

(Aus dem Institut für Pharmakologie und physiologische Chemie zu Rostock.)

## Ueber aschefreies Eiweiss.

Von

Dr. **K. Bülow.**

---

Der erste Theil der vorliegenden Arbeit ist unternommen worden ohne Kenntniss der letzten Mittheilung von E. Harnack<sup>1)</sup>, die durch einen Zufall übersehen war. Sind die Resultate so auch zum Theil schon überholt, so stehe ich doch nicht an, dieselben hier noch mitzutheilen, da sie selbstständig gefunden, eine Bestätigung der Harnack'schen Versuche bilden, die diesem nur erwünscht sein kann.

### I.

Das aschefreie Eiweiss wurde in der von Harnack<sup>2)</sup> angegebenen Weise dargestellt. Das gut zerschnittene Weisse von 12 Eiern wurde nach Ausfällung der Globuline durch Essigsäure mit Natriumcarbonat überneutralisirt und mit Kupfersulfatlösung versetzt. Das so erhaltene kupferreiche Albuminat wurde darauf durch abwechselndes Lösen und Füllen mit verdünnter Kalilauge und Essigsäure in das kupferarme übergeführt. Dieses wurde dann in einer Reibschale mit Wasser verrieben und mit starker Kalilauge (1:1) versetzt bis zur Bildung der violetten Lösung, welche dann nach 24 stündigem Stehen durch verdünnte Salzsäure zersetzt wurde. Das abgeschiedene Eiweiss wurde abfiltrirt und zunächst mit Salzsäurehaltigem Wasser, dann mit reinem Wasser ausgewaschen. Da man bei anhaltendem Auswaschen desselben grosse Verluste erleidet, versuchte ich die letzten Mengen von Kupfer und Salzsäure aus dem Eiweiss durch Dialyse zu entfernen.

Sobald das Waschwasser grössere Mengen von Eiweiss ent-

---

1) Ber. der deutsch. chem. Ges. 25, 204.

2) Ber. der deutsch. chem. Ges. 23, 3746.

hielt, wurde deshalb der Niederschlag vom Filter genommen und unter gelindem Erwärmen in Wasser gelöst. Die Lösung, welche noch kupferhaltig war und stark sauer reagirte, wurde dann filtrirt und nach dem Erkalten in einen Dialysator [Beutel von Pergamentpapier über einen Glasring gezogen] gebracht. Das Wasser aussen wurde täglich einmal erneuert. Dasselbe enthielt zunächst deutlich nachweisbar Kupfer und Salzsäure, dann blieb die Reaction auf Kupfer aus, und endlich war auch keine Salzsäure mehr nachzuweisen. Von diesem Zeitpunkt an wurde die vorher klare Eiweisslösung im Dialysator opalescirend, es traten einzelne Flocken auf, die sich vermehrten und bei fortgesetzter Dialyse schied sich endlich das ganze Eiweiss in Form von Flocken ab. Dasselbe wurde abfiltrirt, nach einander mit Alkohol und Aether gewaschen, an der Luft getrocknet und dann in einer Achatreibschale zerrieben [Eiweiss I].

Bei der Darstellung einer zweiten Portion aschefreien Eiweiss [Eiweiss II] wurde an jedem Morgen vor dem Wechseln des Wassers dem Inhalt des Dialysators eine Probe entnommen und auf ihr Aussehen, ihre Reaction und ihr Verhalten beim Erhitzen und beim Versetzen mit Kaliumferrocyanid, Wasser, Alkohol, 1 % Natronlauge, verdünnter Salzsäure und Kochsalzlösung verschiedener Concentration untersucht.

Die Resultate dieser Beobachtungen sind in der nebenstehenden Tabelle A zusammengestellt.

Am interessantesten ist das Verhalten der Eiweisslösung gegen die 1 % Natronlauge. Man braucht bei fortschreitender Dialyse stets weniger Alkali, um das Eiweiss auszufällen, und kann so verfolgen, wie die Salzsäure sich allmählich vom Eiweiss trennt.

Das Verhalten von verdünnter Salzsäure gegen die Eiweisslösung bleibt sich ziemlich gleich, was wohl darauf zurückzuführen ist, dass die angewandte Salzsäure (1 : 3) im Verhältniss zu der Menge Salzsäure, die beim Eiweiss vorhanden ist, zu concentrirt ist, als dass die Unterschiede deutlich hervortreten können.

