

Über den Phosphorgehalt von Hühnereiweiß

von

Karl Kaas.

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

(Vorgelegt in der Sitzung am 5. April 1906.)

Gelegentlich der Darstellung von kristallisiertem Hühner-eiweiß aus frischen Eiern nach dem Verfahren von Hofmeister² sowie Hopkins und Pinkus³ und nachfolgendem Desamidieren dieses so gereinigten Eiweißes mit Eisessig und Nitrit untersuchte ich das Produkt auf seine Zusammensetzung und fand unter anderem in diesem desamidierten Eiweiß 2·42% Phosphor. Da nun über einen Phosphorgehalt des Hühner-eiweißes bisher nichts bekannt war, so untersuchte ich auch das Ausgangsmaterial auf einen Phosphorgehalt, den ich zu 0·919% fand. Dieser große Unterschied im desamidierten und

¹ Nach den von Herrn Kaas hier mitgeteilten Analysen kann es als feststehend angenommen werden, daß das kristallisierte Ovalbumin sehr häufig Phosphor enthält, dessen Menge wechselt. Wahrscheinlich hat Rasse und Futter der Hühner hierauf Einfluß. Ob nun der Phosphorgehalt einer Verunreinigung entstammt, die auch nach dem bisher üblichen Verfahren nicht zu beseitigen ist, und das Ovalbumin im ideal reinen Zustand phosphorfrei ist oder ob dieses konstitutionell Phosphor enthält, ist schwer zu entscheiden. Ich halte es aber für nicht unwahrscheinlich, daß letzteres zutrifft, daß der Phosphorgehalt aber je nach Umständen wechseln kann. Es würde dann für den Phosphor dasselbe gelten, was für die stickstoffhaltigen primären Spaltungsstücke schon beobachtet worden ist, daß deren Menge wechseln kann. Vor einiger Zeit habe ich ja gefunden, daß im Casein der Gehalt an Glycocoll und Alanin sehr differiert, und E. Abderhalden und O. Rostowski haben mitgeteilt, daß die Zusammensetzung der »Edestine« wechselt. Skraup.

² Zeitschr. für physiolog. Chemie, XIV, p. 165.

³ Chemisches Zentralblatt, 1898, II, p. 436.

unveränderten Eiweiß legte die Möglichkeit nahe, daß die verwendeten Chemikalien, Eisessig sowie Nitrit oder auch das zur Reinigung des Eiweißes verwendete Ammonsulfat, phosphorhaltig sein konnten.

Das Ammonsulfat wurde in einer Menge von 100 g fraktioniert umkristallisiert und die von der dritten Fraktion verbleibende Mutterlauge auf Phosphorsäure geprüft, doch vollkommen ergebnislos. Auch der verwendete Eisessig sowie das Nitrit erwiesen sich als vollkommen phosphorfrei. Da ich nun aus 200 g meines kristallisierten Eiweißes (dem nach der Wasserbestimmung und Bestimmung des Ammonsulfatgehaltes 100 g reines kristallisiertes Ovalbumin entsprechen) 46 g trockenes desamidiertes erhielt und das unveränderte Albumin 0·919%, das desamidierte 2·42% Phosphor, so kann man wohl annehmen, daß eine Anreicherung des Phosphorgehaltes stattgefunden habe.

Zur weiteren Feststellung des Phosphorgehaltes wurde eine weitere Quantität kristallisiertes Hühnereiweiß nach dem oben angegebenen Verfahren hergestellt und von den einzelnen Fällungen mehrere untersucht und hiebei anfänglich ein sehr hoher (3·06%) Phosphorgehalt festgestellt, der jedoch bei weiterer Umfällung bei der siebenten Fraktion auf 1·73% Phosphorgehalt gesunken war.

Nun untersuchte ich rohes, im Exsikkator getrocknetes Eiereiweiß aus einem ganz frischen Ei (das noch warm vom Dotter getrennt wurde) auf seinen Phosphorgehalt, der zu 0·155% Phosphor gefunden wurde. Ein von demselben Huhn am anderen Tage gelegtes Ei ließ ich fast einen Monat liegen, trennte dann Dotter und Eiweiß voneinander und verfuhr wie oben. Der Phosphorgehalt in diesem Eiweiß fand sich zu 0·228%.

Schließlich untersuchte ich noch zwei durch die Gefälligkeit von Herrn Hofrat Ludwig in Wien mir überlassene Proben von reinem Eiereiweiß auf ihren Phosphorgehalt und fand in dem einen keinen, im zweiten 0·352% Phosphor.

