

Über saures und neutrales Kupferalbuminat.

Von

G. Bonamartini und M. Lombardi.

(Aus dem Institut für experimentelle Hygiene in Rom.)

(Der Redaktion zugegangen am 5. November 1908.)

Als wir verschiedene Substanzen, die Albuminoide enthielten, für industrielle Zwecke analysierten, um die Menge des Proteinstickstoffs festzustellen,¹⁾ fanden wir nicht geringe Schwankungen im Prozentgehalt desselben. Da wir einen rein analytischen Irrtum unbedingt ausschließen konnten, kamen wir zu dem Schluß, daß die Metallverbindungen der Albuminoide, die den Gegenstand der Analyse bildeten, substantiell voneinander verschieden sein mußten. Wir sahen daraufhin die einschlägige chemische Literatur durch und fanden, daß fast alle früheren Forscher große Schwankungen in dem Verhältnis der Menge des Albumins und des Metalls, das sich in den analysierten Verbindungen vorfand, beobachtet hatten. So wollten einige die Verschiedenheiten als Adhäsions-, andere sie als Absorptionerscheinungen erklären, andere wieder nahmen an, daß es sich um Subdivisionen des Metalls im Albumin, wieder andere, daß es sich um feste Lösungen handle, bis Galeotti eine diesbezügliche lange und interessante Abhandlung²⁾ veröffentlichte, in der er die Frage vom physikalisch-chemischen Standpunkt behandelte. Wir haben nun das Studium der Metallverbindungen der Albuminoide aufgenommen, um festzustellen, 1. ob es sich wirklich um eine oder mehrere chemische Verbindungen handelt, 2. ob die resultierenden

¹⁾ Durch Fällung des Stickstoffes mit Kupfersulfat und Sodalösung von bekanntem Gehalt.

²⁾ Über die sogenannten Metallverbindungen der Eiweißkörper. Diese Zeitschrift, Bd. XL, S. 492.

chemischen Verbindungen ein und desselben Typus seien, 3. ob es möglich sei, konstante Verbindungen bei Innehaltung bestimmter Bedingungen zu erhalten.

Bei unseren früheren Versuchen¹⁾ erhielten wir zwei verschiedene Typen von Kupferverbindungen mit Albumin, den ersten Typus nannten wir Säureverbindung; in ihm zeigte sich das Albumin mit Kupfersulfat vereinigt. Einen zweiten Typus nannten wir Neutralverbindung, hier war das Albumin mit dem Kupfer zu 32,30% verbunden. Weil die Verbindung nicht ausgewaschen wurde, enthielt sie noch 7,51% SO_4 .

In dieser Abhandlung nun bringen wir die Resultate dreier neuer Versuchsserien.

Erste Serie.

Als Eiweißlösung benutzten wir das Eiweiß einer Anzahl Eier, das in Wasser aufgelöst wurde; die filtrierte, klar gewordene Lösung wurde auf ein Volumen von 600 ccm gebracht; die Kupferlösung wurde durch Auflösen von $60 \text{ g CuSO}_4 + 5 \text{ H}_2\text{O}$ in einem Liter Wasser hergestellt.

Es wurde in 25 ccm der Eiweißlösung der Gehalt an trockenem und aschefreiem Albumin bestimmt, indem die Lösung im Platintiegel im Wasserbad bei 40° zur Trockene gebracht wurde; dann wurde sie bei 100° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und endlich durch Glühen die Asche bestimmt, die von dem Gewichte des bei 100° getrockneten Albumins in Abzug gebracht wurde. Es wurden nun für 2 Versuchsreihen je 10 mal 25 ccm Albuminlösung abgemessen und in der ersten Portion zunächst durch vorsichtigen tropfenweisen Zusatz von Kupfersulfatlösung der Punkt bestimmt, bei dem sich der Niederschlag auch nach lebhaftem Umrühren mit einem Glasstabe gerade eben nicht mehr auflöste. Hierzu waren 1,5 ccm Kupferlösung erforderlich; wir fügten also auch zu den anderen Proben zunächst 1,5 ccm Kupfersulfatlösung und dann der Reihe nach von Nr. 1 bis 10 5 — 10 — 15 — 20 — 25 — 30 — 35 — 40 — 45 — 50 ccm derselben Kupfersulfatlösung hinzu. Die 10 Proben der anderen Gruppe wurden in

¹⁾ Rendiconti Società Chimica di Roma 28. Luglio 1907.

