

# Liebigs Pflanzencasein\*

Prof. Dr. Klaus Dieter Schwenke, Klaus-Groth-Str. 1, 14513 Teltow

## Die Vorgeschichte: Von der "vegeto-animalischen Materie" zum "Legumin"

Als Jacopo Bartolomeo Beccari <sup>1</sup> im Jahre 1745 erstmals die Isolierung und chemische Untersuchung eines Eiweißpräparates in Gestalt des Weizenklebers beschreibt, <sup>2</sup> leitet er nicht nur die Geschichte der Eiweißchemie ein, <sup>3</sup> sondern zwingt auch die Wissenschaft zum Umdenken. Die aus pflanzlichem Material gewonnene Substanz ergab nämlich bei der trockenen Destillation, der damals üblichen Methode zur Charakterisierung organischer Stoffe, basische Produkte und zeigte damit Eigenschaften, die man nur von tierischen Stoffen kannte. Die bis dato gültige Unterscheidung zwischen pflanzlichen, saure Destillationsprodukte liefernden Stoffen wie Stärke und solchen aus tierischer "Materie" wie Blut, die basische Produkte ergaben, war hinfällig und eine imaginäre chemische Barriere zwischen Tier- und Pflanzenreich prinzipiell in Frage gestellt. Weitere Argumente hierzu lieferte Hilaire Marin Rouelle, <sup>4</sup> seit 1770 Nachfolger seines älteren Bruders als Demonstrator am "Jardin des Plantes" in Paris, durch seine Untersuchung der grünen Pflanzenteile.

"Ich habe nachgewiesen", schreibt er 1773,

daß die grünen Teile verschiedener Pflanzenfamilien, nachdem sie getrocknet worden waren, bei ihrer Analyse in der Retorte dieselben Produkte ergaben wie tierische Stoffe; das beweist, daß das Setzmehl der grüngefärbten Teile der Pflanzen nicht aus rein pflanzlichem Stoff zusammengesetzt ist, da man dort nicht Produkte der Pflanzenanalyse findet, sondern im Gegenteil solche tierischer Stoffe ... Ich habe seitdem behauptet, daß man in allen Pflanzen einen dem Weizenkleber absolut ähnlichen Stoff nachweisen kann. <sup>5</sup>

An anderer Stelle heißt es:

Dieser kleberartige Stoff, den ich auch 'vegeto-animalisch' nenne, kommt in der Milch vor. Er nämlich bildet den käseartigen Teil, der aus der Milch abgetrennt wird, ist wie die Klebersubstanz unlöslich in Wasser und gibt dieselben Produkte bei der Analyse ... und kann in einen Körper verwandelt werden, der den gleichen

Geruch wie Käse hat... Diese Substanz gelangt mit den pflanzlichen Nährstoffen in die Tiere.<sup>6</sup>

Die Ähnlichkeit in den Eigenschaften von Eiweißstoffen tierischen Ursprungs (hier des Caseins) und denen aus Pflanzen bewogen auch Scheele, in seiner Studie über die Milch festzustellen, dass "viele wo nicht alle Gewächse eine käseähnliche Materie bey sich haben".<sup>7</sup>

Die Befunde seiner Vorgänger, vermehrt um eigene Versuchsergebnisse, veranlassten schließlich Fourcroy, in seiner Arbeit "Über das Vorkommen eines Eiweißstoffes in den Pflanzen" das Gemeinsame in den Eigenschaften der tierischen und pflanzlichen Eiweißstoffe zur Grundlage der Definition einer neuen Substanzklasse zu machen. Fourcroy's denkwürdige Arbeit beginnt mit den Worten:

Die Arbeiten der heutigen Chemiker über Pflanzenstoffe bieten den Philosophen, die über den Fortschritt der Wissenschaften nachdenken, zwei gleichermaßen wichtige Ergebnisse: das eine ist die Entdeckung mehrerer Prinzipien, die man in Pflanzen bisher überhaupt nicht kannte, das andere ist die Analogie mehrerer dieser Prinzipien mit Stoffen ... aus dem Tierreich ... Um dieser Analogie ein weiteres Merkmal zuzufügen, werde ich in dieser Denkschrift eine Reihe von Tatsachen über das Vorkommen von Eiweißstoffen in Pflanzen benennen.<sup>8</sup>

Die Eigenschaften der Eiweißstoffe aus Pflanzensäften, d. h. ihr Stickstoffgehalt und die Entwicklung von Ammoniak bei der Fäulnis, Wasserlöslichkeit, Fällbarkeit, Hitzekoagulations- und Geliervermögen, seien von "absolut gleichem Charakter" wie die des Eiweißes aus dem Hühnerei und "kennzeichnend für das Reich des Organischen, Belebten im Gegensatz zum Mineralreich". Diese neue Substanzklasse nannte er "albumen" Eiweiß.

Bildete die Erkenntnis von analogen Eigenschaften pflanzlicher und tierischer Eiweißstoffe die Grundlage einer dem Tier- und Pflanzenreich gemeinsamen neuen Stoffklasse, so zwangen die z. T. sehr unterschiedlichen physikochemischen Eigenschaften die Wissenschaftler, zwischen dem "klassischen", wasserlöslichen und hitzekoagulierbaren Albumin-Typ und anderen Eiweißstoffen zu differenzieren. Hatte noch Rouelle das koagulierte Pflanzeneiweiß mit dem Weizenkleber verglichen, so unterschied Fourcroy letzteren vom Albumin als dem eigentlichen Eiweiß.<sup>9</sup> Der Autor sah sich jedoch zu Beginn des 19. Jahrhunderts einer scharfen Kritik ausgesetzt, da einige Forscher die Unterschiede zwischen dem sogenannten Pflanzenalbumin und dem Eialbumin als so gravierend ansahen, dass sie den Begriff "Albumin" für das Pflanzeneiweiß für nicht gerechtfertigt hielten.<sup>10</sup>

Als Heinrich Einhof <sup>11</sup> 1806 über die Entdeckung der Globulinfraktion in den Samen der Leguminosen berichtete, nannte er diese neue, stickstoffhaltige Stoffklasse "thierisch-vegetabilische Materie der Hülsenfrüchte". Diese Substanz, die

mit den thierischen Substanzen Ähnlichkeit hat, ... stimmt in einigen Eigenschaften mit dem Kleber und dem Pflanzeneiweiß überein, unterscheidet sich aber von der anderen Seite, besonders durch leichte Auflösbarkeit in Alkalien und Säuren ... von denselben so sehr, daß man sie mit ihnen gar nicht verwechseln kann. <sup>12</sup>

In seinen Analysen der Samenbestandteile unterschied Einhof deshalb auch "Pflanzeneiweiß" und "thierisch-vegetabilische Materie". <sup>13</sup>

Zwanzig Jahre nach Einhofs Veröffentlichung nahm Braconnot dessen Untersuchungen wieder auf. In seiner Arbeit "Über ein besonderes Prinzip in den Körnern der Leguminosenfamilie" beschreibt er die Isolierung des von Einhof "thierisch-vegetabilische Materie" und von ihm "Legumin" genannten Eiweißes, von dem er feststellte, dass es sich zwar aus dem Samenmehl durch Wasser "auf Grund der Wirkung einer anwesenden Pflanzensäure" extrahieren ließ, in isolierter, gereinigter Form jedoch wasserunlöslich war, sich durch Erhitzen aus dem wässrigen Extrakt nicht koagulieren ließ, beim Erkalten der Lösung aber gelartig erstarrte. <sup>14</sup> Wenig später veranlassten ihn bestimmte Analogien des "Legumins" zum Casein der Milch zu der Feststellung:

Ich muß hier das Geständnis ablegen, daß ich in meiner Untersuchung der Samen der Leguminosen, ehe ich also die Eigenschaften des Caseins kannte, in einen Irrtum gefallen sein kann, indem ich als einen Stoff eigener Art beschrieb, eine Substanz, die mir jetzt dem Käse sehr ähnlich zu sein scheint. <sup>15</sup>

Dass es sich bei dem von Einhof und Braconnot beschriebenen Eiweißtyp um eine ubiquitäre Substanz in Pflanzensamen handeln müsse, die von großer Bedeutung für den Nährwert und die Entwicklung der Pflanze sei, hat Gay-Lussac 1833 nach der Analyse einer großen Zahl verschiedener Samen, darunter auch solchen von Ölpflanzen, wie folgt ausgedrückt:

Als Konsequenz glaube ich diese Beobachtung verallgemeinern zu können, indem ich als Prinzip festlege, daß alle Samen einen sehr stickstoffreichen Stoff enthalten. Dieses nämlich erklärt den so überaus nahrhaften Charakter der Körner, die erstaunliche Fruchtbarkeit, die der Extraktionsrückstand nach der Entfernung des Öls als Dünger besitzt und umgekehrt auch die Notwendigkeit eines animalischen Stoffes im Dünger ... Die Anwesenheit eines stickstoffhaltigen Stoffes in den Samen ist ohne Zweifel eine wesentliche Bedingung ihrer Fruchtbarkeit und ihrer Entwicklung. <sup>16</sup>

## Mulders Konzept eines "Protein"-Grundkörpers

Mit der Einführung der Elementaranalyse erhält die Untersuchung von Eiweißstoffen eine neue Qualität.<sup>17</sup> Die Analogie zwischen tierischen und pflanzlichen Eiweißstoffen, bisher im wesentlichen phänomenologisch ermittelt, wird nunmehr durch die Elementarzusammensetzung quantitativ untermauert. Darüber hinaus haben diese Daten letztendlich Argumente für eine scheinbare Identität analoger Tier- und Pflanzeneiweiße geliefert.

