

Mittheilungen des agriculturchemischen Laboratoriums der Universität Königsberg.

S. Ueber das Verhalten des Conglutins aus Lupinensamen zu Salzlösungen;

von

H. Ritthausen.

Die im Jahre 1868 von mir veröffentlichten Untersuchungen über die Eiweisskörper der Lupinensamen¹⁾ führten zur Gewinnung eines Eiweisskörpers, der nach Zusammensetzung und Eigenschaften wesentlich verschieden war nicht nur von den thierischen, sondern auch den bekannten pflanzlichen Proteinsubstanzen, sehr grosse Aehnlichkeit zeigte mit der von mir aus bitteren und süssen Mandeln dargestellten Substanz und einen gleich hohen oder höheren Stickstoffgehalt als Glutin (thier. Leim) und der im Gluten (Kleber) enthaltene Pflanzenleim (Gliadin) besass; mit Rücksicht auf dies Stickstoffverhältniss nannte ich den Körper Conglutin. Ich hatte ihn, um es kurz anzugeben, in folgender Weise dargestellt. Das stark sauer reagirende Pulver der Samen (sie enthalten grössere Mengen Citronensäure, Oxalsäure und wenig Aepfelsäure) wurde mit der 6—8fachen Menge Wasser durchrührt, dann Kalilösung bis zur bleibenden alkalischen Reaction hinzugesetzt, die hiernach erhaltene filtrirte oder decantirte Lösung mit Essigsäure gefällt, und der in reichlicher Menge entstandene, rasch zu einer dichten, klebrigen, zähflockigen Masse sich absetzende Niederschlag mit Wasser, Weingeist, absolutem Alkohol gewaschen, mit Aether extrahirt u. s. w.; durch Wiederauflösen in mit Kalihydrat versetztem Wasser (1:1000), Filtriren, Fällen der filtrirten Lösung u. s. w. wurde die Substanz möglichst rein gewonnen. Die Ausbeute war beträchtlich, gelbe Lupinen gaben 15—33 pCt. trockne Rohsubstanz.²⁾

¹⁾ Dies. Journ. **103**, 78—85; auch Ritthausen, die Eiweisskörper der Getreidearten etc., S. 188—203.

²⁾ Eine Darstellung in grösserem Maassstabe ergab von 500 Pfd. Samen 110 Pfd. Rohprodukt = 22 pCt.

Für gereinigte aschefreie Substanz fand ich als mittlere Zusammensetzung (N mittelst Natronkalkverbrennung):

C = 50,83; H = 6,92; N = 18,33; S = 0,91; O = 23,24 pCt.

Bei Bestimmung des N-Gehalts verschiedener, aus den Rohprodukten dargestellter, möglichst reiner Präparate wurden 17,77, 17,87, 18,12, 18,33 pCt., für weniger reine 17,61, 17,58 pCt. N gefunden (sämmtlich berechnet auf aschehaltige Substanz).

Bezüglich des Verhaltens des Conglutins zu Salzlösungen ergaben die früheren Untersuchungen, dass es in Lösungen bis zu 1% Salzgehalt in geringer Menge nur löslich ist, in den Flüssigkeiten jedoch, aus welchen das Rohprodukt gefällt ist und die den grössten Theil des Kaliumphosphats, Chlorkaliums, der Citronen-, Aepfel- und Oxalsäure (als Kalisalze) enthalten, beträchtliche Mengen davon gelöst bleiben, ebenso auch in den Mutterlaugen des aus Lösungen des Roh-Conglutins gefällten reineren Präparates; Kupfersalzlösungen erzeugten in diesen Mutterlaugen bedeutende Niederschläge kupferhaltiger Proteinsubstanz, und sofern diese ebenfalls für Conglutin angesehen wird, wäre damit zum Mindesten erwiesen, dass die Fällung bei Gegenwart von Salzen unvollständig ist, und ein nennenswerther Theil des Körpers gelöst bleibt.

Ueber das vor einiger Zeit erst untersuchte Verhalten zu concentrirteren Salzlösungen habe ich in diesem Journal [2] 24, 221—224 vorläufige Mittheilungen gemacht. Die Versuche zeigen, dass sowohl von den rohen, als auch den gereinigten, nach dem in Kürze bezeichneten Verfahren dargestellten Conglutinpräparaten in 5proc. Kochsalzlösung von gewöhnlicher Temperatur (ebenso in Lösungen von KCl, CaCl₂, NH₄Cl u. a. m.), ein sehr grosser Theil gelöst wird, ein geringerer Theil davon jedoch unlöslich ist, dass diese Substanzen demnach in zwei von einander verschiedene Proteinkörper zerlegt werden.

Ich führte daselbst bereits die Resultate einer Bestimmung des quantitativen Verhältnisses der Gemengtheile für Roh-Conglutin an, und zwar: 1) Menge der aus der Salz-

424 Ritthausen: Verhalten des Conglutins

wasserlösung durch Zusatz von Wasser (4—5faches Volum); 2) der durch schwefelsaures Kupfer zur Mutterlauge von 1) gefällten Substanz, und 3) Menge der unlöslichen Substanz (durch Auflösen in Kaliwasser, Filtriren etc. gereinigt) nebst Verlust und verunreinigende Materien.

1)	= 52,9 pCt.	} 82,1 pCt.
2)	= 14,3 „	
3)	= 15,8 „	
4)	= 17,9 „	(Verlust und Verunreinigungen.)

Eine spätere Bestimmung ergab für 1 u. 2 = 62,5 pCt.

