

# Ueber die Vertheilung des Stickstoffs im Eiweissmolekül.

Von

Cand. med. **Walther Hausmann** (aus Meran).

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Strassburg. Neue Folge. Nr. 18.)

(Der Redaction zugegangen am 14. Februar 1899.)

Die Merkmale, die uns derzeit für die Unterscheidung der einzelnen Eiweissstoffe, als Albumine, Globuline, Vitelline, Caseine u. s. w., zur Verfügung stehen, betreffen zum grössten Theile Eigenschaften, die von der Constitution dieser Stoffe anscheinend unabhängig sind. In neuerer Zeit pflegt man daher mit Recht gerade auf jene Reactionen erhöhtes Gewicht zu legen, welche, wie die Abspaltbarkeit von Schwefel- oder Nucleingruppen, die Millon'sche Probe, die Furfurolreactionen, einen mehr oder minder sicheren Hinweis auf constitutionelle Verschiedenheiten geben.

Nun ist es durch eine Reihe mühevoller Untersuchungen nach und nach gelungen, die wesentlichen Spaltungsprodukte der Eiweisskörper klar zu legen. Für die physiologische Verwerthung kann aber diese Erkenntniss nur dadurch fruchtbar gemacht werden, dass man über das Vorkommen der die Eiweisskörper constituirenden Gruppen nicht bloss qualitativ, sondern auch quantitativ Aufschluss erhält. Quantitative Zerlegung der Eiweisskörper, namentlich durch Einwirkung von Säuren, haben vor Allem Hlasiwetz und Habermann,<sup>1)</sup> in jüngster Zeit wieder R. Cohn<sup>2)</sup> angestrebt.

Aber selbst wenn auf diesem Wege durch möglichste Isolirung der einzelnen krystallisirten Spaltungsprodukte das gesteckte Ziel erreichbar sein sollte, so bleibt ein solches Verfahren doch nur dort anwendbar, wo das Ausgangsmaterial in erheblichen Mengen zugänglich ist. Ueberdies setzt es monatelange Arbeit behufs Trennung und Reinigung der ein-

1) Annalen der Chem. u. Pharm., Bd. 169, S. 50.

2) Diese Zeitschrift, Bd. XXII, S. 153 u. Bd. XXVI. S. 395.

zelenen Spaltungsprodukte voraus. In Fällen, wo die Eiweissstoffe nur in geringer Quantität, grammweise, zur Verfügung stehen, ist auf diesem Wege höchstens qualitativer Aufschluss zu erreichen.

Man kann aber einen gewissen orientirenden Einblick in die Zusammensetzung eines Eiweisskörpers auch erhalten, ohne die einzelnen Spaltungsprodukte isolirt und gewogen zu haben, wenn man die verschiedene Bindungsweise des Stickstoffes in demselben genauer bestimmt. Soweit alle bisher ausgeführten Spaltungen der Eiweisskörper lehren, enthalten sie den Stickstoff 1) in einer Form, die bei Einwirkung von Säuren und Alkali leicht zur Bildung von Ammoniaksalz Veranlassung gibt, Amidstickstoff (Ammoniakstickstoff, locker gebundener Stickstoff); 2) in einer Form, in der er durch Säuren gar nicht, durch Alkali nur allmählich und unvollkommen abgespalten wird, und zwar ist das der Stickstoff der Amino- und Diaminosäuren (resp. ihrer Derivate). Dieser lässt sich wieder trennen in solchen, der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Verbindungen angehört, also der Diaminocaprinsäure (Lysin), Guanidinaminovaleriansäure (Arginin) und dem Histiidin — ich will diesen Stickstoff vorläufig kurz Diaminostickstoff nennen —, und in solchen, der durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Verbindungen angehört, d. h. den die grosse Masse der Eiweisskörper darstellenden Monamino-säuren, dem Leucin, Tyrosin, der Asparaginsäure, Glutaminsäure u. a. (Monaminostickstoff).

