

# Über das Sericin und die quantitative Bestimmung seiner basischen Bestandteile.

Von

Dr. Walter Türk.

(Chemische Abteilung der Kgl. ung. Drogenkulturstation in Budapest.)  
(Der Redaktion zugegangen am 21. Juli 1920.)

Der Seidenfaden, der von der Raupe des Bombyxmori gesponnen und aus dem Sekret ihrer Spinndrüsen gefertigt wird, tritt als honigdicke Masse aus zwei Öffnungen unter dem Mund hervor und erhärtet — oxydiert — an der Luft zu einem Faden, der aus dem eigentlichen Seidenstoff oder Fibroin und dem Seidenleim oder Sericin besteht. Über diesen veröffentlichten zuletzt E. Fischer und Skita<sup>1)</sup> und Abderhalden und Worm<sup>2)</sup> Arbeiten über die hydrolytischen Spaltungsprodukte, unter denen Glykokoll, Alanin, Serin, Leucin, Asparaginsäure, Phenylalanin, Prolin und Tyrosin prozentuell bestimmt werden. Von den Hexonbasen liegt nur eine quantitative Bestimmung des Arginins vor und die qualitative Abscheidung des Lysins als Pikrat. Aber schon dieser Nachweis hat die Frage aufgeworfen, ob die mit Phosphorwolframsäure fällbaren hydrolytischen Zersetzungsprodukte beim Sericin nicht zahlreicher sind wie beim Fibroin, welches wieder zum Unterschied mehr Monoamidosäuren unter seinen Spaltungsprodukten aufweisen müßte, da schon Wetzel<sup>3)</sup> darauf hinweist, daß die basische Körper liefernde Gruppe — Protamin-kern Kossels — im Sericin ausgeprägter sein muß als beim

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. Bd. 35, S. 221 (1902).

<sup>2)</sup> Diese Zeitschr. Bd. 62, S. 142 (1902).

<sup>3)</sup> Diese Zeitschr. Bd. 26, S. 535 (1902).

Fibroin. Wetzell hat gefunden, daß Körper, die arm an basischen Spaltungsprodukten sind, keine weitere Verwendung mehr im Stoffwechsel finden und mit der Bildung von organischer Substanz nichts mehr zu tun haben — Fibroin; im Gegensatz zu diesen Körpern sind die Bildungsstätten organischer Substanz reich an Gruppen, welche Hexonbasen liefern, während die Monoamidosäuren unter den Spaltungsprodukten zurücktreten. Danach wäre also das Sericin lohnend für eine Untersuchung auf seine basischen Bestandteile.

Das Ausgangsmaterial bildete das nach dem unten beschriebenen Verfahren dargestellte Sericin. Die Untersuchung auf die Hexonbasen geschah in der Weise, daß Sericin mit Schwefelsäure aufgespalten, das Tyrosin, Leucin und Serin entfernt wurde und die basischen Bestandteile Arginin, Lysin und Histidin nach dem Kutscher-Kossel-Verfahren isoliert wurden. Es zeigte sich, daß im Sericin alle drei Hexonbasen vorhanden sind und auch quantitativ bestimmt werden konnten. Die tabellarische Zusammenstellung der gefundenen Werte wurde an den Schluß gesetzt.

### Experimenteller Teil.

#### Darstellung des Sericins.

100 g gewaschene gelbe und weiße Seidenraupenseide wurde mit der 25fachen Menge Wasser 3 Stunden im Autoklaven bei 3 Atmosphären und 145° C. gekocht. Dadurch geht das dem Seidenfaden anhaftende Sericin in Lösung, und zwar nach den Angaben von Bondi<sup>1)</sup> als ein Gemisch von schwer- und leichtlöslichem Seidenleim. Die letztere Modifikation besitzt die Neigung, in die erstere überzugehen, welche sich dann beim Erkalten flockig ausscheidet. Die Lösung bildet, heiß filtriert, beim Eindampfen an der Oberfläche unlösliches Sericin in Form einer Haut, welche, in die Lösung gerührt, sich nicht wieder löst, sondern als hellbrauner Ballen auf der Lösung verbleibt. Schon Mulder<sup>2)</sup> hat auf diese

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. Bd. 34, S. 481.

<sup>2)</sup> Annalen der Physik und Chemie, Poggendorf, Bd. 37.

schwerlösliche Sericinart hingewiesen und glaubte, daß beim Eindampfen der Lösung Eiweiß nach Art des unlöslichen, geronnenen Eiweißes abgeschieden werde. Cramer<sup>1)</sup> hält diese unlösliche Modifikation, da doch die Lösung beim Aufkochen klar bleibe, als Zersetzungsprodukte des Sericins, welches somit die charakteristische Eigenschaft aller Tierleime besitzt: collagenartige Körper zu bilden. Die oben erhaltene Sericinlösung wurde bis zu ihrem konstanten Gewicht eingedampft und enthielt so 27% Sericin der verarbeiteten Seide. Das lufttrockene Fibroin machte 69% der Seide aus. Auf diese Weise wurden 3 kg Rohseide auf Sericin verarbeitet.