Für gereinigte Präparate (s. oben): a) Substanz, enthaltend 18,06 pCt. N, aschefrei 18,36 pCt. N; b) Substanz, enthaltend 17,6 pCt. N; c) Substanz mit 17,8 pCt. N (b. und c. für aschehaltige Substanz) fand ich:

	a.	b.	c.
1)	61,7	23,4	44,9
2)	7,0	13,9	12,5
3)	29,0	60,4	37,8
Verlust	2,3	2,3	4,8

Die in Salzwasser unlöslichen Rückstände dieser letzteren Präparate lösten sich in Kaliwasser vollständig, ohne wesentliche Trübung auf, so dass sie nach dem Waschen mit Wasser und Alkohol getrocknet, direct gewogen werden konnten.

Das Mengenverhältniss der löslichen und unlöslichen Proteinsubstanz ist in der Art verschieden, dass in den stickstoffreicheren Präparaten der lösliche, in den stickstoffärmeren der unlösliche Proteinkörper vorwaltet.

A. Die salzlösliche Proteinsubstanz.

Durch Zusatz der 4—5fachen Menge Wasser zur Salzwasserlösung wird eine bedeutende Menge Substanz in dichten Flocken abgeschieden, die sich rasch zu Boden setzen und zu einer zähschleimigen, klebrigen, etwas gelb oder bräunlichgelb gefärbten, klaren oder wenig trüben Masse zusammenfliessen; ein anderer Theil bleibt, die Lösung milchig trübend, suspendirt, setzt sich aber bei längerer Ruhe grössentheils ab; in der etwa 1% Salz enthaltenden Mutterlauge

findet man danach noch eine nicht unbedeutende Menge gelöst, und wird durch weiteren Zusatz von Wasser, obwohl starke Trübung eintritt, nichts mehr gefällt. Die Menge der gelösten Substanz steht im Verhältniss zur Salzlösung.

Die Fällung, nach dem Waschen mit Wasser mit Alkohol übergossen, erhärtet bald und verwandelt sich in eine anfangs noch zähe, danach aber bröckliche, krümelnde Masse¹⁾, welche nach dem Trocknen über Schwefelsäure als gelblich gefärbte, weisse, glanzlose (nur grössere Stücke zeigen auf den Bruchflächen Glasglanz), leicht zum feinsten Pulver zerreibliche Substanz erhalten wird.

Ihre Zusammensetzung wurde durch folgende Analysen festgestellt, und hierzu verwandt:

- 1) Präparat aus Rohconglutin;
- 2) Präparat aus in der älteren Weise gereinigtem Conglutin, und zwar: a) aus Conglutin mit 18,06 % N und 1,67 % Asche, aschefrei 18,36 % N; b) aus einem solchen mit 17,6 % N (Aschegehalt nicht bestimmt, s. S. 424);
- 3) Präparat aus Präparat 1) durch Auflösen in Kaliumwasser, Fällen mit Essigsäure und Lösung des Niederschlags in 5proc. Salzwasser u. s. w. dargestellt.

Die Substanzen wurden zur Analyse stets bei 125° bis 130° getrocknet.

1)	0,3119 Grm.	gaben	0,5649 Grm.	CO ₂	und	0,1893 Grm.	H ₂ O.
	0,2819	„	„	0,5124	„	„	0,1714 „
	0,3154	„	„	0,5721	„	„	0,2058 „
							(Verbrennung mit chromsaurem Blei).
	0,2474	„	„	39,000 Ccm.	N bei 21°	und 759 Mm.	
	1,0353	„	„	0,065 Grm.	BaSO ₄ .		
	0,7581	„	„	0,0065	„	Asche.	

¹⁾ Um sie in möglichst fein zertheiltem Zustande zu erhalten, muss nach dem Aufgiessen des Alkohols mit dem Glasstabe gut durchgerührt werden; grössere Stücke sind durch Druck leicht zu zerkleinern; die an den Glaswänden festsitzende Substanz lässt sich, mit Alkohol benetzt, mittelst eiserner Spatel abkratzen. Man fällt am besten in starkwandigen Glasgefässen.

426 Ritthausen: Verhalten des Conglutins

- 2a) 0,2200 Grm. gaben 0,4008 Grm. CO_2 und 0,1370 Grm. H_2O .
0,2576 „ „ 41,08 Cem. N bei $16,4^\circ$ und 759 Mm.
0,8167 „ „ 0,057 Grm. BaSO_4 .
0,6221 „ „ 0,0066 „ Asche.
2b) 0,2739 „ „ 0,4983 „ CO_2 und 0,1736 Grm. H_2O .
0,2713 „ „ 43,87 Cem. N bei $16,8^\circ$ und 747 Mm.
0,8520 „ „ 0,072 Grm. BaSO_4 .
0,7189 „ „ 0,0071 „ Asche.
3) 0,2642 „ „ 0,4852 „ CO_2 und 0,1687 Grm. H_2O .
0,2596 „ „ 40,09 Cem. N bei $14,4^\circ$ und 768 Mm.
0,8781 „ „ 0,0473 Grm. BaSO_4 .
0,2660 „ „ 42,18 Cem. N bei $15,9^\circ$ und 753 Mm.
0,5424 „ „ 0,0016 Grm. Asche.

Hieraus berechnet sich:

	1.			Mittel.	2.		3.	
					a.	b.		
C	49,40	49,57	49,47	49,48	49,686	49,616	50,09	—
H	6,74	6,75	7,25	6,75	6,920	7,02	7,09	—
N	—	17,91	—	17,91	18,52	18,45	18,32	18,31
S	—	0,86	—	0,86	0,96	1,16	0,74	—
Asche	—	0,857	—	0,86	1,06	1,00	—	0,295

Aschefrei:

	1.	2.			3.	
		a.	b.	Mittel.		
C	49,90	50,21	50,11	50,16	50,23	—
H	6,81	7,00	7,06	7,03	7,11	—
N	18,06	18,71	18,63	18,67	18,37	18,36
S	0,86	0,97	1,17	1,07	0,74	—
O	14,37	23,11	23,03	23,07	23,55	—

Der Besprechung dieser analytischen Ergebnisse, sowie der Eigenschaften des Körpers glaube ich noch Angaben über Zusammensetzung und Beschaffenheit einiger direct aus Samen mittelst Salzlösung dargestellter Substanzen vorausschicken zu müssen.

