

Über den Gehalt des Kaseïns an Glykokoll und Alanin

von

Zd. H. Skraup.

Aus dem chemischen Institute der k. k. Universität in Graz.

(Vorgelegt in der Sitzung vom 18. Juli 1904.)

Wie ich vor einiger Zeit berichtet habe,¹ ist meine frühere Angabe, daß unter den Spaltungsprodukten des Kaseïns Diaminoglutarsäure und Diaminoadipinsäure auftreten, unrichtig. Die beiden Substanzen sind nichts anderes als Glykokoll beziehentlich *d*-Alanin. Die Erkenntnis dieses Irrtums ergab sich in Begleitung von Beobachtungen, die für die Zusammensetzung des Kaseïns nach anderer Richtung hin Interesse bieten.

Es sei vorausgeschickt, daß die für Diaminoglutar- und -Adipinsäure gemeinten Substanzen aus Phosphorwolframat erhalten wurden, die im Wasser schwer löslich sind, aber aus diesem Mittel umkristallisiert werden können.

Aus diesen Phosphorwolframat wurde ein Säuregemisch erhalten, das durch Umkristallisieren vermittels verdünnten Weingeistes in eine niedriger (bei 240) schmelzende, leichter lösliche Verbindung zerlegt wurde, welche für Diaminoglutarsäure gehalten wurde, und in ein Gemisch (Fp. 278°), in dem als wesentlicher Bestandteil die Diaminoadipinsäure angenommen wurde. Von der ersteren Säure wurde viel mehr als von der zweiten erhalten.

¹ Monatshefte für Chemie, 26, 683 (1905).

Um diese Verbindungen näher kennen zu lernen, wurden größere Mengen von Kasein hydrolisiert. Ich bin den Höchster Farbwerken zu großem Dank verpflichtet, daß sie einen Teil dieser Arbeit ausgeführt haben.

Bei Verarbeitung von 3 kg Kasein (Höchst) in der früher beschriebenen Weise wurden auch wieder die kristallisierenden Phosphorwolframate und in annähernd denselben Mengen wie früher erhalten. Die aus ihnen isolierte Säure zeigte aber sofort einen viel höheren Schmelzpunkt und durch eine weitgehende abgestufte Kristallisation wurden ausschließlich Fraktionen erhalten, deren Fp. zwischen 281 bis 290° lag. Jene erwies sich als *d*-Alanin. Aus 3 kg Kasein wurden 15 g Säure erhalten.

Inzwischen war durch Wiederholung der Versuche mit Gelatine in Verbindung mit Herrn F. Heckel konstatiert worden, daß auch hier die Angabe über die zwei Diaminosäuren unrichtig ist, daß die vermeintliche Diaminoadipinsäure *d*-Alanin und die Diaminoglutarsäure Glykokoll ist. Es lag nun nahe anzunehmen, daß letzteres auch für das Kasein gelte und dieses hat sich auch für die früheren Versuche bestätigt. Die Anwesenheit von Glykokoll wurde mit den Substanzresten der früheren Untersuchung festgestellt und außerdem aus 0.5 kg desselben Kaseins, welches bei der ersten Arbeit verwendet worden war, neuerdings Glykokoll in Form des salzsauren Esters erhalten.

Bei den neueren Versuchen mit Kasein (Höchst) konnte auch nach Aufarbeitung aller Mutterlaugen, die bei der Gewinnung des Alanins entstanden waren, Glykokoll nicht nachgewiesen werden.

Andrerseits stieg der Schmelzpunkt der höher schmelzenden Fraktionen aus der ersten Untersuchung allmählich gegen 290, als das Umkristallisieren nicht aus verdünntem Weingeist, sondern aus Wasser erfolgte.

Es sei bemerkt, daß die seinerzeit mitgeteilte Analyse der »Diaminoadipinsäure« im Kohlenstoffgehalt sogar besser auf Alanin als auf die damals angenommene Formel paßt. Der Wasserstoff ist freilich sehr niedrig. Es hat sich aber herausgestellt, daß Aminosäuren, nach Fleißner-Lippmann verbrannt, sehr häufig abnorm niedrige Wasserstoffmengen liefern.

Somit hat eine Kaseinsorte relativ mehr Glykokoll als Alanin gegeben, eine andere nur Alanin und kein Glykokoll.

Das Glykokoll liefernde Kasein ist ein nach Hammarsten gereinigtes Präparat von E. Merck, das Kasein, in welchem Glykokoll nicht nachzuweisen ist, das Präparat der Höchster Farbwerke.