Aehnlich nun der Bestimmung des Schwefels lässt sich auch die Bestimmung der Bindungsweise des Stickstoffes im Eiweissmolekül für die Charakterisirung der einzelnen Eiweisskörper benutzen. Die so gewonnenen Daten sind schon deshalb von Wichtigkeit, weil sie einen annähernd quantitativen Ueberblick über die Mengen der wichtigsten Spaltungsprodukte auf kurzem Wege ermöglichen.

Ich bin daher auf Wunsch von Herrn Professor Hofmeister im verflorenen Sommersemester daran gegangen, einige Proteinstoffe der genaueren Untersuchung in dieser Richtung zu unterziehen, indem ich in ihnen die Mengen des

Amid-, Diamino- und Monaminostickstoffes nach Möglichkeit genau bestimmte. Für eine solche Untersuchung war auch insofern die Gelegenheit günstig, als zur Zeit wenigstens einzelne Eiweissstoffe in ausreichend reinem, zum Theil krystallisirtem Zustande zugänglich geworden sind. Ich habe damit einen Weg weiter verfolgt, der, im Anschluss an die Erfahrungen von Hlasiwetz und Habermann, von O. Nasse<sup>1)</sup> in ausführlichen Versuchen eingeschlagen worden ist. Nasse bestimmte an verschiedenen Eiweisskörpern und Produkten, die er aus ihnen durch Einwirkung von Säuren oder Alkali erhielt, den Gehalt an «locker gebundenem» Stickstoff. Dabei erwies sich das Austreiben desselben durch Kochen mit Baryt als nicht entsprechend, weil Baryt allmählich auch fester gebundenen Stickstoff angreift (vermuthlich zunächst jenen der  $-CNH-NH_2$ -Gruppen). Wohl aber erhielt er übereinstimmende Werthe, wenn er zuerst mit siedender Salzsäure zersetzte und das abgespaltene Ammoniak nach Zusatz von Baryumhydroxyd abdestillirte.

Die Bestimmung der Bindungsweise des übrigen Stickstoffes ist erst in neuester Zeit gelegentlich von E. Schulze<sup>2)</sup> bei Untersuchung der Spaltungsprodukte von pflanzlichen Eiweisskörpern durchgeführt worden, behufs quantitativer Ermittlung der vorhandenen Diaminosäuren. An reinen thierischen Eiweissstoffen sind ähnliche Untersuchungen meines Wissens überhaupt noch nicht ausgeführt.

Ich habe für meine Untersuchung herangezogen: krystallisirtes Eialbumin, krystallisirtes Serumalbumin, Serumglobulin, Casein und Leim.

#### Versuchsanordnung.

Die Untersuchung gliederte sich in jedem Falle: 1) in Spaltung des Eiweisskörpers mit siedender concentrirter Salzsäure, 2) Bestimmung des Amidstickstoffes durch Abdestilliren des gebildeten Ammoniaks mit Magnesia, 3) Fällung der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Verbindungen und Bestimmung des in den Niederschlag gegangenen Stickstoffs nach Kjeldahl,

1) Pflüger's Archiv, Bd. VI, S. 589 u. Bd. VII, S. 139.

2) Diese Zeitschrift, Bd. XXIV, S. 276 u. Bd. XXV, S. 360.

4) Bestimmung des durch Magnesia nicht austreibbaren, durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Stickstoffs nach Kjeldahl.

Das dabei von mir benutzte Verfahren war im Einzelnen das Folgende:

Ca. 1 gr. der trockenen Substanz wurde in einem Kolben mit Steigrohr mit etwa 20 ccm. concentrirter Salzsäure fünf Stunden lang im Sieden erhalten. Ich habe mich überzeugt, dass längere Säureeinwirkung an den Resultaten nichts ändert. Hingegen dürfte allzu kurzes Kochen zu vermeiden sein, weil sonst Gefahr vorliegt, dass etwa entstandene Albumosen und Peptone der Zersetzung entgehen und hinterher in den Phosphorwolframsäureniederschlag übergehen.