Die erste der beiden Proben war nach dem älteren, von Hammarsten angegebenen Verfahren hergestellt, die zweite nach dem auch von mir benutzten Hofmann-Pinkus'schen. Nur

wurde das kristallisierte Eiweiß schließlich noch durch Dialyse von Ammonsulfat befreit und der Inhalt des Dialysators schließlich im Vakuum bei 40° eingedampft und getrocknet.

Ich spreche auch an dieser Stelle Herrn Hofrat Ludwig den ergebensten Dank aus.

Der Gehalt des Ovalbumins an Phosphor scheint demnach ein sehr schwankender zu sein. Freilich zeigt der Versuch mit dem Roheiweiß, daß durch längeres Liegen eine Zunahme des Phosphorgehaltes im Eiklar stattfindet, was nur durch Diffusion aus dem Dotter erklärlich ist.

Experimenteller Teil.

Die Herstellung des kristallisierten Eiweißes erfolgte, wie schon erwähnt, nach dem von Hopkins und Pinkus abgeänderten Hofmeister'schen Verfahren. Das beim Stehen aus der halbgesättigten Ammonsulfatlösung ausgeschiedene kristallisierte Eiweiß wurde vor der Desamidierung dreimal hintereinander in Wasser wieder gelöst und nach Zusatz von gesättigter Sulfatlösung auskristallisieren gelassen, sodann scharf abgepreßt. Die so gewonnenen gelblichen hornartigen Stücke wurden zur Ermittlung des Gehaltes an reinem kristallisiertem Eiweiß auf ihren Wassergehalt durch Trocknen bei 135° im Vakuum, auf den Ammonsulfatgehalt durch Destillieren mit Magnesiumoxyd und Titrieren des Ammoniaks im Destillat mit $\frac{1}{10}$ normaler Säure geprüft. Ersterer betrug 32·40% Wasser, letzterer 15·73% Ammonsulfat.

Das Trocknen aller zur Analyse dienenden Substanzen geschah zumeist im Vakuum bei 135°. Desamidiert wurde folgendermaßen: Dreimal 25 g des oben beschriebenen Eiweißes wurden in mit Kohlensäure gefülltem Fünfliterkolben mit 250 g Wasser gelöst und je 20 g in Wasser gelöstes Natriumnitrit und mit demselben Volumen verdünnte reine Essigsäure auf einmal zugegeben. Nach kurzem Stehen scheidet sich ein gelber Körper aus unter starkem Steigen der Masse. Nachdem ein weiteres Steigen der Flüssigkeit nicht mehr beobachtet werden konnte, wurde am Wasserbade bis zum Aufhören des Schäumens weiter erwärmt, der abgeschiedene gelbe Körper abgesaugt, mit heißem Wasser bis zum Verschwinden der

Schwefelsäurereaktion gewaschen, die rückständige Masse noch dreimal mit heißem Wasser angerührt und abgesaugt, bis nichts mehr in Lösung ging (im ganzen taten dies 10%), und dann je zweimal mit Alkohol und Äther vollkommen erschöpft. Ausbeute an reinem, trockenem, desamidierten Eiweiß 18 g.

Die Phosphorbestimmungen wurden durch Schmelzen der Substanz mit Natriumhydroxyd und Natriumsuperoxyd im Nickeltiegel, Lösen der Schmelze in Wasser, Ansäuern mit Salpetersäure, Fällen mit molybdänsaurem Ammon und Überführung des Molybdätniederschlags in phosphorsaure Ammonmagnesia ausgeführt.

Zwischen den einzelnen Phosphorbestimmungen wurden mehrmals der Kontrolle wegen blinde Versuche mit dem verwendeten Nickeltiegel und dem verwendeten Natriumsuperoxyd sowie den andern Reagenzien gemacht, die jedoch stets negativ verliefen.

Phosphorbestimmungen.

- I. 0·7295 g im Vakuum bei 135° getrocknete Substanz gaben 0·0635 g $Mg_2P_2O_7$.
 II. 1·4887 g, ebenso getrocknet, 0·1256 g $Mg_2P_2O_7$.

In 100 Teilen:

	Gefunden	
	I	II
P	2·42	2·35

Die ausgeführten Elementaranalysen gaben folgende Resultate:

- I. 0·1621 g, im Vakuum bei 135° getrocknet, gaben 0·3027 g CO_2 und 0·0998 g H_2O .
 II. 0·1453 g, getrocknet wie oben, gaben 0·2681 g CO_2 und 0·0886 g H_2O ; 0·1090 g, getrocknet wie oben, gaben bei 16° und 741·5 mm Barometerstand 14·3 cm^3 Stickstoff.