Pionierarbeit hat dabei der holländische Chemiker und Physiologe Mulder durch systematische Untersuchung tierischer und pflanzlicher Eiweißstoffe mittels Verbrennungsanalyse geleistet. Für Blutfibrin, Serumalbumin, Eialbumin, Casein und ein "Pflanzenalbumin" bestimmte er die gleiche Zusammensetzung an den Hauptelementen Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff und Sauerstoff.<sup>18</sup> Hingegen wiesen diese Eiweißstoffe Unterschiede im Schwefel- und Phosphorgehalt auf, bei dessen Eliminierung eine übereinstimmende Grundzusammensetzung resultierte, die der Formel  $C_{40}H_{62}N_{10}O_{12}$  entsprach.

Mulder hat daraus zwei Schlussfolgerungen gezogen:

1. Er nahm an, "daß es nur eine Art Eiweißstoff im Thierreich, sowohl in den höheren als niederen Ordnungen derselben" gibt,

eine Substanz, deren Zusammensetzung von der aller anderen bis jetzt bekannten Körper verschieden ist<sup>19</sup> ... und die Eiweiß- und Faserstoffe der Thiere im Ganzen ... einzig durch das Pflanzenreich geschaffen werden ...<sup>20</sup>

Ausführliche Betrachtungen hierzu hat er in seiner "Physiologie"<sup>21</sup> angestellt.

2. "Es ist ein allgemeiner Stoff im Pflanzenreich, im thierischen von Seide, von Eiern und Blut, im Faserstoff des Blutes anwesend, den wir Protein nennen wollen von ὄνηματὸς der Erste."<sup>22</sup>

Berzelius, der Mulder in allen Fragen der chemischen Analytik beriet, hatte zuvor den Begriff "Protein" für die Grundsubstanz der Eiweißkörper vorgeschlagen.<sup>23</sup> Auch die Anregung zu einem Strukturvorschlag für dieses "Protein"-Molekül erhielt Mulder von Berzelius.<sup>24</sup> Danach fungierte das "Protein" als ein organisches Riesenmolekül, an dem die negativen Elemente Schwefel und Phosphor gleichsam als Liganden angeknüpft waren. Für das Casein ermittelte Mulder z. B. die Zusammensetzung  $10\text{Protein} + S_2$ , für das Serumalbumin  $10\text{Protein} + S_2\text{Ph}_2$  (Ph=Phosphor), für den Pflanzenleim, die mit Alkohol extrahierte Fraktion des Weizenklebers,  $10\text{Protein} + S_2$ .<sup>25</sup>

Durch umfangreiche Analysen von Verbindungen der Eiweißstoffe mit Säuren und Schwermetallionen<sup>26</sup> hatte Mulder ein "Atomgewicht" von etwa 5.500 für das "Protein" ermittelt.<sup>27</sup> Die "Atomgewichte" der schwefel- und phosphorhaltigen Eiweißstoffe mussten danach mindestens 55.000 betragen; das war ein Wert, der weit über dem für die Molekularmassen damals bekannter Stoffe lag.<sup>28</sup>

Nach Mulder sollten sich Schwefel und Phosphor durch Behandlung mit verdünntem Alkali relativ leicht aus der "Proteinverbindung" abtrennen lassen. Nachfolgendes Ausfällen mit Essigsäure sollte das freie "Protein" ergeben. Das Ergebnis schien ihm Recht zu geben, denn er konnte weder Schwefel noch Phosphor in dem erhaltenen Präzipitat nachweisen.<sup>29</sup> Somit glaubte er, die Existenz eines schwefel- und phosphorfreen "Proteins" der Formel  $C_{40}H_{62}N_{10}O_{12}$  bewiesen zu haben. Diese Grundsubstanz sollte in den Pflanzen "präexistieren" und unverändert den tierischen Stoffwechsel durchlaufen.<sup>30</sup>

Das Legumin wird von Mulder in seiner "Physiologie"<sup>31</sup> neben den anderen "Proteinstoffen" erwähnt und hinsichtlich seiner Zusammensetzung, die er zunächst ausschließlich aus Literaturdaten entnahm, und seiner Rolle in der Ernährung diskutiert. Die Unlöslichkeit des Legumins in Wasser und offenbar auch seine Fähigkeit zur Gelbildung veranlasste ihn, dieses als "dem Gluten verwandte Substanz" zu bezeichnen. "In Ammoniak gelöst, daraus durch Säure gefällt und daraus mit Alkohol ausgezogen, ist es rein und eine Proteinverbindung, aber welche - ist unbestimmt."<sup>32</sup>

Die ihm vorliegenden Literaturdaten über die Elementarzusammensetzung des Legumins<sup>33</sup> sprachen unbedingt für eine "Proteinverbindung", die unzureichende Kenntnis des richtigen Verhältnisses von Schwefel und Phosphor zum Proteingrundkörper machte ihm jedoch eine Einordnung in die übrigen, von ihm untersuchten "Proteinverbindungen" unmöglich. Im Grunde genommen aber entsprach die beschriebene Reinigungsoperation des Legumins seinem Verfahren zur Gewinnung des schwefelfreien Proteinkörpers. So äußerte er sich zu der von Rochleder im Liebigschen Laboratorium durchgeführten Untersuchungen am Legumin<sup>34</sup> wie folgt:

Nach Rochleder sind Legumin und Casein sehr nahe verwandt und unterscheiden sich nur durch die Reaktion mit Essigsäure. Seine Analysen sind übrigens mit aus Legumin dargestelltem Protein und nicht dem Legumin selbst angestellt. Rochleder hat nämlich Legumin in concentrirtem Kali aufgelöst, filtrirt und mit Essigsäure gefällt. Es kann also kein Legumin mehr sein, sondern schwefelfreies Protein, verunreinigt durch eine Substanz, welche den Stickstoff- und den Kohlenstoffgehalt um fast ein Prozent erniedrigt. Die Zusammensetzung des Legumins ist also unbekannt.<sup>35</sup>

Wie andere Proteinverbindungen auch müsste das Legumin im tierischen Organismus voll verwertet werden, denn es mache keinen Unterschied, ob "die Thiere durch pflanzliche Proteinstoffe genährt werden, die von denen des tierischen Körpers nur wenige Eigenschaften besitzen oder ganz demselben fremd sind, wie z. B. Legumin, oder ob sie durch thierische Proteinverbindungen genährt werden".<sup>36</sup>

## Das "Protein" in Liebig's Tierchemie

Liebig hat die Vorstellungen Mulders über das "Protein" in seine 1842 erschienene "Tierchemie"<sup>37</sup> aufgenommen, zumal ihm die Untersuchungen seiner Mitarbeiter Scherer<sup>38</sup> und Jones<sup>39</sup> Argumente für die Übereinstimmung der Grundzusammensetzung unterschiedlicher Eiweißstoffe und für die Existenz eines irgendwie gearteten Proteingrundkörpers lieferten. Er hat dafür aus den eigenen Analysen die Formel  $C_{48}H_{72}N_{12}O_{14}$  abgeleitet.<sup>40</sup> Hinsichtlich einer "rationellen Formel" für die Eiweißstoffe hat er sich wie folgt geäußert:

Eine jede Bemühung, die wahre Anzahl der Atome des Fibrins und Albumins in einer rationellen Formel festzusetzen, in welcher Schwefel und Phosphor zu ganzen Atomzahlen aufgenommen sind, wird immer unfruchtbar bleiben, weil uns schlechterdings die Mittel fehlen, um mit absoluter Genauigkeit die so äußerst geringen Mengen von Schwefel und Phosphor in den Thiersubstanzen bestimmen zu können, und eine Abweichung, welche kleiner ist als die gewöhnlichen Grenzen des Beobachtungsfehlers, um 10 und mehr Atome, die Anzahl der Atome des Kohlenstoffs, Wasserstoffs und Sauerstoffs in der Formel ändert.

Man muß sich in dieser Hinsicht über das, was die chemische Analyse zu bieten vermögend ist, keiner Täuschung hingeben; mit Gewißheit wissen wir, dass die Zahlenverhältnisse der Analysen von Fibrin und Albumin nicht voneinander abweichen, und wir erschließen hieraus die gleiche Zusammensetzung. Dieser Schluß verliert von seiner Wahrheit nichts, obwohl wir die Anzahl der Atome ihrer Elemente nicht kennen, welche zu dem zusammengesetzten Atome sich vereinigen.

Eine Formel für Protein ist für uns nichts weiter wie der genaueste und nächste Ausdruck der Analyse, einer Erfahrung, über die wir alle Zweifel als beseitigt betrachten.<sup>41</sup>

Dass das "Protein", wie Mulder es postulierte, in den stickstoffhaltigen Pflanzenstoffen fertig gebildet vorliegt, sah Liebig als nicht bewiesen an, "indem die Verschiedenheit ihrer Eigenschaften darauf hindeuten scheint, daß ihre Elemente nicht auf gleiche Weise miteinander vereinigt sind". Als "Ausgangspunkt für die Entwicklung und Vergleichung ihrer Eigenschaften" gewähre aber "die Annahme der Präexistenz des Proteins viele Bequemlichkeit".<sup>42</sup> Hingegen könne man es

"soweit unsere Forschungen reichen, als ein Erfahrungsgesetz betrachten, daß die Pflanzen in ihren Organismen Proteinverbindungen erzeugen und daß sich die zahlreichen Gebilde und Bestandtheile des Thierkörpers" daraus entwickeln.<sup>43</sup> "Der erste Naturstoff des Thieres ist das letzte Produkt der schaffenden Thätigkeit der Pflanze."<sup>44</sup>

Die Pflanze als eigentlicher Eiweißproduzent sollte auch alle für den Tierorganismus typischen Eiweißstoffe, also Albumin, Fibrin, Casein und Leimstoffe erzeugen.<sup>45</sup>

Die Analogie in den physikochemischen Eigenschaften ("ihre äußere Beschaffenheit und ihr Verhalten zur Wärme") veranlaßte denn Liebig auch zu folgender Zuordnung: Dem wasserlöslichen, hitzeoagulierbaren "Thieralbumin" sollte ein analoges "Pflanzenalbumin", dem "Thierfibrin" der "Pflanzenfibrin" genannte Kleber der Getreidearten, dem "Thierleim" (Gelatine) die als "Pflanzenleim" bezeichnete alkohollösliche Fraktion des Klebers (nach heutigem Wissen die Prolaminfraction) und dem tierischen Casein das nun "Pflanzencasein" genannte Legumin entsprechen.<sup>46</sup>

Die genannten "stickstoffhaltigen Pflanzenstoffe" sollten nach seiner Auffassung, mit Ausnahme des "Pflanzenleims", die eigentlichen "plastischen", d. h. blutbildenden Nahrungsmittel sein.<sup>47</sup>

Die von Braconnot hervorgehobene große Ähnlichkeit zwischen Legumin und Casein wird bei Liebig zu einer weitgehenden Identität beider Eiweißstoffe. Beide zeigten nicht nur Übereinstimmung in ihrer Elementarzusammensetzung, sondern auch in Löslichkeit und Säurefällbarkeit (Bildung käseartiger Koagulate); insbesondere aber waren sie beim Erhitzen nicht koagulierbar ("Häutchenbildung" an der Oberfläche beim Eindampfen ihrer Lösungen). Als weiteres Charakteristikum führt Liebig ihre Fähigkeit zur Bindung von "phosphorsaurem Kalk" an (Casein galt ihm als phosphorfreier Stoff).