Zum Austreiben des in der Lösung als Chlorammonium vorhandenen Ammoniaks wurde Magnesia benutzt, wie dies abweichend von O. Nasse schon E. Schulze gethan hat, um eine weitere Abspaltung von Stickstoff, wie sie durch Baryt eintreten könnte, zu vermeiden. Die Magnesia wurde vorher in kleinen Portionen geglüht, dann in einen Destillationskolben mit Wasser gebracht und eine Stunde lang im Sieden erhalten, um jede Spur von etwa vorhandenem Ammoniak zu vertreiben. Sodann wurde die auf ein geringes Volumen eingedampfte Flüssigkeit erkalten gelassen und die vorher im Becherglase mit Magnesia vorsichtig neutralisirte Zersetzungsflüssigkeit hinzugefügt. Es empfiehlt sich, langsam unter Abkühlen zu neutralisiren, um einen Stickstoffverlust in Folge von Erwärmung der Flüssigkeit zu vermeiden. Die in den Kolben gebrachte Flüssigkeit wurde der Destillation unterworfen, das entweichende Ammoniak in  $\frac{1}{10}$ -Normalschwefelsäure aufgefangen.

Nach Beendigung der Destillation wurde der Rückstand im Kolben mit Salzsäure gelöst, die Lösung auf ein kleines Volumen gebracht, in ein Becherglas übergeführt, mit Phosphorwolframsäurelösung ausgefällt und der Niederschlag 24 Stunden sich selbst überlassen. Nach dieser Zeit wurde er aufs Filter gebracht und mit verdünnter salzsäurehaltiger Phosphorwolframsäurelösung gewaschen, bis die Flüssigkeit nicht mehr gelbgefärbt ablief. Filter und Niederschlag überführte ich in einen Messcylinder, löste den Niederschlag mit der nöthigen Menge

starken Alkalis, die Lösung sammt dem vertheilten Papiere brachte ich auf ein bestimmtes Volumen und filtrirte ab. In einem aliquoten Theile des Filtrates wurde dann die Bestimmung des Stickstoffs nach Kjeldahl durchgeführt.

Das Filtrat vom Phosphorwolframsäureniederschlag sammt den Waschwässern wurde auf 500 ccm. gebracht und in davon entnommenen 100 ccm. nach Einengen auf ein kleines Volumen der Stickstoffgehalt nach Kjeldahl bestimmt.

Die Zersetzung der phosphorwolframsäurehaltigen Flüssigkeiten gestaltet sich ziemlich schwierig. Es ist nöthig, um starkes Stossen zu vermeiden, auf 50 ccm. Flüssigkeit etwa 30 ccm. Kjeldahl-Säure zu nehmen und die Oxydation durch Permanganat zu befördern. Die Mischung wird abgekühlt, mit Permanganat versetzt und nun längere Zeit, etwa über Nacht, stehen gelassen, hierauf erst in gewöhnlicher Weise erhitzt. Um den bei Schwefelsäurezusatz entstehenden Niederschlag nicht überspülen zu müssen, nahm ich die Zersetzung in einem 1 Liter fassenden Destillationskolben aus Jenaer Glas vor. Eine vollständige Zersetzung ist erst nach andauerndem (öfters 10, selbst 20 Stunden währendem) Kochen zu erzielen. Als sicherstes Zeichen der erfolgten Zersetzung ist das reichliche Auftreten eines gelb gefärbten Niederschlages (Wolframtrioxyd) anzusehen. Die Anwesenheit grosser Mengen von Phosphorwolframsäure ist wegen der Nothwendigkeit, den Niederschlag mit einer diese Säure enthaltenden Lösung auszuwaschen, nicht zu vermeiden. Ich habe es vorgezogen, die daraus sich ergebende Unbequemlichkeit mit in Kauf zu nehmen, um nicht durch Entfernung der Phosphorwolframsäure mit Baryt neue Fehlerquellen in das Verfahren einzuführen. Es ist selbstverständlich, dass eine Aufnahme von Ammoniak aus der Laboratoriumsluft seitens der sauren Flüssigkeiten zu vermeiden ist.

Das Verfahren dürfte in der angegebenen einfachen Gestalt zur raschen Orientirung über die Stickstoffbindung in den reinen Eiweisskörpern insofern sehr geeignet sein, als es bloss geringe Mengen Ausgangsmaterial erfordert. Da es öfter in Anwendung kommen dürfte, sei noch auf seine Fehlerquellen besonders aufmerksam gemacht.