derselben Weise behandelt (Temperatur des Zimmers 16,5°). Wir erhielten so 2mal je 10 gleiche Fällungen von himmelblauer Farbe, über denen eine mehr oder weniger klare oder gefärbte Flüssigkeit stand. Nach ungefähr 10 Stunden Stehens wurde auf gewogenem Filter filtriert und zum 3maligen Auswaschen des Becherglases jedesmal 15 ccm des abgelaufenen Filtrates benutzt. Ein Nachwaschen mit Wasser wurde vollständig vermieden. Nach 8 Stunden war die Flüssigkeit von den Niederschlägen abgelaufen, und die 10 Niederschläge der ersten Gruppe wurden sorgfältig auf Tonscherben und zwischen Papier, zum Schluß bei 100° im Trockenschrank getrocknet und in den Exsikkator über H_2SO_4 gebracht. Endlich wurde der Niederschlag samt Filter im Wägegläschen gewogen. Die 10 Niederschläge der zweiten Gruppe wurden in gleicher Weise behandelt und dienten zur Analyse. Es wurde in ihnen das SO_4 und das Cu in der in der früheren Abhandlung beschriebenen Weise bestimmt und das Albumin aus der Differenz berechnet. Die prozentualen Werte und die stöchiometrische Beziehung zwischen Cu und SO_4 finden sich in der Tabelle I.

Die Filtrate, mehr oder weniger von Cu und SO_4 gefärbt, zeigen folgendes: Nr. 1 bis 5 sind klar, die folgenden mehr oder weniger trübe. Nach 22 Stunden wurden alle trüb in steigender Richtung von 1 bis 10. Nr. 10 enthält einen deutlichen Niederschlag von himmelblauer Farbe, während Nr. 1 nur eine leichte Trübung zeigt. Die Differenzen bleiben viele Tage lang bestehen.

Aus der Tabelle lassen sich folgende Schlüsse ziehen:

1. Es bildet sich eine Verbindung von nur einem Typus Säureverbindung; die Differenzen, denen wir begegnen, sind nur auf Schwierigkeiten in der Behandlung der Niederschläge und auf nicht vollendete Auswaschung zurückzuführen. Die Prozentsätze von Kupfer, Schwefelsäure und Albumin bleiben fast konstant, während die Quantität des Kupfersulfats, das in Reaktion tritt, wechselt. In dieser Säureverbindung befinden sich das SO_4 und das Cu immer in stöchiometrischen Verhältnissen. Die Verbindung ist im Mittel folgendermaßen zusammengesetzt:

Tabelle I.

Nr.	Trocken- albumin (in 25 ccm Wasser aufgelöst) in Reaktion gebracht g	Kupfer- sulfat- lösung in Reaktion gebracht ccm	CuSO ₄ in der Lösung g	Verbindung bei 100° getrocknet g	Quantitative Bestimmungen des Kupferalbuminats						
					Cu	SO ₄	Albumin	in CuSO ₄			
					%	%	%	Cu gefunden %	Cu berechnet %	SO ₄ gefunden %	SO ₄ berechnet %
1	1,965	1,5 + 5	0,2493	0,9487	4,18	6,25	89,57	40,07	39,85	59,93	60,15
2	1,965	1,5 + 10	0,4411	0,7738	4,31	6,56	89,13	39,65	39,85	60,35	60,15
3	1,965	1,5 + 15	0,6329	0,6100	5,01	1,42	87,57	40,20	39,85	59,80	60,15
4	1,965	1,5 + 20	0,8247	0,5612	5,62	8,50	85,88	39,75	39,85	60,25	60,15
5	1,965	1,5 + 25	1,0165	0,4893	5,22	7,83	86,95	39,98	39,85	60,02	60,15
6	1,965	1,5 + 30	1,2083	0,4367	5,34	7,92	86,74	40,29	39,85	59,71	60,15
7	1,965	1,5 + 35	1,4001	0,3979	5,53	8,39	86,08	39,70	39,85	60,30	60,15
8	1,965	1,5 + 40	1,5919	0,3794	5,48	8,39	86,13	39,49	39,85	60,51	60,15
9	1,965	1,5 + 45	1,7837	0,3406	5,75	8,62	85,63	40,00	39,85	60,00	60,15
10	1,965	1,5 + 50	1,9755	0,3086	6,18	9,19	84,63	40,25	39,85	59,77	60,15

SO ₄	8,07 %
Cu	5,26 %
Albumin	86,67 %
	100,00

2. Die mit verschiedenen Flüssigkeitsquantitäten erhaltenen Niederschläge, obgleich sie von einer und derselben Zusammensetzung sind, nehmen an Menge von 1—10 ab, das heißt, je größer das verbrauchte Flüssigkeitsvolumen, desto kleiner die Niederschlagsmenge, was die Löslichkeit der Säureverbindung zu beweisen scheint.