Als Schlussfolgerung schreibt er:

Die Untersuchung des Caseins hat nun zu dem Resultat geführt, ... daß auch dieser Stoff identisch ist in seiner Zusammensetzung mit den Hauptbestandtheilen des Blutes, mit Fibrin und Albumin, ja was noch mehr ist, die Vergleichung seiner Eigenschaften mit denen des Pflanzencaseins hat gezeigt, daß es mit diesem auch identisch ist in allen Eigenschaften, in der Art also, daß gewisse Pflanzen wie die Erbsen, Bohnen, Linsen, den nämlichen Körper zu erzeugen vermögen, welcher aus dem Blute der Mutter entsteht und zur Blutbildung in dem Körper der jungen Thiere verwendet wird.<sup>48</sup>

Im Register der zweiten Auflage der "Thierchemie" finden wir dementsprechend unter "Casein": "stickstoffhaltiger Bestandtheil der vegetabilischen Nahrungsmittel, seiner Zusammensetzung nach identisch mit Fibrin und Albumin; Casein der Milch identisch mit dem Pflanzencasein; wird im jungen Thiere zur Blutbildung verwendet; gehört zu den plastischen Nahrungsmitteln; liefert Protein" (gemeint ist der Muldersche Protein-Grundkörper).<sup>49</sup>

### **Liebigs Konzept einer künstlichen Muttermilch**

Seine Vorstellung über die Identität von "Pflanzencasein" und tierischem Casein hat Liebig trotz berechtigter Kritik vonseiten Mulders und Berzelius (s. u.) beibehalten und in seine konzeptionellen Überlegungen zur Herstellung einer künstlichen Muttermilch, die 1865 in der Schrift "Eine neue Suppe für Säuglinge" zusammengefasst wurden, einbezogen.<sup>50</sup> Die künstliche Milch war gedacht als eine Hilfe für Mütter, die ihre Kinder selbst nicht stillen können, "oder denen es an Nahrung für ihren Säugling mangelt".<sup>51</sup> Sie sollten die beiden Grundbestandteile der Milch enthalten, zum einen den "Käsestoff", aus dem der "Hauptbestandtheile des Blutes" und "aus diesem der Hauptbestandteil des Fleisches" entstehen, "zum anderen die Butter und der Milchzucker", die zur "Erzeugung der animalischen Wärme" dienen.<sup>52</sup>

Liebig ging davon aus, dass Getreidekörner und Leguminosensamen diese Rohstoffe im wesentlichen liefern können:

Die Samen der Getreidearten enthalten einen Stoff, der mit dem geronnenen Käsestoff, die Erbsen und Bohnen einen Stoff, der mit dem Käse, wie er in der Milch enthalten ist, identisch ist. In dem Getreidemehl ist zwar kein Milchzucker und nur wenig Fett enthalten, aber es ist reich an Stärkemehl, welches im Magen in Zucker übergeführt wird.<sup>53</sup>

Fleisch- und wärmeerzeugende Nährstoffe sollten "dem Lebensalter und dem Bedürfnisse des Individuums entsprechend, in dem richtigen Verhältnisse dargebracht werden, beide ein Maximum an Nähreffekt hervorbringen".<sup>54</sup>

Zur Ernährung eines Knaben mit Kartoffeln und Erbsenbrei stellte Liebig folgende Überlegung an: Das Verhältnis von "blutbildender" Substanz (Eiweiß) zu "wärmeerzeugendem" Stoff (Stärkemehl) in der Kartoffel ist 1:10. 24 Unzen (1 ½ Pfund) gedämpfte Kartoffeln, die dem täglichen Bedarf des Knaben zur einfachen Erhaltung seines Körpergewichtes ohne Vermehrung seiner Muskelsubstanz entsprechen, enthalten 5 Unzen Stärkemehl, "von denen nur 2 ½ Unzen zur Wärmeerzeugung in seinem Körper verbraucht werden, der Rest belästigt seine Eingeweide und geht ohne Nutzen wieder ab".<sup>55</sup>

Hingegen sind "in 5 Unzen Erbsen ... eine Unze blutbildende Substanz (also soviel als in 48 Unzen gedämpfter Kartoffeln) und 2,5 Unzen Stärkemehl enthalten".<sup>56</sup>

Würde der Knabe also ein Gemisch von Kartoffeln und Erbsenbrei im Verhältnis 1:5 seinem Bedarf entsprechend zu sich nehmen, so ließe sich die Menge von 24 auf 14  $\frac{1}{2}$  Unzen reduzieren. Darüber hinaus wird der Knabe diese Mischung

nicht allein leichter bewältigen als die früheren 24 Unzen Kartoffeln allein, die ihn unvollständig ernährt haben, sondern er wird auch in diesem kleineren Gewicht seiner Nahrung  $\frac{1}{4}$  mehr blutbildende Nährstoffe genießen, ein Überschuß, der für den Knaben notwendig ist zum Wachsen, d. h. um sein Körpergewicht zu vermehren.

<sup>57</sup>

Die schließlich ausgearbeitete Rezeptur für die künstliche Milch enthielt allerdings kein Leguminoseneiweiß; Magermilch, Weizenmehl und Malzmehl im Verhältnis 10:1:1 mit einem Zusatz von Kaliumbicarbonat zur Neutralisation, d. h. zur Anpassung des pH-Wertes an den der Muttermilch, waren die Bestandteile.<sup>58</sup> Dazu schreibt Liebig:

Das Verhältnis der Milch in meiner Kindersuppe hat mich vielfach beschäftigt, und ich habe Versuche angestellt, um die Milch durch Anwendung einer entsprechenden Menge Erbsenmehl ganz auszuschließen; ein solches ohne Milch bereitetes Nahrungsmittel hat aber stets einen strengen Geschmack; den zu beseitigen mir nicht gelungen ist.<sup>59</sup>

Grundlage für Liebigs Rezeptur waren Analysen seines Mitarbeiters Haidlen über die Zusammensetzung der Muttermilch, die wiederum Angaben des Physiologen Simon bestätigten.<sup>60</sup> Danach lag ihr "Caseingehalt" bei 3,1 %, einem Wert, der dem Eiweißgehalt der Kuhmilch (mittlerer Wert 3,2 %; 2,6 % Casein + 0,6 % Molkenproteine) sehr nahe kam, jedoch weit über dem tatsächlichen Eiweißgehalt der Muttermilch (mittlere Werte: 0,4 % Casein + 0,6 % Molkenproteine) lag.<sup>61</sup>

Unter diesen Voraussetzungen hergestellt, entsprach die Säuglingssuppe nach Liebigs Ansicht der relativen Zusammensetzung der Muttermilch an ihren Hauptbestandteilen; zudem hatte sie "die doppelte Konzentration der Frauenmilch".<sup>62</sup>

Dass die neue Kindersuppe vielfach Anklang fand, belegen Berichte Münchner Ärzte bereits ein Jahr nach Liebigs erster Veröffentlichung.<sup>63</sup> Aus heutiger Sicht stellte sie jedoch keinen vollwertigen Ersatz für die Muttermilch dar, deren günstiges Verhältnis von ernährungsphysiologisch hochwertigen, zu Liebigs Zeit noch unbekanntem Molkenproteinen zum Casein eine ausbalancierte Ernährung mit essentiellen Aminosäuren garantierte. Der Ersatz von Milch- und Getreide-

protein durch Erbsenprotein hätte dieses Problem ohne Aminosäuresupplementierung im übrigen nicht gelöst. Darüber hinaus enthielt die Kindersuppe zu wenig Fett und Vitamine, insbesondere Vitamin C, und zu viel Kohlenhydrate.<sup>64</sup>

## **Das Legumin in der Auseinandersetzung um die Proteintheorie**

Die Identität von Legumin und tierischem Casein war durch eine Arbeit von Dumas und Cahours,<sup>65</sup> in der sie für das "Legumin" aus Mandeln (das leguminanaloge Amandin nach heutiger Bezeichnung) einen höheren Stickstoff- und niedrigeren Kohlenstoffgehalt feststellten, in Frage gestellt (s. dazu auch Anm. 17). Liebig veranlaßte deshalb seinen Mitarbeiter Rochleder, die Elementarzusammensetzung des Legumins erneut zu untersuchen. Nach Reinigung durch Umfällen aus einer Lösung in konzentrierter Kalilauge bestätigte dieser die für das Casein und das Legumin früher bestimmte Zusammensetzung.<sup>66</sup>