B. Die salzlöslichen Proteïnsubstanzen aus Samen gelber und blauer Lupinen.

Zur Extraction mittelst 5proc. Salzwasser wandte ich das fein gemahlene Pulver der Samen sowohl in unverändertem Zustande, als auch zuvor mit Aether entfettet an. Bei der Behandlung der gelben Lupinen mit Aether wurden die nach

jedesmaligem Durchschütteln aufgeschwemmten feinsten Theilchen mit der Aetherfettlösung abgegossen und für sich gesammelt; sie bildeten nach dem Trocknen eine feinpulverige, mehlige gelblich-weiße Masse, die wegen ihres hohen Gehaltes an Proteïnkörpern Klebermehl genannt sein mag.

Dies Klebermehl enthielt, bei 120° getrocknet (9,66 % Trockenverlust) 10,84 % N oder 59,6 % Proteïnsubstanz ($10,84 \times 5,5$) und 4,41 % Asche.

Die Salzwasserlösungen von unveränderten, wie auch von entfetteten Lupinen klären sich nach Zusatz von Wasser langsam, so dass man mindestens 24 Stunden in der Kälte stehen lassen muss, um möglichst viel an Fällung zu erhalten; diese aber, ebenso die Fällung aus Lösungen von Klebermehl, ist im Wesentlichen von der Beschaffenheit des Niederschlags aus den Lösungen der älteren Conglutinpräparate, nur gemischt mit einem flockig sich ausscheidenden Körper, sie kann demnach nicht für eine reine Substanz gehalten werden.

Zugleich wurden einige Präparate durch Behandlung der Lupinen mit Kaliwasser (Kalilösung zu dem in viel Wasser aufgeschwemmten Pulver bis zur bleibenden alkalischen Reaction), Filtriren, Fällern mit Essigsäure u. s. w. dargestellt, um ihre Zusammensetzung mit der der anderen, mittelst Salzwasser dargestellten Substanzen zu vergleichen.

1. Substanzen aus Klebermehl:

a) mittelst Salzwasser (5 % NaCl);

b) mittelst Kaliwasser.

			Aschefrei.	
	a. ¹⁾	b. ²⁾	a.	b.
C	49,68	49,12	50,40	50,22
H	6,88	6,78	7,00	6,93
N	18,05	17,69	18,34	18,09
Asche	1,60	2,20		
S	nicht best.	—	O + S = 24,26	24,76

- ¹⁾ 0,2770 Grm. gaben 0,4973 Grm. CO₂ und 0,1692 Grm. H₂O.
 0,2901 „ „ 43,92 Cem. N bei 12,1° und 764 Mm.
 0,7148 „ „ 0,0115 Grm. Asche.
²⁾ 0,2458 „ „ 0,4427 „ CO₂ und 0,1501 Grm. H₂O.
 0,3017 „ „ 44,72 Cem. N bei 12,2° und 765 Mm.
 0,7593 „ „ 0,0167 Grm. Asche.

428 Ritthausen: Verhalten des Conglutins

Der Unterschied zwischen beiden Präparaten ist, wie man sieht, sehr gering, wenn die Zusammensetzung für aschefrei verglichen wird.

Die Gehalte des Klebermehls an Proteinsubstanz fand ich, wie folgt, bei Extraction

	mit Salzlösg.	mit Kaliwasser.	Protein, ber. aus dem gef. N (S. 427).
Gefällt durch Wasser	28,36 %	43,90 % (gefällt durch Essigsäure)	
„ „ Cu-Lösung in der Mutterlauge	15,61 „	5,28 „	
	43,97 %	49,18 %	59,6 %

und geht aus diesen Bestimmungen hervor, dass ein beträchtlicher Theil N in anderen, als Proteinverbindungen, darin vorhanden ist.

2. Substanzen aus gepulverten gelben Lupinen.

- Präparat aus rohem Pulver mittelst Salzwasser;
- desgl., nach der Fällung sofort in Kaliwasser gelöst und aus der Lösung mit Essigsäure gefällt;
- desgl., aus fettfreiem Pulver, das zuvor mit Wasser extrahirt ist¹⁾, mit Kaliwasser.

	Aschefrei.		
	a.	b.	c. ²⁾
C	49,85	49,71	49,94
H	6,96	6,81	6,88
N	17,78	18,08	17,94
S	nicht best.	1,00	0,90
Asche	1,45	1,11	1,42

	a.	b.	c.
	50,58	50,26	50,66
	7,06	6,89	6,98
	18,04	18,28	18,20
S	24,32	1,01	0,91
O		23,56	23,25

¹⁾ In Wasser lösen sich, wie ich schon früher bemerkte, ausser einem grossen Theil der Salze und anderer Bestandtheile auch kleine Mengen Proteinsubstanzen auf; die Lösung giebt die bekannten Proteinreactionen, und mit wenig Kupfervitriol und Kali eine violettblaue Flüssigkeit. Die von Vines beobachtete sogenannte Biuretreaction vermochte ich in keinem Falle zu bestätigen. Alkohol fällt daraus eine sehr unreine, zu Untersuchungen völlig ungeeignete Substanz.

²⁾ a. 0,2890 Grm. gaben 0,5283 Grm. CO₂ und 0,1811 Grm. H₂O.
 0,283 „ „ 42,93 Cem. N bei 15,4° und 762,5 Mm.
 0,8335 „ „ 0,0121 Grm. Asche.