Zweite Serie.

Um die Bedingung dieses zweiten Punktes genauer festzustellen, setzten wir eine zweite Serie von Versuchen an je 5 Proben für die Wägung und 5 für die Analyse. Von der wie im ersten Versuch hergestellten Albuminlösung wurden 10 Teile von je 40 ccm abgemessen, die je 1,5288 g aschefreies, trockenes Albumin enthielten. Zu jeder der 5 Proben wurde dann die gleiche Anzahl Kubikzentimeter von Kupfersulfatlösung hinzugefügt, das heißt 10 ccm, die jedoch steigende Quantitäten CuSO₄ von 0,2517 g bis zu 0,7551 g enthielten. Die Verarbeitung der Niederschläge geschah in gleicher Weise wie im ersten Versuch. (Temperatur während der Versuche 16°.) Die Resultate sind in Tabelle II zusammengestellt.

Tabelle II.

Nr.	Trocken- albumin (in 40 ccm Wasser aufgelöst) in Reaktion gebracht g	Kupfer- sulfat- lösung in Reak- tion ge- braucht ccm	CuSO ₄ in der Lösung g	Ver- bin- dung bei 100° ge- trock- net g	Quantitative Bestimmungen des Kupfer- albuminats							
					Cu	SO ₄	Albu- min	in CuSO ₄				
								Cu ge- funden	Cu be- rech- net	SO ₄ ge- funden	SO ₄ be- rech- net	
					%	%	%	%	%	%	%	
1	1,5288	10	0,2517	1,3310	4,47	6,61	88,92	40,32	39,85	59,68	60,15	
2	1,5288	10	0,3775	1,3470	4,93	7,35	87,72	39,97	39,85	60,03	60,15	
3	1,5288	10	0,5034	1,3507	5,23	7,59	87,18	40,78	39,85	59,22	60,15	
4	1,5288	10	0,6292	1,3511	5,63	8,65	85,72	39,25	39,85	60,75	60,15	
5	1,5288	10	0,7551	1,3560	5,52	8,60	85,88	39,20	39,85	60,80	60,15	

Die getrockneten Niederschläge haben das gleiche Aussehen wie im ersten Versuch, die Filtrate sind himmelblau gefärbt und geben nach 24 Stunden eine leichte Trübung, die von Nr. 1—5 steigt, wo man einen Niederschlag bemerkt. Nach vier Tagen sind die Filtrate unverändert, ohne jedoch in Nr. 1 einen Bodensatz gebildet zu haben. In sämtlichen 5 Proben ist die Menge des Niederschlags gleich, es ist also der Einfluß der Verdünnung und somit die Löslichkeit der Verbindung (berechnet 1 %) deutlich bewiesen. Die entstandene Verbindung hat im Mittel dieselbe Zusammensetzung wie im ersten Versuch.

SO₄ 7,92 %

Cu 5,16 %

Albumin 86,82 %

Cu und SO₄ befinden sich hier ebenfalls in stöchiometrischen Mengen.

Um nun aus der Säureverbindung die neutrale Verbindung zu erhalten, mußte man der Verbindung das SO₄-Radikal in angemessener Weise entziehen. Dazu stellten wir eine dritte Serie von Versuchen an.

Dritte Serie.

Die Eiweißlösung wurde in bekannter Weise bereitet, wir erhielten ein Volumen von 700 ccm, von denen 12 gleiche Teile von je 50 ccm genommen wurden, und ein anderer Teil von 50 ccm zur Bestimmung der Menge des trockenen Albumins. Von den 12 Proben dienten 6 zur Bestimmung des Gewichts der Niederschläge und 6 zur Analyse. Die Kupfersulfatlösung wurde tropfenweise unter lebhaftem Umrühren mit einem Glasstäbchen zu der Eiweißlösung hinzugefügt; so erhielten wir 12 Niederschläge von klar hellblauer Farbe, die darüberstehenden Flüssigkeiten waren von CuSO₄ gefärbt. Sodann wurde tropfenweise unter lebhaftem Hin- und Herbewegen KOH fast normal bis zu 8 ccm zum ersten Niederschlag hinzugefügt. Nach und nach begann sich beim Zusatz der Kalilauge der Niederschlag zu mehren, und die Farbe in ein tieferes blau überzugehen. Die überstehende Flüssigkeit zeigte saure Reaktion. Zur zweiten Probe wurden 16 ccm KOH-Lösung hinzugefügt. Die Farbe des Niederschlags ist von noch tieferem Blau als

die des ersten. Die überstehende Flüssigkeit ist blau, aber weniger wie beim ersten, die Reaktion ist sauer. Bei der dritten Probe wurden in gleicher Weise 24 ccm KOH-Lösung zugesetzt und ein augenscheinlich reichlicherer Niederschlag erhalten von einer etwas weniger intensiven Farbe als die des vorhergehenden, die darüberstehende Flüssigkeit von leicht himmelblauer Farbe reagierte noch schwach sauer.