Bemerkenswerth ist auch noch, dass je Salzsäure-ärmer die Eiweisslösung wird, um so empfindlicher wird sie gegen Salzlösungen, so dass zum Schluss schon einige Tropfen einer 0,6 % Kochsalzlösung genügen, um das Eiweiss auszufällen. Es tritt hier also der Fall ein, dass eine Eiweissart um so leichter aussalzbar wird, je geringer der Gehalt der Lösung an Säure ist, während man sonst

Tabelle A.

	5. Mai	6. Mai	7. Mai	8. Mai	9. Mai	10. Mai	12. Mai	13. Mai
Aussehen	klar	klar	klar	klar	klar <sup>1)</sup>	schwach opalescirend	opalescirend (einz. Flocken)	starke Abscheidung von Flocken
Reaction $K_4Fe(CN)_6$	sauer Fällung	sauer Fällung	sauer Fällung	sauer Fällung	sauer Fällung	sauer Fällung	schwach sauer Fällung erst auf Zusatz von Essigsäure	schwach sauer
Erhitzen	klar	klar	klar	klar	klar <sup>1)</sup>	Opalescenz wird stärker	Fällung	—
Wasser (10faches Volumen)	klar	klar	klar	klar	klar <sup>1)</sup>	klar	opalescirend	—
Alkohol (10—15 faches Volumen)	klar	klar	klar	klar	klar <sup>1)</sup>	klar	Fällung	—
Zu 2 com Eiweisslösung 1% NaOH	20 Gtt. opales- cirend	10 Gtt. opales- cirend	6 Gtt. opales- cirend	4 Gtt. opales- cirend	1 Gtt. opales- cirend	1 Gtt. opales- cirend	1 Gtt. Flocken	—
Zu 2 com Eiweisslösung HCl (1:3)	22 „ Flocken	12 „ Flocken	7 „ Flocken	6 „ Flocken	2 „ Flocken	2 „ Flocken	6 Gtt. Flocken	—
	6 Gtt. Flocken	5 Gtt. Flocken	6 Gtt. opales- cirend	5 Gtt. opales- cirend	5 Gtt. opales- cirend	—	—	—
			7 „ Flocken	6 „ Flocken	6 „ Flocken	—	—	—
Zu 2 com Eiweisslösung 0,6% NaCl lösung	Mit 10 fach. Vol. noch klar	Mit 10 fach. Vol. opales- cirend	Mit 2—3 fach. Vol. Flocken	Mit 1 fach. Vol. opales- cirend	Mit 1 fach. Vol. Flocken	2 Gtt. opales- cirend	1 Gtt. Flocken	—
				Mit 2 fach. Vol. Flocken	4 Gtt. opales- cirend	5 „ Flocken	—	—
conc.	4 Gtt. Flocken	2 Gtt. Flocken	1 Gtt. Flocken	1 Gtt. starke Fällung	7 „ Flocken	—	—	—
Das Wasser aus- sen im Dialy- sator zeigt:	Reaction auf Cl und wenig Cu	Reaction auf Cl und wenig Cu	Reaction auf Cl und auf Cu	Spuren von Cl	Spuren von Cl	—	—	—

1) Von diesem Punkt an musste die Reinigung der Reagenzgläser, in denen die Reactionen vorgenommen wurden, sehr sorgfältig geschehen. (Ausbürsten mit verd. Salzsäure, Nachspülen mit Leitungs- und dann mit destillirtem Wasser.) War dies nicht geschehen, oder waren die Gläser nur mit Leitungswasser nachgespült, so schied sich beim Einfüllen schon ein Theil des Eiweiss in Flocken aus.

zu sehen gewohnt ist, dass ein Aussalzen um so leichter stattfindet, je stärker man angesäuert hat.

Das so durch Dialyse abgeschiedene Eiweiss, dessen Aschenbestimmung folgendes Resultat ergab:

Eiweiss I.	1,1996 gr	Eiweiss hinterliessen	0,0010 gr	Asche <sup>1)</sup>	= 0,083 %
	1,0842 gr	"	"	0,0008 gr	" = 0,073 %
Eiweiss II.	0,9940 gr	"	"	0,0007 gr	" = 0,07 %
	1,0061 gr	"	"	0,0008 gr	" = 0,079 %

unterscheidet sich nun wesentlich von dem von Harnack<sup>2)</sup> zuerst beschriebenen Präparat durch seine Unlöslichkeit in Wasser.