Zunächst ist zu bemerken, dass die Zerkochung der Eiweisskörper mit concentrirter Salzsäure (ich habe nicht rauchende verwendet) ohne Zusatz von Zinnchlorür, eine dunkel gefärbte Zersetzungsflüssigkeit liefert, die ein stickstoffhaltiges, aber von mir nicht weiter berücksichtigtes Spaltungsprodukt, Schmiedeburg's Melanoidinsäure, enthält.<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Archiv f. exper. Path. u. Pharmacol., Bd. XXXIX, S. 1.

Diese Substanz verbleibt später im Phosphorwolframsäureniederschlag und vermehrt demgemäss die Menge des Diaminostickstoffs. Nach Schmiedeberg beträgt ihre Menge höchstens 1—2 % des angewandten Eiweisses, und da sie einen Stickstoffgehalt von 5—8 % besitzt, so ergibt dies, in Stickstoffprocenten gerechnet, im ungünstigsten Falle ein fehlerhaftes Plus von 0,16 %. Es ist jedoch zu bemerken, dass die Melanoidinsäure, wie Nencki bemerkt, der chromogenen Gruppe des Eiweisses entstammt und diese selbst bei Trypsinverdauung als durch Phosphorwolframsäure fällbares Produkt erhalten wird. In welcher Form die chromogene Gruppe bei der Säurespaltung, abgesehen von der Melanoidinsäure, auftritt, ist unbekannt, ebenso, ob sie nicht auch bei Vermeidung der Melanoidinsäurebildung, z. B. beim Kochen mit Salzsäure und viel Zinnchlorür, durch Phosphorwolframsäure fällbare Produkte liefert. Durch entsprechende vergleichende Versuche dürfte sich später Aufklärung über diesen Punkt gewinnen lassen. Bemerkt sei, dass Eialbumin und Casein am meisten, Leim am wenigsten Melanoidinsäure lieferten.

Eine weitere Fehlerquelle liegt im Auswaschen des Phosphorwolframsäureniederschlags. Dasselbe ist einerseits, angesichts des grossen Volumens, nur schwierig bis zur vollständigen Beseitigung der Mutterlauge durchzuführen, andererseits ist zu befürchten, dass bei fortgesetztem Waschen vom Niederschlag kleine Antheile in Lösung gehen. Ueberdies setzt die Nothwendigkeit, verdünnte Phosphorwolframsäure als Waschflüssigkeit zu benutzen, dem Auswaschen eine Grenze, wenigstens dann, wenn man der Kontrolle wegen auch den Stickstoff der Amidosäuren bestimmen will, da sich, wie erwähnt, wegen des grossen Phosphorwolframsäuregehaltes die Bestimmung des Monaminostickstoffs nach Kjeldahl kaum mehr ausführen lässt. Ich habe in Vergleichsversuchen, wo auf die Bestimmung des Stickstoffs im Filtrat verzichtet wurde, das Auswaschen endgültig durchgeführt, habe aber in Bezug auf Stickstoffgehalt des Phosphorwolframsäureniederschlags keine Differenzen mit nach gewöhnlicher Form ausgeführten Versuchen erhalten.

Eine geringe Ungenauigkeit führt die Vernachlässigung

des Filtrervolumens bei Abmessung der alkalischen Lösung des Phosphorwolframsäureniederschlags mit sich.

Beträgt das Trockengewicht des Filters von der verwendeten Grösse 2 gr. und berechnet man auf Grund des specifischen Gewichtes der Cellulose sein Volumen zu etwa 1,3 ccm., so bedeutet die Vernachlässigung dieser Grösse gegenüber dem Gesamtvolumen von gewöhnlich 250 ccm. einen Fehler von etwa 0,5 % des gesammten Stickstoffgehalts des Niederschlags; also z. B. bei 3 % Diaminostickstoff = 0,015 %.

Eine weitere Ungenauigkeit ist darin gegeben, dass bei Bestimmung des Amino- und Diaminostickstoffes stets nur ein aliquoter Theil der Lösung zur Bestimmung genommen wurde, der Versuchsfehler somit eine betreffende Multiplication erfahren musste.

