Studien über Mucin und mucinähnliche Substanzen.

Von

Olof Hammarsten.

Die bisherigen Angaben über die qualitativen Reactionen und die elementäre Zusammensetzung des Mucins weichen bekanntlich nicht unbedeutend von einander ab, und die Ursache hierzu dürfte wohl einerseits in einer ungleichen Reinheit der untersuchten Präparate und andererseits darin, dass es mehrere Mucine von abweichender Zusammensetzung und etwas abweichenden Reactionen giebt, zu suchen sein. Wenn nun aber auch die Angaben über die Mucine in anderen Beziehungen etwas auseinandergehen, ist man doch bisher wenigstens in dem Punkte einig gewesen, dass man das Verhalten zu Essigsäure als eine für alles Mucin charakteristische Reaction angesehen hat. Eine andere Eigenschaft des Mucins, der man wenigstens bis vor kurzer Zeit eine grosse Bedeutung beilegte, ist die zuerst von Eichwald¹⁾ beobachtete Fähigkeit dieses Stoffes, beim Sieden mit verdünnten Säuren eine reducirende Substanz zu geben.

Bezüglich der elementären Zusammensetzung des Mucins haben die von früheren Forschern ausgeführten Analysen etwas abweichende Resultate gegeben. In den verschiedenen Mucinpräparaten fand man nämlich 48,72—52,41 % Kohlenstoff neben 8,43—12,82 % Stickstoff. Schwefel wurde von älteren Forschern in dem Mucin nicht gefunden, und mit Rücksicht auf die elementäre Zusammensetzung schien also diese Substanz — den Eiweissstoffen gegenüber — durch den Mangel an Schwefel sowie durch den niedrigeren Stickstoffgehalt ausgezeichnet zu sein.

Auf Grundlage dieser älteren Untersuchungen glaubte man auch bis vor einigen Jahren das Mucin hauptsächlich durch Folgendes charakterisiren zu können. Das Mucin ist eine colloide

1) Annal. d. Chem. u. Pharm. Bd. 134.

Substanz, die nur Micellarlösungen giebt; es wird von Essigsäure gefällt und in einem Ueberschuss der Säure nicht gelöst; beim Sieden mit verdünnten Säuren liefert es eine zuckerähnliche oder jedenfalls eine reducirende Substanz; es enthält keinen Schwefel und es hat einen niedrigeren Stickstoffgehalt als die Eiweissstoffe.

Die Richtigkeit dieser Ansicht ist doch durch die Untersuchungen der letzten Jahre in einigen Beziehungen etwas zweifelhaft geworden. So fand ich bei Gelegenheit einer von Jernström ausgeführten Untersuchung über das Mucin des Nabelstranges¹⁾ in den von ihm isolirten Präparaten etwa 1% Schwefel neben (im Mittel) 14,16% Stickstoff. Etwa ein Jahr später veröffentlichte dann Landwehr seine Untersuchungen über das Mucin der Galle und das der Submaxillardrüse²⁾. Er fand die beiden Mucine schwefelhaltig und in dem Mucin der Galle fand er 1,1% Schwefel und 13,8% Stickstoff, in dem Submaxillarmucin dagegen 0,505 bis 0,86% Schwefel. (Die Angaben Landwehr's über die Zusammensetzung des Gallenmucins können doch hier nicht weiter in Betracht kommen, seitdem er nunmehr³⁾ das Gallenmucin nur als ein Gemenge von Globulinen mit gallensauren Alkalien betrachtet.) Endlich hat auch Giacosa⁴⁾ das Mucin aus der Hülle des Froscheies untersucht und darin 1,32% Schwefel neben nur 9,24% Stickstoff gefunden.

Die alte Ansicht, derzufolge das Mucin eine schwefelfreie Substanz sein soll, kann also wohl kaum eine richtige sein; aber auch in einer anderen Hinsicht scheint die ältere Ansicht von den Mucinen nahe daran zu sein, eine wesentliche Umgestaltung zu erfahren. Ich gedenke hier der Eigenschaft dieses Stoffes mit verdünnten Säuren eine reducirende Substanz zu geben.

Schon in seinem obenerwähnten, ersten Aufsätze über das Mucin spricht Landwehr in einer kurz gefassten Zusammenstellung seiner Versuchsergebnisse die Ansicht aus, dass die reducirende Substanz kein Spaltungsproduct des Mucins sei, sondern aus einem mit dem Mucin ausgefallten Körper entstehe, und diese Ansicht hat er dann in den folgenden Aufsätzen durch weitere Beob-

1) Upsala Läkareförenings Förhandlingar Bd. 15, 1880.

2) Zeitschrift für physiologische Chemie Bd. V, Heft VI, 1881.

3) ebend. Bd. VIII, Heft II, 1883.

4) ebend. Bd. VII, Heft I, 1882.

achtungen des Näheren begründet. So hat er in dem Mucin von *Helix pomatia*¹⁾ ein neues, von ihm Achrooglycogen genanntes Kohlehydrat gefunden, das bei Ausfällung des Mucins mit Essigsäure mit niedergefallen wird und demnach das Mucin verunreinigt. Dieses Kohlehydrat, welches den niedrigen Stickstoffgehalt des Schneckenmucins wesentlich bedingen soll, giebt mit diastatischen Fermenten wie auch beim Sieden mit verdünnten Säuren einen gährungsfähigen Zucker, und Landwehr betrachtet es als den Mutterstoff der beim Sieden des gewöhnlichen Schneckenmucins mit verdünnten Säuren entstehenden reducirenden Substanz. Das Mucin von *Helix pomatia* soll nach Landwehr nur ein Gemenge von Achrooglycogen und Eiweiss sein.

In einem folgenden Aufsatze „über Mucin, Metalbumin und Paralbumin“²⁾ theilt Landwehr seine fortgesetzten Untersuchungen über die Mucinsubstanzen mit, und er spricht nun die Ansicht aus, dass auch die obengenannten 3 Stoffe nur Gemenge von Globulinen mit verschiedenen Mengen Kohlehydrat sind. Es gelang ihm nämlich aus dem Submaxillarmucin wie auch aus dem Metalbumin ein neues, von ihm thierisches Gummi genanntes Kohlehydrat zu isoliren, während er andererseits auch die Beobachtung machte, dass ein Gemenge von thierischem Gummi, arabischem Gummi oder noch besser von Metarabinsäure mit Serumglobulin zu Essigsäure wie das Mucin sich verhält. Durch diese Beobachtungen glaubte er nun den Nachweis geliefert zu haben, dass nicht nur die Mucine (mit Ausnahme von dem Gallenmucin, welches ein Gemenge von Globulin und gallensauren Alkalien sein soll), sondern auch das Paralbumin und Metalbumin Gemenge von Globulinen mit verschiedenen Mengen Kohlehydrat sind. Die Mucine sollen nicht als chemische Individuen aufzufassen sein, wobei er doch die Möglichkeit zugiebt, dass bei dem Verhältniss der beiden Componenten (Kohlehydrat und Eiweiss) die Affinität eine gewisse Rolle spiele, ähnlich wie Eiweiss in bestimmten Verhältnissen mit Säuren, Alkalien und Salzen ausfällt.

Die grosse Bedeutung der nun in grösster Kürze referirten, wichtigen Arbeiten von Landwehr liegt auf der Hand, und die von ihm gemachte Entdeckung des thierischen Gummis bezeichnet

1) Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. VI, 1881.

2) ebend. Bd. VIII, II 1883.

nicht nur an und für sich einen grossen Fortschritt, sondern sie dürfte auch für das fortgesetzte Studium der Mucinsubstanzen von der grössten Bedeutung werden. Aus diesen Beobachtungen schon jetzt bestimmte Schlüsse über die Natur der Mucinsubstanzen ziehen zu wollen, scheint mir dagegen gar nicht berechtigt zu sein, und vor Allem ist die Frage, ob die Mucine chemische Individuen oder nur Gemenge seien, nach meiner Ansicht durch die bisher veröffentlichten Untersuchungen gar nicht erledigt worden. Um diese Behauptung zu begründen, möchte es mir erlaubt sein, folgende Bemerkungen zu machen.

Die zur Reingewinnung der Kohlehydrate aus den Mucinsubstanzen verwendeten Methoden waren folgende. Entweder wurde die Substanz (Schneckenmucin) bei Zimmertemperatur mit Kalilauge von 5—10% behandelt und die Lösung dann durch Zusatz von Quecksilberjodidjodkalium und Salzsäure von Eiweiss befreit, oder es wurden die fraglichen Substanzen (Mucin und Metalbumin) 3—5 Stunden im Papin'schen Topfe mit Wasser gekocht und die Lösung dann weiter verarbeitet. In beiden Fällen handelt es sich also um sehr tiefgreifende chemische Einwirkungen, welche bekanntlich Spaltungen der Proteinsubstanzen herbeiführen, und da die Mucine bekanntlich schon durch anscheinend sehr geringfügige chemische Einwirkungen bis zur Unkenntlichkeit verändert werden können, ist es also offenbar, dass die nach den obigen Methoden erhaltenen Producte gar keine Schlüsse über die Natur der ursprünglichen Substanzen gestatten können. Auffallend ist es auch, dass Landwehr bei der Behandlung des Mucins mit Alkali nie ein stickstofffreies Präparat erhielt, sondern stets nur bis zu einem Körper von 5% Stickstoff gelangen konnte. „Eben bis zu den letzten 5% N liess sich das Eiweiss sehr wohl wegschaffen, dann aber trat ein voluminöser Niederschlag ein, der das Kohlehydrat mit einschloss“, so spricht sich Landwehr über diesen Gegenstand aus¹⁾, und es muss deshalb auch etwas auffallend erscheinen, dass er bei Verarbeitung der Lunge nach der von Pouchet²⁾ angegebenen Methode wieder auf einen Stoff mit etwa 5% Stickstoff stiess.

Ich will nun zwar gern zugeben, dass dieses Verhalten mit

1) Zeitschrift für physiol. Chemie Bd. 8, p. 122.

2) Comptes rendus 1883, p. 1, Nro. 20 et 21.

der Annahme, es seien die Mucine nur Gemenge von Eiweiss mit Kohlehydraten, sich wohl vereinbaren lässt, wenn man aber sich erinnert, dass auch Krukenberg¹⁾ beim Behandeln des Knorpelmucins (Hyalogen) mit Kalilauge bei Zimmertemperatur ebenfalls einen Stoff (seine Chondroitsäure) von 5 % Stickstoff erhielt, einen Stoff, der keine Eiweissreactionen gab, während er beim Sieden mit Säuren Zucker lieferte, so dürfte wohl auch die Ansicht ebenso wahrscheinlich sein, dass die Mucine zusammengesetzte Proteide seien, aus welchen bei geeigneter Behandlung ein Kohlehydrat sich abspalten könne, während bei nicht sehr energischer Alkalibehandlung gewöhnlichenfalls nur ein Stoff von einem, je nach der Intensität der Alkalieneinwirkung etwas wechselnden aber stets niedrigen (etwa 6—5 %) Stickstoffgehalt entsteht. Ob die eine oder andre dieser Ansichten die richtige sei, lässt sich gegenwärtig nicht sagen, und es fehlt sogar der einfache Controleversuch, ob es eben derselben eingreifenden, chemischen Einwirkungen bedarf, um das thierische Gummi aus einem künstlichen Gemenge mit Eiweissstoffen wie aus einer gewöhnlichen Mucinlösung darzustellen.

Die Ansicht, dass die aus den Mucinsubstanzen darstellbaren Kohlehydrate wenigstens zum bei weitem grössten Theil nicht als solche in den Geweben vorkommen, sondern erst durch die chemischen Manipulationen entstanden sind, ist übrigens schon von Krukenberg ausgesprochen worden. Er ist nämlich der Ansicht²⁾, dass die von Landwehr isolirten Stoffe — das Achrooglycogen ebenso wie das thierische Gummi — als sogenannte Hyalogene in den Geweben vorgebildet sind; und die Behandlung der Gewebe mit kalter, verdünnter Natronlauge (ein Verfahren, welches nach Landwehr zur Gewinnung von reinen, stickstofffreien Kohlehydraten unzureichend ist) soll nach Krukenberg eine zu tiefgreifende Veränderung herbeiführen, als dass die Ansicht, es seien die fraglichen Kohlehydrate in den Organen als solche enthalten, eine Berechtigung beanspruchen könnte.

Für die Annahme, dass die Mucine Gemenge von Eiweiss mit thierischem Gummi seien, spricht doch, könnte man meinen, die

1) Die chemischen Bestandtheile des Knorpels. Zeitschrift f. Biologie Bd. XX.

2) a. a. O. p. 324.

Beobachtung von Landwehr¹⁾, dass eine Micellarlösung von thierischem oder vegetabilischem Gummi, vor Allem aber von Metarabinsäure, mit einer Lösung von Serumglobulin versetzt, von Essigsäure wie eine Mucinlösung gefällt wird. Diese Beobachtung ist nun allerdings eine richtige; wenn aber auch solche Gemenge von Essigsäure wie das Mucin gefällt werden, so weichen sie doch — wie ich später zeigen werde — in anderen Beziehungen so wesentlich von den Mucinlösungen ab (ich gedenke hier nicht der ganz abweichenden physikalischen Beschaffenheit), dass von einer Uebereinstimmung beider gar nicht die Rede sein kann. Das ganz abweichende Verhalten von Mucin und solchen Gemengen zu mehreren chemischen Reagentien spricht in der That auch mehr gegen als für die obige Annahme.

Für die Annahme, dass die Mucine keine chemische Individuen seien, spricht nun weiter die sehr wechselnde elementäre Zusammensetzung und namentlich auch der sehr schwankende Stickstoffgehalt derselben. Auch hier sind doch einige Umstände zu beachten. So werde ich seiner Zeit zeigen können, dass es auch andere Stoffe giebt, die wie die Mucine zu überschüssiger Essigsäure und verdünntem Alkali sich verhalten, während sie in anderen Hinsichten von den Mucinen sehr verschieden sind; und da man bisher das Verhalten zu Essigsäure als die zur Charakterisirung der Mucine wichtigste Reaction betrachtet hat, ist es kaum anzunehmen, dass alle die, wegen ihres Verhaltens zu Essigsäure für Mucine gehaltenen und als solche analysirten Stoffen auch wahre Mucine gewesen seien. Weiter ist es nicht zu übersehen, dass die bisher analysirten Mucine unzweifelhaft in mehreren Fällen so unreine Stoffe gewesen sind, dass den bei der Analyse gefundenen Zahlen keine Beweiskraft zugeschrieben werden kann. Für das Schneckenmucin — wie es bisher dargestellt wurde — ist ja die Berechtigung einer solchen Behauptung von Landwehr bewiesen worden; und es dürfte mit Rücksicht auf diese Frage nicht ohne Interesse sein zu erfahren, dass während das unreine Schneckenmucin etwa 8—9% N enthält, die von mir isolirte, genügend gereinigte Substanz, wie ich bald zeigen werde, etwa denselben Stickstoffgehalt wie das Nabelstrangmucin oder das genügend gereinigte Mucin der Submaxillardrüse hat. Schon dieses Beispiel zeigt also,

1) Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. VIII, p. 118.

wie unberechtigt es in der That ist, aus den bisher für die Mucine gefundenen, schwankenden Zahlen irgend welche Schlüsse über die Natur dieser Stoffe zu ziehen.

Es bleibt gewiss auch noch übrig zu erforschen, ob die verschiedenen Mucine — wenn wir einmal bessere Methoden zu ihrer Reindarstellung gefunden haben — bezüglich der elementären Zusammensetzung unter einander grössere Abweichungen als die verschiedenen Eiweissstoffe aufzuweisen haben; und ich glaube darum auch, dass wir eine wechselnde elementäre Zusammensetzung der Mucine erst dann als einen Beweis gegen die einheitliche Natur dieser Stoffe ansehen können werden, wenn es festgestellt worden ist, dass auch die nach zuverlässigen Methoden gereinigten Mucine eine wesentlich wechselnde Zusammensetzung haben.

Nach dem nun Gesagten wird man es, wie ich glaube, nicht sonderbar finden, wenn ich die Frage, ob die Mucine chemische Individuen oder nur Gemenge von Kohlehydraten und Globulinen seien, lange nicht als erledigt ansehen kann. Vor bald 20 Jahren sprach Eichwald¹⁾ die Ansicht aus, „dass das Mucin einen gepaarten Stoff darstelle und dass der eine von den dasselbe constituirenden Atomcomplexen ihm mit allen genuinen Eiweiskörpern gemeinschaftlich zukomme, während der andere unter gewissen Verhältnissen als Zucker austritt,“ und ich glaube wir müssen zugeben, dass unsere Kenntniss von der Natur der Mucinsubstanzen seit jener Zeit nicht wesentlich erweitert worden ist. Den einzigen wahren Fortschritt der Forschung auf diesem Gebiete verdanken wir den interessanten Arbeiten von Landwehr, durch welche wir das thierische Gummi als wahrscheinliche Vorstufe der beim Sieden des Mucins mit Säuren entstehenden, reducirenden Substanz kennen gelernt haben. Die grosse Bedeutung dieser Entdeckung für die Mucinfrage liegt auch, wie ich oben angedeutet habe, nach meiner Ansicht darin, dass sie einen neuen, viel versprechenden Ausgangspunkt für weitere Forschungen eröffnet, während es dagegen ganz verfrüht sein würde, schon jetzt aus dieser Entdeckung bestimmte Schlüsse über die Natur der Mucinsubstanzen ziehen zu wollen. Diese letzte Frage kann, wie ich glaube, erst durch sehr umfassende und eingehende, vergleichend physiologisch chemische

1) a. a. O. p. 206.

Untersuchungen von Mucinen verschiedener Abstammung ihrer endgültigen Lösung entgegengeführt werden.

Vor etwas mehr als 3 Jahren veröffentlichte ich einen Aufsatz über Metalbumin und Paralbumin¹⁾ und ich zeigte darin — auf Grundlage sowohl der qualitativen Reactionen wie auch der elementären Zusammensetzung — dass dieser Stoff eher zu der Mucin- als zu der Eiweissgruppe zu rechnen sei, eine Ansicht, die in der letzten Zeit durch die Landwehr²⁾ gelungene Darstellung des thierischen Gummis aus Metalbumin nach derselben Methode wie aus dem Submaxillarismucin eine sehr interessante Bestätigung gefunden hat. Ueber die Natur des Metalbumins konnte ich damals nichts Weiteres mit Sicherheit aussagen, die Annahme, welche mir am meisten zusagte, war aber die, dass das Metalbumin entweder nur verändertes oder verflüssigtes Colloid oder auch ein Gemenge von solchem Colloid mit Eiweiss sei. Die experimentelle Prüfung dieser Hypothese (zu der Hypothese von Landwehr, dass das Metalbumin ein Gemenge von thierischem Gummi mit Globulin sei, werde ich ein anderes Mal zurückkommen) setzte indessen eine genauere Kenntniss des bisher kaum studirten Eierstockscolloides voraus, und ich musste also zuerst diesen Stoff zum Gegenstand einer besonderen Untersuchung machen. Auf die Schwierigkeiten allerlei Art, welche einer solchen Untersuchung im Wege standen, kann ich hier nicht weiter eingehen; aber ich fand bald, dass, abgesehen von ihnen, diese Frage doch aus anderen Gründen noch nicht gelöst werden könnte. Ich fand nämlich, dass die Frage von der Natur des Pseudomucins (Metalbumin) und des Eierstockcolloides erst dann in Angriff genommen werden kann, wenn wir erst eine bessere Kenntniss der Mucinsubstanzen gewonnen haben, und auf diese Weise wurde ich allmählich zu dem Studium der Mucine geführt.

Im Laufe der letzten 3 Jahre habe ich nun wiederholt Gelegenheit gehabt, Mucine verschiedener Abstammung mehr oder weniger eingehend zu untersuchen. In dem Maasse wie die Arbeit vorwärts ging, fand ich indessen die Aufgabe weit schwieriger und mehr verwickelt als ich erwartet hatte, und ich gewann bald die Ueberzeugung, dass die Mucinfrage erst durch sehr umfassende,

1) Zeitschrift f. physiologische Chemie, Bd. 6, 1882.

2) ebend. Bd. 8, 1883.

vergleichend physiologisch-chemische Untersuchungen von Mucinen aus verschiedenen Geweben oder Flüssigkeiten und aus verschiedenen Thierklassen gelöst werden könne. Ich fand es dabei auch nicht mehr möglich, meine Untersuchungen über Mucin und mucinähnliche Substanzen in einer einzigen Abhandlung zu veröffentlichen, sondern ich musste mich dazu entschliessen, meine Beobachtungen und Versuchsergebnisse in einer Reihe von Aufsätzen mitzutheilen. Aus mehreren Gründen mache ich hierbei den Anfang mit meinen Untersuchungen über das Mucin der Weinbergsschnecke.

I. Das Mucin von *Helix pomatia*.

Das Mucin der Weinbergsschnecke ist bisher theils von Eichwald¹⁾ und theils von Landwehr²⁾ untersucht worden. Das von Eichwald zur Darstellung von diesem Mucin befolgte Verfahren war folgendes. Die aus den Gehäusen genommenen Thiere wurden zerschnitten, mit reinem Sand zu einem dicken Brei zerrieben und mit Wasser ausgekocht. Das schmutzigbraune, dickliche Filtrat wurde mit überschüssiger Essigsäure gefällt, der Niederschlag erst mit Essigsäure und dann mit Wasser gewaschen, in Kalkwasser gelöst, diese Lösung von Neuem mit Essigsäure gefällt und der Niederschlag wie oben gewaschen. In den Versuchen von Landwehr dagegen wurden die zerschnittenen Thiere mit kaltem Wasser extrahirt, der colirte Auszug mit Essigsäure gefällt, der Niederschlag gewaschen, in sehr verdünnter Sodalösung (1‰) gelöst, von Neuem mit Essigsäure gefällt und gewaschen. Trotzdem, dass jener Forscher den Auszug mit siedendem, dieser dagegen mit kaltem Wasser bereitete, erhielten doch beide ein Präparat von etwa demselben niedrigen Stickstoffgehalt, 8,6%. Wie schon oben gesagt, leitet Landwehr diesen niedrigen Stickstoffgehalt von einer Beimengung mit Achrooglycogen her, und das Schneckenmucin soll nach ihm ein Gemenge von Globulin mit diesem Kohlehydrate sein.

Bei den nun geschilderten, von den beiden obengenannten Forschern befolgten Methoden zur Reindarstellung des Schnecken-

1) Annal. d. Chem. und Pharm. Bd. 134.

2) Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. 6, 1881.

mucins können aus den verschiedenen Geweben und Organen der Thiere Stoffe allerlei Art in den Auszug übergehen, und es ist also kaum zu erwarten, dass auf diese Weise ein reines Mucin erhalten werden könne. Will man ein möglichst reines Mucin gewinnen, so muss man nach meiner Ansicht dahin streben, zuerst wenn möglich die mucinproducirenden Organe von den übrigen Theilen des Thieres zu trennen und dieses Bestreben war auch der Ausgangspunkt meiner Arbeit.

Zuerst suchte ich dabei eine Mucinsecretion bei den noch lebenden, ganz unversehrten Thieren auf mehrere Weise zu bewirken. Ich legte zuerst die Thiere in lauwarmes Wasser von etwa 20 bis 30° C.; aber die Secretion war dabei nur sehr unbedeutend und das Mucin war fast unlöslich in Wasser, so dass es nicht durch Filtration von Verunreinigungen, welche von dem Darmkanale der Thiere oder von der Oberfläche der Gehäuse stammten, befreit werden konnte. Ich versuchte nun eine lebhaftere Secretion theils durch mechanische Reizung und theils durch Einlegen der Thiere in höchst verdünnte Sodalösung anzuregen, was auch in der That sehr gut gelang. Es fand nämlich unter diesen Verhältnissen eine reichliche Secretion statt; aber es zeigte sich bald, dass das auf diese Weise gewonnene Mucin ein Gemenge von mindestens zwei Secreten war. Ich fand nämlich bald, dass die Thiere, wenigstens zur Zeit wenn sie zum Winterschlaf sich anschicken, zwei verschiedenartige Secrete absondern. Derjenige Theil der Manteloberfläche, der beim Erzeugen des Winterdeckels (des Epiphragmas) wirksam ist, sondert nämlich ein durch reichliche Mengen von kohlensaurem Kalk weisses, rahmähnliches Secret ab, während von dem Fusse ein farbloser oder schwach gelblicher, heller, glasiger Schleim secernirt wird. Der Kürze halber nenne ich in dem Folgenden jenes Secret Mantel- und dieses Fussmucin.

Diese vorbereitenden Versuche hatten also gezeigt, dass das gewöhnliche Schneckenmucin mindestens von zwei verschiedenen Organen abstammen kann; aber es war aus gewissen Gründen nicht unwahrscheinlich, dass es noch andere, mucinähnliche Substanzen secernirende Organe gebe. Die Schnecken haben bekanntlich eine besondere Drüse, die sogenannte Eiweissdrüse, welche in bestimmter Beziehung zu der Fortpflanzung steht und allem Anscheine nach bei der Ausbildung der Eier eine Rolle spielt,

und aus mehreren Gründen fand ich es nicht unwahrscheinlich, dass auch diese Drüse eine mucinähnliche Substanz enthalten könne.

Ich stellte desshalb auch einige Versuche mit dem wässerigen Extracte der genannten Drüse an, und ich fand nun in der That darin auch in reichlicher Menge eine sehr interessante, dem Mucin in mehreren Hinsichten nahestehende Substanz, die wie das Mucin von Essigsäure gefällt und von überschüssiger Säure nicht gelöst wird. Beim Sieden des Extractes gerinnt diese Substanz nicht; und bei der Darstellung des Mucins nach dem älteren Verfahren, sei es dass man die Schnecken mit siedendem oder kaltem Wasser extrahirt, muss also diese Substanz mit in das Extract übergehen und von der Essigsäure mit ausgefällt werden.

Die sehr interessante Gruppe von zusammengesetzten Protein-substanzen, die man Nucleoalbumine nennt, hat, wie ich in einer andern Arbeit zeigen werde, eine sehr grosse Verbreitung in dem Thierreiche und namentlich scheinen sie in reichlicher Menge in den drüsigen Organen vorzukommen. Die Nucleoalbumine sind nun zwar nicht unlöslich in überschüssiger Essigsäure; aber sie werden doch alle von dieser Säure gefällt und einige werden erst bei einem recht grossen Ueberschuss davon wieder gelöst. Wenn es Nucleoalbumine in der Schnecke gäbe, könnte man deshalb auch erwarten, dass sie bei der Mucindarstellung wenigstens zum Theil von der Essigsäure mit ausgefällt werden würden; und aus diesem Grunde musste ich auch nach solchen Stoffen suchen. Selbstverständlich wandte ich mich dabei vor Allem an die Leber, als die grösste Drüse dieser Thiere, und ich fand nun auch in ihr in bedeutender Menge eine von Essigsäure fällbare Substanz, die ebenfalls beim Sieden nicht gerinnt und erst von grösseren Mengen überschüssiger Essigsäure wieder aufgelöst wird, während sie, zum Unterschied von dem Nuclein, wie andere Nucleoalbumine von sehr verdünnter Salzsäure äusserst leicht gelöst wird.