Weder die im Dialysator abgeschiedenen, noch nicht getrockneten Flocken, noch das lufttrockene Eiweiss lösen sich in heissem Wasser. Erst bei längerem Erhitzen geht eine Spur in Lösung (Hemialbumose?).

Bei 105—110° bis zur Gewichtsconstanz getrocknet ist das Eiweiss in Wasser vollständig unlöslich, dagegen löst sich alles Eiweiss in 1‰ Salzsäure. Dieser Umstand legte den Gedanken nahe, dass die Löslichkeit des Harnack'schen Eiweiss durch einen geringen Gehalt desselben an Salzsäure bedingt ist.

Die Versuche bestätigten diese Annahme:

1. a. Eine bis zum Verschwinden der Salzsäurereaction im Diffusat dialysirte, noch klare Lösung von Eiweiss wurde eingedampft und das Eiweiss auf dem Wasserbade getrocknet.

0,3467 gr Eiweiss ergaben nach Carius

0,0307 gr AgCl = 0,0078 gr HCl 2,26 % HCl.

- b. Bei demselben bei 105—110° bis zur Gewichtsconstanz getrockneten Eiweiss ergaben nach Carius:

0,3031 gr Eiweiss 0,0147 gr AgCl =

0,0037 gr HCl 1,23 % HCl.

2. Eiweisslösung wurde bis zur Opalescenz dialysirt, dann mit 1‰ Salzsäure gerade aufgehellt und auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft.

0,3211 gr des bei 100° getrockneten Ei-

weiss ergaben 0,0277 gr AgCl = 0,00704 gr HCl 2,19 % HCl.

1) Die Asche war schwarz gefärbt, sie bestand wesentlich aus Kupferoxyd.

2) Ber. der deutsch. chem. Ges. 22, 3046 und 23, 3745.

3. Von dem durch Dialyse abgeschiedenen, bei 105—110° getrockneten Eiweiss I lieferten nach Carius:

0,2384 gr Eiweiss

0,2724 „ keine Spur AgCl 0,00 % HCl.

Aus diesen Versuchen geht also hervor, dass das vollständig aschefreie Eiweiss, d. h. solches, welches völlig frei von anderen Elementen ist, in Wasser unlöslich ist. Dies Resultat deckt sich vollkommen mit dem von Harnack in seiner letzten Arbeit<sup>1)</sup> erhaltenen. Ein crystallinisches Aussehen und Beschaffenheit des durch Dialyse gewonnenen Eiweiss habe ich allerdings nicht beobachten können.

Es lag bei dem ursprünglich von Harnack beschriebenen Präparat ein ähnlicher Fall wie bei dem aschefreien Eiweiss von Aronstein<sup>2)</sup> vor, von dem Heynsius<sup>3)</sup> nachgewiesen hat, dass die beschriebenen Eigenschaften der Löslichkeit u. s. w. auf einem geringen Gehalt an Alkali beruhen.

In ganz analoger Weise wie aus dem Hühnereiweiss erhielt ich auch aus dem Weizen- und Erbsenmehl ein aschefreies Eiweiss.

1 Kilo Weizen- bzw. Erbsenmehl wurde mit 8 Liter 1% Natronlauge angerieben und 24 Stunden an einen kühlen Ort hingestellt. Dann wurde die obenstehende Flüssigkeit von der Stärke abgegossen, filtrirt, mit verdünnter Essigsäure schwach angesäuert, wieder filtrirt und mit Natriumcarbonatlösung überneutralisirt. Das Eiweiss wurde darauf mit Kupfersulfatlösung gefällt und in genau derselben Weise, wie es beim Hühnereiweiss beschrieben wurde, weiter behandelt. Auch hier schied sich im Dialysator das Eiweiss ab, das mit Alkohol und Aether gewaschen und dann an der Luft getrocknet wurde.

Die Aschenbestimmung ergab für Weizeneiweiss:

1,0278 gr Eiweiss hinterliessen 0,0011 gr Asche 0,1 %.

1,0106 „ „ „ 0,0013 „ „ 0,12 „

## II.

Das aschefreie Eiweiss, in Salzsäure gelöst, wird wie Tabelle A zeigt, sehr leicht durch geringe Mengen von Chlornatrium ausge-

1) Ber. der deutsch. chem. Ges. 25, 204.

2) Dies Archiv, Bd. VIII. pag. 75, 1873.