Viel grösser als die bisher angeführten Fehler sind diejenigen, die durch unvollkommene Zersetzung mit Kjeldahl-Schwefelsäure, angesichts der geringen Zersetzbarkeit der betreffenden Säuren selbst und des hindernden Einflusses grosser Mengen von beigemengter Phosphorwolframsäure, bedingt sein können. Ich habe mich vor diesem Fehler dadurch zu schützen gesucht, dass ich den Stickstoffgehalt aller einzelnen Fractionen bestimmte und die Summe mit dem Stickstoffgehalt der ursprünglichen reinen Substanz verglich. Beim Serumalbumin habe ich in dieser Richtung keine genügende Uebereinstimmung erzielen können, weshalb ich die gefundenen Werthe nicht mittheile, mit Ausnahme der Zahlen für den Amidstickstoff, welche solchen Versuchsfehlern überhaupt nicht unterliegen.

Im Hinblick auf diese Schwierigkeiten möchte ich trotz ausgeführter zahlreicher Kontrolversuche die nach dem angeführten Verfahren erhaltenen Werthe nicht als absolut genaue ansehen. Bei den Verschiedenheiten jedoch, welche sich in Bezug auf Vertheilung des Stickstoffs in den einzelnen Eiweisskörpern herausgestellt haben, sind die gefundenen Zahlen für deren Charakterisirung und Unterscheidung, sowie für die Beurtheilung der Beziehungen derselben zu anderen Eiweissstoffen vollkommen ausreichend.

In Betreff der untersuchten Eiweisspräparate sei bemerkt:

Krystallisirtes Eialbumin wurde nach Hofmeister<sup>1)</sup>.

---

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XIV, S. 165 und Bd. XXIV, S. 159.

dargestellt und aus Ammonsulfatlösung umkrystallisirt, bis sich keine amorphen Beimengungen mehr zeigten. Die reinen Krystalle wurden durch Stehenlassen mit einem Gemenge von zwei Theilen Alkohol und einem Theile Wasser bei einer Temperatur von 90° coagulirt. Durch die Alkoholcoagulation sollten die etwa durch Kochen mit Wasser veranlassten hydrolytischen Veränderungen vermieden werden. Die coagulirten Krystalle wurden auf dem Seidenfilter mit Wasser so lange gewaschen, bis im Filtrate mit Nessler's Reagens kein Ammoniak mehr nachweisbar war.

Krystallisirtes Serumalbumin wurde nach Gürber<sup>1)</sup> aus Pferdeblut gewonnen und ebenso behandelt wie Eialbumin.

Serumglobulin (aus Pferdeblut) wurde nach Reye<sup>2)</sup> vom Fibrinogen getrennt. Versetzt man 2 Vol. Serum mit 5,2 Vol. Wasser und 2,8 Vol. gesättigter Ammonsulfatlösung, so ist die Ausfällung des Fibrinogens beendet. Bei 2 Theilen Serum, 5,1 Wasser und 2,9 Ammonsulfatlösung beginnt Globulin zu fallen. Man thut gut, auf 2 Vol. Serum 5 Vol. Wasser und 3 Vol. Ammonsulfatlösung zu nehmen, da man auf diese Weise sicher alles Fibrinogen entfernt. Der abfiltrirten Lösung wird so viel Ammonsulfatlösung zugesetzt, bis eine nahezu halb gesättigte Lösung von Ammonsulfat resultirt. Dabei fällt Globulin vollständig aus. Es ist vortheilhaft, der Lösung einige Cubikcentimeter weniger Ammonsulfat zuzusetzen, als bis zur halben Sättigung, da sonst aus concentrirter Eiweisslösung leicht Serumalbumin auszufallen beginnt. Das erhaltene Serumglobulin wurde mehrfach in Wasser gelöst und mit Ammonsulfatlösung wieder gefällt, die Lösung hierauf in flachen Schalen stehen gelassen, bis sich durch freiwilliges Verdunsten derselben das Globulin in Globuliten abschied. Es wurde wie das Eialbumin weiter behandelt.