Mulder sah in dieser Reinigungsoperation<sup>67</sup> den entscheidenden Schritt der Umwandlung eines Einweißstoffes in das vermeintlich schwefelfreie Protein (s. o.). Als solches hat das Legumin eine besondere Rolle in der Auseinandersetzung mit Liebig um die Proteintheorie gespielt, die in den Jahren 1846 / 1847 ihren Höhepunkt erreichte.<sup>68</sup>

Spätestens nach Erscheinen von Mulders "Physiologie"<sup>69</sup> begannen sich bei Liebig ernsthafte Zweifel an der Existenz eines schwefelfreien Proteingrundkörpers einzustellen.<sup>70</sup> So machte er den Alkaliabbau von Eiweißstoffen, der zum "Protein" führen sollte, und die Schwefelbestimmung in Eiweißstoffen zum zentralen Forschungsthema des Gießener Laboratoriums.<sup>71</sup>

In seiner Notiz "Ueber den Schwefelgehalt des stickstoffhaltigen Bestandtheils der Erbsen" stellte er fest, dass das von Rochleder isolierte Legumin "in Kalilauge gelöst und zum Sieden gebracht" mit Bleizucker eine durch "Schwefelbleidintenswarz gefärbte Flüssigkeit" ergab.<sup>72</sup>

Der stickstoffhaltige Bestandtheil der Erbsen, den ich mit Pflanzencasein bezeichnete, ist demnach nicht, wie Mulder behauptet, Schwefelfrei ... Wäre der stickstoffhaltige Bestandtheil derselben schwefelfrei, so könnte sich aus ihm kein schwefelhaltiges Blutfibrin und Albumin bilden. Ich halte überhaupt dafür, daß die Bildungsweise des Proteins einer neuen und gründlicheren Untersuchung bedarf, bis jetzt ist mir die Darstellung einer schwefelfreien Substanz von der Zusammensetzung und den Eigenschaften des sogenannten Proteins nach den Angaben von Mulder nicht gelungen. Möchte es Hrn. Mulder gefallen, sein Verfahren recht umständlich zu beschreiben.<sup>73</sup>

Der ironische Unterton dieser Bemerkung weist bereits auf die emotionsgeladene Atmosphäre hin, in der diese Auseinandersetzung schließlich geführt wurde.<sup>74</sup>

Der experimentelle Befund war eine Bestätigung von Liebig's Vorstellung, wonach das "Blutfibrin" und Albumin bildende Pflanzencasein Schwefel enthalten müsse. Die mit Akribie im Gießener Laboratorium durchgeführten quantitativen Schwefelbestimmungen in verschiedenen Eiweißstoffen<sup>75</sup> erbrachten auch für das Legumin ein eindeutiges Ergebnis, indem Liebig's Mitarbeiter Rüling<sup>76</sup> im Erbsenlegumin 0,47 % und im Bohnenlegumin 0,45 % Schwefel feststellte.

Die Proteintheorie Mulders wurde durch experimentelle Belege und schlüssige Argumente ad absurdum geführt.<sup>77</sup> Mulders "Protein" erwies sich als Zersetzungsprodukt und nicht als konstituierende Gruppe der Eiweißstoffe. In der Kontroverse zwischen Mulder und Liebig geriet allerdings auch die Bedeutung der Mulderschen Thesen für die Entstehung von Liebig's "Thierchemie" in Vergessenheit. Mulders Proteintheorie ist ein typisches Beispiel dafür, wie die Auseinandersetzung um eine fehlerhafte Lehre als wesentlicher Motor für die Entwicklung der Wissenschaft dient. Diese Dialektik hat sich denn auch in der Rezeption von Liebig's "Thierchemie" durch die Fachgenossen bewahrheitet.<sup>78</sup>

Im Ergebnis der Auseinandersetzung mit Mulders Theorie mußte auch die Bedeutung der Elementaranalyse für die Charakterisierung von Eiweißstoffen relativiert werden. In den 90er Jahren des 19. Jahrhunderts hat sie dann noch einmal eine Rolle bei der Charakterisierung der kristallisierten leguminartigen Eiweißstoffe aus unterschiedlichen Pflanzensamen durch Osborne gespielt.<sup>79</sup>

### **Die Kritik am "Pflanzencasein"**

Die Kritik an Liebig's Begriffsbildung konnte nicht ausbleiben, gab es doch bei aller Ähnlichkeit der pflanzlichen und tierischen Eiweißstoffe auch auffällige Unterschiede zwischen ihnen. Bereits 1843 setzte sich Berzelius in seinem "Jahresbericht über die Fortschritte der Chemie und Mineralogie" mit Liebig's Eiweißklassifikation auseinander. Darin stellte er fest, dass "diese Vergleichen mit entsprechenden Körpern der thierischen Oeconomie ... ohne Zweifel von großem Interesse" sind;

aber sie müssen auch nicht weiter ausgedehnt werden, als bis zur Darlegung sowohl der Aehnlichkeiten als auch der Verschiedenheiten, weil die Kenntnis beider für eine gründliche Einsicht gleich wichtig ist. Liebig hat die ersteren aufgesucht und dargestellt ...<sup>80</sup>

Die Unterschiede in den Eigenschaften der von Liebig definierten Eiweißtypen werden nun von Berzelius detailliert dargelegt.

Gegen das "Pflanzenfibrin" führte er dabei zwei wesentliche Argumente ins Feld, einmal die Tatsache, dass es nicht wie das Fibrin Fasern bildet, "die sich zusammenfilzen", zum anderen die fehlende Fähigkeit des Fibrins, Sauerstoffgas aus Wasserstoffsuperoxyd zu entwickeln. Nach seiner Ansicht sollte dieser Stoff eher der "isomerischen Form", d. h. dem "koagulierten" Zustand, des Albumins entsprechen. Zudem hielt er den Namen Pflanzenfibrin, der bereits für eine Grundsubstanz des Holzes und des Bastes der Pflanzen gebraucht wurde, für unpassend.

Bezüglich des "Pflanzencaseins" räumte er ein, dass dieses in der Tat eine überraschende Ähnlichkeit mit dem tierischen Casein habe, ihr unterschiedliches Verhalten bei Einwirkung von kohlen saurem Kalk oder Baryt, insbesondere aber von Lab seien aber deutliche Indizien ihrer Verschiedenheit:

Das Casein gibt ferner mit Lab Käse, aber was gibt Legumin? Liebig scheint diese capitale Probe nicht gemacht zu haben ehe er den Namen des Legumins in Pflanzencasein veränderte. Ich habe dies ebenfalls nicht versucht, aber ich möchte fast glauben, dass man aus einer Infusion von Bohnen oder Erbsen, wie concentrirt sie auch sein mag, durch Lab keinen Käse bereiten kann, und dann ist ihre Verschiedenheit höchst wesentlich.<sup>81</sup>

Auch Mulder hat sich kritisch zum "Pflanzencasein" geäußert. Seine Stellungnahme ist dabei durch die Polemik in der Auseinandersetzung mit Liebig um die Proteintheorie bestimmt. So schreibt er in seiner Streitschrift "Liebigs Frage sittlich und wissenschaftlich geprüft":

Ich beschränke mich jetzt allein darauf, anzudeuten, das er (der von Rochleder bereitete Stoff – Anm. des Verf.) nicht Casein genannt werden kann, um so weniger, als thierisches Casein ein zusammengesetzter Körper ist, ein Gemenge von Stoffen, die in dem Legumin noch nicht wiedergefunden sind. Wer Legumin Casein nennt, hat keines von beiden im mindesten studiert. Wer die Behauptung nicht fahren läßt, daß beide übereinstimmen, dass sie denselben Namen führen mögen, will die Wahrheit nicht sehen.<sup>82</sup>

An anderer Stelle versucht er, die Absurdität der Liebigschen Begriffsbildung durch den Vergleich mit dem nichtexistenten Pflanzenfibrin, einem "Gemenge von Cellulose und einem unbekanntem eiweißartigen Stoff, den wir gewohnt sind coaguliertes Pflanzeneiweiß zu nennen", aufzuzeigen:

Da kein Pflanzenfibrin besteht, kann auch keine Übereinstimmung im Schwefelgehalt zwischen dem, was nicht ist, und Fibrin aus Blut existieren. So sind denn Pflanzencasein und Pflanzenfibrin verfallen.<sup>83</sup>

In seiner "Physiologie" resümiert er:

Außerdem sind coaguliertes Eiweiß und Legumin in der Form und dem Vorkommen so sehr von dem thierischen Fibrin und Casein verschieden, daß sie nicht mit einem ähnlichen Namen bezeichnet werden dürfen.<sup>84</sup>

Berzelius, der in Mulders Proteintheorie einen echten Erkenntnisfortschritt sah und das "Protein" und dessen Verbindungen zur Grundlage eines stofflichen Vergleiches machte, hielt wenig von phänomenologischen Vergleichen. Vielmehr ging es ihm um sichere und unverwechselbare Substanzunterscheidungen. Als Resümee lesen wir:

Durch, wenn auch geistreiche Vergleichen in allgemeinen Ansichten das zusammenzuwerfen, was nicht völlig identisch ist, ist eine Art wissenschaftlicher Poesie, die häufig bei denen Ueberzeugung herbeiführt, welche in dem Gegenstande nicht selbst gedacht haben.<sup>85</sup>

Die genannten Einwände gegen das Pflanzencasein hatten ihre Berechtigung. Insbesondere wäre Berzelius' Hinweis auf die spezifische Labspaltung des Casein nach einer entsprechenden experimentellen Prüfung ein schlagendes Argument gewesen. Problematisch blieb bei aller Argumentation pro und contra Pflanzencasein, dass den Untersuchern reine Eiweißstoffe nicht vorlagen.