Zum vierten Niederschlage kamen 32 ccm KOH-Lösung bis zur neutralen Reaktion. Die Flüssigkeit war farblos und der Niederschlag reichlicher als der frühere und stärker blau.

Zu Nr. 5 und 6 wurde KOH im Überschuß hinzugefügt, das heißt 40 und 48 ccm, worauf wir einen Niederschlag von dunkelblauer Farbe erhielten mit einer darüberstehenden, stark alkalisch reagierenden, dunkelblauen Flüssigkeit. Das Volumen des Niederschlags in Nr. 5 war deutlich geringer wie in Nr. 4, Nr. 6 noch geringer wie Nr. 5. Zweifellos waren lösliche Alkalialbuminatverbindungen entstanden. Filtrieren und Sammeln der Niederschläge der zwei letzten Proben war in keiner Weise möglich. Dagegen wurden die 4 ersten Proben sorgfältig filtriert und die Niederschläge gewaschen, bei 1 bis 3 mit den Filtraten, Nr. 4 sehr sorgfältig mit Wasser bis zum vollständigen Verschwinden der Schwefelsäurereaktion. Das Filtrat von Nr. 4 war farblos, neutral, sehr klar und gab keine Reaktion auf Cu und auch nicht auf Albumin, nicht einmal mit den empfindlichsten Reagenzien (Ferrocyanid für das Cu, Hellers und Boedickers Probe auf Eiweiß). Die Filtrate von 1, 2, 3 reagieren sauer, sind, wie bereits gesagt, himmelblau gefärbt und werden mit der Zeit trüb, was wir auch bei den Filtraten der Säureverbindung beobachtet hatten. Sehr trüb Nr. 1, weniger Nr. 2, am wenigsten Nr. 3. Die vier Niederschläge wurden vor dem Wägen bei 100° getrocknet, die vier für die Analyse bestimmten Niederschläge gleichfalls; in diesen wurde dann Cu und SO₄ bestimmt und das Albumin aus der Differenz berechnet.

In Tabelle III nimmt die Menge des Niederschlags zu, je mehr SO₄ der Verbindung entzogen wird, um so weniger löslich wird sie also. In der Tat haben wir bei Nr. 1 13,50% SO₄, bei Nr. 3 nur 4,36%, bei Nr. 4 überhaupt nichts mehr.

Es kann sich also bei der Verbindung nicht um eine Adhäsion von CuSO_4 oder etwas Ähnlichem handeln. Dann hätte nicht allein die Säure von der KOH neutralisiert werden müssen, sondern auch das Kupfer und das Albumin hätten als Albuminate sich lösen müssen wie in Versuch 5 und 6; die Niederschläge 1, 2 und 3 sind ohne Zweifel Mischung des sauren und des neutralen Typus; Nr. 4 besteht ganz aus der neutralen Verbindung, die vollständig unlöslich ist.

Tabelle III.

Nr.	Trocken- albumin (in 50 ccm Wasser aufgelöst) in Reaktion gebracht g	CuSO_4 (in 25 ccm Wasser aufgelöst) in Reaktion gebracht g	KOH- Nor- mal- lösung hinzu- gefügt ccm	Ver- bin- dung bei 100° ge- trock- net g	Quantitative Bestimmungen des Kupfer- albuminats						
					Cu °/o	SO_4 °/o	Albu- min °/o	in CuSO_4			
								Cu ge- funden °/o	Cu be- rech- net °/o	SO_4 ge- funden °/o	SO_4 be- rech- net °/o
1	2,1340	2,5584	8	1,8604	19,14	13,53	67,33	58,75	39,85	41,25	60,15
2	2,1340	2,5584	16	2,2482	25,18	7,32	67,50	77,48	39,85	22,52	60,15
3	2,1340	2,5584	24	2,5795	27,73	4,36	67,91	86,40	39,85	13,60	60,15
4	2,1340	2,5584	32	3,1400	31,25	0	68,75	100	39,85	0	60,15
5	2,1340	2,5584	40	—	—	—	—	—	—	—	—
6	2,1340	2,5584	48	—	—	—	—	—	—	—	—

Daß der Niederschlag in Nr. 4 eine wirkliche chemische Verbindung ist und nicht nur ein Gemenge von Kupferoxyd und Albumin, zeigt sich darin, daß der Niederschlag auch im Wasser unlöslich ist und zusammen mit Wasser geschüttelt nicht schäumt. Es hätte also das Albumin diese seine eigentümliche Eigenschaft verloren und eine starke Veränderung erlitten, während die Säureverbindung mit Wasser geschüttelt schäumt und, wie wir gesehen haben, löslich ist.