#### Behandlung der Sericinlösung mit absolutem Alkohol.

Eine Probe einer konzentrierten, dunkelbraunen Sericinlösung wurde mit der doppelten Menge absoluten Alkohols versetzt. Es fiel Sericin als ein klebriger, ölig, beim Umrühren sich zusammenballender Körper aus, der stark fadenziehend war. Der Alkohol, in dem ein Teil des Sericins in Lösung blieb, war intensiv gelb gefärbt. Der ausgefallene Körper wurde mit weiteren Mengen Alkohol so lange verrieben, bis er körnig und fest wurde. Auf diese Weise wurden alle Sericinlösungen behandelt. Das körnige Sericin wurde abgesaugt, im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet und zerrieben. Die Ausbeute betrug aus 3 kg Rohseide 530 g. Eine Feuchtigkeitsbestimmung zeigte einen Gehalt von 17,83% Wasser. Die gelben Alkoholauszüge wurden vereinigt, der Alkohol abdestilliert und die adstringierende Lösung bis zum konstanten Gewicht gedampft. Beim Abkühlen schied sich das Sericin in hellgelben, glasigen Lamellen ab, welche einen Feuchtigkeitsgehalt von 14,93% ergaben und in einer Ausbeute von 225 g erhalten wurden.

Farbenreaktionen. Die mit beiden Sericinarten ausgeführten Farbenreaktionen der Eiweißkörper, verglichen mit einer gleichprozentigen Kaseinlösung (nach Hammarsten), zeigten untereinander keine Unterschiede. Von den Farbenreaktionen, welche das Kasein gibt, weichen die unter Nr. 4

<sup>1)</sup> Journ. f. prakt. Chemie Bd. 96, S. 76 (1865).

bis 7 angeführten insoweit ab, als diese bei beiden Sericinarten viel intensiver zutage treten.

Name der Reaktion	Kaseinlösung 5%, Lösungsm. KOH	Sericinlösung 5%, durch Al- kohol gefällt,	Sericinlösung 5%, in Alkohol löslich,
	Sericinlösungsmittel H <sub>2</sub> O		
1. Biuretreaktion . .	rotviolett	rosa	rosa
2. Xanthoprotein . .	gelbes Koagulum	hellgelbe Lösung	hellgelbe Lösung
3. Millon . . . . .	eigelbes Koa- gulum	rotbrauner Nie- derschlag	rotbrauner Nie- derschlag
4. Molisch . . . . .	rötlichbraun	dunkelrotbraun, Lösung undurch- sichtig	dunkelrotbraun, Lösung undurch- sichtig
5. Thymol . . . . .	"	"	"
6. Adamkiewitz- Hopkins	rotviolett	dunkelrot	dunkelrot
7. Liebermann . . .	"	"	"

Aus diesen Farbenreaktionen ist zu ersehen, daß die für den Kohlehydratkomplex im Eiweißmolekül charakteristischen Reaktionen — mit  $\alpha$ -Naphthol und mit Thymol — beim Sericin sehr intensiv sind. Es ist wahrscheinlich, daß wir in diesem Albuminoid einen stark ausgeprägten Kohlehydratrest haben. Diese Annahme sowie die Entstehungsweise des Seidenleims durch die Raupe, deren Nahrung aus Blättern besteht, verleiteten zur Prüfung auf Cellobiose nach dem Verfahren von Skraup und König<sup>1)</sup> mit Essigsäureanhydrid und Schwefelsäure. Es konnte jedoch kein Acetylprodukt gefunden werden, welches auf das Vorhandensein einer Biose hätte schließen lassen können.

#### Hydrolyse des Sericins mit Schwefelsäure.

Die oben gefundenen Sericinarten wurden im Verhältnis von 300 g durch Alkohol fällbares und 100 g in Alkohol

<sup>1)</sup> Monatshefte für Chemie 1901, S. 1011.

lösliches Sericin gut gemischt und davon 50 g mit der 3fachen Menge Schwefelsäure (spez. Gewicht 1,8) und der 5fachen Menge Wasser versetzt. Unter Umschütteln geht der Seidenleim in Lösung und wird unter Rückflußkühlung 12 Stunden lang gekocht, hierauf mit Wasser auf 1 Liter verdünnt und die Schwefelsäure quantitativ mit Baryumhydroxyd nach der Tüpfelmethode ausgefällt. Der Baryumsulfatniederschlag wurde so lange mit kochendem Wasser nachgewaschen, bis eine Probe des Waschwassers keine Tyrosinreaktion mehr gab. Filtrat und Waschwasser werden vereinigt und zur Kristallisation eingedampft. Durch fraktioniertes Auskristallisieren wurden zwei Kristallisationen erhalten, welche vereinigt wurden. Kristalle A, Mutterlauge B.