So bemerkte Liebig bereits 1841:

Das von Berzelius dargestellte Thiercasein enthielt noch 6,5% fremde Stoffe, phosphorsaurer Kalk, Bittererde, Eisen und freien Kalk, so daß man ein lösliches reines Thiercasein im eigentlichen Sinne ebensowenig kennt, wie reines von Säuren und Basen freies Pflanzencasein.<sup>86</sup>

Tatsächlich war man von der Gewinnung "reiner" Eiweißstoffe noch weit entfernt. Es fehlte das methodische Repertoire für ihre effektive Reinigung und Fraktionierung sowie ihre chemische und physikochemische Charakterisierung als einheitliche Stoffe. Zur endgültigen Abklärung der chemischen und physikalischen Verschiedenheit von "Pflanzencasein" / Legumin und tierischem Casein bedurfte es leistungsfähiger Methoden, die erst im 20. Jahrhundert entwickelt wurden. Am Anfang steht hier die Einführung der analytischen Ultrazentrifugation durch Svedberg, die den Nachweis der molekularen Heterogenität und die erste zuverlässige Molekulargewichtsbestimmung ermöglichte.<sup>87</sup>

Die im ausgehenden 19. Jahrhundert von Hammarsten<sup>88</sup> über das Casein und von Ritthausen<sup>89</sup> und Osborne<sup>90</sup> über pflanzliche Globuline durchgeführten Pionierarbeiten haben jedoch den Grundstein für die Entwicklung unserer Kenntnisse über das Wesen dieser Proteintypen gelegt.

## Casein und 11S-Globulin

Die Aufklärung der Grundstrukturen des tierischen Caseins war erst möglich, nachdem mit elektrophoretischen und chromatographischen Techniken die Voraussetzungen geschaffen worden waren, seine konstituierenden Strukturelemente zu isolieren und zu charakterisieren. Diese bestehen in drei Typen von Polypeptidketten mit Molekularmassen zwischen 18 und 24 kDa (alpha-, beta- und kappa-Casein) und - wie die Aminosäure-Sequenzanalyse ergab - ausgesprochen amphiphilem Charakter.<sup>91</sup> Letzterer ist verantwortlich für die Bildung mizellarer Strukturen durch Wechselwirkung hydrophober Sequenzbereiche. Bei der Assoziation der Polypeptidketten zu komplexen Gebilden bis hin zu stark solvatisierten, locker gepackten Mizellen mit elektronenmikroskopisch bestimmten Durchmesser zwischen 50 nm und 300 nm (Partikelgewicht einer Mizelle von 140 nm:  $10^7$ - $10^9$  oder 25.000 Monomere im Mittel) spielen elektrostatische Wechselwirkungen über Calciumionen und kovalent gebundene und freie Phosphatreste eine Schlüsselrolle.<sup>92</sup> Das erklärt einerseits die starke Abhängigkeit sowohl der Komplex- oder Mizell-Größe als auch der Heterogenität vom Ionenmilieu und andererseits auch den Phosphat- und Calcium-Gehalt in den verschiedenen Casein-Präparaten. Mulder erschien das "Casein", selbst wenn es frei von Molkenproteinen gewonnen werden konnte, verständlicher Weise als "Gemenge" von Stoffen.

Bei der von Berzelius kritisch angemerkten Reaktion des Caseins mit dem Labenzym (s. o.) erfährt das an der Mizelloberfläche befindliche kappa-Casein eine spezifische Spaltung unter Verlust der hydrophilen, negativ geladenen C-terminalen Sequenz, die die Mizelle durch elektrostatische Abstoßung stabilisiert. Die Folge ist der Kollaps der Mizelle unter Bildung gelartiger Strukturen.<sup>93</sup>

Braconnots "Legumin" erwies sich bei den Untersuchungen durch Osborne als heterogen. Neben dem eigentlichen Legumin, das beim Erhitzen seiner wässrigen Lösungen nicht koagulierte, wurde ein hitzefällbares Protein aus den Samen von Hülsenfrüchten isoliert, das den Namen "Vicilin" (*Vicia faba* = Ackerbohne) erhielt.<sup>94</sup> Beide repräsentieren im wesentlichen die salzlösliche Globulinfraktion der Samen.

Wie weitergehende Untersuchungen im Laufe des 20. Jahrhunderts ergaben, sind sie ubiquitäre Speicherproteine der Leguminosen und in den Samen der zweikeimblättrigen (dicotyledonen) Pflanzen weit verbreitet.<sup>95</sup>

Danielsson hat sie 1949 nach ihrem Verhalten in der analytischen Ultrazentrifuge durch ihre Sedimentationskoeffizienten charakterisiert, wonach die leguminartigen Proteine als 11-12S-Globuline (Kurzbezeichnung: 11S-Globuline) und die vicilinartigen als 7-8S-Globuline (Kurzbezeichnung: 7S-Globuline) bezeichnet

werden.<sup>96</sup> Dies entspricht Molekularmassen von 300-400 kDa bzw. 150-210 kDa.<sup>97</sup>

In den 1950er Jahren blieb die analytische Ultrazentrifuge die wichtigste Untersuchungsmethode für Samenproteine, die durch Salzextraktion isoliert und durch Fällung mit Ammoniumsulfat gereinigt wurden.<sup>98</sup> Dabei erwiesen sich die Globuline als assoziierende / dissoziierende, d. h. aus Untereinheiten zusammengesetzte Proteinsysteme.

Die 1960er und 1970er Jahre brachten dann wichtige Erkenntnisfortschritte hinsichtlich der physikochemischen Eigenschaften dieser Proteine, nachdem die Weiterentwicklung chromatographischer Methoden ihre Reindarstellung ermöglichte und neue elektrophoretische Techniken, insbesondere die Polyacrylamid-Gelelektrophorese, die weitere Charakterisierung auch der Untereinheiten förderten.<sup>99</sup> Über das Studium des Dissoziationsverhaltens gelangt man zur Einsicht in die Untereinheitenstruktur der 11S-Globuline. Diese erwiesen sich als hexamer aufgebaute, oligomere Proteine, deren sechs nichtkovalent verbundene Untereinheiten der Molekularmasse 50-60 kDa jeweils aus zwei disulfidverbrückten Polypeptidketten (30-40 kDa + 20 kDa) bestehen.<sup>100</sup>

Die Fortschritte in der Aminosäure-Sequenzanalyse und in molekularbiologischen Methoden ermöglichten die direkte Bestimmung der Primärstruktur der Polypeptidketten oder deren Ableitung aus der codierenden DNA-Sequenz sowie den Nachweis struktureller Homologie zwischen 11S-Globulinen sehr unterschiedlicher botanischer Herkunft.<sup>101</sup> Die Analyse der Legumin-Gene folgte.<sup>102</sup>

Die Vervollkommnung spektroskopischer Methoden zur Sekundärstrukturanalyse<sup>103</sup> und von Methoden der Strukturvorhersage führte schließlich zu einer allgemeinen Modellvorstellung über die Domänenstruktur der Untereinheiten in 11S-Globulinen,<sup>104</sup> nachdem deren Quartärstruktur mit Hilfe der Röntgen-Kleinwinkelstreuung ermittelt worden war.<sup>105</sup> Die geometrisch definierte räumliche Anordnung der kompakten Untereinheiten in Form eines trigonalen Antiprismas mit bestimmter Punktgruppensymmetrie,<sup>106</sup> d. h. in geometrisch definierter Ordnung, unterscheidet die "leguminartigen" Pflanzenglobuline grundlegend von den locker strukturierten mizellbildenden Caseinkomplexen.

Die vollständige Aufklärung der Raumstruktur durch hochauflösende Röntgen-Kristallographie gelang in den 1990er Jahren zwar bei einigen 7S-Globulinen, nicht jedoch bei 11S-Globulinen, deren Mikroheterogenität ("Polymorphie") die Ausbildung einheitlicher Kristalle erschwerte.<sup>107</sup> Die Expression eines streng molekulareinheitlichen Globulins, z. B. des Erbsenlegumins, in transgenen Organismen, z. B. Weizen, bietet sich dafür als Lösung an.<sup>108</sup>

Erst die Entwicklung der Proteinchemie im 20. Jahrhundert hat eine Unterscheidung von Casein und Legumin auf exakter chemischer und physikochemischer Grundlage möglich gemacht. Der von Liebig eingeführte Name "Pflanzencasein" hat trotz aller berechtigten Kritik bis in die 1920er Jahre in der chemischen und pharmazeutisch-chemischen Lehrbuchliteratur überlebt<sup>109</sup> und so seine Nützlichkeit für das phänomenologische Erfassen von makroskopischen Ähnlichkeiten innerhalb einer großen Stoffklasse gezeigt.

- \* Erweiterte Fassung eines auf der Tagung der Fachgruppe "Geschichte der Chemie" der Gesellschaft Deutscher Chemiker GDCH in Cottbus (20.-22. März 2003) am 21. März 2003 gehaltenen Vortrages. Der Verfasser dankt Frau Loretta Lewicki und Frau Myriam Billam, Internationale Präsenzbibliothek zur Geschichte der Naturwissenschaften, Ludwigshafen / Rh., für die freundliche Unterstützung seiner Literaturrecherche und dem Fonds der Chemischen Industrie für eine Forschungsbeihilfe.
- 1 Beccari (1682-1766) war Prof. der Medizin, Anatomie und Chemie in Bologna und Lehrer Galvanis. Er wird häufig mit dem Physiker Giacomo Battista Beccaria (1716-1781) verwechselt, so auch von Mulder (Anm. 22).
  - 2 J. B. Beccari, "De frumento", *De Bononensi Scientiarum et Artium Instituto atque Academia Commentarii*, II, pars prima, 1745. Die dort beschriebene Arbeit wurde bereits 1728 durchgeführt.
  - 3 K. D. Schwenke, "Nahrungsproteine in der Geschichte der Eiweißchemie. 1. Vom ersten isolierten Eiweißpräparat zur Erkenntnis einer neuen Substanzklasse", *Ernährungsforsch.*, 37 (1993), S. 1-11.
  - 4 Genannt Rouelle der Jüngere, sein Bruder Guillaume Francois Rouelle war Lehrer Lavoisiers.
  - 5 H. M. Rouelle, "Observations sur la fécule ou la partie verte des plantes et sur la matière glutineuse ou végéto-animale", *J. med. chirurg. pharmac.*, 39 (1793), S. 59-67.
  - 6 H. M. Rouelle, "De la matière glutineuse, que j' appelle aussi végéto-animale", *J. med. chirurg. pharmac.*, 39 (1793), S. 262.
  - 7 C. W. Scheele, "Von der Milch und ihrer Säure", in: *C. W. Scheele: Sämtliche physische und chemische Werke*, (hg. von S. F. Hermbstädt), Bd. 2, Berlin 1793, S. 249-260. Unveränderter Neudruck, Niederwalluf 1971.
  - 8 A. F. de Fourcroy, "Mémoire sur l'existence de la matière albumineuse dans les végétaux", *Ann. chim.*, 3 (1789), S. 252-262.
  - 9 A. F. de Fourcroy, *Système de connaissance chimique*, Bd. 5, Paris 1800-1801, S.177. Siehe auch Anmerkung 8.