Zur Untersuchung des Caseins verwendete ich ein nach Hammarsten dargestelltes sehr reines Präparat von Merck.

Leim untersuchte ich in der Form der reinsten Gelatine des Handels.

Die mit den einzelnen Eiweisskörpern ausgeführten Versuche lasse ich in tabellarischer Anordnung folgen. Die Zahlen beziehen sich auf bei 110° getrocknete Substanz.

Da die käufliche Gelatine nicht als eiweissfrei anzusehen ist, habe ich von einer Gesamtstickstoffbestimmung in derselben abgesehen. Die Summe der erhaltenen Stickstoffwerthe habe ich mit 18%, dem annähernden Stickstoffgehalt des Glutins, in Rechnung gestellt.

1) Sitzungsberichte der Würzburg. phys.-med. Gesellschaft 1894 u. 1895.

2) W. Reye, Ueber Nachweis und Bestimmung des Fibrinogens. Diss. Stassburg 1898.



**A. Bestimmung des Amidstickstoffes.**

**Tabelle I.**

	Gewicht der Probe	N des mit MgO ab- destillirten NH <sub>3</sub>	Amid-N	
			in %	Mittel
Krystallisirtes Eieralbumin	1,3143	0,0168	1,28	1,28
	1,2012	0,0155	1,29	
Krystallisirtes Serumalbumin	1,0080	0,0107	1,06	1,01
	1,5346	0,0146	0,95	
	1,5965	0,0161	1,01	
Serumglobulin	1,2145	0,0169	1,39	1,41
	0,9210	0,0132	1,43	
Casein	0,8370	0,0178	2,13	2,10
	0,8370	0,0172	2,07	
Leim		0,0169	0,29	0,29
		0,0170	0,29	

**B. Bestimmung des Diaminostickstoffes.**

**Tabelle II.**

	Gewicht der Probe	Volumen der Lösung des Phos- phorwolf- ramsäure- nieder- schlages	Volumen des zur Be- stimmung ver- wendeten Theiles	Gefunden N			
				direkt in gr.	in der ganzen Probe	%	Mittel %
Krystallisirtes Eieralbumin	1,2012	250	60	0,0098	0,0408	3,39	3,20
	1,2012	250	60	0,0087	0,0361	3,01	
Serumglobulin	0,9210	150	50	0,0122	0,0366	3,97	3,95
	0,9210	150	45	0,0109	0,0363	3,94	
Casein	0,8370	250	100	0,0059	0,0147	1,75	1,84
	0,8370	250	100	0,0054	0,0135	1,61	
	1,6695	250	50	0,0051	0,0255	1,52	
	1,6695	250	50	0,0078	0,0390	2,33	
	2,3040	248	50	0,0093	0,0461	2,00	
Leim		250	10	0,0146	0,3650	6,28	6,45
		250	10	0,0155	0,3875	6,62	

C. Bestimmung des Monaminostickstoffs.

Tabelle III.

	Gewicht der Probe	Volumen des Phos- phorwol- fram- säure- filtrates ccm.	Volumen des zur Be- stimmung ver- wendeten Theiles ccm.	Gefunden			
				direkt	in der ganzen Probe	%	Mittel %
Krystallisirtes Eieralbumin	1,3143	500	120	0,0308	0,1283	9,76	10,17
	1,3143	500	60	0,0167	0,1392	10,59	
Serumglobulin	1,2145	350	100	0,0393	0,1375	11,32	10,81
	0,9210	500	90	0,0178	0,0988	10,72	
	1,2145	350	100	0,0361	0,1263	10,40	
Casein	0,8370	500	100	0,0202	0,1010	12,06	11,93
	0,8370	500	100	0,0198	0,0990	11,81	
Leim		500	25	0,0332	0,6640	11,39	11,26
		500	25	0,0324	0,6480	11,12	

In nachstehender Tabelle sind des besseren Vergleiches halber die procentischen Mittelwerthe zusammengestellt. In der 5. Columnne ist die Summe der gefundenen Stickstoffwerthe angeführt, in der 6. Columnne der Stickstoffgehalt der betreffenden Stoffe auf Grund der Analyse des angeführten Autors.