Die aus Salzwasserlösung gefällte Substanz a. wurde durch Auflösen in Kaliwasser (sie löste sich leicht und völlig klar darin auf), Fällern mit Essigsäure u. s. w. in reinerem Zustande, reicher an Stickstoff, ärmer an Kohlenstoff, gewonnen (Substanz b), und zeigte sich dann nur wenig verschieden von dem durch Behandlung des Lupinenpulvers mit Kaliwasser dargestellten Präparat C.

Die Substanz b löste sich aber auch in Salzwasser grösstentheils wieder auf; eine Bestimmung ergab, dass nur 7,7 % davon ungelöst zurückblieben, während die Substanz c. hierbei 15,8 % Rückstand gab, also 84,2 pCt. in Salzwasser lösliche Proteinsubstanz.

Aus diesem Verhalten darf wohl der Schluss gezogen werden, dass die salzlösliche N-reiche Proteinsubstanz der Lupinen durch Auflösen in Kaliwasser weder in ihrer Zusammensetzung, noch in ihrem Verhalten zu Lösungsmitteln Veränderungen erleidet und der nach Behandlung mit Kaliwasser in Salzlösung unlösliche Körper verschieden ist von dem N-reichen, was auch die weiterhin mitzutheilenden Untersuchungen desselben darthun.

In welchen Mengen die gefällten Proteinsubstanzen bei Anwendung der verschiedenen Lösungsmittel aus gelben Lupinen erhalten werden, wird durch folgende Bestimmungen veranschaulicht. Es gaben

Rohe Lupinen		Entfettet und mit Wasser extrahirt	
Salzwasserlösg.	Kaliwasserlösg.	Salzwasserlösg.	Kaliwasserlös.
a) 12,00 %		19,9 %	30 %
b) 11,70 „	23,7 %		

Niederschlag durch Wasser oder Essigsäure (Kaliwasserlösung), und beweisen diese Zahlen, dass mit Anwendung

b.	0,2818	Grm. gaben	0,5137	Grm. CO ₂ und	0,1728	Grm. H ₂ O.
	0,2844	„	43,18	Ccm. N bei	13,5°	und 768 Mm.
	0,8852	„	0,1644	Grm. BaSO ₄ .		
	0,7577	„	0,0084	„	Asche.	
c.	0,2714	„	0,4970	„	CO ₂ und	0,1679
	0,2904	„	43,41	Ccm. N bei	12,6°	und 767 Mm.
	0,8622	„	0,0568	Grm. BaSO ₄ .		
	0,7675	„	0,0109	„	Asche.	

von Kaliwasser viel grössere Mengen Proteinsubstanzen zu gewinnen sind, als mit Salzwasser.

Aehnliche Resultate erhielt ich bei Untersuchung der

3. Substanzen aus blauen Lupinen.

Zunächst untersuchte ich ein von meinen früheren Arbeiten herstammendes Präparat auf sein Verhalten zu Salzlösung; es ergab sich, dass sich ein allerdings nur geringer Theil desselben darin löste, der grössere Theil ungelöst blieb. Zugleich wurde Salzwasserlösung von gepulverten frischen Samen dargestellt, und verhielt sich diese, gleich der aus dem erwähnten Präparat, wie die Lösungen von gelben Lupinen: Wasser fällte daraus einen Proteinkörper von derselben Beschaffenheit, wie die Substanz aus Salzwasserlösung von gelben Lupinen oder den älteren Conglutinpräparaten von diesen Samen. Die Zusammensetzung ist folgende:

- a) Substanz aus dem Conglutinpräparat blauer Lupinen;
b) Substanz von frischen Samen.

		Aschefrei.		
	a. ¹⁾	b. ¹⁾	a.	b.
C	49,16	50,03	49,90	50,39
H	6,70	6,90	6,80	6,94
N	17,82	18,11	18,09	18,22
S	—	0,48	S	23,96
Asche	1,51	0,62	O	25,21
				0,49

Sie ist demnach für beide Präparate nicht wesentlich verschieden von der Zusammensetzung der gleichen Substanz aus gelben Lupinen (S. 428), und zeigt Substanz b. fast genau dieselben Zahlenverhältnisse, wie die reinsten, unter A. bezeichneten Materien, nur der Gehalt an Schwefel ist wesentlich

¹⁾ a. 0,2840 Grm. gaben 0,5119 Grm. CO₂ und 0,1713 Grm. H₂O.
0,2976 „ „ 45,11 Ccm. N bei 17,3° und 771 Mm. oder
0,05303 Grm. N.

0,7838 „ „ 0,0118 Grm. Asche.
b. 0,2418 „ „ 0,4436 „ CO₂ u. 0,1502 Grm. H₂O.
0,2401 „ „ 36,5 Ccm. N bei 13,5° und 768 Mm. =
0,04348 Grm. N.
0,8449 „ „ 0,0300 Grm. BaSO₄ = 0,004119 Grm. S.
0,7220 „ „ 0,0045 „ Asche.

geringer. Schon bei Untersuchung des Eiweisskörpers der süssen und bitteren Mandeln habe ich aber dargethan, dass Proteinstoffe von nahezu gleichem Gehalt an C, H und N doch ungleich grosse Mengen S enthalten, so dass die Annahme von S-reichen und S-armen Modificationen derselben Substanz nicht ganz ungerechtfertigt erscheint.

C. Die salzlöslichen Proteinsubstanzen der Mutterlaugen von A und B.

Als das am meisten geeignete Fällungsmittel für die in diesen Mutterlaugen zurückbleibenden Proteinsubstanzen erwies sich nach vielen Versuchen Lösung von schwefelsaurem oder auch essigsauerm Kupfer, welche zugesetzt, sofort einen beträchtlichen hell-grünlichblauen Niederschlag erzeugt. Derselbe setzt sich bei Salzwasser-Mutterlaugen in kurzer Zeit ab, verdichtet sich zu einer krümlichen, wenig voluminösen Masse von blaugrüner Farbe, die nach dem Abfiltriren mit Wasser, zuletzt aber mit Spiritus und Alkohol gewaschen und über Schwefelsäure getrocknet, ein dichtes oder lockeres hellblaues Pulver bildet. Die Proteinsubstanz wird beinahe vollständig gefällt; gleichzeitiger Zusatz einer dem Kupferoxydgehalt der Cu-Lösung genau entsprechenden Menge Kalilauge bewirkt allerdings vollständige Fällung, doch ist der Niederschlag, da auch sonstige in der Lösung vorhandene Körper als Cu-Verbindungen gefällt werden, weniger rein und überdies sehr voluminös, daher ich meist mit Kupferlösung allein fällte.