- 10 K. D. Schwenke, "Nahrungsproteine in der Geschichte der Eiweißchemie. 2. Beginn der Eiweißfraktionierung und erste Isolierung unterschiedlicher Pflanzeneiweißfraktionen", *Ernährungsforsch.*, 37 (1993), S. 67-81; 73-74 ff.
- 11 K. D. Schwenke, "Heinrich Einhof – ein Wegbereiter der landwirtschaftlichen Chemie", *Mitt. d. Fachgruppe Geschichte der Chemie der Gesellschaft Deutscher Chemiker (GDCH)*, Nr.16 (2002), S. 30-46.
- 12 H. Einhof, "Chemische Analyse der Erbsen (*Pisum sativum*) und der reifen Saubohnen (*Vicia faba*)", *Neues allgem. J. Chemie*, 6 (1806), S. 115-140.
- 13 H. Einhof, "Chemische Analyse der Linsen (*Ervum lens*) und der Schminkbohnen (*Phaseolus vulgaris*)", *Neues allgem. J. Chemie*, 6 (1806), S. 542-552. Siehe auch Anmerkung 12.
- 14 H. Braconnot, "Mémoire sur un principe particulier aux graines de la famille des légumineuses et analyse des pois et des haricots", *Ann. chim. phys.*, 43 (1827), S. 68-85.
- 15 H. Braconnot, "Mémoire sur le caséum et sur le lait; nouvelles ressources qu'ils peuvent ouvrir à la société", *Ann. chim. phys.*, 43 (1830), S. 337-351.
- 16 J. L. Gay-Lussac, "Sur la présence de l'azote dans toutes les semences", *Ann. chim. phys.*, 53 (1833), S. 110.
- 17 K. D. Schwenke, "Nahrungsproteine in der Geschichte der Eiweißforschung. 3. Die Einführung der Elementaranalyse und die Auseinandersetzung um die erste Proteintheorie", *Ernährungsforsch.*, 38 (1993), S. 201-224.
- 18 G. J. Mulder, "Untersuchungen mehrerer animalischer Stoffe wie Fibrin, Eiweiss, Gallerte, u. dgl.", *Ann. Pharmacie*, 24 (1837), S. 256-265; ders., "Zusammensetzung von Fibrin, Albumin, Leimzucker, Leucin usw.", *Ann. Pharmacie*, 28 (1838), S. 73-82; ders., "Ueber den Käsestoff", *J. prakt. Chemie*, 17 (1839), S. 333-337; ders., "Over proteine en hare ontledingsproducten", *Natuur- en Scheikundig Archief* (1838), S. 87-162.
- 19 Mulder, "Untersuchungen mehrerer animalischer Stoffe wie Fibrin, Eiweiss, Gallerte, u. dgl.", S. 256-265.
- 20 Mulder, "Over proteine en hare ontledingsproducten", S. 87-162.
- 21 G. J. Mulder, *Versuch einer allgemeinen physiologischen Chemie*, Braunschweig, Friedrich Vieweg und Sohn, 1844-1851. Darin S. 302: "Die Pflanzen bereiten das Protein, die Thiere erhalten es von ihnen durch ihre Nahrungsmittel. Ob sie es auch selbst erzeugen, ist nicht ausgemacht; um darüber entscheiden zu können, müssen direkt Versuche angestellt werden. Aber es ist kein Zweifel, daß die Proteinverbindungen, welche den Hauptbestandtheil des thierischen Körpers ausmachen, ganz oder zum größten Theil aus dem Pflanzenreiche stammen und aus den Pflanzennahrungsmitteln unmittelbar assimiliert werden."
- 22 Mulder, "Over proteine en hare ontledingsproducten", S. 87-162.
- 23 "Den Namen Protein, den ich für das organische Oxyd des Fibrins und Albumins vorschlage, möchte ich von proteios ableiten, denn es scheint die ursprüngliche oder hauptsächliche Substanz der thierischen Ernährung zu sein, welche die Pflanzen für die Herbivoren erzeugen und welche diese schließlich den Fleischfressern liefern". Brief von Berzelius an Mulder vom 10.

Juli 1838, aus: *Jac. Berzelius lettres V. Correspondances entre Berzelius et G. J. Mulder (1834-1847)*, hg. von H. G Söderbaum, Uppsala 1916.

- 24 In einem Brief vom 21. August 1838 (s. Anm. 23) erbittet Mulder dazu Berzelius' Meinung: "Je demande de nouveau votre opinion sur la formule et la manière de considérer les corps sans soufre et sans phosphore". Berzelius, Schöpfer der Radikaltheorie, antwortet darauf am 10. Juli 1838 (s. Anm. 23): "Ich nehme es als erwiesen an, daß die unmittelbaren Verbindungen entweder Oxyde von zusammengesetzten Radikalen oder Kombinationen von zwei oder mehreren Oxyden diesen Typs sind. Man muß zunächst das Radikal suchen ... Ich nehme an, daß das organische Oxyd, das der Grundstoff des Fibrins und des Albumins ist (und dem man einen besonderen Namen, z. B. Protein, geben muß), aus einem ternären Radikal zusammengesetzt ist, kombiniert mit Sauerstoff in irgend einem dieser einfachen Verhältnisse, die die Natur uns darbietet". (Original französisch)
- 25 G. J. Mulder, "Ueber den Pflanzenleim", *J. prakt. Chemie*, 32 (1844), S. 176-178. Über die mögliche Bindung von Schwefel und Phosphor an das Protein ist zu lesen in Mulder, "Versuch einer allgemeinen physiologischen Chemie", S. 315-316:  
"In welcher Weise der Schwefel und der Phosphor in jenen Stoffen mit dem Protein verbunden ist, liegt noch im Dunkel; aber es ist ausgemacht, daß jene Verbindungen constant sind. Entweder ist also z. B. im Fibrin mit 20 Atomen Protein eine geringe Menge einer Substanz verbunden, welche 1 Aeq. Phosphor und 2 Aeq. Schwefel enthält, eine Substanz, welche bei der Elementaranalyse des Fibrins übersehen ist, oder PhS haben sich unmittelbar mit 10 At. Protein vereinigt. Beide Annahmen weichen von unseren gewöhnlichen Vorstellungen über die Constitution der unorganischen Verbindungen ab, und wir sind daher gewissermaßen berechtigt, der einfachsten von beiden den Vorzug zu schenken, d. i. eine direkte Verbindung von PhS mit 10 At. Protein anzunehmen ..."
- 26 G. J. Mulder, "Zusammensetzung von Fibrin, Albumin, Leimzucker, Leucin usw.", *Ann. Pharmacie*, 28 (1838), S. 73-82; ders., "Ueber den Käsestoff", *J. prakt. Chemie*, 17 (1839), S. 333-337; ders., "Over proteine en hare ontledings-producten", *Natuur- en Scheikundig Archief* (1838), S. 87-162.
- 27 Der Berechnung lagen die damals gültigen Atomgewichte zugrunde: C 76,437; H 6,239; N 88,52; O 100.
- 28 Zur Problematik dieser "Atomgewichts"-Bestimmung hat sich Berzelius wiederholt geäußert: "Bei meiner Ausarbeitung der neuen Auflage der Thierchemie habe ich Ihre Arbeiten über Fibrin, Leim etc. benutzt. Bei dem Fibrin und Albumin scheint es mir offenbar, dass sie isomer sind und ein ganz anderes Atomgewicht haben als das, was sie berechnet haben. Sie wissen, dass Mitscherlich d. J. (Pogg. Ann. 40, 1837, p.106-133) neulich bewiesen hat, dass diese Substanzen, wenn sie mit Metallsalzen precipitiert werden, Salz, d. h. Säure und Basis zusammen mit sich verbinden. Daher kann man sich von dergleichen Verbindungen nicht mit einiger Sicherheit zu Atomgewichts-Berechnungen bedienen." (Berzelius an Mulder, 19. Dezember 1837).  
"Das richtige Atomgewicht dürfte am besten zu finden sein durch Vergleichung der Verbindungsgrade, in welchen das Protein mit Basen verbunden werden kann, wenn sie ein Mal mit einiger Sicherheit bestimmt sein werden". (J. Berzelius, *Lehrbuch der Chemie*, 9. Bd., Arnoldische Buchhandlung, Dresden, Leipzig 1840, S.30)  
Diese Sicherheit sei aber nicht gegeben, wenn die "Sättigungskapazität" der Eiweißstoffe für Schwermetalle durch die Gegenwart von Schwefel und Phosphor verändert wird. So ergab

sich nach Bindung von Silber- oder Bleioxyd nur der halbe Wert für das "Atomgewicht" des Albumins. (ibid. S. 49)

29 Mulder, "Over proteine en hare ontledings-producten", S. 87-162.

30 Dazu schreibt Mulder: "Ein unbefangener Beobachter kann nicht verkennen, daß das Protein in den Pflanzen präexistiert und nicht erst durch das verdünnte Alkali, welches zu seiner Abscheidung dient, erzeugt wird. Die Verbindungen des Proteins, welche in den Pflanzen vorkommen, stimmen in ihren Eigenschaften vollkommen mit denen des Proteins selbst überein, wenn man die Eigenschaften ausnimmt, welche den mit dem Protein in den Pflanzen verbundenen Stoffen zukommen ..." (Mulder, "Versuch einer allgemeinen physiologischen Chemie", S. 302-303).