Abgesehen von dem von Landwehr entdeckten Achrooglykogen, das (beiläufig bemerkt) in den von mir untersuchten Schnecken nicht zu finden war, könnte also das Schneckenmucin, wie es bisher gewonnen wurde, ein Gemenge von mindestens 4 Substanzen — dem Mantel- und Fussmucin, der Proteinsubstanz der Eiweissdrüse und dem Nucleoalbumin der Leber — sein. Meine Aufgabe musste dementsprechend auch die sein, diese 4 Sub-

stanzen wenn möglich gesondert aufzusammeln und zu prüfen. Ich machte dabei den Anfang mit dem Mantelmucin.

A. Das Mantelmucin von *Helix pomatia*.

Nach wiederholten, vergeblichen Bemühungen, dieses Mucin auf anderen Wegen in reinem Zustande zu gewinnen, fand ich es am besten, durch mechanische Reizung die Secretion einzuleiten. Zuerst wurden die Gehäuse sehr umsichtig gereinigt und die Thiere dann in Wasser von 20—30° C. gelegt. Es dauert dabei gewöhnlich nicht lange, bevor das Thier den Fuss in ganzer Länge herausstreckt; und wenn man nun den ganzen Fuss mit einem Tuche so fest umfasst, dass das Thier ihn nicht wieder in das Gehäuse hinein zurückziehen kann, liegt der obengenannte Theil der Manteloberfläche, von dem das Epiphragma gebildet wird, frei, so dass er mit einem abgerundeten Glasstabe gereizt werden kann. Dabei findet nun eine ziemlich reichliche Secretion einer dicklichen, zähen, rahmähnlichen Flüssigkeit, die man wie eine halbfeste Masse um den Glasstab herumwinden kann, statt. Tröpfelt man erst etwas destillirtes Wasser auf die Manteloberfläche, oder lässt man das weisse Secret direct mit Wasser sich mischen, so erhält man eine weissliche, stark schleimige, gequollene Masse oder einen dicken, zähen Schleim.

Durch dieses Verfahren, welches, wenn es um die Gewinnung von grösseren Mengen des Secrets sich handelt, ein recht mühsames und zeitraubendes ist, kann das fragliche Secret frei von anderen Beimengungen gewonnen werden. Auf diese Weise habe ich in den zwei letzten Jahren gegen 3000 Schnecken verarbeitet¹⁾ und dadurch eine für die folgenden Untersuchungen genügende Menge Material erhalten können.

Die Farbe des auf die obige Weise gewonnenen Secretes ist regelmässig weiss mit einem Stich ins Gelbliche. Bisweilen ist die Farbe eine mehr gelbliche, und in einigen Fällen, wo vielleicht eine Beimengung irgend eines gefärbten Saftes stattfindet, eine bläuliche. Das weisse, rahmähnliche Aussehen rührt von einer zahllosen Menge sehr kleiner Körnchen von kohlensaurem

1) Bei dieser Arbeit haben doch einige meiner Schüler und vor Allem Herr Cand. A. W. Carstensen sehr werthvolle Hülfe mir geleistet.

(und theilweise vielleicht auch phosphorsaurem) Kalk her. Von Zellen, Kernen oder anderen, morphologischen Gebilden sieht man bei der mikroskopischen Untersuchung fast nichts — es sei denn, dass man die Thiere bei dem Aufsammeln des Secretes etwas zu unsanft behandelt habe. Setzt man Essigsäure zu dem Secrete, so lösen sich die Körnchen unter reichlicher Kohlensäureentwicklung, die Masse schäumt stark und die mucinähnliche Substanz ballt sich zu festen Fasern oder Klümpchen zusammen oder windet sich beim Umrühren wie ein sehr festes Mucingerinnsel um den Glasstab herum.

In Wasser scheint dieses Mucin nur äusserst wenig löslich zu sein. Die zähe, schleimige Masse ist unfiltrirbar; aber selbst wenn man sie mit Wasser stark verdünnt, geht fast nur Wasser durch das Filtrum hindurch und das Mucin selbst wird von dem Papiere zurückgehalten. Dem entsprechend wird auch das Filtrat fast nicht von Essigsäure gefällt; es wird bei Zusatz von der Säure opalisirend, oder es treten einzelne Fäserchen in ihm auf. Hier ist doch eine Täuschung leicht möglich. Das Mantelmucin unterliegt nämlich in Wasser mehr weniger rasch einer Veränderung, durch welche es allmählich die schleimig zähe Beschaffenheit verliert und in Wasser löslich wird. Diese Veränderung, welche ganz ohne Fäulniss verläuft, kann oft schon nach ein paar Stunden durch eine weniger dickflüssige Beschaffenheit sich kund geben; und wenn die Menge des zugesetzten Wassers nicht sehr klein ist, kann die Masse nach 6—12—18 Stunden eine ganz dünnflüssige Beschaffenheit angenommen haben. Wenn das Mantelmucin nur mit sehr wenig Wasser angerührt wird, so dass es einen einzigen, grossen, zähen Klumpen darstellt, erfordert die Veränderung etwas mehr Zeit; aber selbst unter diesen Verhältnissen habe ich noch keinen einzigen Fall gesehen, wo nicht diese zähe Masse im Laufe von 24—48 Stunden in eine wasserdünne, leicht filtrirende Flüssigkeit verwandelt worden war. Mir will es scheinen, als fände diese Veränderung fast unmittelbar nach dem Aufsammeln des Mucins in Wasser statt, wenn es auch stets einige Stunden dauert, bis die Veränderung so weit fortgeschritten ist, dass sie durch eine wesentlich verminderte Zähigkeit des Schleimes sich kund giebt. Zu dieser Veränderung des Mantelmucins in Wasser werde ich später zurückkommen und hier will ich nur die Aufmerksamkeit darauf lenken, dass, in Folge dieser

allmählich stattfindenden Veränderung, das mit viel Wasser verdünnte Mantelmucin allmählich ein an Stoff reicheres Filtrat geben kann, was zu der Annahme, dass das Mantelmucin in Wasser löslich sei, Veranlassung geben könnte. So lange als das Mantelmucin noch nicht angefangen hat, die obengenannte Veränderung durchzumachen, scheint es nur äusserst wenig löslich in Wasser zu sein.

Da es also nicht möglich war, ein typisches, noch unverändertes Mantelmucin durch starkes Verdünnen mit Wasser, Filtriren und Fällern des Filtrates mit Essigsäure darzustellen, versuchte ich die Löslichkeit und Filtrirbarkeit des Mucins dadurch zu erhöhen, dass ich es in einer höchst verdünnten Alkalilauge zu lösen versuchte. Das mit ein wenig Wasser angerührte Mucin wurde zu dem Ende unmittelbar darauf in eine grosse Menge Wasser von 0,01% KOH eingetragen, und dabei erhielt ich nun in der That auch eine ziemlich leicht filtrirende, stark fadenziehende Flüssigkeit von allen Eigenschaften einer ganz typischen Mucinlösung. Das so in Lösung erhaltene Mucin ist doch auch, wie ich später zeigen werde, nicht ganz unverändertes Mantelmucin. Das so gewonnene Mucin hat nämlich nicht dieselben Löslichkeitsverhältnisse wie die ursprüngliche Substanz, und in der alkalischen Lösung wird das Mucin allmählich weiter verändert. Unmittelbar nachdem man das Mantelmucin in Wasser von dem genannten Alkaligehalte (0,01% KOH) gelöst hat, wird die Substanz von Essigsäure wieder als ein grobfaseriges, um den Glasstab herumzuwindendes Mucin gefällt. Nach etwa 24 Stunden erhält man wiederum vielleicht mit Essigsäure überwiegend eine grobfaserige, mucinähnliche Fällung und daneben einen mehr flockigen Niederschlag. Nach etwa 48 Stunden erhält man vielleicht nur eine flockige Fällung und nach etwa 72 Stunden wird die Flüssigkeit vielleicht gar nicht mehr von überschüssiger Essigsäure gefällt. Es ist dies also dasselbe Verhalten, dem man beim Arbeiten mit Mucinsubstanzen wiederholt begegnet und welches die Reindarstellung dieser Substanzen in so hohem Grade erschwert.

Die obenerwähnte Veränderung des Mantelmucins in alkalihaltigem Wasser verläuft natürlich nicht immer mit derselben Geschwindigkeit. Bei höherer Lufttemperatur geht sie rascher von Statten, und darum habe ich nur bei niedrigerer Temperatur meine hierher gehörende Versuche ausführen können. Im September,

October und sogar in der ersten Hälfte von November wollten meine Versuche nicht recht gelingen — wie denn überhaupt nach meiner Erfahrung Untersuchungen über die Mucinsubstanzen mit Vortheil nur im Winter auszuführen sind.

Da es also auch auf diesem Wege mir nicht möglich war, ein ganz unverändertes Mantelmucin darzustellen, blieb mir nur der Ausweg offen, das mit Wasser verdünnte Secret fast unmittelbar nach dem Aufsammlen mit Essigsäure zu fällen. Dieser Weg ist auch von mir betreten worden; und da es von grossem Interesse ist, diejenigen anderen Veränderungen, welche mit der veränderten physikalischen Beschaffenheit des Mucins Hand in Hand gehen, kennen zu lernen, habe ich auch das in Wasser und in sehr verdünntem Alkali veränderte Mantelmucin zum Gegenstand einiger Untersuchungen gemacht. Da ich nun zu diesen Untersuchungen übergehe, werde ich dabei zuerst von dem unveränderten, mit Essigsäure direct gefällten Mantelmucin sprechen. Die Reindarstellung dieses Mucins wurde auf folgende Weise versucht.

Das Secret wurde in nur sehr wenig Wasser aufgesammelt und damit zu einer gleichförmigen, zähen Masse ausgerührt, welche, sobald auf die obenbeschriebene Weise 10—20 Thiere verarbeitet worden waren, mit überschüssiger Essigsäure versetzt wurde. Der Grund, warum ich nicht mit dem Essigsäurezusatz wartete, bis ich eine grössere Zahl von Thieren verarbeitet hatte, lag darin, dass ich fürchtete, dass das mit Wasser gemischte Mucin allmählich auf die obengenannte Weise sich verändern würde, bevor ich mit allen Thieren (gewöhnlich verarbeitete ich auf ein Mal 100 Thiere) fertig war. Die Essigsäure musste in sehr grosser Menge zugesetzt werden, und da sie nur schwierig die Masse vollständig durchdringt, war ein sehr tüchtiges Umrühren nothwendig. Dabei schäumte die Masse wegen der entweichenden Kohlensäure sehr stark; aber binnen nicht sehr langer Zeit wurden die Mucinklumpchen hart und fest, das Schäumen hörte auf und die Flüssigkeit konnte leicht von dem Mucin getrennt werden.

Behufs der weiteren Reinigung wurde das Mucin, sobald es durch die Essigsäurewirkung genügend hart und fest geworden war, fein zerrieben und dann wiederholt durch Decantation mit essigsäurehaltigem Wasser gewaschen, bis das Waschwasser mit oxalsaurem Ammon keine Reaction auf Kalk zeigte. Dann wusch ich mit Wasser, bis die saure Reaction verschwunden war, aus;

darauf wurde in mehreren Fällen mit einer Sodalösung, welche 0,05 % Na_2CO_3 enthielt, und zuletzt wieder mit Wasser gewaschen. Die zu der Elementaranalyse verwendeten Präparate wurden ausserdem mit warmem Alkohol und Aether extrahirt.

Die auf die obige Weise gereinigte Substanz stellte ein weisslich graues Pulver dar, welches in Wasser und Essigsäure unlöslich, in verdünnten alkalischen Flüssigkeiten nur sehr langsam und sehr schwer löslich war. Von einer Sodalösung, welche 0,05 % Na_2CO_3 enthielt, wurden nur so kleine Mengen der Substanz gelöst, dass sie ohne nennenswerthen Verlust mehrere Tage (behufs der Entfernung vielleicht anwesender Spuren von beigemengtem Fussmucin) damit gewaschen werden konnte. In einer Natronlauge, welche 0,1 % NaOH enthielt, löste sie sich nur äusserst langsam und schwierig, und sie zeigte schon hierdurch einen wesentlichen Unterschied von den gewöhnlichen, typischen Mucin-substanzen. In anderen Hinsichten zeigte sie dagegen, wie aus dem Folgenden hervorgehen wird, eine unverkennbare Uebereinstimmung mit dem Mucin.

Die Lösungen des Mantelmucins in Wasser (mit Hülfe von 0,1 % Kalium- oder Natriumhydroxid) verhalten sich, wenn sie bei nicht zu hoher Temperatur, etwa $+3$ à $+10^\circ \text{C.}$, bereitet und nicht zu lange aufbewahrt worden sind, auf folgende Weise.

Die Lösung, welche nur langsam filtrirt, ist dickflüssig wie eine Mucinlösung und giebt ein ganz klares, etwas fadenziehendes Filtrat. Von Essigsäure oder Salzsäure wird die Lösung grobflockig gefällt und der Niederschlag löst sich nicht in einem Ueberschusse der genannten Säuren auf. Von Alkohol wird die Lösung grobflockig gefällt.

Nach Zusatz von $\frac{1}{4}$ Vol. gesättigter Kochsalzlösung konnte die Lösung, wie eine Mucinlösung, mit Essigsäure neutralisirt oder sogar schwach angesäuert werden, ohne einen Niederschlag zu geben. Diese neutralisirte oder sehr schwach angesäuerte Lösung wurde beim Erhitzen zum Sieden nicht getrübt.

Die mit Essigsäure angesäuerte, NaCl haltige Lösung wurde nicht gefällt von Ferrocyankalium oder von Quecksilberchlorid. Sie wurde dagegen gefällt von Gerbsäure, Kupfersulfat, Quecksilberjodidjodkalium und Alaun. Die Niederschläge waren sehr grobflockig und fast schleimig. Die mit Natriumacetat versetzte und dann

mit Essigsäure neutralisirte Lösung wurde von neutralem und basischem Bleiacetat reichlich gefällt.

Salpetersäure gab eine reichliche Fällung, die von einem Ueberschusse nicht gelöst wurde. Beim Erwärmen mit Salpetersäure: schöne Xanthoproteinsäurereaction. Die mit Kupfersulfat erhaltene Fällung wurde von überschüssiger Natronlauge zu einer violetten Flüssigkeit, die beim Sieden nicht reducirt wurde, gelöst. Das Millon'sche Reagens gab ein roth gefärbtes Klümpchen; und beim Erhitzen mit einem Gemenge von 1 Vol. conc. Schwefelsäure und 2 Vol. Eisessig (Adamkiewicz' Reagens) wurde eine schön rothviolette Lösung erhalten¹⁾.

Weder die alkalische noch die fast neutralisirte Lösung enthielt nach anhaltender Digestion mit Speichel eine Spur von Zucker, während eine andere, mit Schneckenglycogen absichtlich verunreinigte und übrigens ganz auf dieselbe Weise behandelte Portion derselben Lösung eine deutliche Reaction auf Zucker gab. Das Mantelmucin ist also frei von beigemengten Glycogen.

Wie die nun beschriebene verhielten sich alle von mir untersuchten Lösungen von typischem Mantelmucin in schwach alkalischer Lösung, wenn das Alkali nur bei niederer Temperatur und nicht zu lange eingewirkt hatte. Im entgegengesetzten Falle kann die Lösung dagegen einige Abweichungen zeigen, wenn sie auch in der Hauptsache wie die oben geschilderte sich verhält. Wenn die Einwirkung des Alkalis eine nicht zu anhaltende war, kann man auch ein Stadium beobachten, wo die Lösung, wie andere typische Mucinlösungen, mit Salpetersäure einen Niederschlag giebt, der von überschüssiger Säure zu einer opalisirenden Flüssigkeit gelöst wird. In diesem Stadium verhält sich die Lösung zu allen Reagentien wie die später zu besprechende, ganz typische Mucin-

1) Die Reaction von Adamkiewicz, die namentlich dadurch von Interesse ist, dass die Leimsubstanzen diesem Reagense gegenüber negativ sich verhalten und dadurch eine wesentliche Verschiedenheit von den Eiweisssubstanzen zeigen, führe ich stets in der Weise aus, dass ich eine kleine Menge der Lösung oder der fraglichen Substanz mit einem Gemenge von 1 Vol. concentrirter Schwefelsäure und 2 Vol. Eisessig zum Sieden erhitze, wobei die violette Farbe besser als bei Zimmertemperatur hervortritt. Wenn ich in dem Folgendem wiederholt von der Adamkiewicz'schen Reaction spreche, gedenke ich desshalb auch stets dieser Ausführungsweise derselben.

lösung, die aus dem Mantelmucin durch directes Aufsammeln desselben in Kalilösung von 0,01% KOH erhalten wird.

Aus dem Obigen ersieht man also, dass die Lösung des Mantelmucins in Alkali wie eine Mucinlösung sich verhält. Das Verhalten zu überschüssiger Essigsäure, die Nichtgerinnbarkeit der neutralisirten oder sehr schwach sauren, salzhaltigen Lösung beim Sieden, die Nichtfällbarkeit der sauren Lösung mit Ferrocyankalium und die schleimige, fadenziehende Beschaffenheit der ursprünglichen Lösung sind ja Eigenschaften, die dem typischen Mucin allgemein zugeschrieben werden. Durch das Verhalten zu kleiner Mengen Chlorwasserstoffsäure scheint dieses Mucin zwar insofern von dem gewöhnlichen Mucin verschieden zu sein, als dieses zwar auch von sehr kleinen Mengen Chlorwasserstoffsäure gefällt aber von einem kleinen Ueberschusse wieder gelöst wird, was mit dem Mantelmucin nicht der Fall ist; aber hierzu ist zu bemerken, dass, wie ich später zeigen werde, es auch andere Mucine giebt, deren mit ein wenig Salzsäure erzeugte Fällungen in einem kleinen Ueberschusse von Salzsäure nicht löslich sind.

Zu überschüssiger Salpetersäure verhält sich dieses Mucin auch etwas anders als das gewöhnliche, welches, wie z. B. das Submaxillarismucin, von überschüssiger Salpetersäure gelöst wird. Hier begegnet man jedoch der interessanten Thatsache, dass das Mantelmucin durch Alkalieinwirkung — sei es durch directes Aufsammeln in einer Lösung, welche 0,01% KOH enthält, oder durch allmähliche Einwirkung einer Lösung von 0,1% KOH auf die mit Essigsäure direct gefällte Substanz — in ein typisches, in überschüssiger Salpetersäure lösliches Mucin übergeführt wird. Hält man mit dieser Beobachtung die Thatsache zusammen, dass das direct mit Essigsäure gefällte, unveränderte Mantelmucin in sehr verdünnten Alkalien, wie z. B. in einer Lösung von 0,05% Na_2CO_3 fast unlöslich ist, während das einmal durch Alkali veränderte Mantelmucin zu solchen, höchst verdünnten Alkalilösungen wie typisches Mucin sich verhält, so dürfte es wohl am richtigsten sein zu sagen, dass das Secret des fraglichen Theiles der Manteloberfläche eigentlich nicht fertiges Mucin, sondern vielmehr eine mucinogene Substanz, ein Mucinogen, enthält, das schon durch Einwirkung von höchst verdünnten Alkalilösungen (0,01% KOH) in typisches Mucin übergeführt wird.

Die Mucinnatur der fraglichen, von der Manteloberfläche se-

cernirten Substanz — mag man sie als Mucinogen oder als Mucin auffassen — geht jedenfalls schon aus den oben mitgetheilten, qualitativen Reactionen hervor, und zu demselben Schlusse führen auch die elementäre Zusammensetzung und das Studium der Zersetzungsprodukte derselben.

Von dem obengenannten Mucinogen sind im Ganzen 5 verschiedene Präparate analysirt worden. Von diesen waren die Präparate Nr. 1 und Nr. 5 erst mit Essigsäure und dann mit Wasser gewaschen. Das Präparat 2 war erst mit Essigsäure, dann mit Wasser, darauf mit einer Sodalösung von 0,05% Na_2CO_3 und zuletzt wieder mit Wasser gewaschen. Die Präparate 3 und 4 wurden zuerst wie Nr. 2 behandelt. Nach dem Auswaschen mit einer Sodalösung von 0,05% Na_2CO_3 wusch ich sie aber zuerst mit verdünnter Essigsäure und dann mit Wasser aus. Sämmtliche Präparate waren vor der Analyse mit Alkohol und Aether extrahirt und bei 110—115° C. getrocknet worden. Die Kohlen- und Wasserstoffbestimmungen geschahen — wie in allen in diesem Aufsatze mitgetheilten Analysen — durch Verbrennung im Platinschiffchen in einem Sauerstoffstrome mit vorgelegtem körnigem Kupferoxyd und metallischem Silber oder Kupfer. Die Stickstoffbestimmungen wurden nach der Dumas'schen Methode und die Schwefelbestimmungen nach der von mir angegebenen Modification der Liebig'schen Methode oder nach dem ursprünglichen Liebig'schen Verfahren¹⁾ ausgeführt. Sämmtliche Zahlen beziehen sich auf die als aschfrei berechnete Substanz.

Präparat I enthielt 0,21% Asche.

a 0,332 gr Substanz lieferten 0,2033 gr Wasser und 0,6136 gr Kohlensäure = 6,89% H und 50,40% C.

b 0,3268 gr Substanz lieferten 37,9 ccm N-gas bei + 11° C. und 753 mm Hg = 13,60% N.

c 1,0483 gr Substanz lieferten 0,156 gr BaSO_4 = 2,04% S.

Präparat II enthielt 0,3% Asche.

a 0,2913 gr Substanz lieferten 0,178 gr Wasser und 0,5362 gr Kohlensäure = 6,79% H und 50,20% C.

b 0,3082 gr Substanz lieferten 35,6% ccm N-gas bei + 11° C. und 748 mm Hg = 13,53% N.

1) Vergl. meinen Aufsatz: „Ueber den Gehalt des Caseins an Schwefel und über die Bestimmung des Schwefels in Proteinsubstanzen. Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. IX, Heft 3, 1885.

Präparat III enthielt 0,41% Asche.

a 0,3167 gr Substanz lieferten 35,7 ccm N-gas bei + 2,5° C. und 750 mm Hg = 13,73% N.

Präparat IV enthielt 0,33% Asche.

a 0,2343 gr Substanz lieferten 27,5 ccm N-gas bei + 11° C. und 740 mm Hg = 13,61% N.

b 1,045 gr Substanz lieferten 0,130 gr Ba₄SO = 1,71% S.

Präparat V enthielt 0,38% Asche.

a 1,1700 gr Substanz lieferten 0,146 gr Ba₄SO = 1,71% S.

Der Uebersicht halber stelle ich hier die analytischen Daten tabellarisch zusammen:

	C	H	N	S	Asche
Präparat I	50,40	6,89	13,60	(2,04)	0,21
„ II	50,20	6,79	13,53	—	0,30
„ III	—	—	13,73	—	0,41
„ IV	—	—	13,61	1,71	0,33
„ V	—	—	—	1,71	0,33
Mittel	50,30%	6,84%	13,62%	1,71%	0,33%

Phosphor enthielt dieses Mucin, abgesehen von den in der Asche, welche hauptsächlich aus Calciumphosphat bestand, vorkommenden kleinen Phosphormengen, nicht. Dagegen fand ich in der Asche ohne Ausnahme etwas Eisen. Die Menge davon war doch eine so geringe, dass sie nur durch Verbrennung von einer grösseren Menge der Substanz hätte bestimmt werden können; und da ich mein Material zu anderen Untersuchungen verwenden wollte, habe ich von der quantitativen Bestimmung des Eisens Abstand nehmen müssen.

Bezüglich des Stickstoffgehaltes stimmt dieses Mucin, oder Mucinogen, also recht gut mit dem Mucin des Nabelstranges (mit etwa 14% N) und auch, wie ich in einem anderen Aufsätze zeigen werde, mit dem Mucin der Submaxillardrüse überein. In sehr auffallender Weise unterscheidet es sich doch von anderen Mucinsubstanzen durch den unerwartet hohen Gehalt an Schwefel.

In dem ersten, von mir analysirten Präparate fand ich den auffallend hohen Schwefelgehalt 2,04%, und diese Zahl habe ich auch in einer vorläufigen Mittheilung über diesen Gegenstand veröffentlicht. Diese auffallend hohe Zahl musste doch bald den Verdacht erwecken, dass das analysirte Präparat nicht ganz rein gewesen sei, sondern vielmehr einer Verunreinigung mit Zellen von

der Manteloberfläche seinen unerwartet hohen Schwefelgehalt zu verdanken gehabt hätte. Aus diesem Grunde fand ich es auch nothwendig, 2 neue Schwefelbestimmungen auszuführen, und in diesen Fällen, wo das Aufsammeln des Secretes mit grösserer Vorsicht geschah, überzeugte ich mich auch durch die mikroskopische Untersuchung davon, dass das Secret von beigemengten Zellen frei war. Diese 2 Bestimmungen, welche niedrigere Zahlen gaben, machen es mir in der That nicht unwahrscheinlich, dass bei dem Aufsammeln des ersten Präparates in der That eine reichliche Beimengung von keratinhaltigen Zellen stattgefunden hatte; und da ich also jedenfalls nur die 2 letzten Schwefelbestimmungen als zuverlässig betrachten kann, habe ich auch nur aus ihnen das Mittel gezogen.

Auch diese 2 Analysen haben doch für das Mantelmucin einen so hohen Schwefelgehalt ergeben, dass man vielleicht fortwährend geneigt sein dürfte, an eine Verunreinigung mit keratinhaltigen Zellen zu glauben. Einer solchen Vermuthung gegenüber muss ich doch bemerken, dass eine solche Annahme eine verhältnissmässig recht bedeutende Beimengung von keratinhaltigen Zellen voraussetzt, eine Beimengung, die wohl doch bei der mikroskopischen Untersuchung des Secretes sich hätte kund geben müssen. Von solchen Zellen habe ich indessen in dem Mantelmucin fast nichts gesehen.

Das Mantelmucin enthält eine ungeheuere Menge von feinen Körnchen (CaCO_3), die in verdünnten Säuren löslich sind; von Zellen ist aber bei vorsichtigem Aufsammeln desselben fast nichts zu sehen. Wenn ich diese Körnchen durch Zusatz von einer Säure löste, so konnte ich in den Schleimgerinseln höchstens hier und da eine vereinzelte Zelle sehen; und es ist offenbar, dass die Beimengung dieser vereinzelter Zellen keinen nennenswerthen Einfluss auf die Zusammensetzung des Secretes ausüben könnte. Die Bedeutungslosigkeit der beigemengten Zellen für die Zusammensetzung des Secretes sieht man doch am besten, wenn man eine grössere Menge desselben in Wasser aufsammelt und einige Zeit stehen lässt. Das Secret verwandelt sich dabei, wie oben gesagt, allmählich in eine dünnflüssige, leicht filtrirbare Flüssigkeit, welche durch Filtration leicht von dem, hauptsächlich aus Kalksalzen bestehenden Bodensatze getrennt werden kann. Untersucht man nun diesen Bodensatz oder den Rückstand auf dem Filtrum, so findet

man wiederum nur vereinzelte Zellen, während die Lösung ganz frei von Formelementen ist. Bei Besprechung der Eigenschaften dieses löslichen Mantelmucins werde ich auch einen mehr bindenden Beweis für den hohen Schwefelgehalt dieses Stoffes liefern können.