Die Mutterlaugen von Rohconglutin oder von aus Samen bereiteten Lösungen gefälltem Conglutin, gaben, gleichviel ob Salzwasser oder Kaliwasser angewandt wurde, stets unreine Niederschläge mit Cu-Salzlösungen, und enthalten diese ausser reichlichen Mengen Phosphorsäure unter Anderem auch Oxalsäure, Citronensäure u. dgl. m.

In sehr verdünnter Kalilauge lösen sich alle diese Cu-Niederschläge, sobald sie nicht grössere Mengen Kupferoxyd (in Folge der Anwendung zu grosser Mengen Kupferlösung bei Zusatz von Kalilauge), Phosphorsäure und andere Substanzen enthalten (wie z. B. die zuletzt erwähnten Fällungen),

frisch oder getrocknet leicht und ohne Rückstand auf mit schön violettblauer Farbe, Säuren bis zur Neutralität zugesetzt fallen sie unverändert wieder aus. Ebenso leicht aber werden sie von Kalkwasser oder von Wasser unter Zusatz von fein zertheiltem Kalkhydrat zu einer violettblauen Flüssigkeit gelöst, unverändert, ohne eine Spur Ammoniak zu entwickeln, und unverändert daraus durch Essigsäure wieder gefällt; da hierbei manche der gefällten verunreinigenden Substanzen, z. B. Oxalsäure, Phosphorsäure u. a. m. (darunter auch N-haltige Substanzen) in schwerlösliche Verbindungen übergehen und danach durch Filtration leicht entfernt werden können, so wandte ich dies Verhalten zur Darstellung reiner oder möglichst reiner Verbindungen mit Kupferoxyd an. Die zu lösenden frischen oder getrockneten fein gepulverten Niederschläge wurden im Mörser mit Wasser zu feinem, dünnen Brei zerrieben, darauf feinpulveriger Kalk aus carrarischem Marmor in kleinen Portionen nach und nach unter stetem Reiben zugesetzt, bis die grünblauen Flocken verschwunden waren, die Lösungen dann rasch filtrirt¹⁾ und das Filtrat nach starker Verdünnung mit Wasser mit Essigsäure oder Salzsäure neutralisirt. Den Niederschlag wusch ich zuerst mit Wasser, dann mit Spiritus und Alkohol. Bei dieser Auflösung geht eine bedeutend grössere Menge Kalk in die Flüssigkeit über, als dem Löslichkeitsverhältniss für Wasser entspricht, und wird demnach zum Neutralisiren weit mehr Säure erfordert, als ein gleiches Volum Kalkwasser bedürfen würde. Es beruht dies ohne Zweifel auf der Fähigkeit der Pflanzen-Proteinkörper, verschiedene Oxyhydrate in reichlicher Menge zu lösen, ohne Zersetzung zu erleiden, wie ich das früher schon für Kupferoxydhydrat dargethan habe, das unter Mitwirkung von Kali oder Natron in Mengen von 15—20 Thln. auf 100 Thle. Proteinsubstanz gelöst wird.²⁾

¹⁾ Selbst grössere Mengen des Cu-Niederschlags werden in der Zeit von 10—15 Minuten gelöst und entstehen sehr concentrirte Lösungen, die erst nach Zusatz von viel Wasser gefällt werden können.

²⁾ Dies. Journ. [2] 5, 215, u. 7, 361.

Beim Lösen der Kupferniederschläge aus Mutterlaugen gereinigter Conglutinpräparate mittelst CaO_2H_2 bleibt ein geringer, aus solchen von Rohconglutin oder von aus Samen bereiteten Lösungen dagegen ein beträchtlicher, Oxalsäure, Phosphorsäure etc. enthaltender Rückstand.

Ueber die Menge des Cu-Niederschlages oder der fällbaren Proteinsubstanz geben die auf S. 424 angeführten Resultate von Bestimmungen genügenden Aufschluss.

Die folgenden Analysen beweisen, dass der durch Kupferlösung gefällte Proteinkörper mit dem durch Wasser gefällten identisch und die Annahme von Phosphorsäurehaltigen Stickstoffverbindungen in den Lösungen wenig wahrscheinlich ist.

- 1) Cu-Niederschlag aus einer von gelben Lupinen mit Kaliwasser bereiteten Lösung, nach Ausfällung mit Essigsäure, durch Cu-Lösung und Kali¹⁾;
- 2) dasselbe, mittelst CaO_2H_2 gelöst und Essigsäure gefällt²⁾;
- 3) Cu-Niederschlag aus der Salzwasserlösung von Rohconglutin (S. 424);
- 4) und 5) Cu-Niederschlag aus der Salzwasserlösung von gereinigten Conglutinpräparaten;

¹⁾ Präparat von meinen früheren Untersuchungen.