"Zum Glück ist für Menschen und Thiere ein allgemeiner Grundstoff in Fibrin, Albumin, sogenanntem Casein, Legumin, Pflanzeneiweiß ... vorhanden, welcher unter Veränderung der mit ihm verbundenen Schwefel-, Phosphor- oder Sauerstoffmengen, selbst unveränderlich bleibt, so daß aus Albumin Fibrin, aus Fibrin Albumin entstehen, aus Legumin Fibrin, aus Casein Fibrin und Albumin gemacht werden können, einfach dadurch, daß in den thierischen Organismen das modificirt wird, wodurch der eine Stoff von dem andern verschieden ist (d. h. der Schwefel- und Phosphor-Anteil), daß das bleibt, was sie gemein haben, nämlich eine gewisse selbständige organische Gruppe. Dieser Stoff, den ich Protein genannt habe, hat also einen sehr festen Zustand ..." (ibid. S. 917).

31 Siehe Anm. 21.

32 G. J. Mulder, *Versuch einer allgemeinen physiologischen Chemie*, S. 311.

33 J. Liebig, "Ueber die stickstoffhaltigen Nahrungsmittel des Pflanzenreichs", *Ann. d. Chemie u. Pharmacie*, 39 (1841), S. 129-160; B. Jones, "Zusammensetzung der stickstoffhaltigen Nahrungsmittel des Pflanzenreichs, des Albumins, des Gehirns und des Eigelbs", *Ann. d. Chemie u. Pharmacie*, 40 (1841), S. 65-69; J. B. Dumas, A. Cahours, "Sur les matières azotées neutres de l'organisation", *Ann. chimie et physique*, 6 (1842), S. 385-448.

34 F. Rochleder, "Ueber das Legumin", *Ann. d. Chemie u. Pharmacie*, 46 (1843), S. 155-164.

35 G. J. Mulder, *Versuch einer allgemeinen physiologischen Chemie*, S. 304.

36 G. J. Mulder, *Versuch einer allgemeinen physiologischen Chemie*, S. 919.

37 J. Liebig, *Die organische Chemie in ihrer Anwendung auf Physiologie und Pathologie*, Braunschweig, Friedrich Vieweg und Sohn, 1842; von der zweiten Auflage an als "Thierchemie" bezeichnet.

38 J. Scherer, "Chemisch-physiologische Untersuchungen", *Ann. d. Chemie u. Pharmacie*, 40 (1841), S. 1-64.

39 B. Jones, "Zusammensetzung der stickstoffhaltigen Nahrungsmittel des Pflanzenreichs, des Albumins, des Gehirns und des Eigelbs", *Ann. d. Chemie u. Pharmacie*, 40 (1841), S. 65-69.

40 Liebig, *Die organ. Chemie in ihrer Anwendung auf Physiologie und Pathologie*, S. 123, 287.

41 Liebig, *Die organ. Chemie in ihrer Anwendung auf Physiologie und Pathologie*, S. 126-127.

42 Liebig, *Die organ. Chemie in ihrer Anwendung auf Physiologie und Pathologie*, S. 108-109.

- 43 Wie Anm. 42.
- 44 Liebig, *Die organ. Chemie in ihrer Anwendung auf Physiologie und Pathologie*, S. 51.
- 45 Liebig, "Ueber die stickstoffhaltigen Nahrungsmittel des Pflanzenreichs", S. 129-160.
- 46 Siehe Liebig, "Ueber die stickstoffhaltigen Nahrungsmittel des Pflanzenreichs", S. 129-160, sowie derselbe, *Die organ. Chemie in ihrer Anwendung auf Physiologie und Pathologie*.
- 47 Liebig, *Die organ. Chemie in ihrer Anwendung auf Physiologie und Pathologie*, S. 97-98.
- 48 Liebig, *Die organ. Chemie in ihrer Anwendung auf Physiologie und Pathologie*, S. 52.
- 49 J. Liebig, *Die Thierchemie oder die organische Chemie in ihrer Anwendung auf Physiologie und Pathologie*, Zweite unveränderte Auflage, Friedrich Vieweg und Sohn, Braunschweig 1843, S. 328.
- 50 J. v. Liebig, "Eine neue Suppe für Kinder", *Ann. d. Chemie u. Pharmacie*, 133 (1865), S. 374-383.
- 51 J. v. Liebig, *Suppe für Säuglinge*, 3. vermehrte Aufl., Friedrich Vieweg und Sohn, Braunschweig 1877, S. 3-4.
- 52 Wie Anm. 51.
- 53 Wie Anm. 51.
- 54 Liebig, *Suppe für Säuglinge*, S. 5.
- 55 Wie Anm. 54.
- 56 Wie Anm. 54.
- 57 Liebig, *Suppe für Säuglinge*, S. 6.
- 58 Liebig, *Suppe für Säuglinge*, S. 7-11.
- 59 Liebig, J. v., "Nachtrag zu meiner Suppe für Säuglinge", enthalten in Liebig, *Suppe für Säuglinge*, S. 14.
- 60 W. H. Brock, *Justus von Liebig. Eine Biographie des großen Naturwissenschaftlers und Europäers*, Friedrich Vieweg und Sohn, Braunschweig, Wiesbaden 1999, S. 199-200.
- 61 H.-D. Belitz, W. Grosch, *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*, 3. überarbeitete Auflage, Springer-Verlag 1987, S. 404.
- 62 Liebig, *Suppe für Säuglinge*, S. 24-57; siehe dazu auch: J. Volhard, *Justus von Liebig*, II. Bd., Johann Ambrosius Barth, Leipzig 1909, S. 304-308.
- 63 Wie Anm. 62.
- 64 Brock, *Justus von Liebig*, S. 199-200.
- 65 J. B. Dumas, A. Cahours, "Sur les matières azotées neutres de l'organisation", *Ann. chimie et physique*, 6 (1842), S. 385-448.

- 66 F. Rochleder, "Ueber das Legumin", *Ann. d. Chemie u. Pharmacie*, 46 (1843), S. 155-164.
- 67 Aus heutiger Sicht erfährt das Legumin durch die beschriebene kurzfristige Einwirkung von konzentriertem Alkali einen partiellen Abbau schwefelhaltiger Aminosäuren und einen Verlust von Stickstoff durch Desamidierung von Glutamin- und Asparagin-Resten.
- 68 K. D. Schwenke, "Nahrungsproteine in der Geschichte der Eiweißforschung. 3. Die Einführung der Elementaranalyse und die Auseinandersetzung um die erste Proteintheorie", *Ernährungsforsch.*, 38 (1993), S. 201-224.
- 69 Siehe Anm. 22.
- 70 J. Volhard, *Justus von Liebig*, II. Bd., Johann Ambrosius Barth, Leipzig 1909, S. 171-185.
- 71 Siehe Anm. 17, sowie Volhard, *Justus von Liebig*, S. 171-185.
- 72 J. Liebig, "Ueber den Schwefelgehalt der stickstoffhaltigen Bestandtheile der Erbsen", *Ann. d. Chemie u. Pharmacie*, 57 (1846), S. 131-133.
- 73 Wie Anm. 71.
- 74 Mulders Reaktion auf die Publikationen der Gießener Schule zu dieser Thematik gipfelte in dem Pamphlet *Liebigs Frage sittlich und wissenschaftlich geprüft* (S. Schmerber'sche Buchhandlung, Frankfurt a. M., 1846). Siehe außerdem Anm. 70 und 17.
- 75 A. Walther, "Schwefelgehalt des Caseins", *Ann. d. Chemie u. Pharmacie*, 58 (1846), S. 315-317; T. Fleitmann, "Ueber die Existenz eines schwefelfreien Proteins", *Ann. d. Chemie u. Pharmacie*, 58 (1847), S. 121-126; E. Rüling, "Bestimmung des Schwefels in den Schwefel- und Stickstoffhaltigen Bestandtheilen des Pflanzen- und Thierorganismus", *Ann. d. Chemie u. Pharmacie*, 58 (1846), S. 301-365. Siehe außerdem Anm. 17.
- 76 Rüling, "Bestimmung des Schwefels", 301-365.
- 77 S. dazu Volhard, *Justus von Liebig*, S. 178-183; ferner N. Laskowski, "Ueber die Proteintheorie", *Ann. d. Chemie u. Pharmacie*, 58 (1846), S. 129-183; J. Liebig, "Ueber die Bestandtheile der Flüssigkeit des Fleisches", *ibid.*, 62 (1847), S. 257-369.
- 78 F. L. Holmes, "Einführung in Liebigs Thierchemie", in: *Stoffwechsel im tierischen Organismus. Historische Studien zu Liebigs "Thierchemie" (1842)*, hg. von J. Büttner und W. Lewicki, HisChymia Buchverlag, Seesen 2001, S. 1-59.
- 79 T. B. Osborne, "Crystallised Vegetable Proteins", *Am. Chem. J.*, 14 (1892), S. 662-689; derselbe, *The Vegetable Proteins*, Longmans, Green & Co., New York, 1924.
- 80 J. J. Berzelius, *Jahresbericht über die Fortschritte der Chemie und Mineralogie*, 22. Jahrgang (1843), Laupp'sche Buchhandlung, Tübingen, S. 267-276.
- 81 Wie Anm. 80.
- 82 Mulder, *Liebigs Frage sittlich und wissenschaftlich geprüft*, S. Schmerber'sche Buchhandlung, Frankfurt/M 1846, S. 94-95.
- 83 Mulder, *Liebigs Frage sittlich und wissenschaftlich geprüft*, S. 146-147.