Für die nähere Kenntniss der Natur des Mantelmucins ist natürlich das Studium der Spaltungs- und Zersetzungsprodukte dieses Stoffes von der allergrössten Bedeutung. Ich habe deshalb auch diese Frage zum Gegenstand einer besonderen Untersuchung gemacht; bevor ich aber zu diesem Theile meiner Untersuchungen übergehe, muss ich mit einigen Worten der Veränderungen des Mantelmucins in verdünntem Alkali oder in Wasser Erwähnung thun.

Wie ich oben bemerkt habe, kann die von dem bei der Bildung des Epiphragmas wirksamen Theile der Manteloberfläche secernirte Substanz wegen ihrer Unlöslichkeit in sehr verdünntem Alkali wohl kaum als wahres Mucin betrachtet werden. Sie stellt vielmehr ein Mucinogen dar; aber dieses Mucinogen geht sogleich in Mucin über, wenn es in höchst verdünntes Alkali direct aufgesammelt wird. Wirkt das verdünnte Alkali bei niedrigerer Temperatur ein, so kann das so gewonnene Mucin noch einige Zeit ein ganz typisches, fadenziehendes Aussehen behalten. Gewöhnlichenfalls wird aber die Lösung bald weniger fadenziehend; von Essigsäure wird sie nicht länger grobflockig, sondern mehr feinflockig gefällt, und endlich kommt ein Zeitpunkt, wo durch überschüssige Essigsäure kein Niederschlag mehr erzeugt wird.

Es ist wohl kaum daran zu zweifeln, dass mit diesen Veränderungen der äusseren Eigenschaften, durch welche das Mucinogen erst zu Mucin und dieses dann zu einer, durch überschüssige Essigsäure nicht fällbaren Substanz verwandelt wird, auch Veränderungen der elementären Zusammensetzung Hand in Hand gehen müssen. Aus diesem Grunde habe ich das in wenig Alkali gelöste Mantelmucin nicht nur einer qualitativen Prüfung unterworfen, sondern auch elementaranalytisch untersucht.

Das in Kalilauge von 0,01 % KOH direct aufgesammelte Mantelmucinogen giebt, wenn es bei niedriger Temperatur nicht zu lange aufbewahrt wird, eine Lösung, welche ganz wie eine typische Mucinlösung sich verhält. Als Beispiel führe ich hier die Reactionen einer Lösung, welche 0,07 % Mucin enthielt, an.

Diese Lösung war auf folgende Weise dargestellt worden. Das von 105 Schnecken durch mechanische Reizung gewonnene Mucinogen wurde in 9 Liter Kalihydratlösung von 0,01% KOH direct aufgesammelt und die Lösung nach einigen Stunden auf eine grosse Zahl von Faltenfiltern gebracht. Dieser Versuch wurde in den letzten Tagen von September gemacht und die Filtration musste desshalb im Keller geschehen. Das nach 22 Stunden erhaltene Filtrat wurde mit überschüssiger Essigsäure gefällt, und das Mucin schied sich dabei als eine grobfaserige Masse aus. Erst nach 24 Stunden konnte die Flüssigkeit durch Decantation abgetrennt werden; der Niederschlag wurde auf Filtern gesammelt, mit Wasser genau gewaschen, dann mit wenig Wasser fein zerrieben, wieder gewaschen und in Kalilauge von 0,01% KOH fein zertheilt. Das Mucin quoll darin allmählich auf und löste sich nach und nach zu einer schleimigen, fadenziehenden Flüssigkeit, die durch ein Filtrum von nicht zu dichten Papiere als eine völlig klare, fadenziehende Flüssigkeit ging. Ein grosser Theil des Mucins wurde doch wie gewöhnlich von dem Papiere zurückgehalten, so dass das Filtrum wiederholt gewechselt werden musste. Zu der folgenden Prüfung wurde nur das Filtrat verwendet.

Essigsäure gab einen grobflockigen, etwas faserigen Niederschlag, der weder von überschüssiger Essigsäure, noch von etwas Salzsäure gelöst wurde.

Salzsäure, in sehr kleiner Menge zugesetzt, gab einen grobflockigen, etwas faserigen Niederschlag, der von einem mässigen Säureüberschuss nicht gelöst wurde.

Salpetersäure gab einen ähnlichen Niederschlag, welcher doch von überschüssiger Säure zu einer opalisirenden Flüssigkeit gelöst wurde. Beim Erwärmen: Xanthoproteinsäure-reaction.

Kupfersulfat gab einen grobflockigen oder schleimigen Niederschlag, der von überschüssigem Alkali zu einer schwach violett gefärbten Flüssigkeit gelöst wurde. Beim Sieden fand keine Reduction statt.

Quecksilberchlorid gab erst einen glasig schleimigen Niederschlag, der von einem Ueberschusse des Reagenses mehr grobflockig wurde.

Alaunlösung gab einen grobflockigen, in einem Ueberschuss des Reagenses unlöslichen Niederschlag.

Nach Zusatz von $\frac{1}{4}$ Vol. gesättigter Kochsalzlösung konnte die Flüssigkeit mit Essigsäure neutralisirt und sogar ziemlich stark angesäuert werden, ohne dass eine Fällung oder Trübung stattfand. Diese Lösung, welche beim Sieden nicht gerann, verhielt sich wie folgt:

Gerbsäure gab eine reichliche, grobflockige Fällung.

Quecksilberjodidjodkalium gab einen grobflockigen Niederschlag.

Ferrocyankalium trübte die Lösung nicht, und eine mit Essigsäure bis zu beginnender Fällung versetzte Probe klärte sich durch Zusatz von Ferrocyankalium auf.

Bleiacetatlösung gab in einer, nach Zusatz von Natriumacetat mit Essigsäure neutralisirten Probe der ursprünglichen Lösung einen reichlichen, grobflockigen Niederschlag. Zu dem Millon'schen und dem Adamkiewicz'schen Reagense verhielt sich diese Lösung wie die oben p. 389 beschriebene Lösung von Mucinogen in Alkali.

Nachdem diese Lösung noch 24 Stunden bei Zimmertemperatur gestanden hatte, war sie so verändert worden, dass sie nicht mehr von überschüssiger Essigsäure gefällt werden konnte.

Wie die nun beschriebene verhielten sich alle andere von mir untersuchten, durch directes Aufsammeln des Mantelmucinogens in Alkali von 0,01% KOH erhaltenen Lösungen von Mantelmucin. Dass diese Lösung in allem Wesentlichen wie eine wahre Mucinlösung sich verhält, geht aus dem mitgetheilten Verhalten zu den angeführten Reagentien hervor.

Zur Entscheidung der Frage, in wie weit mit der Veränderung des Mantelmucins durch die Einwirkung von Alkalien auch eine veränderte elementäre Zusammensetzung dieses Stoffes Hand in Hand gehe, habe ich zwei Präparate analysirt und dabei Folgendes gefunden:

Präparat I. Die Lösung des Mantelmucins, welche ziemlich rasch filtrirte, wurde, nachdem sie 24 Stunden der Einwirkung einer Alkalilauge von 0,01% KOH bei 11° C. ausgesetzt worden war, mit Essigsäure gefällt. Der Niederschlag wurde mit Wasser genau gewaschen und dann mit Alkohol-Aether extrahirt. Das bei 115° C. getrocknete Präparat enthielt 0,61% Asche.

0,325 gr Substanz lieferten 0,2 gr Wasser und 0,6 gr Kohlensäure, entsprechend 6,84% H und 50,34% C.

0,324 gr Substanz lieferten 36 ccm N-gas bei $+ 9^{\circ}$ C. und 766 mm Hg, entsprechend 13,47% N.

0,981 gr Substanz lieferten 0,1280 gr $\text{BaSO}_4 = 1,79\%$ S.

Präparat II. Die Filtration dieser Mucinlösung ging sehr langsam von Statten und wurde erst dann vollendet, wenn das Mucin während fast 72 Stunden bei $+ 10$ à 13° C. der Einwirkung einer Alkalilauge von 0,01% KOH ausgesetzt worden war. Das Filtrat war während dieser Zeit weniger fadenziehend geworden und es gab mit Essigsäure nicht wie das vorige eine grobfaserige, sondern eine mehr feinflockige Fällung. Das Präparat wurde wie das vorige gereinigt und ebenfalls bei 115° C. getrocknet. Die Menge des Präparates war eine so kleine, dass eine besondere Aschenbestimmung nicht ausgeführt werden konnte.

0,2963 gr Substanz lieferten 31,8 ccm N-gas bei $+ 9^{\circ}$ C. und 767 mm Hg entsprechend 13,02% N.

Macht man die Annahme, dass dieses Präparat etwa denselben Aschegehalt wie das vorige gehabt habe, so lässt sich für die aschefreie Substanz hieraus berechnen 13,10% N.

Vergleichen wir mit einander die drei bisher analysirten Substanzen, das Mucinogen, das eigentliche Mantelmucin und die durch Alkalieinwirkung sichtbar veränderte Substanz, so finden wir Folgendes:

	C	H	N	S
Mucinogen . . .	50,30	6,84	13,62	1,71
Mucin	50,34	6,84	13,47	1,79
Verändertes Mucin	—	—	13,10	—

Mit Rücksicht auf den Kohlen- und Wasserstoffgehalt findet man also gar keinen Unterschied zwischen dem ursprünglichen Mucinogen und dem daraus durch Einwirkung von 0,01% KOH hervorgegangenen Mucin. Der Stickstoffgehalt des letzteren ist dagegen ein wenig niedriger als derjenige des Mucinogens; aber der Unterschied, welcher nur 0,15% beträgt, ist doch nicht grösser, als dass er von einem Fehler in der Analyse herrühren könnte. Andererseits könnte er doch auch ein Ausdruck für eine in Folge der Alkalieinwirkung allmählich auftretende Herabsetzung des Stickstoffgehaltes in dem Mucin sein. Wie ich später weiter zeigen werde, spaltet sich nämlich durch die Einwirkung der Alkalien ein Theil des Stickstoffs aus den Mucinsubstanzen sehr leicht als Ammoniak ab, und es kann wohl darum auch kein Zweifel darüber bestehen, dass der in dem veränderten Mucin gefundene, be-

deutend niedrigere Stickstoffgehalt (13,10%) von einer durch das Alkali herbeigeführten Abspaltung von Stickstoff herzuleiten sei.

Diese mit der Umwandlung des Mucins durch Alkalieinwirkung gleichzeitig verlaufende Abspaltung eines Theils des Stickstoffs, welche in dem obigen Falle nur eine ziemlich unbedeutende war, kann bei stärkerer Alkalieinwirkung viel stärker sein; und bei Einwirkung von starker Alkalilauge wird sie so reichlich, dass die Probe recht stark nach Ammoniak riecht. In Folge dieser leichten Abspaltung von Stickstoff aus den Mucinen findet man auch in diesen Stoffen, wenn sie durch Auflösung in Kalkwasser gereinigt worden sind, leicht einen zu niedrigen Stickstoffgehalt.

Der Schwefelgehalt ist auch in diesem Falle von besonderem Interesse. Trotzdem, dass in diesem Falle die Mucinlösung vor dem Essigsäurezusätze filtrirt worden war, enthielt nämlich das Mucin ebensoviel Schwefel wie das direkt mit Essigsäure gefällte Mucinogen. Es spricht wohl dies entschieden gegen die Annahme, dass der hohe Schwefelgehalt des letzteren von einer Verunreinigung mit keratinhaltigen Zellen herzuleiten sei.

Oben S. 385 habe ich der eigenthümlichen Veränderung, welche das Mantelmucinogen allmählich in Wasser durchmacht, Erwähnung gethan und ich werde nun diese Veränderung etwas ausführlicher besprechen.

Wird das Mantelmucinogen direct in destillirtes Wasser aufgesammelt, so verliert es nach einiger Zeit mehr oder weniger vollständig seine zähe, schleimige Beschaffenheit und es löst sich zu einer weisslichen, dünnen Flüssigkeit auf. Selbst wenn ich das Secret nur mit so wenig Wasser vermischte, dass es einen zusammenhängenden, grossen Klumpen darstellte, fand ich diesen letzteren nach 24—48 Stunden in eine wasserdünne, leicht filtrirende Flüssigkeit umgewandelt. Dabei setzt sich die Hauptmasse des kohlensauren Kalkes zu Boden, daselbst einen reichlichen, körnig sandigen, etwas organische Substanz enthaltenden Bodensatz darstellend, während ein anderer Theil des Calciumcarbonates in Lösung bleibt und allem Anscheine nach die Löslichkeit des veränderten Mantelmucins vermittelt. Dass diese Umwandlung ohne Spuren von Fäulniss verläuft, habe ich schon oben gesagt, und ich will nur hinzufügen, dass sie eben so rasch im strengen Winter in einem Zimmer, wo die Temperatur nur + 1 à 2° C. beträgt, von Statten gehen kann.

Wird die auf die obige Weise erhaltene, veränderte Mucinlösung erst filtrirt und dann mit überschüssiger Essigsäure versetzt, so erhält man einen sehr reichlichen, feinflockigen, etwas bläulich weissen Niederschlag (*a*), der von überschüssiger Säure nicht gelöst wird. In dem Filtrate erhält man — wenn die Essigsäure erst neutralisirt wird — durch Zusatz von überschüssigem Alkohol einen neuen, flockigen Niederschlag (*b*) von einer peptonähnlichen, in Wasser bei jeder Reaction löslichen Substanz. Das Mengenverhältniss dieser zwei Niederschläge *a* und *b* scheint kein constantes zu sein, sondern es scheint vielmehr mit der Dauer der Wassereinwirkung zu schwanken. So habe ich Fälle beobachtet (wo das Mucin etwas längere Zeit mit Wasser gestanden hatte), wo durch Essigsäurezusatz nur eine sehr unbedeutende Fällung auftrat, während von der Substanz *b* durch Alkoholzusatz reichliche Mengen ausgefällt wurden. Die meisten dieser Beobachtungen wurden im September und im Anfange von October gemacht, und da während dieser Monate Fäulniss leicht stattfindet, habe ich die Frage nicht sicher entscheiden können, ob es überhaupt möglich ist, das Mantelmucin in Wasser (ohne dass dabei Fäulniss eintritt) so zu verändern, dass es gar nicht durch Essigsäure gefällt werden kann, sondern vollständig in die Substanz *b* übergeführt wird.

Ich habe die Substanzen *a* und *b* gesondert untersucht und dabei Folgendes gefunden.

Die mit Essigsäure ausgefällte Substanz *a* wurde durch Auflösung in Wasser mit Hülfe von ein wenig Alkali, nochmalige Fällung mit Essigsäure und Auswaschen mit Wasser gereinigt. Sie wurde dann von Neuem in Wasser mit Hülfe von möglichst wenig Alkali zu einer nur sehr schwach alkalisch reagirenden Flüssigkeit gelöst. Diese Lösung verhielt sich in fast allen Beziehungen wie die oben geschilderte Lösung von Mantelmucin in Kalilauge von 0,01% KOH. Sie unterschied sich von ihr nur durch die dünnflüssige, gar nicht fadenziehende Beschaffenheit wie auch dadurch, dass die mit den verschiedenen Reagentien erhaltenen Niederschläge weniger schleimig-grobflockig waren. Bezüglich des Verhaltens dieser Substanz zu Reagentien kann ich also auf das von der obigen Mucinlösung in 0,01% KOH (s. S. 395) Gesagte verweisen.

Das in Wasser veränderte Mantelmucin weicht also wie es

scheint, qualitativ nur durch die veränderte physikalische Beschaffenheit von dem typischen ab, und es war darum auch von Interesse, die elementäre Zusammensetzung auch dieses Mucins wenn möglich kennen zu lernen.

Im Ganzen habe ich drei solche Mucinpräparate analysirt und dabei Folgendes gefunden:

Präparat I. Die Menge der Asche war 0,29%.

0,3716 gr Substanz lieferten 43 ccm N-gas bei + 9° C. und 736 mm Hg = 13,47% N.

Präparat II. Die Menge der Asche war 0,38%.

a 0,3878 gr Substanz lieferten 0,237 gr Wasser und 0,716 gr Kohlensäure = 6,79% H und 50,35% C.

b 0,3759 gr Substanz lieferten 42 ccm N-gas bei + 8,7° C. und 763 mm Hg = 13,54% N.

Präparat III. Wegen Mangels an Material konnte keine Aschenbestimmung ausgeführt werden.

1,034 gr Substanz lieferten 0,119 gr BaSO₄ = 1,58% S.

Tabellarische Uebersicht der Analysen.

	C	H	N	S
1	—	—	13,47	—
2	50,35	6,79	13,54	—
3	—	—	—	1,58%
Mittel	50,35%	6,79%	13,51%	1,58%.

Die Menge des Schwefels kann natürlich nicht ganz exact angegeben werden, da die Bestimmung der Aschenmenge nicht gemacht werden konnte. Durch Umrechnung auf die aschefreie Substanz kann sie doch nicht wesentlich erhöht werden, und sie bleibt also um etwa 0,15% niedriger als in den anderen Mucinpräparaten. Ob diese Differenz von einem Fehler in der Bestimmung oder von einer etwas abweichenden Zusammensetzung des veränderten Mucins herrührt, kann ich nicht sagen und dies dürfte wohl auch weniger wichtig sein. Das Wichtigste ist, dass auch das veränderte Mantelmucin, welches von Formelementen gar nicht verunreinigt sein kann, einen hohen Schwefelgehalt hat, denn hierdurch wird es ganz sicher bewiesen, dass das Mantelmucin eine verhältnissmässig sehr schwefelreiche Substanz ist.

Vergleichen wir nun — bezüglich der elementären Zusammensetzung — mit einander die verschiedenen, bisher analysirten Präparate: 1) das Mucinogen, 2) das eigentliche, aus Kalilösung von

0,01% KOH gefällte Mantelmucin, 3) das in Wasser veränderte Mantelmucin und 4) das durch mehr anhaltende Alkalieinwirkung veränderte Mantelmucin, so finden wir Folgendes:

	C	H	N	S
1.	50,30	6,84	13,62	1,71
2.	50,34	6,84	13,47	1,79
3.	50,35	6,79	13,51	1,58
4.	—	—	13,10	—

Trotzdem dass die drei erstgenannten Präparate eine ganz ungleichartige physikalische Beschaffenheit haben, scheint also doch die elementäre Zusammensetzung in allen dieselbe zu sein. Dass in No. 4 dagegen eine Abspaltung von Stickstoff wirklich stattgefunden hatte, habe ich oben wahrscheinlich zu machen gesucht.

Die zweite bei der Umwandlung des Mucins in Wasser entstandene Substanz *b* verhielt sich wie folgt. Die mit Alkohol gefällte, mit starkem Alkohol entwässerte und dann mit Aether behandelte Substanz stellte ein grauweisses Pulver dar, welches in Wasser zu einer schwach opalisirenden Flüssigkeit sich löste. Diese Lösung gerann unter keinen Umständen beim Sieden. Von Essigsäure wie auch von Mineralsäuren wurde sie gar nicht gefällt. Essigsäure und Ferrocyankalium trübte sie gar nicht; von Metallsalzen, wie Kupfersulfat, Quecksilberchlorid, Quecksilberjodidjodkalium oder Alaun wurde sie nicht gefällt. Salzsäure und Quecksilberjodidjodkalium verursachten nur eine sehr starke Opalescens aber keine wahre Fällung. Dagegen wurde die Lösung flockig gefällt von Gerbsäure, Phosphormolybdänsäure, Bleiacetat und Millons Reagens, welches letztere eine schön roth gefärbte Flüssigkeit mit einzelnen solchen Klümpchen gab. Kupfersulfat mit Natronlauge gab eine violett gefärbte Lösung, die beim Sieden gar nicht reducirt wurde. Die Lösung gab endlich die Xanthoproteinsäurereaction wie auch die Reaction von Adamkiewicz.

Nach dem nun Mitgetheilten kann wohl kein Zweifel darüber bestehen, dass die Substanz *b* zu der Peptongruppe gehört. Wenn das Mantelmucin direct in Wasser aufgesammelt wird, macht es also eine Veränderung derart durch, dass es erst in eine durch Essigsäure fällbare, von dem Mucin nur durch die physikalische Beschaffenheit sich unterscheidende Substanz und dann in einen peptonähnlichen Stoff übergeführt wird. Dieser peptonähnliche Stoff entsteht allem Anscheine nach durch eine weitere Umwand-

lung des im Wasser veränderten, durch Essigsäure noch fällbaren Mucins. In den früheren Stadien der Umwandlung findet man nämlich hauptsächlich nur die durch Essigsäure fällbare Substanz und fast kein Pepton; in den späteren Stadien findet man dagegen überwiegend oder ausschliesslich (vielleicht doch erst bei beginnender Fäulniss) Pepton und nur sehr wenig oder fast nichts von der mit Essigsäure fällbaren Substanz.

Nachdem ich die Veränderungen des Mantelmucins in sehr verdünnter Kalilauge und in Wasser besprochen habe, gebe ich nun zu den Zersetzungsprodukten des Mantelmucins (so weit ich sie studiren konnte) über.

Die Frage, welche dabei vor Allem in den Vordergrund tritt, ist folgende: Wie verhält sich dieses Mucin beim Sieden mit verdünnten Säuren; liefert es dabei eine reducirende, zuckerähnliche Substanz oder nicht?

Diese Frage muss entschieden bejahend beantwortet werden, aber sogleich muss ich auch die Aufmerksamkeit darauf lenken, dass die Menge der auf diese Weise aus dem Mantelmucin darstellbaren Substanz eine so kleine ist, dass sie bei nicht genügend sorgfältig ausgeführter Arbeit vielleicht ganz übersehen werden könnte. Die reducirende Substanz wird auch im Allgemeinen so langsam gebildet, dass ich sie in mehreren Fällen erst nach 3—4 oder 5stündigem Erhitzen im Wasserbade mit Salzsäure oder Schwefelsäure von 2—5% deutlich nachweisen konnte. Die Ursache dieser langsamen Entstehung der reducirenden Substanz könnte nun darin gesucht werden, dass das Mantelmucin in Säuren nicht löslich ist, und dass es dem entsprechend nur schwierig und langsam von der Säure angegriffen wird; aber dies scheint nicht die Ursache zu sein. Wie oben gesagt, wird nämlich das Mantelmucin von Wasser allmählich in eine löslichere Modification übergeführt; aber diese Modification giebt fast eben so schwierig und langsam wie die ursprüngliche eine reducirende Substanz. Sogar das oben beschriebene Mantelmucinpepton liefert beim Sieden mit verdünnter Säure nur sehr langsam die fragliche, reducirende Substanz. Diese letztgenannte Beobachtung ist nun von einem grossen Interesse dadurch, dass sie sogleich zeigt, dass die beim Sieden des Mantelmucins mit verdünnten Säuren entstehende, reducirende Substanz wirklich durch eine schwer herbeizuführende Spaltung des Mucins und nicht durch die Umsetzung

eines beigemengten Kohlehydrates, eines thierischen Gummis oder Glycogens entsteht. Am schlagendsten geht dies doch wohl daraus hervor, dass, wenn eine solche Lösung von Mantelmucin in Wasser mit ein wenig thierischem Gummi verunreinigt und dann mit verdünnter Säure erwärmt wird, die reducirende Substanz mit Leichtigkeit in kurzer Zeit erhalten wird.

Dass die reducirende Substanz, welche beim Sieden des Mantelmucins mit Säuren erhalten wird, nicht von einem beigemengten Kohlehydrate herrührt, geht auch aus vielen anderen Beobachtungen hervor, derer ich später Erwähnung thun werde. Hier will ich nur daran erinnern, dass sie unter keinen Umständen von einem Glycogen, sei es Achrooglycogen oder dem gewöhnlichen abstammen kann. Ich habe nämlich wiederholt die Lösungen des Mantelmucins in höchst verdünntem Alkali oder in Wasser mit Speichel 24—48 Stunden digerirt, ohne die Spur einer reducirenden Substanz nachweisen zu können; während ich bei absichtlicher Verunreinigung anderer Theile derselben Lösungen mit sehr wenig Schneckenglycogen ohne Ausnahme Zucker nach der Digestion mit Speichel nachweisen konnte.

Die Fähigkeit des Mantelmucins, beim Sieden mit verdünnten Säuren eine reducirende Substanz zu geben, kann also nicht von einer Verunreinigung mit Glycogen herrühren. Da es nun Landwehr gelungen ist, aus anderen Mucinsubstanzen ein Kohlehydrat, sein thierisches Gummi, darzustellen, liegt wohl unzweifelhaft die Annahme sehr nahe, dass die Muttersubstanz des aus dem Mantelmucin darstellbaren, reducirenden Stoffes nichts anderes als das thierische Gummi sei. Dass es, wenn diese Annahme richtig wäre, jedenfalls nicht um ein Gemenge von Eiweiss (Globulinen) mit thierischem Gummi sich handeln könnte, dürfte wohl schon aus der eben mitgetheilten Beobachtung wahrscheinlich geworden sein; und es war also vor Allem nöthig zu prüfen, ob doch nicht das Mantelmucin vielleicht ein zusammengesetztes Proteid darstelle, aus dem durch geeignete Mittel das thierische Gummi abgespaltet werden könne. Meine Hauptaufgabe musste also vor Allem die sein, zu prüfen, ob es überhaupt möglich sei, aus dem Mantelmucin ein mit dem thierischen Gummi identisches oder jedenfalls verwandtes Kohlehydrat darzustellen.

Ich versuchte dabei zuerst die von Landwehr angewendete Methode, welche darin besteht, dass die zu verarbeitende Substanz

4—5 Stunden in dem Papin'schen Digestor gekocht wird. Diese Methode erwies sich doch hier als unbrauchbar, weil das Mantelmucin dabei, wenigstens bei einer Temperatur von 120—140° C. nicht gelöst wird. Setzte ich dem Wasser ein wenig Alkali zu, so liess sich die Lösung zwar bewerkstelligen; aber die Flüssigkeit wurde dabei bräunlich gefärbt und die Zersetzung wurde eine zu tiefgreifende. Um die Wirkung der Wasserbehandlung bei höheren Temperaturen leichter verfolgen zu können, habe ich auch die Substanz in zugeschmolzenen Röhren auf 130—140° C. erhitzt. Wie beim Erhitzen im Papin'schen Digestor geht auch hier nur eine kleine Menge Substanz in Lösung; und wenn man behufs einer grösseren Ausbeute das Erhitzen längere Zeit fortsetzt, scheint die gelöste Substanz nun weiter zersetzt zu werden.