In 100 Teilen:

	Gefunden	
	I	II
C	50·93	51·49
H	6·89	6·98
N	14·95	—

Von dem zur Desamidierung verwendeten Eiweiß wurde ein kleiner Teil, um ihn analysenrein zu erhalten, mit Alkohol denaturiert, und zwar so, daß eine konzentrierte wässrige Lösung des Eiweißes in viel frisch destillierten Alkohol gegossen, 12 Stunden stehen gelassen, abgesaugt und der Rückstand auf dem Filter erst oftmals mit kaltem, dann mit kochendem Wasser gewaschen wurde. Zur Analyse wurde der Körper im Vakuum bei 135° getrocknet.

I. 2·6505 g gaben 0·0875 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$.

II. 0·8364 g gaben 0·0267 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$.

In 100 Teilen:

	Gefunden	
	I	II
P	0·919	0·890

Um jeden Zweifel auszuschließen, daß wirklich Phosphor vorhanden ist, wurde in dem durch »Desamidierung« erhaltenen Produkte auf Kieselsäure und auf Arsen geprüft.

2 g, mit 30 g Superoxyd oxydiert, in Wasser gelöst, mit Salzsäure angesäuert, eingedampft und getrocknet, hinterließen beim Aufnehmen mit Wasser nicht den geringsten Rückstand. Es ist also Kieselsäure nicht vorhanden.

Das Filtrat von der Kieselsäure wurde mit Schwefeldioxyd gesättigt, einige Zeit erwärmt und anhaltend mit Schwefelwasserstoff behandelt. Es entstand eine schwärzliche Fällung, vermutlich Schwefelnickel. Diese wurde wiederholt mit warmem Ammoniumcarbonat ausgezogen. Die Filtrate wurden angesäuert, sie blieben ganz klar und auch dann als längere Zeit Schwefelwasserstoff eingeleitet wurde.

Zur weiteren Orientierung wurde neuerdings eine Darstellung von kristallisiertem Hühnereiwiss vorgenommen, und zwar wurde so gearbeitet, daß das Verhältnis vom Gewicht des scharf abgesaugten Eiweißes zum Gewicht der Ammonsulfatmutterlauge durchschnittlich 1 : 10 bis 1 : 12 war. Die Umfällung mit Ammonsulfat wurde siebenmal wiederholt und die dritte, fünfte, sechste und siebente Fällung auf den Gehalt an Phosphor geprüft. Der zur Analyse bestimmte Anteil wurde bei den Fällungen 3 und 5 mit Alkohol denaturiert (Eingießen der konzentrierten wässrigen Eiweißlösung in starken Alkohol u. s. w., wie schon oben erwähnt), bei der sechsten und

siebenten Fällung durch Eingießen der konzentrierten wässrigen Lösung in siedend heißes Wasser, Absaugen, heißes Nachwaschen und zweimaliges weiteres Anrühren und Waschen mit siedendem Wasser denaturiert.

Die so erhaltenen Substanzen wurden zur Analyse im Vakuum bei 140° getrocknet.

Fällung:

III. 0·8135 g gaben 0·0896 g $Mg_2P_2O_7$.

V. 1·3666 g gaben 0·1411 g $Mg_2P_2O_7$.

VI. 0·9416 g gaben 0·0777 g $Mg_2P_2O_7$.

VII. 0·7330 g gaben 0·0455 g $Mg_2P_2O_7$.

In 100 Teilen:

	Gefunden			
	III.	V	VI	VII
P.	3·07	2·88	2·30	1·73

Untersuchung von rohem Eiereiweiß auf seinen Phosphorgehalt.

Von einem ganz frisch gelegten, noch warmen Hühnerei wurde Eiklar und Dotter sorgfältig voneinander getrennt und ersteres zunächst im Exsikkator über Schwefelsäure eingetrocknet (feucht wog es 34 g, trocken 4·3 g).

Davon gaben 2·5323 g, im Vakuum bei 140° getrocknet, 0·0141 g $Mg_2P_2O_7$.

In 100 Teilen:

	Gefunden
P.	0·155

Von einem zweiten vom selben Huhn stammenden, einen Monat gelegenen Ei wurde das Eiweiß, genau ebenso behandelt, zur Analyse verwendet.

1·612 g, bei 140° getrocknet, 0·0129 g $Mg_2P_2O_7$.

In 100 Teilen:

	Gefunden
P.	0·228

In den von Herrn Hofrat Prof. Ludwig überlassenen zwei Eiweißproben fand ich in der ersten gar keinen Phosphor, die zweite gab nach dem Trocknen bei 130° folgendes Resultat:

1·148 g Substanz gaben 0·0145 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$.

In 100 Teilen:

	Gefunden
P.....	0·352