Tabelle IV.

	Amid- stick- stoff	Di- amino- stick- stoff	Mon- amino- stick- stoff	Summe	Stickstoffgehalt	
						nach
Krystallisirtes Eieralbumin	1,28	3,20	10,17	14,65	15,00	Hofmeister
Serumglobulin	1,41	3,95	10,81	16,17	15,83	Hammarsten
Casein	2,10	1,84	11,93	15,87	15,7	Hammarsten
Leim	0,29	6,45	11,26	18,00	—	—

Berechnet man aus diesen Zahlen, wieviel Procent des Gesamtstickstoffes in Form von Amid-, Diamino- und Mon-

aminostickstoff enthalten sind, unter Zugrundelegung der von den angeführten Autoren angegebenen Stickstoffwerthe, so ergibt sich:

Tabelle V.

	Amidstickstoff %	Diamino- stickstoff %	Monamino- stickstoff %	Stickstoff in Summe gefunden statt 100 %
Krystallisirtes Eieralbumin	8,53	21,33	67,80	97,66 %
Krystallisirtes Serumalbumin	6,34	—	—	—
Serumglobulin	8,90	24,95	68,28	102,13 %
Casein	13,37	11,71	75,98	101,06 %
Leim	1,61	35,83	62,56	—

Die Zahlen der letzten Columne zeigen, inwieweit die Summe der für die Eiweisskörper gefundenen Stickstoffwerthe dem thatsächlichen Stickstoffgehalte entspricht. Die Differenzen, die sich da gegen 100% ergeben, können in Hinblick auf die Zahl der Summanden nicht als erheblich angesehen werden.

In Betreff der ermittelten Zahlen ist noch Einiges zu bemerken. Was den Amidstickstoff anbelangt, dessen Bestimmung sich, wie erwähnt, mit grosser Schärfe durchführen lässt, ergibt sich eine erfreuliche Uebereinstimmung mit den Zahlen, welche andere Autoren unter ähnlichen Verhältnissen an Eiweisskörpern erhalten haben. Namentlich sind die Zahlen aus Nasse's zweiter Abhandlung in dieser Richtung von Interesse, wobei jedoch zu beachten ist, dass er keineswegs mit reinen Eiweisskörpern gearbeitet hat. Ich stelle nachstehend die von mir gefundenen Werthe mit den von Nasse ermittelten und von mir in entsprechender Weise umgerechneten Zahlen neben einander.

N a s s e		H a u s m a n n	
Coagulirtes, käufliches Eieralbumin	1,46	Krystallisirtes Eieralbumin	1,28
Serumeiweiss (globulinhaltig)	1,18	Krystallisirtes Serumalbumin	1,01
Casein I	1,76	Casein nach Hammarsten	2,10
Leim	0,45	Leim	0,29

Wie man sieht, entfernen sich die Zahlen Nasse's kaum weiter von den meinen, als durch die ungleiche Reinheit der verwendeten Präparate erklärt werden kann. Ueberhaupt kann man nach meinen Erfahrungen die Menge des Amidstickstoffes als eine scharf bestimmbare und für die einzelnen reinen Eiweisskörper sehr charakteristische Grösse bezeichnen. Sie liegt für die untersuchten ächten Eiweisskörper zwischen 1—2<sup>o</sup>/<sub>o</sub>, und damit stimmt auch, dass nach Erfahrungen über die Einwirkung von Natronlauge (Blum und Vaubel)<sup>1)</sup> aus Eieralbumin etwa 1—2<sup>o</sup>/<sub>o</sub> des gesammten Stickstoffes in Form von Ammoniak abgespalten werden kann, ferner dass H. Schiff<sup>2)</sup> den Stickstoffgehalt von Eieralbumin nach Einwirkung von salpetriger Säure um etwas mehr als 1<sup>o</sup>/<sub>o</sub> vermindert fand. Danach ist zu vermuthen, dass der durch Säure abspaltbare Stickstoff auch der Abspaltung durch Natronlauge und salpetriger Säure unterliegt. Das Verhalten stimmt vorläufig am besten mit der schon von O. Nasse ausgesprochenen Vermuthung, dass der leicht abspaltbare Stickstoff im Eiweissmolekül ursprünglich in-CONH<sub>2</sub>-Gruppen vorhanden sei.