Ich habe die durch Erhitzen in zugeschmolzenen Röhren erhaltene Lösung untersucht und darin hauptsächlich peptonähnliche Stoffe neben nur Spuren einer reducirenden Substanz gefunden. Beim Sieden mit verdünnten Säuren wurde die Menge dieser reducirenden Substanz erst nach mehreren Stunden merkbar vermehrt; aber die Menge war doch eine so geringfügige, dass offenbar nur sehr unerhebliche Mengen ihrer Muttersubstanz in Lösung übergegangen waren. Wurde der in den Röhren ungelöst zurückgebliebene Rest des Mantelmucins mit Säuren gekocht, so gab er etwa dieselbe Menge reducirender Substanz wie das ursprüngliche Mucin, und zwar ebenso langsam wie dieses. Auch beim Erhitzen mit Wasser in zugeschmolzenen Röhren auf 120—140° C. wird das Mantelmucin also nur sehr langsam und schwierig zersetzt; und wenn die Versuche also nicht zu dem erwünschten Ziele führten, lieferten sie doch einen neuen Beweis für die Ansicht, dass das Mantelmucin kein Gemenge von thierischem Gummi und Globulinen sein kann. Aus einem solchen Gemenge geht nämlich das Gummi beim Sieden im Papin'schen Digestor oder beim Erhitzen in zugeschmolzenen Röhren leicht in Lösung über.

Da das obenerwähnte Verfahren nicht zum Ziele führte, schlug ich einen anderen Weg ein, der in anderen Fällen gute Dienste mir geleistet hatte. Dieser Weg ist der, dass man die zu verarbeitende Substanz mit starker Kalilauge längere Zeit bei Zimmertemperatur behandelt. Es ist also etwa dasselbe Verfahren, durch welches Landwehr sein Achrooglycogen isolirte, nur mit dem Unterschiede, dass ich eine stärkere Lauge von 10—15 % KOH

nehme und diese eine längere Zeit einwirken lasse. Auf diesem Wege ist es mir nun in der That gelungen, aus dem Mantelmucin ein Kohlehydrat darzustellen, welches, so weit ich finden kann, mit dem von Landwehr entdeckten thierischen Gummi identisch zu sein scheint.

Da es vielleicht von Interesse sein könnte, die unter der Einwirkung von starkem Alkali verlaufende Zersetzung des Mantelmucins kennen zu lernen, will ich hier das Wesentlichste eines von mir hierüber angestellten Versuches mittheilen.

Von dem, wie oben gesagt, gereinigten, über Schwefelsäure getrockneten Mantelmucinogen wurden 5 gr in 100 cem einer 10%igen Kalihydratlösung eingetragen. Das Mucinogen quoll darin ziemlich rasch zu einer ausserordentlich dicken und zähen, colloidähnlichen Masse auf, die im Laufe der folgenden Tage zwar etwas weniger dick und zähe wurde, aber doch nach 8 Tagen noch das Aussehen eines dicken Schleimes hatte. Diese Masse wurde nun mit neuen 50 cem derselben Lauge versetzt, wobei ein starker Geruch nach Ammoniak beim Oeffnen des Gefässes merkbar war.

Nach 14 Tagen war die Lösung dünnflüssig und sie wurde nun mit etwas Wasser verdünnt, filtrirt und mit Essigsäure neutralisirt oder richtiger schwach sauer gemacht. Es trat hierbei eine ziemlich reichliche Fällung, No. 1, auf, die durch Abfiltriren, Auswaschen mit Wasser, Wiederauflösen in Wasser mit Hülfe von ein wenig Alkali, neue Fällung mit Essigsäure und neues Auswaschen gereinigt wurde.

Der Niederschlag No. 1 verhielt sich wie folgt: Von Essigsäure wurde die neutrale Lösung gefällt. Von überschüssiger Essigsäure wurde der Niederschlag vollständig wenn auch nicht gerade leicht gelöst, und diese saure Lösung wurde von Ferrocyankalium flockig gefällt. Von Salzsäure wurde die Lösung gefällt und der Niederschlag von Säure in mässigem Ueberschuss leicht gelöst; diese Lösung wurde auch von Blutlaugensalz flockig gefällt. Salpetersäure gab einen in einer grösseren Säuremenge unlöslichen Niederschlag; beim Erwärmen Xanthoproteinreaktion. Nach Zusatz von NaCl konnte die Lösung nicht mit Essigsäure schwach angesäuert werden, ohne einen Niederschlag zu geben. Von Neutralsalzen in Substanz (NaCl oder MgSO₄) wurde die Lösung gefällt. Mit Kupfersulfat wurde eine reichliche Fällung er-

halten, die von überschüssigem Alkali zu einer rothvioletten Flüssigkeit gelöst wurde. Beim Sieden fand keine Reduction statt und ebensowenig konnte durch Sieden mit verdünnten Säuren eine reducirende Substanz erhalten werden. Der Niederschlag I bestand also aus Alkalialbumnitat oder einer ihm sehr nahestehenden Substanz.

Die von dem Niederschlage 1 getrennte Flüssigkeit wurde mit einer grossen Menge Alkohol versetzt, und dabei wurde ein zweiter flockiger Niederschlag, Nr. 2, erhalten. Die hiervon getrennte Flüssigkeit wurde zu einem dicken Syrup concentrirt und das nach dem Erkalten in reichlicher Menge auskrystallisirte Kaliumacetat durch Filtration entfernt. Das neue Filtrat wurde nun mit einem sehr grossen Ueberschusse von Alkohol versetzt und dabei ein neuer flockiger Niederschlag erhalten No. 3¹⁾.

Da es aus mehreren Gründen am passendsten ist, zuerst über den Niederschlag No. 3 zu berichten, gehe ich erst zu der Besprechung dieses Niederschlages über, und werde später von dem Niederschlage No. 2 sprechen.

Der Niederschlag No. 3 stellte nach dem Auswaschen mit Alkohol und Aether eine gelbliche, äusserst hygroskopische Substanz dar, welche in Wasser ausserordentlich leicht zu einer gelbbraunen Flüssigkeit sich löste. Diese Lösung gab schöne Eiweissreaktionen mit Salpetersäure (Xanthoproteinsäurereaktion), Millons Reagens und dem Adamkiewicz'schen Reagense. Sie gab ebenfalls eine schöne Biuretreaction. Beim Sieden wurde sie nicht gefällt, und ebensowenig trat nach Zusatz von Salpetersäure oder von Ferrocyankalium und Essigsäure eine Trübung auf. Von Gerbsäure wie auch von Phosphormolybdänsäure in saurer Lösung wurde sie dagegen reichlich gefällt und der Niederschlag No. 3 verhielt sich also in allem Wesentlichen wie gewöhnliches Pepton. Mit Kupfersulfat und Alkali wurde, wie oben gesagt, eine schöne Biuretreaction erhalten; beim Sieden fand aber keine Reduction statt. Nachdem ich aber einen Theil der Lösung einige Zeit im Wasserbade mit ein wenig Schwefelsäure erhitzt hatte, erhielt ich bei erneuter Prüfung mit Kupfersulfat und Alkali eine schöne Frommer'sche Reaction.

1) Die Bestandtheile der von diesem Niederschlage getrennten, braungelben Flüssigkeit habe ich nicht näher untersucht.

Allem Anscheine nach lag hier also eine Verunreinigung des Peptons mit einer anderen Substanz vor, und aus diesem Grunde wurde nun der noch übrige Theil der Lösung sehr vorsichtig mit Salzsäure und Quecksilberjodidjodkalium abwechselnd versetzt, bis kein Niederschlag mehr zu erhalten war. Das neue Filtrat wurde nun mit Alkohol versetzt, aber erst nach Zusatz von einer grösseren Alkoholmenge trat dabei ein Niederschlag auf. Dieser Niederschlag, welcher ziemlich geringfügig war, hatte eine rein weisse Farbe und war grobflockig.

Nach gründlichem Auswaschen mit Alkohol und dann mit Aether auf dem Filtrum löste ich den Niederschlag in Wasser und erhielt dabei eine farblose Lösung, welche von Gerbsäure und anderen eiweissfällenden Reagentien nicht getrübt wurde. Ebenso wenig gab sie die Farbenreactionen der Eiweissstoffe. Zusatz von Speichel war ohne Einwirkung, beim Sieden mit Säuren gab sie dagegen in reichlicher Menge eine reducirende Substanz, welche eine schöne Trommer'sche Reaction gab. Leider war die Menge des Niederschlages eine so kleine, dass ich keine weiteren Proben machen konnte, und vor Allem muss ich bedauern, dass ich diesen Stoff nicht auf einen etwaigen Stickstoffgehalt untersuchen konnte. Allem Anscheine nach war doch dieser Stoff identisch mit der später zu besprechenden, aus dem Niederschlage 2 erhaltenen Substanz, und sie war also wahrscheinlich stickstofffrei. Aus dem nun Mitgetheilten geht also jedenfalls hervor, dass der Niederschlag 3 der Hauptsache nach aus Pepton bestand. Daneben enthielt er auch in geringer Menge einen nicht eiweissartigen Stoff, welcher beim Sieden mit verdünnten Säuren eine reducirende Substanz gab.

Der Niederschlag 2 gab ebenfalls beim Sieden mit Säuren eine reducirende Substanz in ziemlich reichlicher Menge. Nach dem Behandeln mit Alkohol und Aether wurde er über Schwefelsäure getrocknet und fein zerrieben. Dieses Pulver quoll in Wasser zu einer kleisterähnlichen Masse auf, löste sich aber nur zum geringeren Theile. Aus diesem Grunde wurde sie in Kalilauge von 15% gelöst und damit noch 8 Tage bei Zimmertemperatur behandelt. Nach dieser Zeit neutralisirte ich mit Essigsäure, wobei keine Spur einer Fällung sich zeigte, concentrirte ziemlich stark und setzte einen Ueberschuss von Alkohol zu. Der ziemlich reichliche Niederschlag wurde nach mehreren Tagen auf ein Filtrum gesammelt und darauf, wie gewöhnlich, erst mit Alkohol ent-

wässert, dann mit Aether von dem Alkohol befreit und über Schwefelsäure getrocknet.

Der fein gepulverte Niederschlag wurde in Wasser zertheilt und dabei löste sich offenbar ein nicht unbedeutender Theil, während der Rest nur eine stark gequollene, kleisterähnliche Masse bildete. Die Lösung wurde durch Abheben von dem Bodensatz getrennt und letzterer wiederholt durch Decantation mit Wasser gewaschen, bis dieses Nichts mehr löste. Sämmtliche Flüssigkeiten wurden vereinigt, concentrirt und mit überschüssigem Alkohol versetzt. Es schied sich hierbei in weissen Flocken in ziemlich reichlicher Menge eine Substanz aus, die auf ein Filtrum gesammelt wie oben mit Alkohol und Aether getrocknet wurde.

Diese Substanz erwies sich bei der Lassaigne'schen Probe als ganz stickstofffrei. In Wasser löste sie sich zu einer fast klaren Flüssigkeit auf, die zu allen Eiweissreagentien negativ sich verhielt. Von Speichel wurde diese Lösung im Laufe von 24 Stunden nicht verändert; beim Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure lieferte sie dagegen eine reducirende Substanz. Mit Kupfersulfat und Alkali gab die ursprüngliche Lösung beim Sieden keine Reduktion, sondern nur einen bläulich weissen Niederschlag, der bald eine zähe, klebrige Beschaffenheit annahm. Von Bleizucker wurde die Lösung nur schwach getrübt, von Bleiessig wurde sie dagegen reichlich gefällt. Mit einem Wild'schen Polaristrobometer untersucht war die Lösung schwach dextrogyr; die Menge der Substanz war aber eine so kleine, dass eine Bestimmung der sp. Drehung nicht möglich war. Die mit Säuren erhaltene, reducirende Substanz war nicht gährungsfähig.

Die Eigenschaften der nun geschilderten Substanz stimmen so gut mit denjenigen des von Landwehr entdeckten thierischen Gummis überein, dass wohl kein Zweifel darüber bestehen kann, dass ich hier entweder mit thierischem Gummi oder auch wenigstens mit einem ihm nahe verwandten Stoff zu thun gehabt habe.

Der in Wasser unlösliche Theil des Niederschlages Nr. 2 gab beim Sieden mit Säuren eine reducirende Substanz und er wurde nun neue 14 Tage mit Kalilauge von 10% KOH behandelt. Nach dieser Zeit wurde wie oben mit Essigsäure neutralisirt und mit Alkohol gefällt.

Der neue Niederschlag löste sich in Wasser zu einer gummiähnlichen Flüssigkeit auf. Diese Lösung wurde indessen von Gerb-

säure wie auch von Quecksilberjodidjodkalium und Salzsäure theilweise gefällt. Aus dem Grunde versetzte ich sie abwechselnd mit Salzsäure und dem Quecksilbersalze bis kein Niederschlag mehr entstand, filtrirte und setzte dem Filtrate Alkohol in Ueberschuss zu. Der hierbei entstehende, weisse, flockige Niederschlag gab keine Eiweissreaktion, verhielt sich soweit er untersucht werden konnte wie thierisches Gummi, gab aber mit der Lassaigne'schen Reaction schwache Reaction, und enthielt also noch Spuren von Stickstoff. Da die ganze Substanzmenge zu den qualitativen Proben verbraucht wurde, konnte die weitere Reinigung nicht versucht werden.

Ich muss hier ausserdem bemerken, dass ich es im Ganzen 3 Mal versucht habe, nach dem obigen Verfahren aus dem Mantelmucin thierisches Gummi darzustellen, dass ich aber nur 1 Mal ein ganz stickstoffreies Präparat erhalten habe. In den anderen Fällen erhielt ich zwar Substanzen, die wie thierisches Gummi sich verhielten und deren Lösungen von Eiweissreagentien nicht getrübt wurden, die aber als noch stickstoffhaltig sich erwiesen.

Aus dem oben Mitgetheilten geht nun indessen hervor, dass es wirklich möglich ist — wenn dies auch nicht immer mir gelang — aus dem Mantelmucin eine ganz stickstofffreie, rechtsdrehende, mit dem thierischen Gummi in allen Eigenschaften übereinstimmende Substanz darzustellen, welche mit Säuren gekocht einen reducirenden, nicht gährungsfähigen Stoff giebt. Bei unserer gegenwärtigen Kenntniss von dem thierischen Gummi dürfte es wohl desshalb auch erlaubt sein, diese Substanz bis auf Weiteres mit dem thierischen Gummi zu identificiren.

Neben dem thierischen Gummi entstehen als Zersetzungsproducte des Mantelmucins durch Alkalieinwirkung eine albuminatähnliche Substanz und Pepton, wobei auch eine Abspaltung von Ammoniak stattfindet. Ausserdem findet man auch oft mehrere Uebergangsstufen, welche durch die physikalische Beschaffenheit ihre Verwandtschaft mit den Mucinsubstanzen deutlich zeigen und die alle beim Sieden mit Säuren eine reducirende Substanz geben. In dem Maasse, wie diese Substanzen der Alkalieinwirkung längere Zeit ausgesetzt werden, nimmt ihre Löslichkeit in Wasser zu, sie werden — wie die qualitativen Proben zeigen — immer ärmer an Stickstoff, und zuletzt kann aus ihnen stickstoffreies oder nur von Spuren von Stickstoff verunreinigtes, thierisches Gummi isolirt

werden. Diese, leicht zu verfolgende, allmählich und stufenweise stattfindende Umsetzung des Mantelmucins wie auch die ausserordentlich grosse Schwierigkeit, mit welcher die Abspaltung des Stickstoffs geschieht, sprechen nach meiner Ansicht auch entschieden dafür, dass das Mantelmucin kein Gemenge von Gummi und Eiweiss sein kann.

Zur Entscheidung der Frage, ob das Mantelmucin nur ein Gemenge von Globulin mit thierischem Gummi sei, ist es doch von dem grössten Interesse, die Eigenschaften eines solchen künstlichen Gemenges zu prüfen. Zu dem Ende habe ich auch ein solches Gemenge dargestellt und dessen Verhalten zu verschiedenen Reagentien untersucht.

Nachdem ich einen Theil der Lösung des aus dem Mantelmucin dargestellten thierischen Gummis zu den oben, S. 408, angeführten Reactionen verwendet hatte, wurde der Rest derselben mit einer neutralen Lösung von Serumglobulin vermischt, so dass daraus eine Lösung mit 0,678% Paraglobulin und 0,533% Gummi resultirte. Diese Lösung verhielt sich wie folgt.

Wie eine Mucinlösung wurde diese Lösung von Essigsäure gefällt und von einem mässigen Ueberschusse der Säure nicht gelöst. Von einem ziemlich grossen Ueberschuss wurde doch der Niederschlag allmählich gelöst und diese saure Lösung wurde von Ferrocyankalium gefällt.

Von ein wenig Salzsäure wurde die Lösung gefällt. Der Niederschlag wurde doch von einem kleinen Ueberschuss der Säure wieder gelöst und diese Lösung von Ferrocyankalium wie auch von Quecksilberjodidjodkalium reichlich gefällt. Salpetersäure gab eine, in überschüssiger Säure unlösliche Fällung. Alaun gab eine, in einem Ueberschusse des Reagens leicht lösliche Fällung. Die neutrale Lösung gerann beim Sieden flockig, wie eine Globulinlösung. Der noch übrige Rest des Gemenges wurde mit HCl von 2% im Warmbade erwärmt. Nach 7 Minuten wurde geprüft und dabei eine schöne Trommer'sche Reaction erhalten.

Es ist einleuchtend, dass das nun besprochene Gemenge von Globulin und thierischem Gummi nicht mit dem unlöslichen Mantelmucinogen, sondern vielmehr nur mit dem löslichen Mantelmucin verglichen werden kann. Machen wir aber einen solchen Vergleich, so finden wir, dass die Lösung von Mantelmucin fast in keiner

einzigsten Hinsicht mit dem Gemenge von Globulin und aus Mantelmucin dargestelltem Gummi übereinstimmt.

Die Lösung von Mantelmucin ist fadenziehend schleimig, die Lösung des Gemenges nicht. Von Essigsäure wurden beide Lösungen gefällt; der Niederschlag des Gemenges löste sich doch in einem grösseren Ueberschusse der Säure, derjenige des Mantelmucins dagegen gar nicht. Von einem kleinen Salzsäureüberschusse wurde das gefällte Gemenge nicht zu einer von Ferrocyankalium fällbaren Flüssigkeit gelöst, das gefällte Mantelmucin war dagegen unlöslich in derselben Säuremenge. Von überschüssiger Salpetersäure (in ziemlich grosser Menge) wurde das Mantelmucin gelöst, das Globulingemenge dagegen nicht. Die mit NaCl versetzte, neutralisirte Mantelmucinelösung gerann beim Sieden nicht; die Lösung des Globulingemenges gerann wie eine andere Lösung eines coagulablen Eiweissstoffes. Alaunlösung ergab in der Mantelmucinelösung einen im Ueberschusse des Reagenses unlöslichen, in der Lösung des Globulingemenges dagegen einen löslichen Niederschlag. Beim Sieden mit verdünnten Mineralsäuren giebt das Mantelmucin nur schwierig und nach längerer Zeit (ein paar Stunden) merkbare Mengen einer reducirenden Substanz; die Lösung des Gemenges gab unter denselben Verhältnissen schon nach 7 Minuten eine verhältnissmässig reichliche Menge solcher Substanz.

Bei dieser Sachlage kann es wohl schwerlich sonderbar erscheinen, wenn die Annahme, das Mantelmucin sei ein Gemenge von Globulin und einer Gummisubstanz, mir unmöglich erscheint. Ich glaube vielmehr, dass das obige, ganz abweichende Verhalten der beiden Lösungen entschieden gegen eine solche Annahme spricht.

Der Vollständigkeit halber habe ich es indessen für eine Pflicht gehalten, auch Gemenge von Globulin mit anderen Gummiarten zu untersuchen; und zu dem Ende habe ich auch Versuche mit arabischem Gummi, Metarabinsäure, Salepschleim und Traganthschleim angestellt. Ich werde vielleicht passender die hierbei erhaltenen Resultate in einer der folgenden Abhandlungen, über Submaxillaris- oder Gallenschleim, mittheilen, und ich will hier nur ganz kurz sagen, dass alle diese Lösungen in der Hauptsache wie das oben geschilderte Gemenge sich verhalten und folglich nicht nur von dem Mantelmucin, sondern auch von anderen Mu-

einen so wesentlich abweichen, dass sie gegen die Annahme, dass die Mucine Gemenge von Globulin und Gummi seien, ganz entschieden sprechen.

Wenn es also auch möglich ist, aus dem Mantelmucin durch geeignete Behandlung eine stickstofffreie, rechtsdrehende Substanz von den Eigenschaften des von Landwehr entdeckten thierischen Gummis darzustellen, so sprechen doch mehrere Umstände gegen die Annahme, dass das Mantelmucin nur ein Gemenge von solchem Gummi mit Eiweissstoffen (Globulinen) sei. Diese Umstände sind hauptsächlich folgende.

1) Das Mantelmucin hat eine ganz andere physikalische Beschaffenheit als ein Gemenge von Globulinen mit thierischem Gummi oder mit anderen Gummiarten.

2) Ein Gemenge von Globulin und Gummi wird zwar von Essigsäure gefällt und von einem nicht zu grossen Ueberschuss der Säure nicht wieder gelöst. In ihrem Verhalten zu anderen chemischen Reagentien weicht doch die Lösung eines solchen Gemenges so wesentlich von einer Lösung von Mantelmucin ab, dass von einer Uebereinstimmung beider gar nicht die Rede sein kann.

3) Ein Gemenge von Globulin mit thierischem Gummi liefert beim Sieden mit verdünnten Säuren schon nach ziemlich kurzer Zeit eine verhältnissmässig reichliche Menge reducirender Substanz. Eine Lösung von Mantelmucin giebt dagegen gewöhnlich erst nach ein paar Stunden eine nennenswerthe Menge davon; und selbst wenn das in Wasser lösliche, veränderte Mantelmucin oder das durch Säurezusatz nicht fällbare Mantelmucinpepton mit Säuren gekocht wird, entsteht die reducirende Substanz nur sehr allmählich und langsam in dem Maasse, wie die Mucinsubstanz von der Säure zersetzt wird.

4) Aus einem Gemenge von Gummi und Globulinen kann man sehr leicht ohne eingreifende chemische Procedures das Gummi in reinem Zustande wiedergewinnen. Aus dem Mantelmucin dagegen kann das Gummi sogar durch mehrstündiges Erhitzen auf 130—140° C. in zugeschmolzenen Röhren nicht frei gemacht werden; und selbst nach wochenlanger Einwirkung von Kalilauge von 10 bis 15% KOH gelingt es nicht immer aus dem Mantelmucin ein stickstofffreies Gummi darzustellen. Dagegen erhält man hierbei bisweilen stickstoffhaltige Substanzen, welche weder die gewöhn-

lichen Eiweiss- noch die Peptonreactionen geben und die wohl nur als Spaltungsprodukte des Mantelmucins aufzufassen sind. Diese Substanzen geben beim Sieden mit Säuren wie das Gummi eine reducirende Substanz.

5) Das Mantelmucin hat eine von der Darstellungsmethode unabhängige, constante Zusammensetzung, und es ist für diese Zusammensetzung gleichgültig, ob man das in verdünntem Alkali gelöste oder das in Wasser allmählich löslich gewordene Mucin untersucht. Wäre das Mantelmucin ein Gemenge von Globulin und Eiweiss, so würde eine solche constante Zusammensetzung wohl kaum zu erwarten sein.

6) Wenn das Mantelmucin ein Gemenge von Globulin und Gummi wäre, würde es natürlich ärmer an Schwefel als die Globuline sein. Dem ist aber nicht so, denn während die Globuline, soweit sie bisher untersucht worden sind, etwa 1,1—1,2% Schwefel enthalten, beträgt der Gehalt des Mantelmucins an Schwefel 1,7%.

Nach dem nun Gesagten dürfte man es wohl nicht sonderbar finden, wenn ich der von Landwehr aufgestellten Hypothese — die Mucine seien keine chemischen Individuen, sondern nur Gemenge von Globulinen und Kohlehydraten — wenigstens insofern, als es um das Mantelmucin sich handelt — nicht beipflichten kann. Nach meiner Ansicht ist das Mantelmucin gewiss kein Gemenge, sondern ein zusammengesetztes Proteid, aus dem durch geeignete Mittel ein Kohlehydrat oder jedenfalls eine stickstofffreie Substanz von den Eigenschaften des thierischen Gummis abgespalten werden kann, während dieses Proteid beim Sieden mit Säuren eine reducirende, nicht gährungsfähige Substanz — vielleicht einen nicht gährungsfähigen Zucker liefert.

Da die von der Manteloberfläche secernirte Substanz wohl wesentlich zum Aufbau des Epiphragmas verwendet wird, könnte man vielleicht meinen, dass es hier doch nicht um eigentliches Mucin, sondern vielmehr um irgend eine andere Substanz, vielleicht Conchiolin oder Byssus, sich handele. Da man noch nicht darüber einig ist, was man unter dem Namen Mucin verstehen soll, ist es natürlich nicht möglich zu sagen, ob wir es mit einem genuinen Mucin zu thun haben, und ich kann mich also nur über die Verwandtschaft der fraglichen Substanz zu anderen bekannten Stoffen hier aussprechen. Das Cinchiolin enthält 16,7% Stickstoff, aber — so weit man aus den Analysen ersehen kann — keinen Schwefel.

Es ist unlöslich nicht nur in kalter, sondern auch in kochender (50%iger) Kalilauge, und es ist also offenbar, dass die von mir untersuchte Substanz kein Conchiolin sein kann. Dass sie ebensowenig Byssus, mit welchem sie rücksichtlich des Stickstoffgehaltes (Byssus enthält 12,5% N.) besser übereinstimmt, sein kann, geht daraus hervor, dass die Byssusfäden wie das Conchinolin selbst in kochender, 50%iger Kalilauge unlöslich sind. Von den Keratinsubstanzen, welche reich an Schwefel sind, unterscheidet sie sich durch einen niedrigeren Stickstoffgehalt (die Keratinsubstanzen enthalten 16,2—17,9% S) wie auch dadurch, dass die Keratine andere Löslichkeitsverhältnisse haben und beim Sieden mit Säuren keine reducirende, zuckerähnliche Substanz liefern. Die übrigen Stoffe, welche mit Säuren eine reducirende Substanz geben, wie z. B. das Chitin und das Hyalin haben eine ganz andere Zusammensetzung und ganz andere Eigenschaften.

Der einzige, bisher bekannte Stoff, mit welchem die von der Manteloberfläche secernirte Substanz bezüglich ihrer Eigenschaften, Zusammensetzung und Zersetzungsprodukte übereinstimmt, ist also das Mucin, wie dies bis zu der allerletzten Zeit beschrieben und aufgefasst worden ist. Wenn ich diese Substanz als ein Mucinogen, resp. ihre in schwachem Alkali lösliche Modification als ein Mucin aufgefasst habe, so liegt der Grund hierzu auch darin, dass diese lösliche Modification, wie ich oben gezeigt habe, alle Eigenschaften des typischen Mucins zeigt. In dem nun folgenden Abschnitte über das Mucin aus dem Fusse von *Helix pomatia* werde ich zeigen, dass dieses Mucin, wenn es nicht mit der Substanz des Mantelsecretes ganz identisch ist, ihr doch wenigstens ausserordentlich nahe steht, und da wohl bisher Niemand die Mucinnatur des von dem Fusse abgesonderten Secretes angezweifelt hat, liegt in dieser Uebereinstimmung der beiden Secrete gewiss ein wichtiger Grund, die von der Manteloberfläche secernirte Substanz als ein wahres Mucin aufzufassen.