3) Dies Archiv, Bd. IX. pag. 514, 1874.

fällt. Durch besondere Anordnung des Versuchs lässt sich nun, wie unten gezeigt wird, für eine Eiweisslösung von demselben Gehalt und derselben Säuremenge sehr scharf diejenige Menge von Chlornatrium feststellen, bei welcher eben die Ausfällung des Eiweiss beginnt. Dasselbe gilt für andere Salze, von denen die Chloride, Nitrate und Sulfate von Kalium, Natrium und Ammonium in den Kreis der Untersuchung gezogen wurden. Von den Chloriden und Nitraten wurden 5% ige Lösungen, von den stärker aussalzenden Sulfaten 2–2,5% ige Lösungen verwandt.

Die Versuchsanordnung war die folgende: Zunächst stellte ich mir eine ca. 2‰ Eiweisslösung der lufttrockenen Eiweissarten in 1‰ Salzsäure her. Dieselbe wurde in eine Bürette gefüllt. Eine zweite Bürette enthielt Wasser und eine dritte die betreffende Salzlösung.

In 10 bis 12 sehr sorgfältig gereinigte und ausgetrocknete Reagenzgläser gleicher Weite wurden zunächst je 5 ccm Eiweisslösung gefüllt. Nachdem dann soviel Wasser zugesetzt worden war, dass das Endvolumen der ganzen Flüssigkeit 10 ccm betragen musste, wurden verschiedene Mengen der Salzlösung, stets um 1 ccm steigend hinzufliessen lassen. Der Eiweissgehalt der Mischung war also, da stets auf dasselbe Volumen gebracht wurde, in allen Versuchen der gleiche. Nach gutem Umschütteln wurden die Gläser mit Watte verstopft, 15 Minuten in ein kochendes Wasserbad gehängt und hiernach möglichst schnell in kaltem Wasser abgekühlt. Darauf wurde notirt, wie viel ccm der Salzlösung eben noch Trübung hervorbringen und hieraus und aus dem Procentgehalt der Salzlösungen die Menge des Salzes berechnet, bei der eben die Ausscheidung des Eiweiss beginnt.

Ein Beispiel, am Chlornatrium durchgeführt, möge diese Ausführungen erläutern:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Eiweisslösung	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	ccm
Wasser	2,5	2,4	2,3	2,2	2,1	2	1,9	1,8	1,7	1,6	ccm
NaCl 5%	2,5	2,6	2,7	2,8	2,9	3	3,1	3,2	3,3	3,4	ccm
15' gekocht nach dem Erkalten	klar					trübe					

3,1 ccm einer 5% igen Chlornatriumlösung, entsprechend 0,155 gr NaCl bewirken also unter den gegebenen Umständen gerade Ausscheidung des Eiweiss.

Wendet man 5 bezw. 2,5% ige Salzlösungen an, so kann der Uebergang von klar zu trübe recht gut und auf 0,005 bis 0,0025 gr genau beobachtet werden.

Die Resultate dieser Untersuchungen sind in der Tabelle B zusammengestellt worden.

Die Spalte b bei den einzelnen Eiweissarten enthält die Gewichtsmenge Salz, welche zu der in 5 ccm enthaltenen Eiweissmenge bei dieser bestimmten, sich in einer Verticalreihe stets gleich bleibenden Concentration gegeben werden müssen, um gerade den Beginn der Abscheidung zu veranlassen. Wie die Zahlen ausgefallen wären bei vollkommener Ausfällung liess sich trotz mannigfaltiger Versuche leider nicht feststellen, da durch Salzlösungen, auch concentrirte, eine vollständige Fällung des Eiweiss nicht zu erreichen war.

Spalte c enthält das Verhältniss des Aussalzungsvermögens der einzelnen Salze zu einander, bezogen auf das von Chlorkalium  $= 100$ ; während endlich die letzte Spalte d den Werth  $\frac{b}{a} \cdot 100$ , entsprechend dem Aussalzungsvermögen eines Molecüls enthält.

Betrachtet man nun diese Tabelle, und zwar zunächst die einzelnen Eiweissarten für sich, so zeigt sich, dass das Aussalzungsvermögen der Chloride am geringsten ist, dann steigt dasselbe bei den Nitraten und erreicht das Maximum bei den Sulfaten. Im Allgemeinen nimmt ferner bei gleicher Säure das Aussalzvermögen von Kalium über Ammonium zum Natrium zu, mit der Ausnahme, dass bei den Sulfaten das Ammoniumsalz das Aussalzvermögen des Natriumsalzes übertrifft.