Man kann infolge dieser zwei Provenienzen kaum annehmen, daß das Glykokoll einer Verunreinigung entstammt und es ist deshalb wahrscheinlich, daß die Zusammensetzung dessen, was man als Milchkasein ansieht, wechseln kann.

Ob das Kasein als ein wechselndes Gemisch von zwei Eiweißstoffen angenommen wird, von welchen der eine Glykokoll liefert, der andere nicht, oder als ein einheitlicher Eiweißstoff, der je nach den Bedingungen, unter welchen er im Organismus entsteht, einmal mehr Glykokollreste, das andere Mal mehr Alaninreste enthält, wäre physiologisch auf jeden Fall von Interesse.

Es sei bemerkt, daß E. Abderhalden und O. Rostoski¹ für die Zusammensetzung des Edestins zwar nicht in qualitativer, doch in quantitativer Beziehung ähnliche Abweichungen beobachtet haben.

Was schließlich den Irrtum anbelangt, der betreffend die vermeintlichen Diaminosäuren (Diaminoglutar- und Diaminoadipinsäure) beim Kasein und bei der Gelatine (siehe die folgende Mitteilung von Skraup und Heckel) eingetreten ist, so möchte ich folgendes erwähnen:

Es findet sich zwar mehrfach bemerkt, daß Aminosäuren von Phosphorwolframsäure-Niederschlägen mitgerissen werden; daß sie aber relativ schwer lösliche und gut kristallisierende Phosphorwolframate liefern, war, abgesehen vom Phenylalanin, nach den bisherigen spärlichen Angaben nicht zu erwarten.²

Außerdem war für den Irrtum verhängnisvoll, daß bei den Elementaranalysen ausschließlich die sonst sehr zuverlässige Methode von Fleißner und Lippmann angewendet wurde, welche, wie sich nun zeigte, bei Aminoverbindungen fast regelmäßig abnorm niedrige Werte für den Wasserstoff lieferte.

¹ Zeitsch. f. phys. Chemie, 44, 267 (1905).

² Siehe E. Schulze und E. Winterstein, Zeitschr. f. phys. Chemie, 33, 574 (1901).

Daß Aminoverbindungen endlich schwierig zu trennen und rein darzustellen sind, braucht nicht besonders erwähnt zu werden.

Es sei bei dieser Gelegenheit erwähnt, daß aus dem Höchster Kasein die Kasein- und Kaseinsäure wieder erhalten worden ist. Die erstere dürfte identisch mit der von E. Fischer aus dem Kasein auf anderem Wege erhaltenen Diaminotrioxydodecansäure und ihr Wasserstoffgehalt auch zu niedrig bestimmt worden sein.

Experimenteller Teil.

Die Hydrolyse, die Veresterung, die Abscheidung der Amidosäuren durch Ausschütteln mit Ätheralkohol erfolgte, wie seinerzeit¹ beschrieben wurde. Die Fällung mit Phosphorwolframsäure erfolgte diesmal abgestuft in vier Anteilen. Nur der letzte, in kochendem Wasser löslichere wurde untersucht. Beim Lösen in Weingeist von 50 Prozent blieb ein geringer Teil ungelöst, das Filtrat wurde sukzessive eingedampft, wobei neue Kristallisationen entstehen, die durch neuerliches Lösen in 50prozentigem Weingeist von unlöslichen Resten befreit und in derselben Art weiter umkristallisiert wurden. Da die Hauptmenge der Phosphorwolframate in verdünntem Weingeist sehr leicht, in Wasser aber um vieles schwerer löslich, scheiden sie sich schon beim Eindampfen auf nicht ganz die Hälfte großenteils wieder aus und das lästige Auflösen in Wasser wird derart umgangen.

Die derart erhaltenen Fraktionen von verschiedener Löslichkeit wurden, wie seinerzeit beschrieben, mit $\text{Ba}(\text{OH})_2$ zersetzt und zeigte sich auch hier, daß aus den mittleren Fraktionen viel mehr Amidosäuren auskristallisierten als aus den schwerer und den leichter löslichen.

Schon die Rohkristallisation der Aminosäure hatte einen viel höheren Schmelzpunkt (279) wie seinerzeit. Durch Umkristallisieren erhöhte er sich langsam bis auf 297 (unkorr.). Beim sorgfältigen Aufarbeiten der Mutterlauge wurden immer wieder neue hochschmelzende Kristallisationen erhalten.