B. Das Mucin aus dem Fusse von *Helix pomatia*.

Der Kürze halber nenne ich diese Substanz das Fussmucin, und ihre Reindarstellung wurde auf folgende Weise versucht.

Die Thiere wurden, nachdem die Gehäuse umsichtig gereinigt worden, in Wasser von 20—30° C. gelegt. Nachdem die Schnecke

nun den Fuss vollständig herausgestreckt hatte, wurde dieser mit einer scharfen Scheere rasch von dem übrigen Körper getrennt, abgetrocknet, zerschnitten und in Wasser gelegt. Es zeigte sich hierbei bald, dass das Fussmucin wie das Mantelmucin in Wasser so wenig löslich ist, dass auf diese Weise keine nennenswerthe Menge Mucin in Lösung erhalten werden konnte, und es wurde deshalb nothwendig, die Füße mit einem höchst verdünnten Alkali — 0,01—0,02% KOH — zu extrahiren.

Diese meine Angabe, dass das Fussmucin in Wasser fast unlöslich ist, könnte vielleicht, wenn man die Sache nicht näher prüft, als eine unrichtige erscheinen; denn wenn man die abgetrennten Füße ohne weiteres in ein wenig Wasser aufsammelt, nimmt dieses bald die Beschaffenheit einer Mucinlösung an, und bei Zusatz von Essigsäure erhält man einen nicht unbedeutenden Mucinniederschlag. Dieses Verhalten hängt aber nicht von einer Löslichkeit des Fussmucins in Wasser, sondern davon ab, dass wenn die Füße direkt in Wasser aufgesammelt werden, gleichzeitig auch eine nicht unbedeutende Menge des alkalisch reagirenden Schneckensaftes in das Wasser gelangt und als Lösungsmittel für das Mucin wirkt. Man sieht dies am besten, wenn die Füße in ein Becherglas oder eine Schaal ohne Zusatz von Wasser direkt, ohne vorheriges Abtrocknen, aufgesammelt werden. Es sammeln sich dabei nicht unbedeutende Mengen des schwach bläulichen, alkalisch reagirenden Saftes in dem Gefässe. Da der Schnecken-saft Bestandtheile enthält, welche das Mucin verunreinigen können, habe ich darum auch grosses Gewicht darauf gelegt, dass die Füße nach dem Abtropfen des Saftes vor dem Zerschneiden erst mit einem Tuche gereinigt und abgetrocknet werden.

Die so gereinigten und abgetrockneten Füße wurden mit Wasser, welches 0,01—0,02% KOH enthielt, extrahirt. Das Wasserextract, welches regelmässig eine schwach gelbliche Farbe hatte, war schleimig, fadenziehend wie eine typische Mucinlösung, konnte aber nach passender Verdünnung mit alkalihaltigem Wasser ohne eigentliche Schwierigkeit filtrirt werden. Es war doch hierzu eine ziemlich starke Verdünnung nothwendig, so dass auf etwa 60—70 Schnecken gewöhnlich 9—12 Liter Flüssigkeit kamen. Das Filtrat war dabei doch auch so frei von Formbestandtheilen, dass bei mikroskopischer Untersuchung des mit Essigsäure darin erzeugten Gerinnsels keine solche Bestandtheile zu sehen waren. Zu dem-

selben Ziele gelangte ich doch auch bisweilen durch einfaches Coliren des Extractes durch ein Tuch von dichter Leinwand, wenn ich nur erst durch ruhiges Stehenlassen der Flüssigkeit während einiger Zeit den Formbestandtheilen Zeit gegeben hatte, zum Boden zu sinken.

Die colirte oder filtrirte Flüssigkeit wurde zum zweiten Male mit Essigsäure gefällt, und dabei wurde wiederum ein faseriger oder grobflockiger Niederschlag erhalten, welcher erst durch Decantation mit Wasser gewaschen und dann in Wasser, welches 0,01—0,02 KOH enthielt, gelöst wurde. Die neue Lösung hatte hierbei ganz dieselbe typische, fadenziehende Beschaffenheit wie das ursprüngliche Extract, und es waren wiederum sehr reichliche Mengen Flüssigkeit nöthig, um eine filtrirbare Lösung dieses Mucins zu gewinnen. Wenn ich 60—70 Schneckenfüsse in Arbeit genommen hatte, waren beispielsweise gegen 9 Liter des Alkalihaltigen Wassers nöthig, um eine filtrirbare Lösung des zweiten Niederschlags zu erhalten, trotzdem dass bei der Decantation und dem Auswaschen nicht unbedeutende Verluste stattgefunden hatten.

Die typische, fadenziehende Beschaffenheit dieser zweiten Lösung zeigt also, dass das Mucin durch die Ausfällung mit Essigsäure und das anhaltende Auswaschen mittelst Decantation, welches beiläufig bemerkt, in einigen Fällen eine ganze Woche oder darüber fortgesetzt wurde, nicht nachweisbar verändert worden war. Das Fussmucin konnte sogar 2 oder 3 Mal mit Essigsäure gefällt und anhaltend mit Wasser ausgewaschen werden, ohne seine typische Beschaffenheit zu verlieren; doch muss ich hier bemerken, dass diese Angaben nur für diejenigen Versuche gelten, welche im Winter (November—März) ausgeführt wurden. Bei nicht hinreichend niedriger Lufttemperatur kann nämlich auch das Fussmucin leicht und rasch verändert werden. So habe ich nicht selten Lösungen von Fussmucin gesehen (und dies war vor Allem im September der Fall), welche nach 24 Stunden merkbar verändert waren und bisweilen durch Säuren nicht mehr gefällt werden konnten.

Das zwei Mal gefällte und gewaschene Mucin wurde mit Alkohol und Aether behandelt und dann analysirt. Das erste, von mir analysirte Präparat enthielt 50,42 % C, 6,73 % H und 15,05 % N.

Auffallend war hierbei der unerwartet hohe Stickstoffgehalt,

welcher von demjenigen der Eiweisskörper nur wenig abweicht, während er wesentlich höher als derjenige der bisher analysirten Mucine war. Dieser unerwartet hohe Stickstoffgehalt musste natürlich die Reinheit des Präparates in hohem Grade verdächtig machen und ich machte mir also die Frage, ob doch nicht bei der Extraction der Schneckenfüsse mit alkalihaltigem Wasser vielleicht Myosin oder irgend eine albuminatähnliche Substanz in die Lösung mit übergegangen und bei der Ausfällung des Mucins mit Essigsäure mit niedergerissen sei.

Da nun solche Eiweissstoffe im Allgemeinen leichter von sehr verdünnter Salzsäure als von Essigsäure gelöst werden, fand ich es nothwendig, die Reinigung des Mucins auch durch Ausfällung mit Salzsäure zu versuchen. Für die Einführung einer solchen Modification lag übrigens noch ein besonderer Grund vor. Die in dem Thierorganismus viel verbreiteten Nukleoalbumine lösen sich nämlich verhältnissmässig schwierig in überschüssiger Essigsäure auf, während sie von einer sehr verdünnten Salzsäure, von 0,1—0,3% HCl, sehr leicht gelöst werden; und da diese Stoffe auch in sehr verdünnten Alkalien äusserst leicht löslich sind, war eine Vereinigung des mit Essigsäure gefällten Mucins mit einem Nukleoalbumin nicht ohne Weiteres auszuschliessen.

In einem folgenden Versuche fällte ich darum auch das Mucin mit Salzsäure; da ich aber gleichzeitig auch die Frage entscheiden wollte, ob das mit Essigsäure gefällte Mucin vielleicht ein Gemenge war, verfuhr ich dabei auf folgende Weise.

Das mit Essigsäure zweimal gefällte und gewaschene Mucin löste ich in Wasser, welches 0,02% KOH enthielt, und hierbei erhielt ich wie gewöhnlich eine typische, fadenziehende Mucinlösung. Zu dieser Lösung setzte ich dann soviel Salzsäure, dass ihr Gehalt davon 0,2% HCl war, und hierbei erhielt ich nun eine flockige, nicht faserige Fällung, deren verhältnissmässig unbedeutende Menge es wahrscheinlich machte, dass eine nicht unbedeutende Menge Substanz in Lösung geblieben war.

Die Flüssigkeit wurde nun von dem durch Salzsäure erzeugten Niederschlage (Nr. 1) getrennt, filtrirt und mit Natriumacetat versetzt. Es schied sich hierbei nun in der That auch ein ziemlich reichlicher Niederschlag (Nr. 2) aus. Diese zwei Niederschläge wurden nun durch Auswaschen gereinigt, mit Alkohol und Aether behandelt und darauf analysirt. Es stellte sich hierbei heraus, dass

diese zwei Niederschläge einen wesentlich ungleichen Stickstoffgehalt hatten. Der Niederschlag Nr. 1 enthielt nämlich 14,56 % N, Nr. 2 dagegen 16,12 %.

Es konnte also kein Zweifel darüber bestehen, dass das mit Essigsäure gefällte Mucin ein Gemenge von 2 Stoffen war, von denen der eine, welcher in verdünnter Salzsäure löslich war, etwa denselben Stickstoffgehalt wie die Eiweissstoffe hatte, während der andere, in Salzsäure nicht lösliche, von einem niedrigeren, mit demjenigen der Mucinsubstanzen besser übereinstimmenden Stickstoffgehalte (14,56 %) war.

Nach dieser Erfahrung war die Anwendung der Salzsäure zur Ausfällung des Fussmucins nicht mehr zu umgehen und mein Verfahren zur Darstellung von diesem Mucin wurde darum nunmehr auch folgendes. Entweder schlug ich das Mucin direkt aus dem ersten Extracte mit so viel Salzsäure, dass der Gehalt der Flüssigkeit an solcher 0,1—0,2 % betrug, nieder und wiederholte dieses Verfahren nach dem Auflösen des Niederschlages in höchst verdünntem Alkali (0,01 % KOH) noch ein Mal, oder ich fällte zuerst 2 Mal mit Essigsäure, wusch den Niederschlag mit Salzsäure von 0,1—0,2 % gründlich aus, wusch dann mit Wasser, löste mit Hülfe von 0,01—0,12 % KOH und fällte zum dritten Male mit 0,1 % HCl. Auffallenderweise war das Mucin selbst nach dieser Behandlung nicht merkbar verändert worden. Es löste sich in der schwach alkalischen Flüssigkeit (0,01—0,02 % KOH) zu einer fadenziehenden Lösung von derselben Beschaffenheit wie das ursprüngliche Extract. Ich glaubte nun, dass die Reindarstellung des Mucins mir wirklich gelungen war, und ich analysirte darum auch ein auf die oben genannte Weise durch dreimaliges Füllen gereinigtes Präparat.

Dieses Präparat hatte folgende Zusammensetzung: C 49,38 %; H 6,83 %; N 14,57 %. Die geringe Menge Substanz erlaubte keine ganz genaue Bestimmung des Schwefels; aber die Menge dieses Elementes wurde doch zu etwa 1,2 % bestimmt. Da ich nun in dem vorigen Präparate 14,56 % N gefunden hatte, konnte ich — wegen der guten Uebereinstimmung der beiden Analysen — nicht gern bezweifeln, dass die Reindarstellung des Fussmucins mir wirklich gelungen war, und in einer vorläufigen, in schwedischer Sprache veröffentlichten Mittheilung wie auch in einem in dem medicin-

sehen Congresses zu Copenhagen gehaltenen Vorträge habe ich auch für das Fussmucin die obige Zusammensetzung angegeben.

Diese meine Angabe war indessen, wie ich später gefunden habe, nicht richtig, und ich benutze diese Gelegenheit, um meine frühere Angabe zu berichtigen. Ich fand es nämlich nicht richtig, nur mit diesen zwei Analysen mich zu begnügen, sondern ich fand es nothwendig — der Controlle halber — wenn möglich noch ein paar Präparate zu analysiren, und hierbei kam ich zu etwas abweichenden Zahlen. Diese Zahlen kamen nämlich den für die Zusammensetzung des Mantelmucins gefundenen etwas näher; und gerade diese bessere Uebereinstimmung mit dem Mantelmucin erweckte bei mir die Vermuthung, dass meine älteren Präparate doch nicht ganz rein gewesen wären. Es war also nothwendig, die Frage von Neuem in Angriff zu nehmen.

Ich will nicht von den vielen vergeblichen Versuchen, die ich zur Klärung dieser Frage gemacht habe und mit denen ich fast den ganzen verfloffenen Winter beschäftigt gewesen bin, hier sprechen; ich will nur ganz kurz angeben, wo die Ursache der etwas abweichenden Zusammensetzung der verschiedenen Präparate zu suchen war. Diese Ursache lag darin, dass ich theils zu meinen früheren Versuchen oft eine etwas stärkere Lauge (0,02% KOH) verwendet hatte und theils diese Lauge im Allgemeinen etwas zu lange einwirken liess. Da ich wiederholt gesehen hatte, dass das Mucin von einer Lauge von dieser Stärke (0,02% KOH) nicht — wenigstens im Winter nicht — zerstört oder merkbar verändert wird, glaubte ich — im Interesse einer grösseren Ausbeute an Substanz — diese Lauge ungestraft längere Zeit, oft 10–12 Stunden, einwirken lassen zu können. Dies war aber nicht richtig, denn bei längerer Einwirkung des alkalischen Wassers scheinen auch andere Substanzen, welche die Präparate später verunreinigen, aus den Füßen in die Lösung mit überzugehen. Da ich nun das alkalische Wasser das eine Mal längere, das andere Mal kürzere Zeit hatte einwirken lassen, war eine ganz constante Zusammensetzung des bei verschiedenen Gelegenheiten dargestellten Fussmucins nicht zu erwarten.

Nachdem diese neue Fehlerquelle mir bekannt geworden war, änderte ich desshalb auch mein Verfahren derart ab, dass ich die Füße nur höchstens zwei Stunden mit einem alkalischen Wasser (von 0,01% KOH) stehen liess. Die Ausbeute an Substanz wird

hierdurch zwar nicht unbedeutend vermindert, aber das Mucin wird auch leichter rein erhalten. Das von den Füßen nach dieser Zeit getrennte Extract wird darauf entweder colirt oder noch besser filtrirt und dann mit Salzsäure bis zu 0,1% HCl versetzt. Der hierbei sich ausscheidende Niederschlag wird erst durch Decantation mit Wasser gewaschen, bis die saure Reaction vollständig entfernt worden ist, dann in einer genügenden Menge alkalihaltigem Wasser (wie gewöhnlich 0,01% KOH) wieder gelöst, die nöthigenfalls noch stärker verdünnte Lösung filtrirt, zum zweiten Male mit Salzsäure gefällt, mit Wasser sorgfältig gewaschen und dann, wie gewöhnlich, mit Alkohol und Aether behandelt.

Dass das so dargestellte Fussmucin als ein reines Präparat anzusehen ist, schliesse ich nicht nur aus der guten Uebereinstimmung der bald mitzutheilenden Elementaranalysen, sondern auch daraus, dass die Zusammensetzung des auf diese Weise dargestellten Fussmucins mit derjenigen des leicht in reinem Zustande darstellbaren Mantelmucins fast identisch ist.

Die Ausbeute an Fussmucin ist, wie schon oben gesagt, wenn die Reinigung eine sorgfältige sein soll und wenn die Extraction mit alkalihaltigem Wasser nur kurze Zeit fortgesetzt wird, eine verhältnissmässig kleine. Aus diesem Grunde habe ich auch, trotzdem dass ich auf das Studium eben dieses Mucins viel mehr Zeit und Arbeit als auf das Mantelmucin verwendet habe, im Ganzen nur vier Präparate von dem Fussmucin analysiren können. Von diesen waren die beiden ersten Nr. 1 und 2 durch zweimaliges Füllen der filtrirten Lösungen mit Salzsäure gewonnen. Nr. 3 und 4 dagegen waren nur durch einmaliges Füllen des durch ein dichtes, leinenes Tuch colirten Extractes mit Salzsäure erhalten. Alle Präparate waren bei etwa 110° C. getrocknet worden. Sämmtliche Zahlen beziehen sich — wo nichts anderes besonders angegeben wird — auf die als aschefrei berechnete Substanz.

Präparat I. Dieses Präparat enthielt 1% Asche.

a 0,3201 gr Substanz lieferten 0,1925 gr Wasser und 0,5928 gr Kohlensäure = 6,82% H und 50,49% C.

b 0,286 gr Substanz lieferten 32,5 ccm N-gas bei + 3° C. und 741 mm Hg = 13,66% N.

Präparat II. Dieses Präparat enthielt 1,03% Asche.

a 0,296 gr Substanz lieferten 0,180 gr Wasser und 0,5471 gr Kohlensäure = 6,76% H und 50,41% C.

b 0,2996 gr Substanz lieferten 34,0 ccm N-gas bei + 6,5° C. und 750,5 mm Hg = 13,62% N.

Präparat III. Dieses Präparat enthielt 1,02% Asche.

0,8915 gr Substanz lieferten 0,1051 gr BaSO₄ = 1,6% S.

Präparat IV. Die Menge der Asche konnte — wegen Mangel an Material — in diesem Präparate nicht bestimmt werden.

0,3763 gr aschehaltige Substanz lieferten 41,3 ccm N-gas bei + 4° C. und 766 mm Hg = 13,55% N.

Da in den 3 vorigen Präparaten der Gehalt an Asche etwa 1% war, dürfte ihre Menge wohl auch in diesem Präparate zu etwa 1% berechnet werden können. Die Menge der Substanz, als aschefrei berechnet, ist bei dieser Annahme 0,3725, woraus der Stickstoffgehalt 13,69% sich berechnen lässt.

Der Uebersicht halber stelle ich hier die analytischen Daten tabellarisch zusammen:

	C	H	N	S	Asche
Präparat I	50,49	6,82	13,66	—	1,00
„ II	50,41	6,76	13,62	—	1,03
„ III	—	—	—	1,6	1,02
„ IV	—	—	13,69	—	—
Mittel	50,45	6,79	13,66	1,6	1,017.

Die Bestandtheile der Asche waren Calcium und Phosphorsäure mit Spuren von Eisen. Abgesehen von der Phosphorsäure in der Asche schien dieses Mucin ebenso wie das Mantelmucin keinen Phosphor zu enthalten, was aus folgender Beobachtung hervorzugehen scheint. In dem Präparat III, welches zu der Schwefelbestimmung gedient hatte, bestimmte ich in dem Filtrate von dem Bariumsulfatniederschlag die Menge der Phosphorsäure auf folgende Weise. Zuerst wurde das überschüssige BaCl₂ durch Zusatz von einer grösseren Menge MgSO₄ entfernt, dann die Flüssigkeit stark concentrirt und mit Magnesiamixtur gefällt. Der Niederschlag wurde in wenig Salpetersäure gelöst, die Lösung mit Molybdänflüssigkeit gefällt, der neue Niederschlag in Ammoniak gelöst, Magnesiamixtur zugesetzt und der Niederschlag als Pyrophosphat gewogen. Die Menge des Pyrophosphates war 0,007 gr, was einer Menge von 0,0089 gr Ca₃P₂O₈ entspricht. Da die absolute Menge Asche in der zur Analyse verwendeten Menge des Präparates 0,0092 gr war, ist es also wohl möglich, dass die gesammte Menge Phosphorsäure, welche bei der Analyse gefunden

wurde, von den Mineralbestandtheilen des Präparates herkommen könnte, und dass dementsprechend auch dieses Mucin wie das Mantelmucin phosphorfrei ist.

Ein Blick auf die obige tabellarische Zusammenstellung zeigt sogleich, dass das Fussmucin bezüglich seiner elementären Zusammensetzung mit dem Mantelmucin fast identisch ist oder diesem Stoffe jedenfalls sehr nahe steht. Noch besser erhellt doch diese übereinstimmende Zusammensetzung aus der folgenden tabellari- schen Zusammenstellung der für die zwei Mucine gefundenen Mittelzahlen.

	C	H	N	S
Mantelmucinogen	50,30	6,84	13,62	1,71
Mantelmucin . .	50,34	6,84	13,47	1,79
Fussmucin . .	50,45	6,79	13,66	1,60

Der wesentlichste Unterschied betrifft wohl den Schwefel, dessen Menge in dem Fussmucin um etwa 0,15% niedriger als in dem Mantelmucin (mit der Zahl 1,75% als Mittel) gefunden wurde. Da die Schwierigkeiten, mit welchen die Reindarstellung des Fussmucins verknüpft ist, ungemein gross sind, und da ich in Folge hiervon nur eine Schwefelbestimmung habe machen können, weiss ich nicht, in wie weit der beobachtete Unterschied von irgend einer Verunreinigung mit einer schwefelärmeren Substanz, von einer wirklich ungleichen Zusammensetzung der zwei Mucine oder von irgend einem Fehler in der Schwefelbestimmung herzu- leiten sei. Unter allen Umständen zeigen doch die Analysen, dass die zwei Mucine bezüglich der elementären Zusammensetzung ein- ander mindestens ausserordentlich nahe stehen, und dass also auch das Fussmucin ein schwefelreicher Stoff ist. Da bisher Nie- mand Bedenken getragen hat, das von dem Schneckenfusse abge- sonderte, dickflüssige Secret als wahren Schleim zu betrachten, liegt, wie oben gesagt, in dieser übereinstimmenden Zusammen- setzung ein wichtiger Beweis für die Mucinnatur des von der Manteloberfläche abgesonderten, von mir als Mantelmucinogen, resp. als Mantelmucin bezeichneten Stoffes.

Da ich nun von der Zusammensetzung des Fussmucins ge- sprochen habe, liegt es mir zunächst ob, von den qualitativen Eigenschaften dieses Stoffes zu sprechen.

Für ein näheres Studium der Reactionen des Fussmucins ist es — ganz so wie wenn es um andere Mucine sich handelt — unbe-

dingt nothwendig, nur mit filtrirten Lösungen zu arbeiten, und hieraus erwächst für die Untersuchung eine nicht unbedeutende Schwierigkeit. Versucht man eine nicht sehr verdünnte, anscheinend vollständige Lösung von Fussmucin zu filtriren, so geht die Filtration zuerst ziemlich rasch von Statten; aber sie stockt bald, und man findet in dem Filtrate nur sehr wenig Mucin, während auf dem Filtrum eine dickflüssige, stark schleimige Masse zurückbleibt. Erst durch starkes Verdünnen mit alkalihaltigem Wasser erhält man, wie dies schon bei Besprechung der Darstellungsmethode für dieses Mucin angegeben worden ist, eine filtrirbare Mucinlösung; diese ist nun aber so arm an Substanz, dass ich in ihr noch nie über 0,05% Mucin gefunden habe.

Die filtrirten Lösungen des Fussmucins verhielten sich nun in meinen Versuchen wie folgt. Sie stellen klare, etwas fadenziehende Flüssigkeiten dar, von dem Aussehen einer Mucinlösung oder eines Wasserextractes der Submaxillardrüse.

Essigsäure gab einen grobflockigen Niederschlag, der weder von überschüssiger Essigsäure noch von etwas Salzsäure, 0,1—0,3%, gelöst wurde.

Salzsäure, in sehr kleiner Menge zugesetzt, gab einen grobflockigen Niederschlag, welcher von überschüssiger Säure nicht gelöst wurde.

Salpetersäure gab einen flockigen Niederschlag, welcher von überschüssiger Säure nicht gelöst wurde. Beim Erwärmen Xanthoproteinsäurereaction.

Kupfersulfat gab einen grobflockigen Niederschlag, welcher von überschüssigem Alkali zu einer schwach violettgefärbten Flüssigkeit gelöst wurde. Beim Sieden fand keine Reduction statt.

Quecksilberchlorid gab einen flockigen, in einem Ueberschuss des Reagenses nicht löslichen Niederschlag.

Alaunlösung gab einen grobflockigen, in einem Ueberschuss des Reagenses nicht löslichen Niederschlag.

Bleizuckerlösung oder Bleiessig: grobflockige Niederschläge.

Millons Reagens gab einige, beim Sieden schön roth werdende Klümpchen.

Adamkiewicz' Reagens gab eine schön rothviolette Lösung.

Nach Zusatz von gesättigter Kochsalzlösung in wechselnden

Verhältnissen, $\frac{1}{6}$ — $\frac{1}{2}$ Vol., konnte die Lösung durch möglichst vorsichtigen Zusatz von verdünnter Salzsäure nicht vollständig neutralisirt — geschweige denn schwach angesäuert — werden, ohne einen Niederschlag zu geben. Mit Essigsäure konnte sie nicht ganz, aber doch fast vollständig neutralisirt werden, und diese Lösung gerann beim Sieden nicht. Von Gerbsäure wurde sie dagegen schleimig grobflockig gefällt. Wurde die kochsalzhaltige, soweit möglich mit Essigsäure neutralisirte Lösung mit Ferrocyankalium versetzt, so konnte sie nunmehr mit Essigsäure schwach angesäuert werden, ohne einen Niederschlag zu geben, und das Fussmucin wird also, wie andere Mucine, von Ferrocyankalium und Essigsäure nicht gefällt. Nach Zusatz von Quecksilberjodidjodkalium konnte die ursprüngliche Lösung weder mit Essigsäure noch mit Salzsäure schwach angesäuert werden, ohne einen reichlichen Niederschlag zu geben.

Mit Speichel konnte die Lösung 24 Stunden digerirt werden, ohne eine Spur von Zucker oder reducirender Substanz überhaupt zu geben, während bei absichtlicher Verunreinigung mit sehr wenig Schnecken-glycogen die Zuckerbildung nach kurzer Zeit leicht nachzuweisen war.

Ein Theil einer Fussmucinlösung wurde erst mit Chlorwasserstoffsäure von 0,25% gefällt und dann mit Pepsin versetzt. Nach 8tägiger Digestion bei Körpertemperatur war das Mucin noch nicht gelöst.

Vergleichen wir die hier angeführten Reactionen des Fussmucins mit denjenigen, welche in dem Vorigen für das in Alkali gelöste Mantelmucinogen, resp. das Mantelmucin, angeführt worden sind, so finden wir, dass das Fussmucin fast nur dadurch von dem Mantelmucin sich unterscheidet, dass seine kochsalzhaltige Lösung mit Essigsäure, bez. Salzsäure, nicht angesäuert oder ganz vollständig neutralisirt werden kann. Es ist mir nicht möglich anzugeben, ob dieses, etwas ungleichartige Verhalten als ein wesentlicher Unterschied zwischen diesen 2 Mucinen anzusehen ist, oder ob es vielleicht nur von der Beimengung irgend einer anderen Substanz herrührt. Man könnte zwar meinen, dass diese Frage leicht in der Weise zu entscheiden sei, dass man den beim Neutralisiren oder schwachem Ansäuern entstehenden Niederschlag abfiltrirte und das Verhalten des Filtrates prüfte. Dies habe ich nun in der That auch gethan; aber die Menge der in dem Filtrate

zurückgebliebenen Substanz war eine so kleine, dass sie keine genauere Untersuchung gestattete, und ich muss also diese Frage noch offen lassen.