Aus der Reihe heraus fallen nur das Ammoniumchlorid beim Hühnereiweis II und sämtliche Nitate beim Weizeneiweiss. Es ist hier aber wohl denkbar, dass in der Salzsäure-haltigen Flüssigkeit die Nitate auf das Eiweiss beim Kochen eingewirkt haben, und dass auf diese Weise das Resultat getrübt worden ist.

Diese Resultate stimmen im allgemeinen mit den früher von Michailow<sup>1)</sup> und von Hofmeister<sup>2)</sup> erhaltenen überein. Der letztere findet allerdings das Aussalzungsvermögen der Chloride immer grösser als das der Nitate.

1) Journ. russk. fiz. chim. obšč. 19, 331—332; citirt nach Chem. Centralblatt 1887, pag. 1088.

2) Archiv f. experiment. Pathol. und Pharmak. 24, 247—260.

Tabelle B.

Art des Salzes	a Moleculargewicht	Hühnereiwass I				Hühnereiwass II				Weizenewass			
		b gr Salz die zu 5 ccm auf 10 ccm verd. Eiweisslö- sung gegeben werden müssen, um gerade Aus- scheidung hervorzurufen	c Verhältniss des Aus- salzungsvermögens der einzelnen Salze, bezogen auf das des KCl = 100	d $\frac{b}{a} \cdot 100$		b gr Salz, die zu 5 ccm auf 10 ccm verd. Eiweisslö- sung gegeben werden müssen, um gerade Aus- scheidung hervorzurufen	c Verhältniss des Aus- salzungsvermögens der einzelnen Salze, bezogen auf das des KCl = 100	d $\frac{b}{a} \cdot 100$		b gr Salz, die zu 5 ccm auf 10 ccm verd. Eiweisslö- sung gegeben werden müssen, um gerade Aus- scheidung hervorzurufen	c Verhältniss des Aus- salzungsvermögens der einzelnen Salze, bezogen auf das des KCl = 100	d $\frac{b}{a} \cdot 100$	
KCl	74,5	0,220	100	0,295		0,205	100	0,275		0,030	100	0,040	
(NH <sub>4</sub> )Cl	53,5	0,160	72,72	0,299		0,125	60,97	0,233		0,025	83,33	0,046	
NaCl	58,5	0,155	70,45	0,265		0,135	65,85	0,230		0,020	66,66	0,034	
KNO <sub>3</sub>	101	0,135	61,36	0,133		0,100	43,78	0,099		0,030	100	0,029	
(NH <sub>4</sub> )NO <sub>3</sub>	80	0,090	40,9	0,112		0,085	41,46	0,160		0,030	100	0,037	
NaNO <sub>3</sub>	85	0,090	40,9	0,106		0,075	36,58	0,088		0,030	100	0,035	
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	174	0,030	13,83	0,017		0,025	12,19	0,014		0,0175	58,33	0,010	
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	142	0,026	11,81	0,018		0,018	8,78	0,013		0,016	53,33	0,012	
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	132	0,024	10,99	0,017		0,0175	8,53	0,013		0,0125	41,66	0,009	



Was das moleculare Aussalzungsvermögen der Salze anbetrifft, so ist zu bemerken, dass dasselbe bei den hier untersuchten Salzen der Alkalimetalle wesentlich von der Säure abhängig ist, während der Einfluss der Basis in den Zahlen fast vollständig verschwindet, jedenfalls sich nicht in einer Gesetzmässigkeit ausdrückt. Auch hier stehen in Betreff der Stärke der Aussalzfähigkeit die Sulfate oben an, es folgen die Nitrates und dann die Chloride.

Vergleicht man nun die einzelnen Eiweissarten mit einander, so weichen selbst bei den beiden ganz auf die gleiche Weise hergestellten Hühnereiweissarten, nicht nur die absoluten Zahlen, deren Uebereinstimmung auch nicht erwartet werden konnte, da ja die Eiweisslösungen von verschiedener Concentration waren, sondern auch die Verhältnisszahlen (Spalte c) von einander ab. Schliesst man sich nun der Ansicht von Hofmeister<sup>1)</sup> an, dass „die Concentration, bei welcher ein Salz einen Eiweisskörper zu fällen beginnt, ebenso charakteristisch für diesen ist, als etwa die Löslichkeit für einen crystallinischen Körper,“ so gelangt man zu dem Resultat, dass auch die beiden Hühnereiweissarten zwei verschiedene Eiweissarten darstellen.