²⁾ Der bei dieser Lösung verbleibende, noch Protein-Cu-Verbindungen enthaltende Rückstand wurde mit Wasser, dann zur Lösung von CaO_2H_2 und phosphorsaurem Kalk mit verdünnter Salzsäure gewaschen. Er hatte danach die Zusammensetzung:

C	38,55	aschefrei	48,86
H	5,29		6,71
N	14,29		18,11
Glührückstand	21,11	S + O	26,32
Mit CuO	12,98		
P_2O_5	6,24		

und waren in 100 Thln. Glührückstand enthalten: CuO 60,16 %, P_2O_5 29,56 %, d. i. 3,63 CuO auf 1 P_2O_5 . Sonach bestand diese ungelöst gebliebene Masse aus einem Gemenge von Conglutin-CuO mit phosphorsaurem und oxalsaurem Kupfer, welche letzteren durch CaO_2H_2 nicht zersetzt worden sind. Auf eine nähere Beziehung der Phosphorsäure zur Proteinsubstanz kann aus dem hohen Gehalt an Phosphorsäure, die als phosphorsaures Kupfer gefällt war, nicht geschlossen werden.

6) und 7) Cu-Niederschlag aus der Salzwasserlösung, 4) und 5) mittelst $\text{Ca}(\text{OH})_2$ gelöst, mit Essigsäure oder Salzsäure gefällt.

	1.	2. ¹⁾	3. ¹⁾	4.	5.	6.	7.
C	—	41,54	44,60	—	—	46,57	47,37
H	—	5,75	6,12	—	—	6,46	6,31
N	14,79	15,68	16,57	17,49	17,67	17,75	17,84
S	—	—	1,12	—	—	—	1,06
Glührückstand	19,62	15,01	8,97	4,63	4,08	7,29	6,39
CuO u. Asche mit P_2O_5			(3,85)				

Für CuO und aschefreie Substanz berechnet sich hieraus:

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
C	—	48,88	48,99	—	—	50,23	50,60
H	—	6,77	6,70	—	—	6,96	6,74
N	18,40	18,45	18,20	18,43	18,42	19,14	19,05
S	—	25,90	1,23	—	23,67		1,13
O	—		24,88	—			22,48

Ein Blick auf diese analytischen Resultate genügt, um zu überzeugen, dass der in den Fällungsmutterlaugen in Lösung verbleibende Proteinkörper identisch ist mit dem durch Wasser (oder Säure) gefällten und folgt daraus, dass derselbe auch in sehr verdünnten Salzlösungen in beträchtlichem Masse löslich ist, die Fällung durch Wasser in Salzwasserlösungen oder durch Säure in Kaliwasserlösungen stets unvollständig bleiben muss. Die Annahme, dass diese Fällungsmutterlaugen noch andere, von den gefällten verschiedene Proteinstoffe enthalten, wird hierdurch widerlegt.

Von den vorstehend mitgetheilten einzelnen Versuchsergebnissen mögen die folgenden noch besonders hervorgehoben werden.

1. Die Lupinen enthalten in grosser Menge einen verhältnissmässig C-armen und N-reichen Proteinkörper, welcher nach Analyse der reinsten (aus dem früheren, gereinigten

¹⁾ Beide Präparate enthielten noch Oxalsäure (und vielleicht Citronensäure), welche aus drei nach dem Schmelzen mit Kalihydrat und Salpeter, Auflösen der Schmelze in verdünnter Salzsäure als unlösliches oxalsaures Kupfer und daraus durch Schwefelwasserstoff als freie Säure gewonnen wurde.

Conglutin) dargestellten Präparate eine, dem als Conglutin bezeichneten Körper sehr ähnliche Zusammensetzung hat (S. 427):

	(Conglutin, früher dargestellt.)
C = 50,16	50,84
H = 7,03	6,92
N = 18,67	18,33
S = 1,07	0,91
O = 23,07 ¹⁾	23,24

2. Derselbe löst sich in 5procentigem Kochsalzwasser bei Zimmertemperatur leicht und vollständig und wird aus dieser Lösung durch Wasser (4 bis 5faches Volumen) grösstentheils, doch nicht vollständig gefällt, 10–20 pCt. bleiben gelöst.

3. Ebenso leicht löst er sich in Wasser, dem sehr geringe Mengen Kalilauge zugesetzt sind, ohne Zersetzung oder Aenderung in seinen Eigenschaften, insbesondere in seinen Löslichkeitsverhältnissen zu erleiden; aus dieser Lösung mit Essigsäure oder Salzsäure gefällt, verhält er sich gegen Kochsalzwasser wie vorher. Aus der Lösung in kalihaltigem Wasser wird durch Neutralisiren mit Säuren eine grössere Menge davon gefällt, als in der Salzlösung durch Wasser.

4. Die in der Salzwasser-Mutterlauge zurückbleibende Substanz wird durch Kupfersalzlösungen als CuO-haltige Verbindung, welche in verdünntem Kali oder mit CaO_2H_2 versetztem Wasser unverändert löslich und durch Säuren daraus fällbar ist, grösstentheils abgeschieden.

5. Die bisher als Conglutin der Lupinen bezeichnete Substanz wird durch Behandlung mit Salzlösung in 2 von einander verschiedene Proteinkörper zerlegt, enthält aber den darin löslichen meist in weit grösserer Menge als den nicht löslichen.

6. Auch die mittelst Salzlösung aus Samen oder aus Rohconglutin dargestellten Substanzen sind nicht rein, sondern Gemenge dieser 2 verschiedenen Proteinkörper, welche durch

¹⁾ Dieser Zusammensetzung würde die Formel $(\text{C}_{44}\text{H}_{74}\text{N}_{14}\text{O}_{15})_3\text{S}$ entsprechen; procentisch berechnet sich daraus C = 50,34; H = 7,05; N = 18,69; O = 22,88; S = 1,02.

Lösen in Kaliwasser, Fällen mit Säure und Wiederauflösen in Salzwasser von einander getrennt werden können.

Bezüglich der Eigenschaften des stickstoffreichen Proteinkörpers ist noch folgendes ergänzend hinzuzufügen. Ausser in 5procentigem Salzwasser löst er sich sehr leicht in concentrirter, selbst in gesättigter Kochsalzlösung von Zimmertemperatur, und verbleibt alsdann bei noch nicht reinen Präparaten die andre Proteinsubstanz grösstentheils als unlöslicher Rückstand, der durch Lösen in Kaliwasser etc. leicht zu reinigen ist.