Abgesehen von der nun besprochenen Differenz verhält sich das Fussmucin zu qualitativen Reagentien in allen Beziehungen wie das gelöste Mantelmucinogen oder Mantelmucin, und es ist unter solchen Umständen gewiss von einem grossen Interesse zu erfahren, ob auch dieses Mucin beim Sieden mit verdünnten Säuren eine reducirende Substanz liefert.

Zu dem Ende habe ich auch das Verhalten des Fussmucins beim Sieden mit Säuren wiederholt geprüft und dabei ohne Ausnahme gefunden, dass das Fussmucin auch in dieser Beziehung wie das Mantelmucin sich verhält. Von besonderem Interesse ist es hierbei, dass das Fussmucin ganz so wie das Mantelmucin erst nach anhaltendem Sieden eine reducirende Substanz giebt und zwar in so kleiner Menge, dass sie leicht ganz übersehen werden könnte. So habe ich im Allgemeinen erst nach zweistündigem Kochen mit zweiprocentiger Schwefelsäure die ersten, mit der Trommer'schen Probe ganz sicher nachweisbaren Spuren einer solchen Substanz erhalten; und erst nach 4—5stündigem Kochen konnte eine ganz deutliche und ziemlich schöne, wenn auch schwache Trommer'sche Reaction erhalten werden.

Dass diese reducirende Substanz nicht von einer Verunreinigung des Fussmucins mit Glycogen herrühren konnte, habe ich schon oben gezeigt, denn die Lösung des Fussmucins giebt, mit Speichel digerirt, nie eine Spur von Zucker, während das absichtlich zugesetzte Schneckenglycogen dabei sehr rasch in Zucker übergeführt wird. Es entsteht also hier dieselbe Frage wie für das Mantelmucin, die nämlich, ob nicht die Muttersubstanz dieses reducirenden Stoffes vielleicht ein mit dem thierischen Gummi identisches oder nahe verwandtes Kohlehydrat sein könnte.

Um diese Frage zu beantworten, habe ich versucht, aus dem Fussmucin thierisches Gummi darzustellen. Die von Landwehr befolgte Methode führte doch hierbei ebenso wenig wie in meinen Versuchen mit dem Mantelmucin zum Ziele; und ich war darum gezwungen, auch hier zu der Alkalieinwirkung meine Zuflucht zu nehmen. Wegen der grossen Schwierigkeit, grössere Mengen von Fussmucin zu erhalten, habe ich doch nur zwei solche Versuche

anstellen können, und in beiden Fällen konnte ich nur mit kleinen Mengen, gegen 2 gr, arbeiten.

Die von mir hierbei befolgte Methode war in der Hauptsache dieselbe wie bei der Verarbeitung des Mantelmucins, und da ich den Leser nicht mit Wiederholungen des einmal schon Gesagten ermüden will, theile ich hier nur die Ergebnisse mit.

Nach kurzdauernder Alkalieinwirkung habe ich aus dem Fussmucin theils eine Alkalialbuminatähnliche Substanz und theils einen, durch Essigsäure fällbaren, in überschüssiger Essigsäure unlöslichen Stoff erhalten, dessen Lösung nach Zusatz von NaCl ganz wie eine gewöhnliche Mucinlösung mit Essigsäure oder Salzsäure neutralisirt, resp. schwach angesäuert werden konnte ohne einen Niederschlag zu geben. Nach anhaltender (mehrere Wochen fortgesetzter) Einwirkung von stärkerer Kalilauge (von 10—15% KOH) erhielt ich theils peptonähnliche Substanzen und theils mehr weniger gummiähnliche Stoffe, von welchen einige durch Essigsäure gefällt, andere dagegen nicht gefällt wurden, welche aber alle beim Kochen mit verdünnter Säure eine reducirende Substanz lieferten. Durch fortgesetzte Behandlung mit Alkali konnten die durch Essigsäure fällbaren Stoffe in nicht fällbare, in Wasser lösliche Substanzen übergeführt werden, und nach fortgesetzter Einwirkung des Alkalis erhielt ich zuletzt einen in Wasser löslichen Stoff, der weder von Quecksilberjodidjodkalium mit Salzsäure noch von Gerbsäure oder anderen eiweissfällenden Reagentien niedergeschlagen werden konnte, der aber von Alkohol flockig und rein weiss gefällt wurde. Dieser Stoff war indessen in keinem der beiden Versuche ganz stickstofffrei, sondern er gab bei der Lassaigne'schen Probe wenigstens eine bläulich grüne Färbung der Lösung und er enthielt also noch Spuren von Stickstoff.

Die Menge dieser Substanz war eine so kleine, dass ich ihre Wirkung auf polarisirtes Licht nicht prüfen konnte. Zu den von mir versuchten Reagentien verhielt sie sich doch wie thierisches Gummi. Mit Kupfersulfat und Alkali gab sie beim Sieden einen bläulich weissen, etwas zähen Niederschlag. Mit Speichel digerirt, wurde sie nicht verändert, während sie nach Sieden mit verdünnter Säure eine schöne Reaction mit der Trommer'schen Probe gab.

Die Identität dieser Substanz mit dem thierischen Gummi will ich natürlich nicht bestimmt behaupten, da ich sie wegen

Mangel an Material nicht näher untersuchen konnte. Thatsache ist es doch jedenfalls, dass auch aus dem Fussmucin eine nur Spuren von Stickstoff enthaltende Substanz, welche beim Sieden mit Säuren einen reducirenden Stoff liefert, isolirt werden kann. Die Art und Weise, wie diese Substanz durch eine allmähliche Zersetzung des Fussmucins unter dem Einflusse des Alkalis entsteht und die vielen Uebergangsstufen zwischen dem Mucin und diesem Endprodukte, welche dabei beobachtet werden können, schliessen wohl sogleich die Annahme, dass es hier um ein Gemenge von Globulinen mit thierischem Gummi sich gehandelt habe, aus.

Vergleichen wir die Eigenschaften einer Lösung von Fussmucin in möglichst wenig Alkali mit den oben geschilderten Eigenschaften eines Gemenges von thierischem Gummi (aus Mantelmucin) und Globulin, so finden wir ein so grundverschiedenes Verhalten beider, dass von einer Uebereinstimmung nicht die Rede sein kann. Alle diejenigen Gründe, welche ich oben gegen die Annahme, es sei das Mantelmucin nur ein Gemenge von Eiweiss und einem Kohlehydrate, geltend machte, haben auch für das Fussmucin ihre volle Gültigkeit und ich kann also nur einfach auf sie hinweisen.

Wie das Mantelmucin betrachte ich also das Fussmucin nicht als ein Gemenge von Globulin und Gummi, sondern vielmehr als ein zusammengesetztes Proteid, aus dem, wie aus dem Mantelmucin, beim Sieden mit Säuren eine reducirende Substanz — vielleicht eine Zuckerart — durch eine Spaltung der ursprünglichen Substanz entstehen kann.

Die Frage, ob das Fussmucin mit dem Mantelmucin identisch sei, habe ich, wie gesagt, nicht entscheiden können. Von dem Mantelmucin oder richtiger von dem in schwachem Alkali gelösten Mantelmucinogen unterscheidet es sich nur dadurch, dass die kochsalzhaltige Lösung mit Säure nicht ganz vollständig neutralisirt werden kann, ohne eine Fällung zu geben. In allen anderen Hinsichten verhielt es sich wie das Mantelmucin und die elementäre Zusammensetzung beider ist auch fast dieselbe. Die Abweichungen beider könnten vielleicht von einer unbedeutenden Verunreinigung herrühren, und die Annahme, dass beide Stoffe identisch seien, lässt sich also nicht ohne Weiteres zurückweisen.

Die Mucinnatur dieser 2 Stoffe ist nach dem oben Mitge-

theilten ganz unzweifelhaft, und dem bisher näher studirten Mucin, z. B. dem Submaxillarmucin, gegenüber zeichnen sie sich dadurch aus, dass sie von verdünnter Salzsäure nicht gelöst werden, dass ihre Widerstandsfähigkeit gegen verdünnte Alkalien — wenigstens bei niedriger Temperatur — eine grössere ist und dass sie bedeutend reicher an Schwefel sind. Von Glycogen — sei es Achrooglycogen oder gewöhnlichem — enthalten die nun beschriebenen Schneckenmucine nicht die Spur, und es giebt also ein wahres Schneckenmucin, welches kein Gemenge von Eiweiss und Achrooglycogen ist.

C. Das Glycoproteid der Eiweissdrüse.

Die zwei von mir isolirten und nun besprochenen Schneckenmucine hatten beide etwa denselben Stickstoffgehalt, 13,47—13,66%. Das zuerst von Eichwald und dann auch von Landwehr isolirte und studirte Mucin von *Helix pomatia* enthielt dagegen nur zwischen 8 und 9% Stickstoff; und es ist also offenbar, dass das Mucin dieser Forscher von irgend einer anderen, stickstoffärmeren oder stickstofffreien Substanz verunreinigt gewesen sei. Dieser niedrige Stickstoffgehalt des unreinen Schneckenmucins war ja auch der Ausgangspunkt derjenigen Untersuchungen von Landwehr, durch welche er zu der Ansicht geführt wurde, dass das Schneckenmucin seinen niedrigen Stickstoffgehalt einer Verunreinigung mit einem Kohlehydrate, dem Achrooglycogen, zu verdanken hat.

Dass in den von mir untersuchten 2 Mucinen keine solche Verunreinigung enthalten war, geht einerseits aus ihrem weit höheren Stickstoffgehalt und andererseits aus dem Umstande, dass ihre Lösungen mit Speichel keine Spur von Zucker gaben, hervor. Das Achrooglycogen oder überhaupt derjenige Stoff, welcher den niedrigen Stickstoffgehalt des nach der älteren Methode dargestellten Schneckenmucins bedingt, findet sich also weder in dem Secrete der freien Manteloberfläche noch in dem Fusse des Thieres und sie musste also in irgend einem anderen Organe gesucht werden. Ich wendete mich darum zuerst zu der Eiweissdrüse, in der Hoffnung, hier das Achrooglycogen zu finden; aber dies gelang mir nicht. Das mit Wasser bereitete Extract dieser Drüse enthielt keine Spur von einem Glycogen, und dementsprechend konnte es auch tagelang mit Speichel digerirt werden ohne eine Spur von

Zucker zu geben. Wurde das Extract dagegen absichtlich mit ein wenig Schneckenglycogen aus der Leber verunreinigt, so fand binnen kurzem in Folge der Einwirkung des Speichels eine Zuckerbildung statt, und das Extract enthielt also keine, die Zuckerbildung oder den Nachweis des gebildeten Zuckers verhindernde Substanz.

Nachdem ich die Eiweissdrüse mit negativem Erfolge auf Achrooglycogen untersucht hatte, wendete ich mich zu der Leber, und aus diesem Organe konnte ich nun ohne die geringste Schwierigkeit nicht unbedeutende Mengen von Glycogen isoliren. In dem Wasserextracte der Leber konnte auch die Gegenwart von Glycogen durch Zusatz von Speichel leicht nachgewiesen werden. Das aus der Leber — nach dem gewöhnlichen Brücke'schen Verfahren — isolirte Glycogen war indessen nicht Achrooglycogen, sondern das gewöhnliche. Von Jod wurde es nämlich, wie das aus der Säugethierleber dargestellte, stark gefärbt.

Um den Gehalt der Leber an Glycogen zu erfahren, habe ich auch einige quantitative Bestimmungen nach der Methode von Brücke ausgeführt. Zu der einen Bestimmung, im Anfange von September 1883, nahm ich 28,3 gr Leber und zu der zweiten, im Anfange von Oktober desselben Jahres, 32,78 gr. Sonderbarer Weise fand ich in beiden Fällen dieselbe Menge Glycogen oder im ersteren 1,75%, in dem zweiten 1,72%, beide auf das frische, wasserhaltige Organ berechnet. In dem ersten Falle waren die Thiere nur ein paar Tage vorher eingefangen worden, während ich die zur zweiten Bestimmung verwandten Thiere etwa 1 Monat im Zimmer aufbewahrt hatte. In beiden Fällen waren doch die Thiere reichlich mit Gras, verschiedenen Kohlarten und auch mit Birnen verfüttert worden.

Landwehr fand in der Weinbergsschnecke kein gewöhnliches Glycogen. Aus seiner Abhandlung¹⁾ scheint doch hervorzugehen, dass er diese Frage nicht eingehender geprüft hat; denn er sagt nur, dass er in dem mit Wasser bereiteten Schneckenextracte durch Zusatz von Jod kein Glycogen direct nachweisen konnte, und dies schliesst natürlich nicht einen Gehalt der Thiere an Glycogen vollständig aus. Dagegen hat Krukenberg²⁾ ganz bestimmt in der

1) Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. 6, p. 75.

2) Vergleichend physiol. Studien. Heidelberg 1880.

Leber von *Helix pomatia* Glycogen gefunden und meine Beobachtungen stehen also mit den seinigen im besten Einklange.

Da meine Schnecken reichlich gefüttert worden waren und da die Menge des Glycogens bekanntlich wesentlich von der Menge und Beschaffenheit der Nahrung abhängt, könnte die zwischen mir und Landwehr bezüglich des Vorkommens von Glycogen in den Schnecken bestehende Differenz vielleicht von einer ungleichen Nahrung der Thiere herrühren. Aus diesem Grunde habe ich auch die Leber solcher Schnecken untersucht, welche in einem nicht geheizten Zimmer im Winterschlaf vom Ende October bis zum Ende März gelegen hatten und dabei nie das Glycogen vermisst. Die quantitative Bestimmung des Glycogens in solchen Lebern wurde einmal versucht und dabei 0,429% Glycogen gefunden. Die Ursache, warum in den Versuchen von Landwehr kein gewöhnliches Glycogen in den Weinbergschnecken zu finden war, vermag ich also nicht anzugeben.

Das von mir aus der Leber isolirte Glycogen wurde, wie oben gesagt, von Jod wie gewöhnlich gefärbt; aber dies schliesst natürlich nicht die Möglichkeit aus, dass dieses Glycogen doch ein Gemenge von Achrooglycogen und gewöhnlichem Glycogen gewesen sei. In einem solchen Gemenge kann nämlich das gewöhnliche Glycogen, allem Anscheine nach, durch Zusatz von Jod nachgewiesen werden; wie aber das Achrooglycogen in einem solchen Gemenge nachgewiesen werden könnte, ist schwieriger zu sagen. Zum Nachweis von einem etwaigen Gehalte meines Glycogens an Achrooglycogen habe ich die fractionirte Fällung mit Alkohol versucht, aber ohne Erfolg. Sämmtliche Fractionen wurden von Jod gefärbt.

Es giebt doch eine Eigenschaft des Achrooglycogens, welche zur Trennung der zwei Glycogene vielleicht verwerthet werden könnte, und diese ist die von Landwehr angegebene Eigenschaft jenes Glycogens, aus einer eiweiss- oder mucinhaltigen Lösung durch Zusatz von Essigsäure mit dem Eiweiss resp. dem Mucin mit ausgefällt zu werden. Eine solche Neigung, von dem Mucin (resp. dem Eiweiss) mit ausgefällt zu werden, scheint dagegen dem gewöhnlichen Glycogen nicht zuzukommen; denn es ist wenigstens gar nicht schwierig, aus einer von gewöhnlichem Glycogen verunreinigten Mucinlösung ein glycogenfreies Mucin darzustellen. Von dieser Eigenschaft des Achrooglycogens ausgehend, versuchte

ich dann ein von diesem Stoffe verunreinigtes Mucin aus den Schnecken darzustellen. Zu dem Ende entfernte ich erst den Fuss und die Eiweissdrüse, welche Theile kein Achrooglycogen enthalten und welche ich auch aus anderen Gründen erst abtrennen musste, und extrahirte dann die übrigen Theile der fein zerhackten Thiere mit Wasser.

Das filtrirte Extract wurde mit Essigsäure gefällt, der Niederschlag durch Decantation mit Wasser gewaschen, von Neuem in möglichst wenig Alkali gelöst und die filtrirte Lösung mit Essigsäure gefällt. Der so erhaltene Niederschlag war bräunlich gefärbt wie das von Eichwald¹⁾ beschriebene Schneckenmucin. Ein Theil dieses Niederschlages wurde zu der Elementaranalyse nach vorausgegangener Reinigung mit Alkohol und Aether verwendet; der übrige Theil wurde dagegen mit Hülfe von sehr wenig Alkali in Wasser zu einer fast neutralen Flüssigkeit gelöst.

Diese, von dem braungelben Farbstoffe der Leber gefärbte Lösung, welche hauptsächlich Mantelmucin enthielt, wurde nun mit den verschiedensten Reagentien geprüft und sie verhielt sich in allem Wesentlichen wie die oben geschilderten Lösungen von Mantelmucin in möglichst wenig Alkali. Aus diesem Grunde kann ich mich auch darauf beschränken, nur dasjenige, was von besonderem Interesse ist, hier zu erwähnen.

Mit einer zweiprocentigen Schwefelsäure gekocht, hatte die Lösung nach Verlauf von 1 Stunde noch keine nachweisbare Menge reducirender Substanz geliefert. Erst nach zweistündigem Kochen konnte mit der Trommer'schen Probe eine schwache Ausscheidung von rothem Kupferoxydul erhalten werden, und dieses unreine Mucin lieferte also ebenso langsam und schwierig wie das Mantelmucin beim Sieden mit verdünnter Säure eine reducirende Substanz.

Wenn also schon diese Beobachtung es wahrscheinlich machte, dass in diesem Mucin kein Achrooglycogen enthalten war, so wurde dies durch folgende Beobachtung zur vollen Evidenz bewiesen. Ich digerirte nämlich einen Theil der Lösung 24 Stunden mit Speichel, — dessen Wirksamkeit wie gewöhnlich durch absichtliche Verunreinigung eines Theiles der Lösung mit einer sehr kleinen Menge von Schneckenglycogen controllirt wurde — aber im Laufe von dieser Zeit war noch keine Spur von Zucker

1) a. a. O.

gebildet worden. Es enthielt also dieses Mucin keine nachweisbare Spur von Glycogen — sei es Achrooglycogen oder dem gewöhnlichen.

Die Elementaranalyse des nun geschilderten Mucins ergab einen Stickstoffgehalt von 13,25%, was nur wenig von der für das Mantelmucin gefundenen Zahl 13,47—13,66% abweicht.

Die nun mitgetheilten Beobachtungen zeigen also, dass das aus dem ganzen Thiere (nach Abtrennung des Fusses und der Eiweissdrüse) dargestellte Mucin kein Glycogen als Verunreinigung enthält, und es ist mir also trotz wiederholter Bemühungen nie gelungen, in den Schnecken das Landwehr'sche Achrooglycogen nachzuweisen, während dagegen der Nachweis von gewöhnlichem Glycogen mir leicht gelang.

Da man nun, wenn man nach dem Vorgange von Eichwald und Landwehr die ganzen Thiere in Arbeit nimmt, stets ein Mucin von niedrigem Stickstoffgehalt, 8—9%, erhält, so folgt hieraus, dass in der Weinbergschnecke, selbst wenn sie kein Achrooglycogen enthält, doch irgend eine andere, stickstoffarme oder stickstofffreie Substanz vorkommen muss, die von der Säure mit niedergerissen wird und den Stickstoffgehalt des Mucins herabsetzt. Aus dem oben Mitgetheilten folgt nun weiter, dass man diese Substanz in der Eiweissdrüse, welche allerdings wenigstens kein freies Glycogen enthält, suchen muss, und meine Untersuchungen haben nun in der That auch gezeigt, dass in dieser Drüse eine von überschüssiger Essigsäure fällbare, stickstoffarme, sehr interessante Proteidsubstanz vorkommt. Ich gehe nun zu der Besprechung dieser Substanz über.

Wird die herauspräparirte Drüse mit reinem Quarzsand fein zerrieben und die klebrige Masse mit Wasser extrahirt, so erhält man eine ziemlich leicht filtrirende Flüssigkeit, die gar nicht schleimig oder fadenziehend, sondern dünnflüssig und schwach bläulich opalisirend wie eine verdünnte Caseinlösung ist. Mit Essigsäure giebt dieses Extract eine rein weisse, feinflockige Fällung, welche selbst von einem grossen Ueberschuss der Säure nicht gelöst wird. Mit Kupfersulfat und Alkali giebt dieses Extract beim Sieden keine Spur einer Reduction und in ganz derselben Weise verhält es sich zu der Trommer'schen Probe, wenn es vorher längere oder kürzere Zeit mit Speichel digerirt worden ist. Erwärmt man dagegen das Filtrat im Wasserbad kurze Zeit mit einer verdünnten Säure, so

erhält man nun eine ausgezeichnet schöne Reaction mit der genannten Zuckerprobe.

Das Wasserextract der Eiweissdrüse enthält also weder Glycogen noch Zucker, aber es enthält eine andere Substanz, welche durch Sieden mit verdünnten Säuren Zucker, oder jedenfalls eine reducirende Substanz giebt. Diese Beobachtungen forderten sehr zu weiteren Untersuchungen auf, und mein Hauptaugenmerk wurde dabei auf die Reindarstellung dieser Substanz gerichtet. Ich fand dabei bald, dass es hier nicht um ein Kohlehydrat, sondern vielmehr um eine Proteidsubstanz, aus welcher ein Kohlehydrat verhältnissmässig leicht abgespaltet werden kann, sich handelt.

Behufs der Reindarstellung dieser Substanz wurden die Drüsen zuerst herauspräparirt, unmittelbar darauf mit Sand zerrieben und mit destillirtem Wasser extrahirt. Hierbei ist zu bemerken, dass diese Drüse bei verschiedenen Thieren ein ganz verschiedenes Ansehen hat. Bei denjenigen Individuen, welche anscheinend als Weibchen functioniren, ist die Drüse gross und blassgelb, während sie bei den Männchen klein und braungefärbt ist. Die kleinen, braungefärbten Drüsen eignen sich weniger gut zur Darstellung der fraglichen Substanz, während die grossen und blassen Drüsen reichliche Mengen davon liefern können. Aus dem filtrirten Wasserextracte wird die Substanz mit Essigsäure gefällt, mit Wasser genau gewaschen, in Wasser unter Zusatz von wenig Alkali bis zu schwach saurer oder neutraler Reaction gelöst und von Neuem mit Essigsäure gefällt. In einigen Fällen habe ich die Substanz sogar 3—4 Mal mit Essigsäure gefällt.

Auf die nun geschilderte Weise habe ich zu wiederholten Malen diese Substanz aus der Drüse dargestellt; aber ihre Reindarstellung ist doch keineswegs eine ganz leichte. Einerseits kann nämlich die Substanz leicht von ein wenig Eiweiss verunreinigt werden, und andererseits kann sie auch in Folge der chemischen Manipulationen eine theilweise Zersetzung erfahren.

Für das Gelingen der Reindarstellung ist es wichtig, dass die Drüse unmittelbar nach ihrer Herausnahme fein zerrieben und mit Wasser extrahirt wird. Lässt man die Drüsen mehrere Stunden liegen, so sieht man nicht selten, dass sie mit Wasser zu einer schleimigen Masse, welche der durch Zusatz von NaCl zu Eiterzellen entstehenden dickschleimigen Masse sehr ähnlich ist, aufquellen, und wenn hierdurch auch die Filtration nicht unmöglich,

sondern nur stark verzögert wird, so wird doch die Reindarstellung der Substanz hierdurch sehr erschwert. Verwendete ich zur Extraction der Drüse nicht destillirtes, sondern Wasserleitungswasser, so quoll die zerriebene Masse sehr rasch zu einem solchen zähen Schleime auf. Man soll desshalb zur ersten Extraction immer nur destillirtes Wasser verwenden; aber selbst bei Anwendung von solchem macht die zerriebene Drüsenmasse im Laufe von einigen Stunden eine solche schleimige Umwandlung durch; und aus diesem Grunde trenne ich regelmässig nach 1—2 Stunden die trübe Flüssigkeit von dem Bodensatze und filtrirte erstere möglichst rasch.

Die Substanz muss wie gesagt mit überschüssiger Essigsäure ausgefällt werden; aber hier ist zu bemerken, dass sie — wie ich später zeigen werde — von überschüssiger Säure, vor Allem beim Erwärmen, leicht zersetzt wird. Hierbei spaltet sich die Substanz theilweise; und das abgespaltene Eiweiss wird dabei von der Essigsäure theilweise gelöst, so dass man ein Präparat von etwas niedrigerem Stickstoffgehalte erhält. Aus diesem Grunde setze ich gewöhnlich nur so viel Essigsäure zu, dass die Lösung etwa 1% davon enthält, und ich lege ausserdem ein besonderes Gewicht darauf, dass der Niederschlag nicht längere Zeit mit der sauren Flüssigkeit in Berührung gelassen wird. Dass die Darstellung, soweit möglich, bei einer niedrigen Temperatur geschehen soll, ist selbstverständlich.

Die Reindarstellung des Drüsenproteides ist also gar nicht so leicht als ich zuerst glaubte, und die bei der Elementaranalyse der zuerst dargestellten Präparate erhaltenen, etwas schwankenden Zahlen zeigten auch, dass die Reindarstellung mir nicht gelungen war. Der Stickstoffgehalt schwankte nämlich zwischen 5,7 und 6,5%. Nachdem ich auf die mit der Reindarstellung verknüpften Schwierigkeiten aufmerksam gemacht worden war, habe ich dagegen, wie die bald mitzutheilenden Analysen zeigen werden, eine so gute Uebereinstimmung in der Zusammensetzung der verschiedenen Präparate gefunden, dass ich dies als einen Beweis für die gelungene Darstellung der Substanz betrachtete.

Für die Frage, ob diese Substanz wirklich eine zusammengesetzte Proteinsubstanz oder nur ein Gemenge von Eiweiss mit einem Kohlehydrate sei, ist es natürlich von der allergrössten Wichtigkeit, dass die Substanz nicht von einem anderen Eiweissstoffe verunreinigt ist. Darum muss ich auch bemerken, dass die

Reindarstellung nur dann als gelungen anzusehen ist, wenn die Lösung der fraglichen Substanz auf folgende Weise sich verhält. Von Ferrocyankalium soll die Lösung bei Gegenwart von etwas Essigsäure oder Salzsäure nicht im geringsten gefällt, sondern höchstens schwach opalisirend werden. Salpetersäure darf keinen bleibenden Niederschlag, sondern nur eine, beim Umrühren verschwindende Trübung und eine schwach opalisirende Lösung geben. Von Quecksilberchlorid und Salzsäure darf die Lösung gar nicht gefällt werden, und ebensowenig soll nach Eintragen von überschüssigem gepulvertem Magnesiumsulfat eine Trübung bemerkbar sein.

Abgesehen von den ersten, an nicht ganz reinen Präparaten ausgeführten Analysen, habe ich 4 verschiedene Präparate von dieser Substanz analysirt. Das Präparat I war 3 und die übrigen 2 Mal mit Essigsäure gefällt worden. Sämmtliche Präparate wurden erst anhaltend mit warmem Alkohol und dann mit Aether extrahirt und endlich bei $110-115^{\circ}$ C. getrocknet. Die Zahlen für C, H, N, S und P beziehen sich wie gewöhnlich auf die als aschefrei berechnete Substanz.