- 84 Mulder, *Versuch einer allgemeinen physiologischen Chemie*, Braunschweig, Friedrich Vieweg und Sohn 1844-1851, S. 304.
- 85 Berzelius, *Jahresbericht über die Fortschritte der Chemie und Mineralogie*, S. 273.
- 86 J. Liebig, "Ueber die stickstoffhaltigen Nahrungsmittel des Pflanzenreichs", *Ann. d. Chemie u. Pharmacie*, 39 (1841), S. 141.
- 87 T. Svedberg, K. O. Pedersen, *The Ultracentrifuge*, Clarendon Press, Oxford 1940.
- 88 O. Hammarsten, "Zur Frage, ob das Casein ein einheitlicher Stoff sei", *Z. physiolog. Chemie*, 7 (1883), S. 226-272; derselbe, "Ueber den Gehalt des Caseins an Schwefel und über die Bestimmung des Schwefels in Proteinsubstanzen", *ibid.*, 9 (1885), S. 273-304.
- 89 H. Ritthausen, "Ueber das Pflanzencasein oder Legumin", *J. prakt. Chemie*, 103 (1868), S. 65-85, 193-216, 273-277; derselbe, *Die Eiweißkörper der Getreidearten, Hülsenfrüchte und Oelsaaten*, Max Cohen u. Sohn, Bonn 1872.
- 90 Siehe Osborne, "Crystallised Vegetable Proteins", S. 662-689, und derselbe, *The Vegetable Proteins*.
- 91 H.-D. Belitz, W. Grosch, *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*, 3. überarbeitete Auflage, Springer-Verlag 1987, S. 403-411; H. E. Swaisgood, "Chemistry of Milk Proteins", in: *Developments in Dairy Chemistry. I. Proteins*, edited by P. F. Fox, Applied Science Publishers Ltd., London 1982, S. 1-59; B. Ribadeau-Dumas, "Actualités dans le domaine de la connaissance de la structure et des propriétés biochimiques des protéines laitières", *Rev. Lait. Franc.* (1981), S. 17-32.
- 92 D. G. Schmidt, "Colloidal aspects of casein", *Neth. Milk Dairy J.*, 34 (1980), S. 42-64; derselbe, "Association of caseins and casein micelle structure", in: *Developments in Dairy Chemistry. I. Proteins*, S. 61-86.
- 93 Wie Anm. 92.
- 94 T. B. Osborne, G. F. Campbell, "Proteins of the Pea", *J. Am. Chem. Soc.*, 20 (1898), S. 348-362; dieselben, "Proteins of the Lentil", *ibid.*, S. 362-375.
- 95 E. Derbyshire, D. Wright, D. Boulter, "Legumin and vicilin, storage proteins of legume seeds", *Phytochemistry*, 15 (1976), S. 3-24; R. Casey, "Distribution and some properties of seed globulins", in: *Seed Proteins*, edited by P. R. Shewry, R. Casey, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht u. a. 1999, S. 159-169; K.-P. Häger, H. Fischer, "Molecular phylogenies and structural diversification of gymnosperm and angiosperm storage globulins", in: *Seed Proteins*, S. 499-515.
- 96 C. E. Danielsson, "Seed globulins of the graminæ and leguminosæ", *Biochem. J.*, 44 (1949), S. 387-400.
- 97 Derbyshire et al., "Legumin and vicilin, storage proteins of legume seeds", S. 3-24; Casey, "Distribution and some properties of seed globulins", S. 159-169.
- 98 P. Johnson, W. E. F. Naismith, "The physicochemical examination of the conarachin fraction of the groundnut proteins", *Disc. Faraday Soc.*, 13 (1953), S. 98-109; W. E. F. Naismith, "Ultracentrifuge studies on soya bean protein", *Biochim. Biophys. Acta*, 16 (1955), S. 203-

- 210; B. P. Brand, D. A. I. Goring, P. Johnson, "The attempt preparation of monodisperse seed globulins", *Trans. Faraday Soc.*, 51 (1955), S. 872-876; W. L. Kretovich, T. I. Smirnova, S. Y. Frenkel, "A study of the glycinin fraction in the ultracentrifuge", *Biochimia*, 23 (1958), S. 136-139 (in Russian); dieselben, "Submolecular structure of glycinin and conditions of its reversible association", *ibid.*, S. 548-557 (in Russian); W. J. Wolf, D. R. Briggs, "Purification and characterization of the 11S component of soybean proteins", *Arch. Biochem. Biophys.*, 85 (1959), S. 186-199.
- 99 V. Dlouha, B. Keil, F. Sorm, "On proteins. LXXXV. Separation of the two polypeptide chains of S-sulpho-edestine", *Collect. Czechoslovak. Chem. Commun.*, 28 (1963), S. 2969-2976; W. J. Wolf, D. A. Sly, "Chromatography of soybean proteins on hydroxylapatite", *Arch. Biochem. Biophys.*, 110 (1965), S. 47-56; I. A. Weintraub, "The heterogeneity of the subunits of the 11S protein of soyabean", *Molek. Biol.*, 1 (1967), S. 807-814 (in Russian); I. A. Weintraub, Nguen Tkhan Tuen, "Separation of subunits of vetch legumin by chromatography on DEAE-cellulose", *Dokl. Akad. Nauk. SSSR*, 180 (1968), S. 1239-1241 (in Russian); N. Catsimpoolas, E. W. Meyer, "Immunochemical properties of 11S component of soybean proteins", *Arch. Biochem. Biophys.*, 125 (1968), S. 742-750.
- 100 I. A. Weintraub, Nguen Tkhan Tuen, "On the quaternary structure of vetch seed legumin", *Molek. Biol.*, 5 (1971), S. 59-68 (in Russian); K. Kitamura, T. Takagi, K. Shibasaki, "Subunit structure of soybean 11S globulin", *Agr. Biol. Chem.*, 40 (1976), S. 1837-1844.
- 101 N. Nielsen, "The structure and complexity of the 11S polypeptides in soybeans", *J. Am. Oil Chemist's Soc.*, 62 (1985), S. 1680-1686; A. E. Simon, K. M. Tenbarger, S. R. Scofield, R. R. Finkelstein, M. L. Crouch, "Nucleotide sequence of a cDNA clone of Brassica napus 12S storage protein shows homology with legumin from Pisum sativum", *Plant Molec. Biol.*, 5 (1985), S. 191-201; S. Utsumi, M. Kohno, T. Mori, M. Kito, "An alternate cDNA encoding glycinine A1a Bx subunit", *J. Agric. Food Chem.*, 35 (1987), S. 210-214.
- 102 G. W. Lycett, R. R. D. Croy, A. H. Shirsat, D. Boulter, "The complete nucleotide sequence of a legumin gene from pea (*Pisum sativum* L.)", *Nucleic Acids Res.*, 12 (1984), S. 4493-4506; U. Heim, R. Schubert, H. Bäumlein, U. Wobus, "The legumin gene family: structure and evolutionary implication of *Vicia faba* B-type genes and pseudogenes", *Plant Molec. Biol.*, 13 (1989), S. 653-663; C. Horstmann, B. Schlesier, A. Otto, S. Kostka, K. Müntz, "Polymorphism of legumin subunits from field bean (*Vicia faba* L. var. *minor*) and its relation to the corresponding multigene family", *Theoret. Appl. Genet.*, 86 (1993), S. 867-874.
- 103 G. D. Fasman, *Circular Dichroism and the Conformational Analysis of Biomolecules*, Plenum Press, New York & London, 1996.
- 104 P. Plietz, B. Drescher, G. Damaschun, "Relationship between the amino acid sequence and the domain structure of the subunits of the 11S seed globulins", *Int. J. Biol. Macromol.*, 9 (1987), S. 161-165; P. Plietz, G. Damaschun, "The structure of the 11S seed globulins from various plant species: comparative investigations by physical methods", *Studia biophys.*, 116 (1986), S. 153-173.
- 105 P. Plietz, G. Damaschun, J. J. Müller, K. D. Schwenke, "The structure of 11S globulins from sunflower and rape seeds. A small-angle X-ray scattering study", *Eur. J. Biochem.* (1983), S. 315-320. P. Plietz, D. Zirwer, B. Schlesier, K. Gast, G. Damaschun, "Shape,

symmetry, hydration and secondary structure of the legumin from *Vicia faba* in solution", *Biochim. Biophys. Acta*, 784 (1984), S. 140-146.

106 Wie Anm. 105.

107 M. C. Lawrence, E. Suzuki, J. N. Vargese, P. C. Davis, A. Van Donkelaar, P. A. Tulloch, P. M. Colman, "The three-dimensional structure of the seed storage protein phaseolin at 3Å resolution", *The EMBO J.*, 9 (1990), S. 9-15; M.C. Lawrence, "Structural relationships of 7S and 11S globulins", in: *Seed Proteins*, S. 517-541, 536 ff.

108 R. Casey, P. Christou, C. Domoney, C. Hedley, E. Hitchin, M. Parker, E. Stoger, T. Wang, C. Zasiura, "Expression of legumin and vicilin genes in pea mutants and the production of legumin in transgenic plants", *Nahrung / Food*, 45 (2001), S. 385-387.

109 A. Pinner, *Repetitorium der organischen Chemie*, Verlag von Robert Oppenheim, Berlin, 1872, S. 288; H. Hirzel, *Katechismus der Chemie*, 6. Aufl., Verlagsbuchhandlung J. J. Weber, Leipzig 1889, S. 272; F. Krafft, *Kurzes Lehrbuch der Chemie. Organische Chemie*, 3. Aufl., Franz Deuticke, Leipzig & Wien 1901, S. 718; E. Schmidt, *Ausführliches Lehrbuch der Pharmazeutischen Chemie*, 6. Aufl., bearbeitet von J. Gadamer, Friedrich Vieweg & Sohn, Braunschweig 1923, S. 2286.