Erhitzt, schmilzt derselbe bei wesentlich niedriger Temperatur als andere Eiweisskörper und bildet darnach eine flüssige, stark schäumende, sich zersetzende Masse; Versuche zur Bestimmung des Schmelzpunktes sind bis jetzt nicht ausgeführt worden.

Die gefundene Zusammensetzung erinnert sehr an die des Glutins, des thierischen Leims, wie eine Zusammenstellung zeigt:

	Glutin.	Subst. aus Lupinen.
C	50,03	50,16
H	6,64	7,03
N	18,31	18,67
S }		1,07
O }	25,02	23,07

Da die eigenthümliche, von der mancher andern Proteinkörper doch sehr abweichende Zusammensetzung eine Benennung sehr wünschenswerth erscheinen lässt, so halte ich den Namen Conglutin jetzt noch für den am meisten passenden; anderes, als Aehnlichkeit mit Glutin in der Zusammensetzung, soll damit nicht ausgedrückt sein.

D. Die salzunlösliche Proteinsubstanz — Legumin.

Diese Substanz aus den älteren Conglutinpräparaten löst sich leicht in Kaliwasser und fällt beim Zusatz von Säuren daraus in käsigen Flocken; der salzunlösliche Rückstand der reineren Präparate giebt eine völlig klare oder nur wenig getrübe, der von Rohconglutin dagegen eine sehr trübe Lösung, welche filtrirt werden muss, um reine Substanz zu fällen. Mit Alkohol entwässert und über Schwefel-

säure getrocknet, wird sie als weisse, lockere, amorphe, voluminöse, leicht zu pulvernde Substanz, ähnlich dem Legumin, erhalten.

Ihre Zusammensetzung ist von der des Conglutins völlig verschieden, wie die folgenden Analysen zeigen.

- 1) Substanz aus Rohconglutin durch Auflösen in Kaliumwasser und Filtrieren der Lösung gereinigt.
- 2) Substanz aus reinerem (älteren) Conglutin (18,06, aschefreie 18,33 pCt. N).
- 3) Substanz aus reinem gleichen Präparat (17,8% N aschehaltig).
- 4) Substanz aus in Kochsalzlösung gelöstem, durch Wasser gefälltem Conglutin (von Rohconglutin).
- 5) Substanz aus dem älteren Präparat aus blauen Lupinen.

	1.	2.	3.	4.	5.
C	51,346	50,51	50,80	50,91	51,06
H	6,88	6,82	6,89	6,88	7,01
N	17,31	17,26	17,50	17,37	17,41
S	0,587	—	—	—	—
Asche	0,634	1,00	1,09	0,554	0,634

Die Berechnung auf aschefreie ergibt:¹⁾

- 1) 0,3127 Grm. gaben 0,5887 Grm. CO₂ und 0,1930 Grm. H₂O.
0,2634 „ „ 40,14 Ccm. N bei 20,5° und 757 Mm. =
0,045605 Grm. N.
1,0180 Grm. gaben 0,432 Grm. BaSO₄ = 0,00593 Grm. S.
0,7090 „ „ 0,0045 „ Asche.
- 2) 0,2486 „ „ 0,4604 „ CO₂ und 0,1527 Grm. H₂O.
0,2651 „ „ 39,35 Ccm. N bei 16,2° und 759 Mm. =
0,04575 Grm. N.
0,5917 Grm. gaben 0,0059 Grm. Asche.
- 3) 0,2602 „ „ 0,4847 „ CO₂ und 0,1614 Grm. H₂O.
0,2808 „ „ 42,38 Ccm. N bei 16,1° und 757 Mm. =
0,04916 Grm. N.
0,6801 Grm. gaben 0,0074 Grm. Asche.
- 4) 0,2600 „ „ 0,4853 „ CO₂ und 0,1609 Grm. H₂O.
0,2587 „ „ 38,83 Ccm. N bei 16,1° und 757 Mm. =
0,04505 Grm. N.
0,5773 Grm. gaben 0,0032 Grm. Asche.

438 Ritthausen: Verhalten des Conglutins

	1.	2.	3.	4.	5.	Mittel.
C	51,67	51,02	51,36	51,19	51,39	51,36
H	7,05	6,90	6,96	6,91	7,05	6,97
N	17,42	17,43	17,70	17,46	17,52	17,50
S	0,59	24,65	23,98	24,44	24,04	0,59
O	23,27					23,58

Diese Zusammensetzung stimmt mit der des Legumins so nahe überein, dass ich, da auch alle Eigenschaften des Körpers darauf hinweisen, kein Bedenken trage, ihn als Legumin zu bezeichnen.

Unlöslichkeit in Salzlösungen ist keine dem Legumin ursprünglich zukommende Eigenschaft, es erhält dieselbe vielmehr erst beim Auflösen in alkalischem Wasser, Fällung aus diesen Lösungen mit Säuren, da es nach selbst nur kurze Zeit während der Einwirkung von Kalihydrat in die salzunlösliche Modification übergeführt wird. Demnach müssen die aus Samen dargestellten Salzwasserlösungen und die darin durch Zusatz von Wasser entstehenden Niederschläge neben Conglutin auch Legumin enthalten, was schon durch die auf S. 427, 428 und 430 mitgetheilten Analysen solcher Niederschläge angezeigt ist, aber auch durch einige entsprechende Versuche mit diesen dargethan wird.

a. Aus klarer Salzwasserlösung von gelben Lupinen gefälltes Conglutin wurde im frischen Zustande nach dem Abgiessen der Salzmutterlauge in Kaliwasser gelöst, die völlig klare Lösung mit Essigsäure gefällt; 10 Grm. des getrockneten Niederschlags gaben bei Behandlung mit 5 procentigem Salzwasser 0,77 Grm. Rückstand¹⁾ = 7,7 pCt.

b. Salzwasserlösung von gelben Lupinen wurde mit Kalkhydrat versetzt, die nach einiger Zeit filtrirte Flüssigkeit mit Essigsäure gefällt. Der getrocknete Niederschlag gab

- 5) 0,2827 Grm. gaben 0,5293 Grm. CO₂ und 0,1785 Grm. H₂O.
0,2597 „ „ 38,74 Cem. N bei 16,8° und 764,5 Mm.
= 0,04523 Grm. N.
0,5201 Grm. gaben 0,0033 Grm. Asche.