Präparat I. Dieses Präparat enthielt 1,03% Asche.

a 0,3437 gr Substanz lieferten 0,2085 gr Wasser und 0,5926 gr Kohlensäure = 6,74% H und 47,02% C.

b 0,338 gr Substanz lieferten 17,2 ccm N-gas bei $+ 7,5^{\circ}$ C. und 761 mm Hg = 6,13% N.

Präparat II. Das Präparat enthielt 1,00% Asche.

a 0,2746 gr Substanz lieferten 0,1686 gr Wasser und 0,4728 gr Kohlensäure = 6,82% H und 46,95% C.

b 0,346 gr Substanz lieferten 17,4 ccm N-gas bei $+ 7^{\circ}$ C. und 760 mm Hg = 6,09% N.

c 1,6654 gr Substanz lieferten 0,0764 gr BaSO_4 = 0,63% Schwefel.

d 1,406 gr aschehaltige Substanz lieferten 0,0321 gr $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$.

Zieht man hiervon die Menge Pyrophosphat, welche aus der in der Asche gefundenen Menge Calciumphosphat sich berechnen lässt, ab, so bleiben 0,0226 gr $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ übrig. Auf die aschefreie Substanz berechnet ist dies = 0,45% Phosphor.

Präparat III enthielt 1,05% Asche.

a 0,3641 gr Substanz lieferten 18,3 ccm N-gas bei $11,5^{\circ}$ C. und 768 mm Hg = 6,03% N.

Präparat IV enthielt 0,91% Asche.

a 1,106 gr Substanz als aschefrei berechnet (die Menge der asche-

haltigen Substanz = 1,1162 gr) lieferten 0,0491 gr BaSO_4 = 0,61% Schwefel.

In dem Filtrate wurde die Menge der Phosphorsäure, wie oben p. 421 angegeben worden ist, bestimmt, und dabei 0,026 gr $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ erhalten. Zieht man von dieser Zahl diejenige Menge Pyrophosphat, welche aus der in der Asche gefundenen Menge Calciumphosphat sich berechnen lässt, ab, so bleiben noch 0,0189 gr $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ übrig. Auf die aschefreie Substanz berechnet ist dies = 0,48% Phosphor.

Der Uebersicht halber stelle ich hier die analytischen Daten tabellarisch zusammen:

	C	H	N	S	P	Asche
Präparat I	47,02	6,74	6,13	—	—	1,03
„ II	46,95	6,82	6,09	0,63	0,45	1,00
„ III	—	—	6,03	—	—	1,05
„ IV	—	—	—	0,61	0,48	0,91
Mittel	46,99%	6,78%	6,08%	0,62%	0,47%	0,998%

Die Asche, welche sauer reagirte, bestand aus Phosphorsäure, Calcium und Eisen. Die Menge des letzteren war doch eine so kleine, dass ich sie wegen Mangels an Material nicht genau bestimmen konnte. Beim Berechnen der Phosphorsäuremenge in den Analysen 2 und 4 ist die Asche als $\text{Ca}_3\text{P}_2\text{O}_8$ berechnet worden, aber dies ist natürlich nicht richtig, da die Asche sauer reagirte und mehr Phosphorsäure als die zur Bildung des Salzes $\text{Ca}_3\text{P}_2\text{O}_8$ erforderliche Menge enthielt. Richtiger wäre es vielleicht gewesen, die Menge des Calciums in der Asche genau zu bestimmen und daraus die in der Asche enthaltene Menge $\text{Ca}_3\text{P}_2\text{O}_8$ zu berechnen; da aber die Substanz entschieden Phosphor im Molekul enthält und vielleicht die ganze Phosphormenge der Asche nur von diesem Phosphor stammt, kann auch eine solche Berechnung zu unrichtigen Zahlen führen. Die Berechnung des Phosphorgehaltes ist also nicht ganz richtig. Der hierdurch bedingte Fehler dürfte doch wohl ohne eigentliche Bedeutung sein; und da ich leider die zu einer ganz exakten Untersuchung der Aschebestandtheile nöthige Menge Material nicht hatte, war es mir nicht möglich, diesen Fehler zu vermeiden. Dass der Phosphorgehalt der analysirten Substanz nicht von beigemengten Zellen oder Zellkernen herrührt, geht daraus hervor, dass erstens in dem filtrirten Drüsenextracte keine Formbestandtheile mit dem Mikroskope zu sehen waren, und zweitens der mit Essigsäure erzeugte Nieder-

schlag nur aus einer ganz homogenen, sehr feinkörnigen Masse ohne Spur von Zellen oder Zellkernen bestand.

Die gute Uebereinstimmung der hier mitgetheilten Analysen dürfte wohl die Annahme berechtigt machen, dass die analysirte Substanz ein chemisches Individuum und nicht nur ein Gemenge gewesen sei. Für die Berechtigung dieser Annahme werde ich doch beim Besprechen der qualitativen Reactionen und der Spaltungsprodukte dieser Substanz weitere Beweise liefern, und ich will hier nur die Aufmerksamkeit auf ihren niedrigen Stickstoffgehalt lenken.

Da die Proteidsubstanz der Eiweissdrüse von Essigsäure gefällt und von einem Ueberschuss der Säure nicht gelöst wird, so ist es klar, dass sie, wenn die ganzen Thiere mit Wasser extrahirt werden, von der Essigsäure mit dem Mucin ausgefällt werden muss. Da sie nun als Mittel nur etwa 6% Stickstoff enthält, ist es offenbar, dass der ursprüngliche Gehalt des Schneckenmucins an Stickstoff (13,6%) hierdurch leicht bis auf 8—9% herabgesetzt werden kann. Eine solche Herabsetzung des Stickstoffgehaltes muss um so leichter geschehen, als die Menge des wirklichen Mucins in dem Extracte, trotz der schleimigen Beschaffenheit des letzteren, nur eine kleine ist, während der Gehalt der Eiweissdrüse an der fraglichen Proteidsubstanz nach meinen Bestimmungen nicht selten 11—12% beträgt. Es ist also leicht zu verstehen, warum das unreine Schneckenmucin, selbst wenn die Thiere — wie es bei meinen Untersuchungen der Fall war — kein Achrooglycogen enthalten, einen niedrigen Stickstoffgehalt, etwa 8—9%, zeigen kann. Von ganz besonderem Interesse mit Rücksicht auf diese Frage ist es hierbei nun, dass auch die Proteidsubstanz der Eiweissdrüse, ganz so wie die Glycogene, beim Sieden mit Säuren eine reducirende Substanz giebt.

Bevor ich die Natur dieser durch Säurewirkung entstehenden reducirenden Substanz zum Gegenstand einer näheren Erörterung mache, muss ich doch zuerst die qualitativen Reactionen der Proteidsubstanz besprechen.

Löst man diese Substanz in Wasser mit Hilfe von möglichst wenig Alkali, so kann man leicht eine neutrale oder sogar eine schwach sauer reagirende, schwach opalisirende Lösung erhalten. Auf solche, neutrale oder (wie eine, mit ein Minimum von Alkali bereitete Caseinlösung) sehr schwach sauer reagirende Lösungen

beziehen sich auch die folgenden Angaben. Als Beispiel wähle ich dabei das Verhalten einer Lösung, welche 1,74% der fraglichen Substanz enthielt. Diese Lösung war dünnflüssig, gar nicht fadenziehend, bläulich weiss und schwach opalisirend wie eine Caseinlösung. Die Reaction war neutral oder vielleicht richtiger äusserst schwach sauer.

Beim Erhitzen gerinnt eine Lösung der Proteidsubstanz nicht, selbst dann nicht, wenn man sie vorsichtig mit einer kleinen Menge sehr verdünnter Essigsäure versetzt; und die ursprüngliche, schwache Opalescens wird dabei nicht stärker sondern eher etwas schwächer. Durch Zusatz von Essigsäure wird sie beim Sieden erst dann gefällt, wenn dieselbe Menge Essigsäure, welche zur Fällung der Lösung schon bei Zimmertemperatur erforderlich ist, zugesetzt worden ist. Beim Erhitzen in zugeschmolzenem Rohre auf 120° C. gerann die fragliche Lösung nicht. Nach dem Erhitzen auf 140° C. oder etwas mehr während einer Stunde war die noch warme Flüssigkeit nicht merkbar verändert; beim Erkalten wurde sie dagegen schleimig dickflüssig und trübe und es hatte also eine Zersetzung stattgefunden. Bei später mehrmals wiederholten Versuchen habe ich übrigens beobachtet, dass die Temperatur, bei welcher diese Zersetzung stattfindet, je nach der Reaction und der Concentration der Lösung wie auch der Dauer des Erhitzens etwas, (zwischen 120—160° C.) wechseln kann.

Essigsäure gab einen reichlichen, rein weissen Niederschlag, welcher bei Zimmertemperatur von überschüssiger Säure (bis zu 20%) nicht gelöst wurde. Beim Sieden löste sich doch der Niederschlag in der stark sauren Flüssigkeit zu einer opalisirenden Lösung auf. Die mit 4 Vol. Wasser verdünnte Flüssigkeit gab ebenfalls eine, von überschüssiger Essigsäure bei Zimmertemperatur nicht lösliche Fällung. Der mit einer kleinen Essigsäuremenge erzeugte Niederschlag löste sich leicht in sehr verdünnter Salzsäure klar auf.

Salzsäure, in sehr kleiner Menge zugesetzt, gab einen reichlichen, rein weissen, feinflockigen Niederschlag, welcher von einem kleinen Säureüberschuss völlig klar wieder gelöst wurde.

Ferrocyankalium erzeugte in der salzsauren Lösung keine

Fällung. Die Flüssigkeit wurde nur etwas stärker opalisirend.

Quecksilberjodidjodkalium gab in der salzsauren Lösung eine reichliche, flockige Fällung.

Quecksilberchlorid erzeugte in der salzsauren Lösung keine deutlich sichtbare Fällung; die Flüssigkeit wurde nur stärker opalisirend, mehr weiss.

Ein Theil der Lösung wurde mit $\frac{1}{4}$ Vol. NaCl-Saturation versetzt, und sie konnte nun mit Essigsäure angesäuert werden ohne einen Niederschlag zu geben. Diese essigsaure Lösung wurde von Ferrocyankalium gar nicht gefällt.

Gerbsäure: Die salzhaltige, essigsaure Lösung wurde von diesem Reagense reichlich und grobflockig gefällt.

Die ursprüngliche, neutrale Lösung verhielt sich weiter wie folgt:

Salpetersäure gab eine reichliche Fällung, welche doch wieder in einem Ueberschusse der Säure zu einer fast klaren, nur schwach opalisirenden Flüssigkeit sich löste. Binnen Kurzem war schon bei Zimmertemperatur eine starke Xanthoproteinreaction sichtbar.

Alaunlösung gab einen Niederschlag, welcher erst von einem sehr grossen Ueberschuss gelöst wurde.

Kupfersulfat: Reichliche Fällung, welche von überschüssigem Alkali bei Zimmertemperatur zu einer schön blauvioletten Flüssigkeit gelöst wurde. Beim Sieden fand keine Spur einer Reduction statt.

Magnesiumsulfat: Beim Sättigen der Lösung mit diesem Salze bei Zimmertemperatur trat keine Spur eines Niederschlages auf. Zusatz von Essigsäure rief in der mit Salz gesättigten Flüssigkeit keine Trübung hervor. Wurde die mit M_2SO_4 gesättigte und dann mit ein wenig Essigsäure versetzte Flüssigkeit zum Sieden erhitzt, so trat ebenfalls keine sichtbare Fällung auf.

Millons Reagens: Reichliche Fällung. Beim Sieden wurde der Niederschlag erst rothgelb und dann schön roth.

Adamkiewicz' Reagens gab eine sehr schöne Reaction.

Nach dem Sieden mit 2% Schwefelsäure kurze Zeit gab

die Lösung mit der Trommer'schen Probe eine sehr schöne Reaction.

Speichel hatte nach 24stündiger Einwirkung keine Veränderung hervorgebracht. Die Lösung gab nach dieser Zeit mit der Trommer'schen Probe keine Spur einer Reduction.

Mit Pepsinchlorwasserstoffsäure versetzt, gab die Lösung nach 2 tägiger Digestion, wie die Nucleoalbumine, eine grobflockige Fällung.

Die nun mitgetheilten Reactionen zeigen also, dass der untersuchte Stoff zwar die allgemeinen Proteinreactionen giebt, dass er aber in mehreren Beziehungen ganz anders als die Eiweissstoffe sich verhält. Abgesehen von der physikalischen Beschaffenheit steht er dagegen dem Mucin in mehreren Beziehungen, und zwar in den folgenden, sehr nahe. Wie das Mucin wird er von überschüssiger Essigsäure nicht gelöst; bei Gegenwart von NaCl kann seine Lösung mit Essigsäure angesäuert werden, ohne einen Niederschlag zu geben, während die salzfreie oder salzarme Lösung von Essigsäure gefällt wird. Die chlorwasserstoffsäure oder die salzhaltige, mit Essigsäure angesäuerte, Lösung wird von Ferrocyanalkalium nicht gefällt; beim Sieden gerinnt die neutrale Lösung nicht, und der mit Salpetersäure erzeugte Niederschlag wird von überschüssiger Säure leicht gelöst. Endlich giebt die Substanz beim Sieden mit verdünnter Säure eine reducirende Substanz.

Von besonderem Interesse sind die Zersetzungsproducte dieser in der Eiweissdrüse vorkommenden Proteidsubstanz. Wird sie bei Zimmertemperatur mit Kalilauge behandelt, so zerfällt sie bald in Eiweiss und in Kohlehydrat. Das Eiweiss verhält sich wie Alkalialbumat, doch scheint durch mehr anhaltende Alkalieinwirkung eine theilweise Umwandlung in Pepton oder peptonähnliche Substanzen stattzufinden. Dasjenige Kohlehydrat, welches hierbei abgespalten wird, ist indessen nicht mit dem thierischen Gummi identisch und ebenso wenig scheint es mit dem gewöhnlichen Glycogen oder dem Achrooglycogen identisch zu sein. Diese Protein-substanz der Eiweissdrüse scheint also eine weit mehr complicirte Zusammensetzung als die Eiweissstoffe zu haben; und da man solche Substanzen, welche durch Spaltung neben anderen Körpern auch Eiweissstoffe liefern, Proteide nennt, habe ich diese Substanz als ein Proteid bezeichnet, und zwar, da sie neben Eiweiss auch

bei geeigneter Behandlung Zucker liefern kann, als ein Glycoprotein.

Das Glykoprotein kann theils durch Sieden mit Säuren und theils durch Alkalieinwirkung in Eiweiss und Kohlehydrat gespalten werden. Im ersteren Falle erhält man Acidalbuminat und Zucker in dem letzteren Alkalialbumat und ein dextrinähnliches Kohlehydrat. Da aus diesem letztern durch Säureeinwirkung der oben genannte Zucker leicht erhalten wird, bietet natürlich die Spaltung durch Alkalieinwirkung das grösste Interesse dar.

Zur Darstellung des dextrinähnlichen Spaltungsproductes wird die neutrale Lösung des Proteids mit so viel Alkali versetzt, dass ihr Gehalt daran etwa 5—10% KOH beträgt. Nachdem die Lösung einige Tage bei Zimmertemperatur gestanden hat, wird sie mit Salzsäure neutralisirt oder schwach angesäuert, und der dabei sich ausscheidende Niederschlag wird abfiltrirt. Dieser Niederschlag kann durch Auswaschen, Auflösen in Wasser mit Hülfe von etwas Alkali, neues Ausfällen und Auswaschen gereinigt werden. Die möglichst schwach alkalische Lösung dieser Substanz wird von Neutralsalzen, NaCl oder $MgSO_4$, in Substanz gefällt. Von Essigsäure wird sie gefällt und der Niederschlag löst sich schon in dem geringsten Ueberschusse der Säure leicht auf. Durch Zusatz von NaCl kann die Ausfällung mit Essigsäure nicht verhindert werden, wie denn auch der durch Essigsäurezusatz erzeugte Niederschlag in verdünnter NaCl-Lösung nicht löslich ist. Die schwach essigsäure oder salzsaure Lösung wird von Ferrocyankalium reichlich gefällt und ebenso giebt Salpetersäure eine im Ueberschuss nicht lösliche Fällung. Die beim Neutralisiren ausfallende Substanz verhält sich also wie Alkalialbuminat.

Das von diesem Niederschlage getrennte Filtrat enthält das fragliche Kohlehydrat nebst ein wenig Pepton oder Uebergangsstufen zwischen Alkalialbuminat und Pepton. Wird dieses Filtrat abwechselnd mit Chlorwasserstoffsäure und Quecksilberjodidjodkalium versetzt, bis keine weitere Trübung entsteht, so tritt in dem neuen Filtrate durch Zusatz von überschüssigem Alkohol in reichlicher Menge ein schneeweisser, flockiger Niederschlag von dem fraglichen Kohlehydrate auf. Durch Auflösung in Wasser, Zusatz von etwas Salzsäure und Zusatz von überschüssigem Alkohol wird es noch ein Mal ausgefällt und dann durch wiederholtes Auflösen in Wasser und Ausfällen mit Alkohol gereinigt. Ich habe

auch die von Landwehr zur Reindarstellung des Glycogens empfohlene Methode mit Eisenchlorid versucht; da aber diese Methode wegen der Schwerlöslichkeit der Eisenverbindung in selbst sehr starker Salzsäure mir in diesem Falle etwas gefährlich zu sein schien, habe ich sie nur 1 Mal versucht. Die Reindarstellung gelingt übrigens so leicht nach der nun mitgetheilten Methode, dass die Eisenmethode, welche übrigens ein Präparat von derselben Reinheit lieferte, nicht nothwendig ist.

Nach der nun angegebenen Methode ist es mir gelungen, das fragliche Kohlehydrat so rein zu gewinnen, dass mit der Lassaigue'schen Probe keine Spur von Stickstoff darin nachgewiesen werden konnte. Ich habe auch 2 solche, bei verschiedenen Gelegenheiten dargestellte Präparate analysirt und dabei Zahlen erhalten, welche am besten der Formel $2 (C_{12}H_{20}O_{10}) + H_2O$ entsprechen.

Die Formel $2 (C_{12}H_{20}O_{10}) + H_2O$ verlangt		gefunden	
		a	b
C	43,24%	43,10%	43,23%
H	6,30%	6,29%	6,26%
O	50,46%	50,61%	50,51%

Das bei der Zersetzung des Glycoproteides sich abspaltende Kohlehydrat gehört also allem Anscheine nach zu derselben Gruppe wie die Dextrine und das Glykogen. Mein erster Gedanke war darum auch der, dass ich hier endlich das Landwehr'sche Achrooglycogen gefunden hatte, was um so mehr wahrscheinlich zu sein schien, als mein Kohlehydrat ebenfalls von Jod nicht gefärbt wurde. Diese Vermuthung war indessen nicht richtig. Mein Kohlehydrat wird zwar, ebenso wie das Achrooglycogen, durch Alkalieinwirkung leicht gewonnen, und während es wie dieses von Säuren nicht gefällt wird, fällt es wie das Achrooglycogen aus einer Globulinlösung durch Essigsäurezusatz mit dem Eiweiss aus; aber in einer andern Hinsicht verhält es sich ganz anders. Das Achrooglycogen von Landwehr soll durch Speichel in Zucker übergeführt werden können, aber dies gelingt mit meinem Kohlehydrate nicht. Ich habe es tagelang mit wirksamem Speichel digerirt ohne eine Spur von Zucker zu gewinnen.

Auch von einem anderen Gesichtspunkte ist es fraglich, ob mein Kohlehydrat mit dem Achrooglycogen Landwehrs identisch sein kann. Landwehr hat zwar keine Angaben über das

optische Verhalten seines Achrooglycogens gemacht; da er aber die Substanz als ein Glycogen bezeichnet hat und das Glycogen rechtsdrehend ist, liegt die Annahme nahe, dass das Achrooglycogen eine rechtsdrehende Substanz sei. Das von mir isolirte Kohlehydrat ist nun dagegen eine linksdrehende Substanz.

Durch dieses Verhalten wie auch durch einige andere Eigenschaften ist mein Kohlehydrat von dem thierischen Gummi wesentlich verschieden. Von dem gewöhnlichen Schneckenglycogen, welches rechtsdrehend ist, unterscheidet es sich durch das abweichende optische Verhalten, durch die Eigenschaft von Jod nicht gefärbt zu werden, wie auch dadurch, dass das gewöhnliche Glycogen in einer Globulinlösung mit Essigsäure keinen in überschüssiger Säure unlöslichen Niederschlag giebt. In einer Lösung von Globulin und gewöhnlichem Glycogen giebt nämlich Essigsäure einen in überschüssiger Säure leicht löslichen Niederschlag. Bei dieser Sachlage, und da mein Kohlehydrat vor Allem dadurch von den Glycogenen sich unterscheidet, dass es mit Speichel keinen Zucker giebt, scheint es mir nicht erlaubt zu sein, dieses Kohlehydrat als ein Glycogen zu bezeichnen; und da es vor Allem, anderen thierischen Kohlehydraten gegenüber, durch die linksdrehende Wirkung charakterisirt ist, nenne ich es vorläufig nur thierisches Sinistrin.

Das Sinistrin löst sich leicht in Wasser zu einer schwach bläulichweiss opalisirenden Lösung, welche das Aussehen einer Glycogenlösung hat. Diese Lösung wird von Mineralsäuren, Quecksilberjodidjodkalium und Salzsäure, Gerbsäure, Kupfersulfat- oder Bleizuckerlösung nicht im geringsten getrübt. Bleiessig giebt dagegen einen voluminösen, flockigen Niederschlag. Die mit CuSO_4 versetzte Lösung giebt mit KOH eine blassblaue Flüssigkeit; beim Sieden findet keine Reaction statt. Von Jod wird die Lösung nicht gefärbt. Zu den Eigenschaften dieses Kohlehydrates werde ich übrigens, wie ich hoffe, ein anderes Mal, wenn ich eine grössere Menge Material gesammelt habe, zurückkommen.

Es ist offenbar, dass diejenige reducirende Substanz, welche beim Sieden des Glycoproteids mit Säure erhalten wird, von der Umsetzung des Sinistrins herrührt; und darum habe ich auch — soweit das spärliche Material mir dies ermöglichte — versucht, die reducirende Substanz zu studiren.

Ich erhitzte zu dem Ende die mit 2% Schwefelsäure ver-

setzte Lösung des Sinistrins im Wasserbade, bis durch Zusatz von überschüssigem Alkohol keine Fällung mehr erzeugt wurde. Die Schwefelsäure wurde dann mit Bleioxydhydrat entfernt, das Filtrat mit Schwefelwasserstoff entbleit und dann concentrirt. Ich erhielt dann einen syrupösen, ziemlich stark süßschmeckenden Rückstand, welcher in kaltem Alkohol fast unlöslich war. Auch in siedendem Alkohol war dieser Zucker sehr schwer löslich, und beim Erkalten schied sich das Gelöste anscheinend zum allergrössten Theil wieder aus. Alle meine Bemühungen diesen Zucker in Krystallen zu erhalten sind bisher ohne Erfolg gewesen, was wohl auch zum Theil daher rührt, dass ich bisher nur kleine Mengen davon erhalten habe.

Die Lösung des fraglichen Zuckers ist, im Gegensatz zu derjenigen des Sinistrins, dextrogyr, und wie es scheint ziemlich stark. Mit Hefe tritt eine unzweifelhafte Gährung ein; aber diese Gährung scheint nicht sogleich, sondern erst nachdem die Lösung einige Zeit bei etwa 40° C. gestanden hat, stattzufinden. Ich habe diese Versuche nur mit gründlich gewaschener Hefe angestellt, und wegen der nach einiger Zeit stattfindenden Selbstvergährung der Hefe wurden stets Controleveruche mit Wasser und derselben Hefemenge angestellt. Die Gährungsfähigkeit des fraglichen Zuckers scheint mir also ganz unzweifelhaft zu sein, und wenn die Gährung einmal angefangen hat, geht sie ziemlich rasch von Statten. Bei einem Vergleiche der gebildeten Kohlensäuremenge mit der Menge des gelösten Zuckers, scheint es mir doch etwas zweifelhaft, ob es hier nur um einen gährungsfähigen Zucker oder um ein Gemenge von 2 Zuckerarten, einem gährungsfähigen und einem nichtgährungsfähigen, sich handele. Ich habe noch nicht die zur Entscheidung dieser Frage erforderliche Menge Material erhalten können. Zu den 3 gewöhnlichen Zuckerproben, der Trommer'schen Probe, der Wismuth- und der Kaliprobe verhält sich dieser Zucker wie gewöhnliche Glycose.

Aus dem Proteide der Eiweissdrüse wird also beim Sieden mit verdünnter Säure ein gährungsfähiger Zucker erhalten, welcher zu den 3 gewöhnlichen Zuckerproben wie Glycose sich verhält. Unter solchen Umständen hat es kein Wunder mehr, wenn Eichwald, welcher mit einem von dem Proteide unzweifelhaft verunreinigten Mucin arbeitete, die mit Säuren erhaltene reducirende Substanz als wahre Glycose bezeichnen zu können glaubte.

In dem Vorhergehenden habe ich das Sinistrin und den Zucker als Spaltungsproducte einer complicirten Proteidsubstanz, welche ich gerade aus dem Grunde, dass sie als Spaltungsproducte Eiweiss und Zucker liefern kann, Glycoproteid nannte, betrachtet. Eine andere Möglichkeit würde noch die sein, dass der von mir als Glycoproteid bezeichnete Stoff kein einheitlicher Stoff, sondern nur ein Gemenge von einem Kohlehydrat (Sinistrin) mit Globulin gewesen sei. Diese letztere Annahme ist dieselbe, welche Landwehr für die Mucine im Allgemeinen gemacht hat; und da es selbstverständlich von einem sehr grossen Interesse ist zu erfahren, ob es überhaupt eine grosse Gruppe von eiweissähnlichen Substanzen giebt, welche bei ihrer Zersetzung Kohlehydrate als Spaltungsproducte liefern, habe ich diese Frage zum Gegenstand einer eingehenden Prüfung gemacht.

Die gute Uebereinstimmung der verschiedenen Analysen des Glycoproteids sprechen wohl wenigstens mit Wahrscheinlichkeit für die Annahme, dass es hier nicht um ein Gemenge, sondern um ein chemisches Individuum sich handle. Da es mir indessen wegen Mangel an dem erforderlichen Materiale nicht möglich gewesen ist, Analysen der durch fractionirte Fällung gereinigten Substanz auszuführen, kann ich natürlich eine solche Möglichkeit nicht ganz zurückweisen. Dass es indessen, selbst wenn hier ein Gemenge vorgelegen hätte, nicht um ein Gemenge von Eiweiss und Sinistrin sich handeln könnte, dürfte wohl ziemlich leicht zu zeigen sein.

