

Über die Trennung von Histidin und Arginin.

Von

A. Kossel und S. Edlbacher.

Aus dem Institut für Eiweißforschung [Stiftung Behringer] Universität Heidelberg.)

Die Trennung des Histidins vom Arginin wurde nach dem ursprünglichen Verfahren von A. Kossel und F. Kutschner¹⁾ in folgender Weise bewirkt:

„Fügt man zu einer sauren Lösung, die Arginin und Histidin, und zugleich einen Überschuß von Silbernitrat enthält, vorsichtig Barytwasser hinzu, so fällt zuerst das Histidinsilber aus. Nachdem die Ausscheidung des Histidinsilbers beendet ist, wird durch weiteren vorsichtigen Zusatz von Baryt zunächst kein Niederschlag bewirkt, erst bei etwas stärkerem Barytüberschuß fällt das Argininsilber. Als Erkennungsmittel für die völlige Ausfällung des Histidins benützten wir ammoniakalische Silbernitratlösung, welche nach Hedin einen unlöslichen Niederschlag von Histidinsilber ($C_6H_7Ag_2N_3O_2$) gibt.“

A. Kossel versuchte später dieses etwas umständliche Verfahren in der Weise zu vereinfachen, daß er die Herstellung des erforderlichen geringen Alkaleszenzgrades nicht durch Barytwasser unter Kontrolle der ammoniakalischen Silberlösung, sondern durch Baryumcarbonat bei Siedetemperatur

¹⁾ Diese Zeitschr. Bd. 31, S. 171 (1900).

bewirkte¹⁾). Diese letztere Modifikation wurde dann von F. Weiß²⁾ genauer beschrieben.

Sie wurde bei zahlreichen Analysen im hiesigen Institut benutzt und erwies sich in den beobachteten Fällen als brauchbar.

Später traten jedoch Zweifel über ihre allgemeine Anwendbarkeit auf und es entstand die Frage: bei welcher Wasserstoffionenkonzentration ist die Fällung des Histidinsilbers beendet und bei welcher beginnt die Fällung des Argininsilbers?

Die Alkaleszenz einer $n/50$ Histidinlösung ist geringer als die einer $n/50$ Argininlösung; erstere rötet nach unserer Beobachtung Phenolphthalein, bläut aber eine Lösung von Thymolphthalein nicht, letztere steht an der Grenze der Blaufärbung des Thymolphthaleins. (Die Argininlösung war nicht ganz frei von Arginincarbonat.)

Ist nun zur völligen Ausfällung des Histidinsilbers die Gegenwart des stärker alkalischen Arginins erforderlich, oder genügt hierzu die Entstehung von freiem Histidin?

Wäre ersteres der Fall, so wäre die Anwendung des Baryumcarbonates auf diejenigen Fälle beschränkt, in denen neben dem Histidin eine gewisse Menge Arginin vorhanden ist.

Zur Entscheidung dieser Frage stellten wir folgenden Versuch an:

Eine $n/50$ Histidinlösung (also die freie Base) wurde zunächst mit Salpetersäure ganz schwach angesäuert und hierauf Silbernitrat zugesetzt, bis eine Tüpfelprobe mit Barytwasser starke Braunfärbung ergab. Hierauf erfolgte Zusatz von Barytwasser bis zur Lackmusneutralität und nun allmählich weiterer Zusatz des Barytwassers. Es beginnt eine Ausscheidung von Histidinsilber. Zur Prüfung der Reaktion wurde von Zeit zu Zeit eine kleine Probe der über dem Niederschlag stehenden Flüssigkeit entnommen, zur Entfernung

¹⁾ Diese Zeitschr. Bd. 49, S. 318 (1906).

²⁾ Diese Zeitschr. Bd. 52, S. 112 (1907).

des gelösten Silbers mit 10%iger Kochsalzlösung versetzt, vom Silberniederschlag abfiltriert und das Filtrat mit Phenolphthalein bzw. Thymolphthalein geprüft. Hierbei zeigte sich, daß mit Beginn der Phenolphthaleinrötung bereits sämtliches Histidin ausgefällt ist.

Hierdurch wird erwiesen, daß die Gegenwart des Arginins für die Histidinfällung nicht nötig ist. Dasselbe ergab sich aus folgendem Versuch:

100 cm³ einer n/50 Histidinlösung wurden mit verdünnter Salpetersäure schwach angesäuert und mit 50 ccm einer 5%igen Silbernitratlösung versetzt (Tüpfelprobe mit Barytwasser stark braun). Nun wurde mit überschüssigem Baryumcarbonat 10 Minuten energisch gekocht, der Niederschlag abgesaugt, gewaschen und sodann mit verdünnter Schwefelsäure aufgekocht, bis die Kohlensäureentwicklung aufhörte. In die Lösung wurde Schwefelwasserstoff eingeleitet, der Überschuß dieser Gase durch Kochen vertrieben und vom Schwefelsilber und Baryumsulfat abgesaugt. Der Niederschlag wurde 3mal mit schwach angesäuertem Wasser verrieben und abgesaugt und das Filtrat und die vereinigten Waschwässer gemeinsam auf 100 ccm eingedampft. Von dieser Flüssigkeit wurde in 20 ccm der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt:

20 ccm ergaben 16,38 mg N. Von der ursprünglichen Lösung gaben 20 ccm 16,87 mg N, es wurden somit 97,1% des angewandten Histidins wiedergefunden.

Eine Wiederholung der Bestimmung ergab:

20 ccm wie oben = 18,48 mg N, 20 ccm der ursprünglichen Lösung = 18,62 mg N, somit wurden 99,26% des Histidins auf diese Art wiedergewonnen.

Das zur Untersuchung des Histidins erwähnte Verfahren wurde von uns zur Feststellung des Verhaltens anderer Basen benutzt und es ergab sich hierbei, daß das zur Trennung von Histidin und Arginin benutzte Verfahren auch bei der Aufsuchung und Isolierung von Imidazol, Carnosin, Guanidin und Methylguanidin Verwendung finden kann. Das Nähere ist aus der folgenden Zusammenstellung zu ersehen.

Base	Von saurer Reaktion bis Eintritt der Lackmusneutralität	Eintritt der Phenolphthaleinrötung	Eintritt der Thymolphthaleinbläuung
Histidin freie Base	Fällung	Die Ausfällung ist vollendet	---
Imidazol	Fällung	völlige Ausfällung	---
Carnosin	noch keine Fällung	Fällung beendet, wenn im Filtrat Rötung	---
Guanidin	—	Fällung beendet, wenn Rötung im Filtrat	
Methylguanidin	keine Fällung	Fällung unvollständig	Fällung beendet
Arginin	keine Fällung	keine Fällung	Fällung beendet
Kreatinin	keine Fällung	keine Fällung	Fällung unvollständig
Glykokoll	Auch bei starker Lackmusalkaleszenz keine Fällung	Beginn einer weißen Fällung	Niederschlag braun