Ninhydrin als mikrochemisches Reagens auf Aminosäuren.

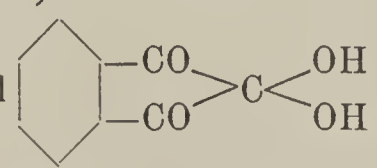
Von **Oscar Loew.**

Das von Ruhemann[1]) im Jahre 1910 zuerst dargestellte Triketo-Hydrindenhydrat oder Ninhydrin wurde von ihm als Reagens auf α-Aminosäuren erkannt. Diese liefern selbst bei großer Verdünnung beim Kochen mit Ninhydrin eine blaue Färbung. Abderhalden[2]) hat von dieser Reaktion bei Prüfung tierischer Flüssigkeiten Gebrauch gemacht. Er löste 0,1 g Ninhydrin in 30 ccm Wasser und fügte 1—2 Tropfen zu 1 ccm der zu prüfenden Flüssigkeit und kochte. Die Lösung muß neutral reagieren, weil sowohl Säuren als Alkalien die Reaktion hemmen oder vernichten. Er fand, daß Glycocoll noch bei einer Verdünnung von 1:65000, Leucin bei 1:25000, Glutaminsäure bei 1:22000, Asparaginsäure 1:19000, Phenylalanin bei 1:26000, Histidin bei 1:79000, Aminobuttersäure bei 1:16000 noch eine blaue Färbung liefern.

Es ergab sich nun die Frage, ob diese Reaktion nicht auch für pflanzenmikrochemische Zwecke verwendet werden könnte und ob diese Unterschiede nicht noch bedeutender ausfallen würden, wenn die Reaktion bei gewöhnlicher Temperatur einsetzen würde. In der Tat beobachtete ich hier bedeutende Unterschiede. Mit einer Lösung von 0,1 g Ninhydrin und 10 ccm Wasser liefern bei Zimmertemperatur Aminoessigsäure, Alanin, Leucin und Histidin schon in 15 Minuten eine ziemlich starke blaue Färbung, Lysin und Arginin in etwa 20 Minuten, Asparaginsäure und Glutaminsäure in etwa 2 Stunden, Phenylalanin in 3 Stunden; Tyrosin aber reagiert selbst nach 24 Stunden nicht. Von

---

1) Chem. Zentralbl. 1910, II, pag. 813. Das Ninhydrin entspricht der Strukturformel



2) Zeitschr. physiol. Chem. 72, pag. 37 und 85, pag. 143. Ich habe gezeigt, daß Ninhydrin ein allgemeines Gift ist. Biochem. Zeitschr., Bd. IXLX, pag. 111.

3) Zwar geben auch Milch, Speichel und Eierklar auch die blaue Reaktion, wofür jedoch Spuren vorhandener Aminosäuren verantwortlich zu sein scheinen.

wesentlicher Bedeutung ist hierbei jedenfalls der verschiedene Energiegehalt in der Aminogruppe.

Asparagin, welches ein Amid einer Aminosäure ist, liefert nur eine rötlich-gelbe Färbung, die für mikrochemische Zwecke zu schwach ist. Beim Kochen wird die Färbung tiefrotbraun.

Bei Verwendung des Ninhydrin zu mikrochemischen Zwecken, um eine Eiweißzersetzung zu erkennen, ist daher festzuhalten, daß eine bei gewöhnlicher Temperatur im Laufe von 1—2 Stunden einsetzende Bläuung von Schnitten auf verschiedene Aminosäuren deuten kann, nicht aber auf Tyrosin und Asparagin. Da nun beim Eiweißzerfall das Leucin in besonders bedeutender Menge häufig auftritt, so dürfte jene Reaktion nicht selten wesentlich auf Leucin zu deuten sein. Das Zein, ein Proteinstoff der Maiskörner, liefert z. B. nach Osborne bei der Spaltung 19,55% Leucin. Da ferner bei Schnitten durch angekeimte Maiskörner die blaue Reaktion schon bei gewöhnlicher Temperatur nach 1—2 Stunden eintritt und zwar wesentlich in der Randzone des Scutellums, so dürfte die Bläuung zum größten Teil wohl dem Leucin zuzuschreiben sein.

Schnitte durch den Stengel von Lupinenkeimlingen, welche mit Ninhydrinlösung auf dem Objektträger kurz erwärmt werden, zeigen eine intensiv blaue Reaktion, ebenso Schnitte durch Kotyledonen dieser Keimlinge[1]). Schnitte durch ausgewachsene Blätter liefern die Reaktion gewöhnlich nicht, dagegen häufig solche durch junge Blätter, wobei besonders in den Blattnerven die blaue Färbung erscheint. Unreife Früchte von Lilium geben intensive Reaktion. Algen, wie Spirogyra und Oedogonium, geben bei gewöhnlicher Temperatur keine Spur von Reaktion und ebensowenig beim Kochen[2]). Wenn die Algen jedoch 5 Tage im Dunkeln verweilt haben und dadurch eine Zersetzung von gelöstem Reserveeiweiß beim Aushungern eingetreten ist, so erhält man beim Auskochen dieser Objekte mit wenig Wasser eine schwach blaue Reaktion in diesem mit Ninhydrin[3]).

---

1) Hierbei zeigen auffallenderweise auch die Zellmembranen eine starke Bläuung, was mehrere Ursachen haben könnte.

2) Nur einmal habe ich bei einem Kerne von Spirogyra bei gewöhnlicher Temperatur mit Ninhydrin eine langsam eintretende Bläuung bemerkt, habe aber diese Beobachtung später nicht mehr machen können.

3) Ninhydrin liefert beim Erhitzen auch mit Zuckerarten eine blaue Reaktion, aber nur bei Gegenwart von Ätzalkalien, während bei Gegenwart von Alkalikarbonaten eine kirschrote Färbung entsteht. Diese Reaktion hat aber keine besonderen Vorteile vor der Fehlings-Lösung.

Da die bei der Eiweißzersetzung erzeugten Aminosäuren bei ihrem Transport in der Pflanze allmählich der Oxydation unterliegen, wobei jedoch der Stickstoff derselben als Ammoniak frei wird, das entweder direkt zur Bildung von Eiweißstoffen dient oder einstweilen in der Form von Asparagin gespeichert wird, so kann man bei ein und demselben Objekt die Reaktion nur in einem ganz gewissen Stadium erhalten; denn Asparagin liefert ja die blaue Reaktion nicht, ebensowenig die reinen Proteinstoffe der Zellen. Die längere Einwirkung des Reagens bei Zimmertemperatur hat den Vorteil vor dem Erhitzen, daß die Aminosäuren besser lokalisiert bleiben und nicht so rasch aus den ursprünglichen Zellen herausdiosmieren [1]).

---

1) Die zu meinen Versuchen nötigen Proben Histidin, Arginin und Lysin hat mir Herr Prof. Dr. Willstätter gütigst übergeben, wofür ich demselben auch an dieser Stelle meinen besten Dank ausdrücken möchte.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Flora oder Allgemeine Botanische Zeitung

Jahr/Year: 1918

Band/Volume: 110

Autor(en)/Author(s): Loew Oscar

Artikel/Article: Ninhydrin als mikrochemisches Reagens auf Aminosäuren. 262-264