Kristalle A. Die erhaltenen Kristalle wurden in wenig heißem Wasser gelöst und langsam eingeengt. Der erste Anschuß wog bei 110° getrocknet 3,12 g und bestand aus Tyrosinnadeln, die mit Leucin verunreinigt waren. Um beide rein zu erhalten, wurden die Kristalle in heißem Wasser gelöst und durch systematisches Umkristallisieren und Eindampfen verarbeitet. Wenn das auskristallisierende Gemisch unter dem Mikroskop verhältnismäßig mehr Leucin zeigte, wurde in der 40fachen Menge Wasser heiß gelöst, wenn Tyrosinnadeln vorherrschten, in der 20fachen Menge Wasser. Dieses Arbeiten wurde bis zum Verschwinden der Tyrosinreaktion fortgesetzt. Auf diese Weise wurde nach Entfärben der Lösungen mit Tierkohle und Auskristallisieren 2,37 g reines Tyrosin vom  $F = 285^\circ$  (unkorr.) erhalten und 0,75 g Leucin. Letzteres wurde in sein charakteristisches Cu-Salz übergeführt und dieses analysiert.

0,1474 g Substanz gaben 0,0368 CuO.		
In 100 Teilen:	Gefunden	Berechnet für Leucin-Cu
	Cu . . . 19,95 %	19,65 %.

Aus der Mutterlauge der oben erhaltenen 3,12 g schweren Kristalle wurden 2,85 g Serin in Form seiner drusenartigen Kristalle erhalten. Ein Teil derselben, welche  $F = 242^\circ$  (korr.) hatten, wurde ins Cu-Salz übergeführt.

0,2160 g Substanz gaben beim Glühen 0,0640 g CuO.  
 In 100 Teilen:      Gefunden      Berechnet für Serin-Cu  
                                  Cu . . . . 23,67%                      23,50%.

Aus der Mutterlauge der Serinkristalle fiel selbst nach langem Stehen nichts aus. Als dicker Sirup gewogen, hatte sie ein Gewicht von 0,28 g.

Mutterlauge B. Diese wurde mit Schwefelsäure angesäuert und nach dem modifizierten Verfahren von Kossel und Kutscher auf den Gehalt der Hexonbasen untersucht. Statt des vorgeschriebenen Silbersulfates wurde frisch bereitetes Silberoxyd verwendet, da sich dieses erfahrungsgemäß in sehr fein verteiltes Sulfat umsetzt und den Endpunkt der Sättigung leichter und besser erkennen läßt. Es wurden alle drei Basen: Arginin, Histidin und Lysin gefunden und bestimmt. Zur Neutralisation der Argininlösung wurden 58 cm<sup>3</sup> n/5 HNO<sub>3</sub>-Lösung verbraucht, entspricht 1,91 g Arginin.

Der Quecksilberniederschlag des Histidins war hellbraun gefärbt und lieferte, nach der Vorschrift in das Dichlorid verwandelt, 0,64 g salzsaures Histidin. Nach zweimaligem Umkristallisieren zeigten die Kristalle den richtigen Zersetzungspunkt bei 234—235° C.<sup>1)</sup>

0,094 g Substanz gaben 0,1174 g AgCl.  
 In 100 Teilen:      Gefunden      Berechnet für C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub> · 2 HCl  
                                  Cl . . . . 30,88%                      31,14%.

Der das freie Lysin enthaltende Sirup wog 2,37 g und lieferte 2,09 g rohes Lysinpicrat, welches dreimal umkristallisiert wurde. Aus dem ersten Anschuß der schönen Kristalle, welche bei 105° getrocknet den richtigen Zersetzungspunkt bei 250° zeigten, wurden zwei Analysen gemacht:

I. 0,2030 g Substanz gaben 0,2880 g CO<sub>2</sub> und 0,0856 g H<sub>2</sub>O,  
 II. 0,1200 g      „      „      0,1696 g CO<sub>2</sub>      „      0,0511 g H<sub>2</sub>O.

In 100 Teilen:      Gefunden      Berechnet für C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> · C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>

	I.	II.
C . . . .	38,69%;	38,54%;
H . . . .	4,71%;	4,76%;
		38,40%;
		4,53%;

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. Bd. 28, S. 382.

Es wurden demnach bei der Hydrolyse von 50 g Sericin (Wassergehalt 16,38%) gefunden:

Tyrosin . . . . .	2,37 g
Leucin . . . . .	0,75 g
Serin . . . . .	2,85 g
Histidindichlorid . . . . .	0,64 g
Arginin . . . . .	1,91 g
Lysinpicrat . . . . .	2,09 g.

Umgerechnet auf die Trockensubstanz in Prozentzahlen der roh isolierten Verbindungen:

Tyrosin . . . . .	5,69%
Leucin . . . . .	1,79%
Serin . . . . .	6,81%
Arginin . . . . .	4,56%
Lysin . . . . .	1,96%
Histidin . . . . .	1,02%