Da der Diaminostickstoff, wie oben erwähnt, bis auf den etwa der chromogenen Gruppe angehörigen Antheil in Form von Arginin, Lysin und Histidin vorhanden sein dürfte, so ge-

1) Journal f. prakt. Chemie, Bd. LVII, S. 378.

2) Chem. Berichte, Bd. XXIX, S. 1354.

stätten die gefundenen Werthe annähernd eine Beurtheilung, in welchen Quantitäten die genannten Diaminosäuren im Eiweiss enthalten sein können. Unter der Annahme, dass der gesammte Diaminostickstoff in Form von Arginin vorhanden wäre, würde sich für die untersuchten Substanzen folgender Gehalt daran ergeben:

Krystallisirtes Eialbumin: 9,92%, Serumglobulin: 12,24%, Casein: 5,70%, Leim: 20,05%.

Da aber diese Eiweisskörper neben Arginin vermuthlich noch die stickstoffärmeren Diaminverbindungen enthalten, so dürften die angeführten Zahlen entsprechend zu niedrig sein.

Da die Bestimmung des Gehaltes der Eiweissstoffe an den einzelnen Diaminosäuren von anderer Seite in Angriff genommen ist, so konnte ich auf weitere Untersuchungen in dieser Richtung verzichten.

Zum Schlusse sei auf einige physiologische Schlussfolgerungen hingewiesen.

Bei Betrachtung der Tabelle V sieht man, dass das Globulin in der Vertheilung des Stickstoffes sich vom Eialbumin entfernt, noch mehr aber das Casein; der Leim fällt vollends aus der Reihe. Man kann hieraus entnehmen, welche zum Theil tiefgreifenden Veränderungen öfter erfolgen müssten, wenn Eiweissstoffe, die man als einander nahestehend auffasst, in einander übergehen sollen. So ist z. B. die Annahme, dass Serumglobulin unter Anlagerung einer Nucleingruppe in Casein übergehen sollte, schlechtweg auszuschliessen. Ebenso muss bei Bildung der Collagens aus Eiweiss geradezu eine Umwälzung im Molekül stattfinden. Der allgemeine Brauch, bei Beurtheilung von Stoffwechselvorgängen Eiweissarten verschiedener Herkunft einfach gleich zu setzen, ist sonach, streng genommen, unrichtig. Dabei ist zu berücksichtigen, dass die von mir untersuchten Eiweisskörper keineswegs die äussersten Fälle in Bezug auf Verschiedenheit der Eiweissstoffe darstellen. Die Weite, innerhalb deren sich die Verschiedenheiten bewegen können, lässt sich bis jetzt am besten beurtheilen bei Nebeneinanderstellen der von mir für Amid- und Diaminostickstoff des Caseins und des krystallisirten Eialbumins gefundenen

Werthe mit den von E. Schulze für einen Eiweisskörper der Coniferensamen gefundenen Zahlen.

	Amidstickstoff	Diamino- stickstoff
Eiweisskörper der Coniferensamen	10,3	32,8
Krystallisirtes Eieralbumin	8,53	21,33
Casein	13,37	11,71

Es ist wohl als ausgeschlossen anzusehen, dass Protein-  
stoffe von so grosser Verschiedenheit der Stickstoffbindung sich  
physiologisch in jeder Beziehung ersetzen können. Da neben den  
Monamino- und Diaminosäuren auch die anderen Complexe des  
Eiweissmoleküls, die Kohlehydrat-, aromatische und chromogene  
Gruppe, für den Organismus, und zwar in ganz verschiedener  
Richtung Bedeutung besitzen, so ist ersichtlich, dass eine jede  
weitere quantitative Aufklärung des Aufbaues der Proteinstoffe  
unsere Vorstellungen über Werth und Rolle derselben als Nähr-  
und Baumaterial des Organismus in einschneidender Weise  
beeinflussen muss.