¹⁾ Die Menge ist etwas grösser; der Rückstand wurde in Kaliwasser gelöst, Lösung mit Essigsäure gefällt und die Fällung gewogen; hierbei bleibt eine geringe Menge in der Fällungsmutterlauge zurück, die durch Cu-Salz gefällt, aber nicht gewogen wurde.

bei Behandlung mit Salzwasser 21,7% unlöslichen Rückstand (in Kaliwasser gelöst etc.; 11,71 Grm. gaben 2,54 Grm.).

c. Die Salzwasserlösung von a (von 10 Grm.) gefällt, Niederschlag in Kaliwasser gelöst, Fällung durch Essigsäure getrocknet, zerrieben und wieder mit Salzlösung behandelt; die Lösung war milchig getrübt, filtrirte anfänglich trübe, später klar, aber so langsam, dass nach 48 Stunden noch ein sehr kleiner Antheil davon verblieb. Als das Filter mit dem gesammten Inhalt in Kaliwasser gebracht wurde, löste sich der Filtrerrückstand vollständig und klar und gab die filtrirte Lösung 1,163 Grm. Niederschlag (getrocknet), auf die ursprüngliche Substanz bezogen also 11,63%. Die Lösung im Salzwasser gab 5,49 Grm. gefälltes Conglutin, so dass von der ursprünglichen Substanz = 10 Grm. (10—5,49 und 0,77 + 1,16) 2,58 Grm. d. i. 25,8% als in den Fällungsflüssigkeiten gelöstes Conglutin verloren gingen.

Aus diesem Versuch folgt auch, dass die Umwandlung des salzlöslichen Legumins in salzunlösliches durch Kaliwasser nur langsam vor sich geht und bei nur kurze Zeit andauernder Einwirkung unvollständig bleibt, so dass die Lösung in Kaliwasser wiederholt werden muss. Viel rascher vollzieht sich diese Umwandlung, wenn die Salzwasserlösung mit Kalkhydrat, Kalilauge oder Barythydrat¹⁾ versetzt und einige Stunden stehen gelassen wird (Versuch b).

Die Annahme, dass dies Legumin ein Umwandlungsprodukt des Conglutins und kein von diesem verschiedener Proteinkörper sei, findet in den Resultaten der Untersuchung keine Stütze; da die Umwandlung mit Abspaltung einer beträchtlichen Menge Stickstoff als Ammoniak und Schwefel als Schwefelkalium verbunden sein müsste, aber keins von diesen Spaltungsprodukten auch in sehr geringer Menge nur nachzuweisen war, darf die Annahme als ganz unzulässig bezeichnet werden. Gleichwohl konnte dargethan werden, dass Conglutin, längere Zeit der Einwirkung von kalireichem Wasser bei

¹⁾ Barythydrat habe ich indessen nicht mehr angewandt, nachdem ich beobachtet, dass es in etwas grösserer Menge zugesetzt, die Proteinkörper unter Ammoniakentwicklung zersetzt.

440 Ritthausen: Eiweisskörper der Pfirsichkerne

niederer Temperatur ausgesetzt, in geringer Menge in eine salzunlösliche, übrigens gleich zusammengesetzte Modifikation übergeführt wird.

Es könnte aber auch angenommen werden, dies Legumin sei ein Gemisch von Conglutin mit andern Köpern, also unreines Conglutin; dagegen spricht indessen einmal das gesammte Verhalten desselben, die Thatsache, dass es, wiederholt in Kaliwasser gelöst und aus der Lösung gefällt, in der Zusammensetzung unverändert bleibt, und dass irgendwelche verunreinigende Substanzen darin nicht nachzuweisen sind.

Die Lupinen enthalten also wie die Untersuchungen ergeben, die beiden Proteinkörper Conglutin und Legumin, ersteres in sehr viel grösserer Menge als letzteres, welche am besten dadurch von einander getrennt werden, dass man sie zusammen in Kali-haltigem Wasser löst, die Lösung einige Zeit in der Kälte stehen lässt, hiernach mit Salzsäure oder Essigsäure fällt und den gereinigten, mit Alkohol entwässerten, dann über Schwefelsäure getrockneten Niederschlag mit der von Weyl zuerst für Proteinkörper angewandten Kochsalzlösung (in diesem Falle nur 5 pCt. Kochsalz enthaltend), oder auch Lösungen von KCl , NH_4Cl , $CaCl_2$ u. a. behandelt, wodurch Conglutin gelöst wird, Legumin als Rückstand verbleibt.

9. Ueber die Eiweisskörper der Pfirsichkerne und der Pressrückstände von Sesamsamen;

von Demselben.

A. Von Pfirsichkernen.¹⁾

Ich benutzte zu meinen Versuchen Pulver entölter Kerne, das ich der Güte des Hrn. Trommsdorff verdanke. Wird dasselbe mit Wasser zu einem sehr dünnen Brei angerührt und alsbald filtrirt, so entsteht ein klares Filtrat, aus dem durch einige Tropfen verdünnter Säure eine bedeu-

¹⁾ Dies. Journ. [2] 24, 221.