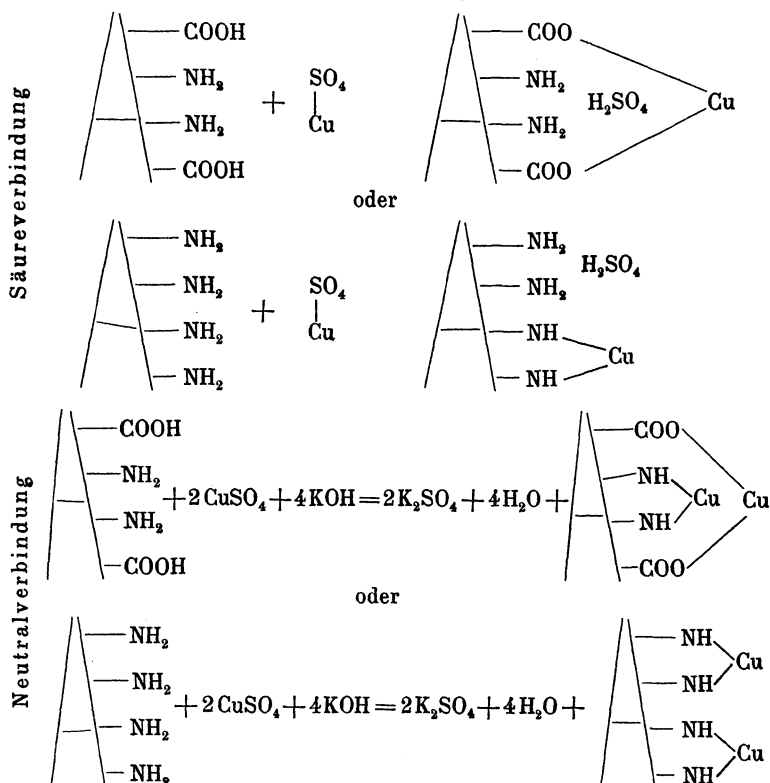
Über das Auftreten von sauren und neutralen Verbindungen des Eiweißes bei Zusatz von Natriumchlorid haben wir ein biologisches Beispiel in den Arbeiten von M. Traube Mengarini und A. Scala.¹⁾ Die Opalinen (Protozoen aus der Cloake des

¹⁾ Arch. Fisiolog. Vol. IV, Fasc VI, sett. 1907.

Frosches), mit denen die genannten Autoren experimentiert haben, sterben nach ganz kurzer Zeit in einer isotonischen Lösung von NaCl, während sie lange (6 Tage und länger) am Leben bleiben beim Zusatz von äußerst geringen Mengen von Natriumcarbonat.

Die Autoren schreiben im ersten Falle den Tod der Opalinen der Bildung eines sauren Natriumalbuminates zu, welches auf die Opalinen besonders schädlich wirkt, da deren physiologisches Milieu, der Inhalt der Kloake des Frosches, alkalisch reagiert. Die günstige Wirkung des Carbonates erklären sie durch die Zersetzung des sauren in neutrales Natriumalbuminat und damit Entfernung des sauren Milieus.

Die beiden Verbindungen werden ebenso symbolisiert, wie wir es mit den Kupferverbindungen tun:



Dürfen wir nun annehmen, daß die Eigenschaft des Albumins, mit Wasser geschüttelt zu schäumen, den amidischen oder carbotoxylamidischen Gruppen zu verdanken sei, so können wir die Erscheinung erklären, daß die saure Verbindung schäumt, die neutrale dagegen nicht; wir sehen in der Tat, daß in der ersten Verbindung nicht alle amidischen Gruppen verschwunden sind, sondern nur einige durch H_2SO_4 geschützt sind. Im zweiten Typus existieren die Amidogruppen nicht mehr, folglich ist auch die Eigenschaft, die man ihr zuschreibt, verschwunden.

Es ist also bewiesen, daß es zwei Kupferverbindungen mit Albumin gibt, von denen die eine, Kupfersulfatalbuminat (saure Verbindung), ziemlich löslich ist, während die zweite, neutrales Kupferalbuminat, unlöslich ist.