¹ Monatshefte f. Chemie, 25, 633 (1904).

Als die Mutterlaugen der ersten Rohkristallisationen nach längerem Stehen wieder Kristallanschüsse gegeben hatten, zeigten diese ganz dasselbe Verhalten.

Die mehrfach umkristallisierte Amidosäure wurde im Glaser'schen Ofen verbrannt.

0·1804 g bei 105° getrocknet gaben 0·2676 g CO₂ und 0·1326 g H₂O.

	Für Alanin berechnet	Gefunden
C	40·45	40·45
H	7·86	8·22

Das Kupfersalz bildet bis 2 *cm* lange, dunkelblaue Blätteraggregate, die unter dem Mikroskop anscheinend monokline, meistens sechsseitige Blätter erkennen lassen.

0·2675 g bis 120° getrocknet gaben 0·2913 g CO₂ und 0·1146 g H₂O.

0·2237 g getrocknet gaben 0·0738 g C₂O.

Berechnet	Gefunden
30·02	29·70
5·04	4·79
26·52	26·36

Molekulargewichtsbestimmung der Aminosäure:

	Gefunden	Berechnet
Wasser 19·635; Substanz 0·1650, Depression 0·1885 . .	81·9	89
Substanz 0·2136, Depression 0·2400 . .	83·9	

Im Polarisationsapparate gab die Substanz genau dieselben Werte wie das Alanin aus Gelatine. (Siehe die folgende Mitteilung.)

Aus den leichtest löslichen Fraktionen (Fp. 281) wurde gleichfalls das Kupfersalz dargestellt. Es war ebenso dunkelblau wie das aus den schwerst löslichen Anteilen, im Habitus aber merklich verschieden.

0·1766 g bei 118° getrocknet gaben 0·1916 g CO₂ und 0·0608 g H₂O.

0·1495 g bei 118° getrocknet gaben 0·0492 g CuO.

	Berechnet	Gefunden
C	30·02	29·59
H	5·04	3·85
Cu	26·52	26·30

Auch dieses hat die Zusammensetzung des Alaninkupfers.

Nachdem neben dem höher schmelzenden Alanin nichts von der niedriger schmelzenden Verbindung nachgewiesen werden konnte, die bei der ersten Untersuchung sogar in größerer Menge aufgetreten ist und die nach den Erfahrungen bei der Gelatine Glykokoll sein konnte, wurde auf dieses in den dicken Mutterlaugen, aus welchen das Rohalanin auskristallisiert war, gesucht.

Sie wurden mit Alkohol und Salzsäuregas verestert, nach dem Abdestillieren im Vakuum das Verestern wiederholt und sodann nach Fischer mit Pottasche und Ätznatron die Ester abgeschieden. Der Äther hinterließ nur einen höchst geringen Rückstand, der zu weiterer Untersuchung unzureichend war.

In dem zur Hydrolyse verwendeten Kasein (Höchst) war deshalb Glykokoll nicht nachzuweisen.

Dafür konnten wir dasselbe in den Präparaten von der früheren Untersuchung nachweisen.

Bei 240° schmelzende »Diaminoglutarsäure« lieferte, in absolutem Alkohol verestert, eine schön kristallisierte Verbindung, die in alkoholischer Lösung mit Äther wieder ausgefällt bei 150 bis 151° sich verflüssigte und bei der Analyse Werte gab, die für die Salzsäureverbindung des Glykokollesters stimmen.

0·1137 g im Vakuum getrocknet gaben 0·1438 g CO₂ und 0·0717 g H₂O.

0·1018 g im Vakuum getrocknet gaben 0·1052 g Ag Cl.

	Berechnet	Gefunden
C	34·40	35·05
H	7·21	7·05
Cl	25·43	25·67

Um jeden Irrtum auszuschließen, wurden 0·5 kg derselben Kaseinsendung (Merck), die bei den früheren Versuchen gedient

hat, nochmals wie früher verarbeitet. Die aus den kristallisierenden Phosphorwolframat erhaltenen Aminosäuren wurden durch Umkristallisieren aus Wasser in höher und niedriger schmelzende Anteile zerlegt und letztere wieder mit Alkohol und Salzsäure verestert. Beim Impfen mit salzsaurem Glykokollester erfolgte leichte Kristallisation. Das aus Alkohol umkristallisierte Präparat schmolz bei 140°.

0·2134 g im Vakuum getrocknet gaben 0·2192 AgCl.

	Berechnet	Gefunden
Cl.....	25·43	25·35.