Ich will in dieser Hinsicht sogleich eines Versuches Erwähnung thun, den ich mehrmals gemacht habe und der von Anderen leicht wiederholt werden kann. Dieser Versuch besteht darin, dass die Substanz in Salzsäure von 0,2—0,3 % gelöst und dann sehr kurze Zeit zum Sieden erhitzt wird. Hierbei findet fast sogleich eine Spaltung statt, welche durch das veränderte Verhalten der Lösung zu Blutlaugensalz gekennzeichnet ist. Wenn die Reindarstellung des Proteides gelungen ist, so wird die mit einer, zur Auflösung des zuerst entstandenen Niederschlages genügenden Menge Salzsäure versetzte Flüssigkeit von Blutlaugensalz gar nicht getrübt. Theilt man nun diese saure Lösung in 2 Portionen, erhitzt die eine und hält sie im Sieden etwa eine Minute, so findet man nun, dass diese Probe nach dem Erkalten durch Zusatz von Ferrocyankalium reichlich und grobflockig gefällt wird, während

die nicht erhitze Probe davon gar nicht gefällt wird. Ich kann dies nicht anders als in der Weise mir erklären, dass das Glycoproteid durch das Erhitzen in saurer Lösung in fällbares Eiweiss und Sinistrin sich spaltet. Die Flüssigkeit enthielt nämlich nun Sinistrin, welches bei dieser kurzdauernden Einwirkung der Säure noch nicht in Zucker übergegangen ist.

Zu demselben Resultate gelangt man auch, wenn das Proteid mit Pepsinchlorwasserstoffsäure (so rein, dass mit Ferrocyankalium keine Trübung erzeugt wird) digerirt wird. Hier wird auch die Lösung nach einiger Zeit von Ferrocyankalium gefällt, während das Sinistrin noch nicht im Geringsten verändert worden ist. Dieses Kohlehydrat wird nämlich selbst nach mehrere Tage anhaltender Digestion mit Magensaft nur spurenweise in Zucker übergeführt. Bei der Verdauung des Proteides sind doch die Verhältnisse etwas complicirter als bei dem einfachen Erhitzen der sauren Lösung. Bei der Verdauung findet nämlich eine tiefgreifende Veränderung statt, und es tritt allmählich wie bei der Verdauung des Caseins und der Nucleoalbumine im Allgemeinen ein flockiger Niederschlag auf.

Wie durch Sieden mit verdünnter Säure kann auch umgekehrt durch Erhitzen mit verdünntem Alkali die Abspaltung von Eiweiss aus dem Proteide demonstrirt werden. Die mit verdünntem Alkali einige Zeit im Wasserbade erwärmte Lösung giebt nämlich nach dem Erkalten und dem Ansäuern mit Salzsäure einen reichlichen, flockigen Niederschlag bei Zusatz von Ferrocyankalium. Eine solche Lösung giebt auch mit Salpetersäure einen in überschüssiger Säure unlöslichen Niederschlag, während die in der ursprünglichen Lösung mit Salpetersäure erzeugte Fällung von überschüssiger Säure leicht gelöst wird.

Diese Versuche dürften also wohl zeigen, dass das Proteid kein Gemenge von Kohlehydrat mit fällbarem Eiweiss ist, sondern dass das fällbare Eiweiss erst bei der Zersetzung des Proteides gebildet wird. Um diese Frage aber ganz sicher zu entscheiden, habe ich auch Gemenge von Sinistrin mit Globulin dargestellt und das Verhalten der so gewonnenen Lösungen geprüft. Eine solche Lösung wird nämlich, wie ich schon oben angedeutet habe, von Essigsäure wie die ursprüngliche Proteidlösung gefällt und der Niederschlag von überschüssiger Säure nicht gelöst; und es wäre also denkbar, dass die Gegenwart des Sinistrins auch die übrigen

Reactionen des in dem Gemenge enthaltenen Eiweisses verändern könnte.

Ich habe also einige Versuche mit solchen Gemengen angestellt und als Beispiel führe ich den folgenden an. Die Lösung enthielt in diesem Falle 0,716% Sinistrin und 0,350% Serumglobulin. Die Reaction war fast neutral, nur äusserst schwach alkalisch. Des Vergleiches halber führe ich hier die Reactionen der zwei Lösungen neben einander an.

A. Lösung von Glycoproteid.

1% Substanz.

Essigsäure: Reichliche, in überschüssiger Säure nicht lösliche Fällung.

Salzsäure: Reichliche, in einem kleinen Ueberschuss der Säure leicht lösliche Fällung.

Ferrocyankalium: In der salzsäurehaltigen Lösung keine Fällung.

In der, nach Zusatz von 8% NaCl mit Essigsäure angesäuerten Lösung gab Ferrocyankalium keine Trübung.

Salpetersäure gab einen im Ueberschuss löslichen Niederschlag.

Alaunlösung gab einen, erst in einem sehr grossen Ueberschusse schwer löslichen Niederschlag.

Quecksilberchlorid mit Salzsäure gab keinen Niederschlag.

Kochsalz bis zur Sättigung in die neutrale Lösung eingetragen, gab gar keine Trübung.

Magnesiumsulfat bis zur Sättigung eingetragen, keine Fällung.

B. Lösung von Serumglobulin

0,350% und Sinistrin 0,716%.

Essigsäure: wie in A.

Salzsäure: wie in A.

Ferrocyankalium: In der salzsäurehaltigen Lösung, reichliche, grobflockige Fällung.

In der wie A nach Zusatz von NaCl angesäuerten Lösung gab Ferrocyankalium binnen kurzer Zeit eine reichliche, flockige Fällung.

Salpetersäure gab einen in überschüssiger Säure unlöslichen Niederschlag.

Alaunlösung gab einen in einem Ueberschuss des Reagenses ziemlich leicht löslichen Niederschlag.

Quecksilberchlorid mit Salzsäure gab einen reichlichen, grobflockigen Niederschlag.

Kochsalz bis zur Sättigung in die neutrale Lösung eingetragen, gab eine reichliche, feinflockige Fällung.

Magnesiumsulfat bis zur Sättigung eingetragen, sehr reichliche Fällung.

Abgesehen von dem übereinstimmenden Verhalten zu überschüssiger Essigsäure und verdünnter Salzsäure in kleiner Menge, verhalten sich also die beiden Lösungen zu den hier angeführten Reagentien so grundverschieden, dass ich wenigstens es ganz unmöglich finde, die von mir als Glycoproteid bezeichnete Substanz als ein Gemenge von Sinistrin mit irgend einem durch die gewöhnlichen Reagentien fällbaren Eiweissstoffe zu betrachten. Dass das Glycoproteid ebensowenig ein Gemenge von Sinistrin mit Pepton sein kann, geht einerseits daraus hervor, dass solche Gemenge zu Essigsäure und verdünnten Säuren ganz anders als das Proteid sich verhalten, wie auch daraus, dass das Proteid beim Erhitzen mit verdünnten Säuren oder Alkalien fällbare Eiweissstoffe, Acid- oder Alkalialbuminate liefert.

Es bleibt also nach meiner Ansicht nichts anderes übrig, als den von mir Glycoproteid genannten Stoff wirklich als einen zusammengesetzten Stoff, welcher bei geeigneter Behandlung in Eiweiss und Kohlehydrat sich spalten kann, aufzufassen.

Es ist mir also gelungen, nicht nur aus dem reinen Schneckenmucin, sondern auch und vor Allem aus dem Glycoproteid der Eiweissdrüse durch Alkalieinwirkung Kohlehydrate darzustellen. Diese Kohlehydrate sind nun aus oben angeführten Gründen nach meiner Ansicht nicht als solche in den Geweben enthalten, sondern sie gehen durch eine Spaltung aus den obengenannten Proteidsubstanzen hervor; und ich betrachtete darum auch die in diesem Aufsätze besprochenen Mucine wie auch das Glycoproteid als Repräsentanten einer grossen Gruppe von Proteiden, welche dadurch gekennzeichnet sind, dass sie bei geeigneter Behandlung in Eiweiss und Kohlehydrate sich spalten können.

Die Existenz einer oder mehrerer solcher Gruppen ist übrigens schon von andern Forschern angenommen worden, und ich erinnere in dieser Hinsicht an die Arbeiten von Krukenberg¹⁾ und Paschutin²⁾. Die „Hyalogene“ von Krukenberg stellen eine solche Gruppe von „eiweissartigen Stoffen“ dar, welche *intra vitam* bei der Selbstverflüssigung eiweissartiger Gewebsbestand-

1) „Ueber die Hyaline“, Würzburg 1863 und „Die chemischen Bestandtheile des Knorpels“, Zeitschrift für Biologie Bd. II.

2) Ueber Kohlehydratentartung der Gewebe. Centralblatt für die med. Wissenschaften. No. 40. 1884.

theile leicht lösliche, direct oder indirect reducirend wirkende Substanzen (Hyaline) und schliesslich auch reine Kohlehydrate liefern sollen.

Ich will hier nicht auf die Frage eingehen, ob es berechtigt sein kann, die verschiedenartigsten Substanzen unter dem Namen Hyalogene in eine Gruppe zusammenzuführen, und ebensowenig will ich die schwierige Frage, in wie weit die Hyaline als Gemenge oder chemische Individuen anzusehen sind, hier besprechen. Ich betrachte nämlich dies jetzt als Nebensache. Das Wesentlichste und Wichtigste der Krukenberg'schen Ansichten und Untersuchungen über diese Frage liegt nämlich nach meiner Ansicht darin, dass er eine Entstehung von Kohlehydraten aus eiweissartigen Substanzen im Thierkörper annimmt und für diese Annahme auch experimentelle Beweise angeführt hat.

In der Hauptsache bin ich darum auch mit ihm ganz einverstanden; um aber meine Stellung zu dieser Frage noch bestimmter anzugeben, muss ich bemerken, dass ich die Entstehung von Kohlehydraten aus genuinen Eiweissstoffen im gewöhnlichen Sinne für wenig wahrscheinlich halte und dass ich als Muttersubstanzen der abgespaltenen Kohlehydrate zusammengesetztere Stoffe, Proteide, betrachte.

Soweit ich aus eigenen Beobachtungen und Untersuchungen schliessen kann, können unsere bisherigen Vorstellungen über die eiweissartigen Bestandtheile des Protoplasmas wohl kaum richtig sein. Die Hauptmasse der freien Zellen und der zellenreichen Organe — wie die Drüsen — besteht nämlich nach meiner Erfahrung nicht aus genuinen Eiweissstoffen im gewöhnlichen Sinne, also nicht aus Globulinen oder Albuminen, sondern aus weit mehr zusammengesetzten Proteidsubstanzen, welche ausser Stickstoff und Schwefel gewöhnlichenfalls auch Phosphor und Eisen enthalten. Diese Proteidsubstanzen repräsentiren das eigentliche Protoplasmaeiweiss; und die Albumine und Globuline dürften vielmehr theils als das Nährmaterial der Zelle und theils als Zerfallsproducte bei der chemischen Umwandlung des Protoplasmas aufzufassen sein.

Das Mucin, welches aus einer Umwandlung des Protoplasmas hervorgeht, ist nun nach meiner Ansicht kein Gemenge von Eiweiss und Kohlehydrat, sondern ein besonderes Protoplasmaproteid, und dasselbe gilt von dem Glycoprotoid der Eiweissdrüse. Aus solchen oder ähnlichen, wie es scheint im Thierkörper weit ver-

breiteten Proteiden können nun nach meiner Ansicht Kohlehydrate abgespaltet werden, während die Entstehung von Kohlehydraten aus genuinen Eiweisstoffen im gewöhnlichen Sinne weniger wahrscheinlich oder jedenfalls etwas weniger oft Vorkommendes sein dürfte.

Diese Anschauungen stehen auch in gutem Einklange mit der Ansicht von Paschutin über Kohlehydratentartung der Gewebe. Nach ihm sollen nämlich bei einigen Nutritionsstörungen „einige complicirte organische Stoffe, welche Bestandtheile der organisirten Materie sind,“ derart geschieden (disociirt) werden, dass eine grosse Menge von Kohlehydraten frei wird.

Ich glaube doch, dass eine solche Zersetzung von Proteiden unter Abspaltung von Kohlehydraten nicht nur bei Nutritionsstörungen, sondern auch unter physiologischen Verhältnissen vorkommt. So kann ich mich nicht der Ansicht anschliessen, dass das gewöhnliche Glykogen im Thierkörper direct durch eine Anhydridbildung aus anderen, sehr verschiedenartigen Kohlehydraten entsteht, sondern ich glaube vielmehr, dass es aus einer Spaltung eines Glycoproteides schon *intra vitam* hervorgeht. Dies ist natürlich nur eine Hypothese; aber sie könnte vielleicht einer Prüfung werth sein. Sie erklärt nämlich leicht die Einwirkung nicht nur der verschiedenartigen Kohlehydrate, sondern auch der Eiweisstoffe auf die Glycogenbildung; sie erklärt auch die im Diabetes gleichzeitig mit der starken Zuckerausscheidung oft beobachtete, gesteigerte Eiweissumsetzung, und sie steht auch im Einklange mit der allbekannten Erfahrung, dass aus den verschiedenen Organen nie alles Glycogen mit Wasser extrahirt werden kann. Erst durch Sieden mit alkalihaltigem Wasser lässt sich die ganze Glycogenmenge den Organen entziehen, und besonders lehrreich sind in dieser Hinsicht die Erfahrungen Paschutins. Durch 6-stündiges Kochen bei gewöhnlichem Druck konnte P. aus den fein zerhackten Knorpeln gar kein Glycogen gewinnen; wurden die Knorpel dagegen mit alkalihaltigem Wasser gekocht, so erhielt er aus ihnen etwa dieselbe Menge Glycogen wie aus den Muskeln.

Auch mit Rücksicht auf die Entstehung anderer Kohlehydrate im Thierkörper, wie z. B. des Milchzuckers, dürfte die Untersuchung der Gewebe nicht nur auf freie Kohlehydrate, sondern auch auf Proteide von Interesse sein. Die Leichtigkeit, mit welcher

das Glycoproteid der Eiweisdrüse in Kohlehydrat und Eiweiss sich spaltet, dürfte doch wohl zeigen, dass solche eingreifende Agentien wie stark alkalische Flüssigkeiten oder mehrstündiges Erhitzen im Papin'schen Digestor nicht ohne Weiteres zur Entscheidung der Frage, ob die Kohlehydrate in den Organen als solche enthalten seien, verwendet werden können.

D. Das Nucleoalbumin der Schneckenleber.

Schon oben habe ich angedeutet, dass bei der Darstellung des Schneckenmucins nach dem älteren Verfahren der mit Essigsäure erhaltene Niederschlag als Verunreinigung eine aus der Leber stammende Proteinsubstanz enthalten kann, und es bleibt mir also nur übrig von dieser Substanz zu sprechen. Für die Mucinfrage hat diese Substanz kein besonderes Interesse; sie hat nur die Bedeutung einer Verunreinigung, und darum kann ich mich auch bei ihrer Besprechung ganz kurz fassen.

Werden die frisch herausgenommenen, fein zerriebenen Lebern mit Wasser extrahirt, so erhält man ein ganz klares, stark braungelb gefärbtes Filtrat, welches von überschüssiger Essigsäure reichlich gefällt wird. Der erst durch Decantation gewaschene und dann auf ein Filtrum gesammelte Niederschlag, welcher eine braune Farbe hat, wird in Wasser mit Hülfe von möglichst wenig Alkali gelöst, die Lösung filtrirt und noch ein Mal mit Essigsäure gefällt. Der Niederschlag wird wiederum sorgfältig gewaschen, aber selbst wenn das Waschwasser ganz ungefärbt ist, behält doch der Niederschlag noch seine braune Farbe.

Behufs weiterer Reinigung muss nun dieser Niederschlag mit Alkohol extrahirt werden, und hierbei wird eine reichliche Menge einer gelbbraun gefärbten, nach dem Eintrocknen amorpher, fettähnlicher Masse, welche doch aus mehreren Stoffen zu bestehen scheint, erhalten. Die Alkoholbehandlung muss eine sehr anhaltende sein; und mir ist erst nach ein paar Wochen, während welcher der Niederschlag mit Alkohol von 70–80° C. behandelt wurde, eine so vollständige Erschöpfung des Niederschlages gelungen, dass neue Mengen Alkohol im Laufe von 24 Stunden keine Spur einer gelblichen Färbung annahmen. Selbst nach einer solchen Behandlung ist doch der Niederschlag noch graubraun gefärbt und nach dem Trocknen stellt er ein gelbgraues Pulver

dar. Das so gewonnene Pulver wurde dann mit Aether behandelt, wobei nichts gelöst wurde, dann getrocknet und zu der Elementaranalyse verwendet. Die Analyse der bei 110° C. getrockneten Substanz gab folgende Zahlen.

Präparat I. Der Gehalt des Präparates an Asche war 2,02%.

a 0,3147 gr Substanz, als aschefrei berechnet, lieferten 0,193 gr Wasser und 0,608 gr Kohlensäure = 6,81% H und 52,37% C.

b 0,3533 gr Substanz, als aschefrei berechnet, lieferten 42 ccm N-gas bei 3,5° C. und 749 mm Hg = 14,33% N.

Präparat II. Der Gehalt des Präparates an Asche war 1,99%.

1,3254 gr aschehaltige Substanz lieferten 0,103 gr BaSO₄ und 0,021 gr Mg₃P₂O₇ = 1,06% S und 0,42% P.

Da die Substanz bei ihrer Verbrennung Phosphorsäure lieferte, welche bei der Aschebestimmung mit gewogen wurde, ist es nicht möglich eine ganz exacte Zahl für den Phosphorgehalt der Substanz zu geben. Die Zusammensetzung der Substanz, wie sie bei der Analyse gefunden wurde, war also folgende.

C = 52,37%

H = 6,81%

N = 14,33%

S = 1,06%

P = 0,42%

Von besonderem Interesse war die Untersuchung der Asche. Sie bestand nämlich, abgesehen von etwas Calcium, aus Eisen und Phosphorsäure. Da die Substanz, wie oben gesagt, noch etwas bräunlich gefärbt war, könnte man glauben, dass das Eisen nur von denjenigen Resten des braunen Farbstoffes, welche vom Alkohol nicht weggenommen worden waren, stammte; und aus diesem Grunde habe ich einen Theil des oben erwähnten, nach Verdunsten des Alkohols zurückgebliebenen, braungelben Rückstandes eingeäschert. Ich konnte darin nur eine verschwindend kleine Spur von Eisen nachweisen, und die beim Einäschern der Substanz gefundenen, reichlichen Mengen Eisen können also nicht von dem braunen Farbstoffe herrühren. Die untersuchte Substanz ist also, wie die Nucleoalbumine im Allgemeinen, eisenhaltig; und zwar scheint sie reichliche Mengen davon zu enthalten.

Durch die Alkoholbehandlung wird die Substanz unlöslich und zur Prüfung der qualitativen Reactionen musste ich also Lö-

sungen der noch stark braungefärbten Substanz verwenden. Um das Verhalten solcher Lösungen zu verschiedenen Reagentien zu zeigen, führe ich hier die Reactionen einer Lösung, welche 0,86% Substanz enthielt, an. Diese Lösung, welche mit möglichst wenig Alkali bereitet war, reagirte neutral oder richtiger sehr schwach sauer.

Beim Sieden gerann diese Lösung nicht. Selbst nach Zusatz von so viel Essigsäure, dass sie bei Zimmertemperatur noch keine sichtbare Fällung gab, trübte sie sich nicht beim Sieden. Von etwas mehr Essigsäure wurde sie beim Sieden wie auch schon bei Zimmertemperatur gefällt.

Essigsäure gab eine reichliche, feinflockige Fällung, welche beim Sieden von einem mässigen, bei Zimmertemperatur dagegen erst von einem grossen Ueberschuss der Säure gelöst wurde.

Zusatz von 10% NaCl war ohne Einwirkung auf die Menge Essigsäure, welche zur Fällung der Substanz bei Zimmertemperatur erforderlich war.

Chlorwasserstoffsäure in sehr kleiner Menge zugesetzt gab eine reichliche Fällung, welche von einem sehr kleinen Säureüberschuss wieder klar gelöst wurde. Die mit Essigsäure erhaltene Fällung löste sich ebenfalls sehr leicht in einer kleinen Menge Salzsäure.

Die Chlorwasserstoffsäurelösung wurde reichlich gefällt von Ferrocyankalium, Quecksilberchlorid und Quecksilberjodidjodkalium.

Gerbsäure gab in der ursprünglichen Lösung eine reichliche, flockige Fällung.

NaCl bis zur Sättigung eingetragen gab eine reichliche, flockige Fällung.

Bleizucker: Reichliche Fällung.

Alaunlösung gab einen, im Ueberschuss unlöslichen Niederschlag.

Kupfersulfat: Reichliche Fällung, welche von überschüssigem Alkali zu einer braunen Flüssigkeit gelöst wurde. Beim Sieden trat keine sichtbare Reduction auf.

Salpetersäure: Reichliche, im Ueberschuss unlösliche Fällung. Beim Erwärmen schöne Xanthoproteinsäurereaction.

Mit Speichel während 24 Stunden digerirt gab die Lösung keine deutliche Trommer'sche Reaction.

Beim Sieden mit verdünnter Schwefelsäure im Wasserbade gab die Lösung dagegen in weniger als einer Stunde in ziemlicher Menge eine reducirende Substanz. Ob diese Eigenschaft, beim Erwärmen mit verdünnter Säure eine reducirende Substanz zu geben, dem fraglichen Stoffe wirklich zukommt oder nur von einer verunreinigenden Substanz herrührt, muss ich dahingestellt sein lassen. Das oben erwähnte, mit Alkohol extrahirbare, braungelb gefärbte Gemenge giebt nämlich ebenfalls beim Erwärmen mit verdünnter Säure eine reducirende Substanz.

Von besonderem Interesse ist das Verhalten der nun besprochenen Substanz bei der Pepsinverdauung. Löst man die möglichst genau mit Wasser ausgewaschene Substanz in Chlorwasserstoffsäure von 0,2—0,3%, so erhält man eine ganz klare Lösung. Wird ein Theil dieser Lösung mit Pepsin versetzt, so dauert es nicht lange, bevor sie erst opalisirend, dann etwas trübe wird und zuletzt einen reichlichen, flockigen Niederschlag absetzt. Ein anderer, der Controle halber auf ganz dieselbe Weise erwärmte, aber mit Pepsin nicht versetzter Theil der sauren Lösung verbleibt während dieser Zeit ganz klar, und er kann wochenlang ohne sichtbare Veränderung erwärmt werden.

Den bei der Pepsinverdauung entstandenen Niederschlag habe ich näher untersucht und stark phosphorhaltig gefunden. Wegen der nur unbedeutenden Mengen Substanz, die ich erhalten habe, kann ich für den Phosphorgehalt keine ganz exacte Zahl geben. Bei der Analyse habe ich doch darin 2,1% P. gefunden.

Bei der Pepsinverdauung liefert also die fragliche Lebersubstanz Nuclein, und sie verhält sich in dieser Beziehung wie auch in mehreren anderen wie das Casein (welches doch von Essigsäure leichter gelöst wird) und wie die übrigen, bisher untersuchten Nucleoalbumine. Aus diesem Grunde habe ich sie auch als Nucleoalbumin bezeichnet.

Aus den nun mitgetheilten Untersuchungen über das Mucin von *Helix pomatia* geht es also hervor, dass dieses Mucin ein Gemenge von wahren Mucin mit dem Glycoproteid der Eiweiss-

drüse, dem Nucleoalbumin der Leber und dem Achrooglycogen in den Fällen, wo diese Substanz in den Thieren sich vorfindet, sein kann. Die Verhältnisse sind also hier ziemlich verwickelt, und noch verwickelter gestalten sie sich in einigen anderen Fällen, wie z. B. bei dem Studium der merkwürdigen Schleimabsonderung von *Myxine glutinosa*. Hier ist die Untersuchung in der That so schwierig, dass alle meine Bemühungen bisher ganz umsonst gewesen sind. Aber auch in den Fällen, wo die Verhältnisse scheinbar weit einfacher sind, wie bei dem Studium des Mucins der Magen- und Darmschleimhaut oder der Galle (welches, beiläufig bemerkt, nach meiner Erfahrung gewiss nicht ein Gemenge von Globulin und Gallensäuren ist) stösst man auf sehr grosse Schwierigkeiten. Das Studium der Mucinfrage ist darum auch lange nicht so einfach, wie man glauben sollte, und die Verhältnisse sind hier nicht so einfach, wie man in der letzten Zeit geglaubt hat. Meiner Meinung nach befinden wir uns erst am Anfange der Lösung dieser Frage, welche erst durch sehr umfassende, vergleichend anatomische und physiologisch-chemische Untersuchungen ihre endgültige Lösung finden wird.

Nachschrift.

Da ich mit dem Lesen des letzten Correcturbogens dieser Arbeit beschäftigt war, erhielt ich eben das letzte Heft (4—5) der Zeitschrift f. physiologische Chemie mir zugesandt. In diesem Hefte findet sich eine Abhandlung von H. Landwehr „Zur Lehre von der Resorption des Fettes“, in welcher auch die Natur der Mucine besprochen wird. Aus dieser Abhandlung habe ich nun ersehen, dass Landwehr seine ältere Ansicht nunmehr geändert hat, insofern als er die Mucine nicht mehr als Gemenge von thierischem Gummi und Globulin, sondern als unzweifelhafte chemische Individuen betrachtet. Wenn ich ihn nicht missverstanden habe, betrachtet er auch das thierische Gummi — bez. die beim Sieden mit Säuren entstehende, reducirende Substanz — als ein Spaltungsproduct des Mucins; und es besteht also nunmehr zwischen un-

seren Ansichten die allerbeste Uebereinstimmung. Bei einer solchen Sachlage fallen die von mir gegen seine frühere Ansicht gerichteten, kritischen Bemerkungen natürlich weg, und ich bedaure nur, dass es mir nicht möglich ist, die nach dem Erscheinen der Arbeit von Landwehr wünschenswerth gewordenen Veränderungen in dem Texte zu machen.

(Aus dem Privatlaboratorium von Th. Weyl.)

Ueber die Bestimmung der Nitrate im Harn.

Von

Th. Weyl und stud. **A. Meyer.**

Die direkte Bestimmung der Nitrate im Menschenharn nach der Methode von Schulze bietet bekanntlich deshalb Schwierigkeiten, weil der Harn beim Eindampfen im Zersetzungs-Kölbchen meist stark schäumt und den Versuch vereitelt.

Aus diesem Grunde haben Weyl und Citron in einer demnächst erscheinenden¹⁾ ausführlichen Arbeit nach dem Vorgange von Röhmann die Nitrate stets im Alkohl-Extracte des Harnes bestimmt.

Diese Methode liefert sehr genaue Resultate, ist aber zeitraubend und, wenn man viele Bestimmungen auszuführen hat, leider auch sehr kostspielig.

Wir beschreiben im Folgenden ein einfaches Verfahren zur Nitratbestimmung im menschlichen Harn²⁾, welches genaue Resultate liefert, leicht ausführbar ist und, da die Benutzung von Alkohl fortfällt, keine nennenswerthe Kosten verursacht.

300 ccm frischen Harnes³⁾ werden mit 30—40 ccm einer

1) In Virchows Archiv.

2) Dasselbe lässt sich auch auf Organ-Extracte, seröse Flüssigkeiten etc. anwenden.

3) Derselbe muss frei von N_2O_3 sein, weil sich bekanntlich salpetrige Säure mit Eisenchlorür und Salzsäure weniger genau als Salpetersäure bestimmen lässt.