Axhausen für die Hilfe, die er mir bei diesen Versuchen leistete, besten Dank.

¹⁾ Eine sehr nützliche Zusammenstellung der Resultate für einen Teil der Tierwelt findet sich in dem Werk von Otto von Fürth «Vergleichende chemische Physiologie der niederen Tiere».