Die Bedingungen für das Entstehen verschiedener Eiweissarten, auch bei sonst gleicher Behandlung sind ja auch in dem langen 24 stündigen Einwirken von concentrirter Kalilauge auf das kupferarme Albuminat gegeben. Je nachdem man mit etwas mehr oder weniger Wasser angerieben hat, je nachdem die Kalilauge etwas länger oder kürzer einwirkt und je nachdem endlich die Temperatur in dem benutzten Arbeitsraum höher oder geringer ist, wird wohl bei der bekannten Empfindlichkeit der Eiweisskörper mehr oder weniger von dem locker gebundenen Stickstoff und Schwefel abgespalten und es resultirt ein im ganzen und grossen gleiches, im einzelnen aber doch sich verschieden verhaltendes Präparat.

Das Weizeneiweiss stellt sich, wie voraus zu sehen war, als ein von den Hühnereiweissarten völlig verschiedenes Präparat dar.

### III.

Nachdem im ersten Theil der Arbeit gezeigt worden ist, dass das aschefreie Eiweiss zu seiner Lösung in Wasser einer bestimmten Menge von Salzsäure bedarf, wurde hier noch genau festzu-

---

1) Archiv f. experim. Pathol. und Pharmak. 24, 247—260.

stellen versucht, wie gross die Menge der Salzsäure in jedem einzelnen Fall bei den verschiedenen Eiweissarten sein muss. Ausserdem war beobachtet worden, dass, wenn man Natronlauge tropfenweise zu der Salzsäure-haltigen Eiweisslösung zusetzt, dieselbe zunächst eine Trübung hervorruft, die beim weiteren Zusatz von Natronlauge stärker wird, dann aber wieder verschwindet. Auch dieser Vorgang sollte quantitativ verfolgt werden, und endlich sollte dann noch das spezifische Drehungsvermögen der verschiedenen Eiweissarten unter verschiedenen Bedingungen untersucht werden.

Die Methode dabei war folgende:

2 gr des lufttrockenen Eiweiss wurden unter schwachem Erwärmen in möglichst wenig 1<sup>0</sup>/<sub>100</sub> Salzsäure gelöst. Die durch ein dichtes Filter filtrirte klare Lösung wurde dann auf einen Dialysator gebracht und unter täglich einmaligem Wechsel des Wassers aussen bis zur beginnenden Trübung dialysirt. Darauf wurde die Lösung aus dem Dialysator genommen und durch vorsichtigen Zusatz von verdünnter Salzsäure gerade wieder aufgehellt.

Ein Theil der so erhaltenen Lösung wurde nun zunächst dazu verwandt, den Gehalt derselben an Eiweiss festzustellen. Abgemessene Mengen der Lösung wurden in Platinschalen von bekanntem Gewicht auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft und der Rückstand bei 105—110° bis zur Gewichtsconstanz getrocknet und gewogen. In dem so erhaltenen Eiweiss wurde dann nach der Methode von Carius der Salzsäuregehalt bestimmt.

Ein zweiter Theil der Eiweisslösung wurde dann dazu benutzt, das Verhalten gegen Natronlauge festzustellen. Je 10 ccm der Eiweisslösung wurde in sorgfältig gereinigte und getrocknete Reagenzgläser gegeben und dann mit sehr verdünnter Natronlauge von bekanntem Gehalt versetzt. Dieselbe wurde einer Bürette entnommen und ihre Menge stieg bei jedem Versuch um 0,1 ccm. Nach dem Umschütteln wurde dann der Punkt beobachtet und notirt, wo gerade Trübung bzw. Klarwerden der Lösung eintrat. Setzt man zu der Eiweisslösung einige Tropfen Phenolphthalëin, so wird dasselbe nicht sofort nach dem Klarwerden geröthet, sondern man muss noch einige ccm der Natronlauge hinzufügen, bevor diese Reaction eintritt. Auch dieser Punkt wurde genau beobachtet und notirt.

Da nun sowohl der Gehalt der Lösung an Eiweiss aus dem vorhergehenden Versuch bekannt, als auch die Concentration der

Natronlauge bestimmt war, so konnte leicht aus diesen Zahlen die Menge Natriumhydroxyd berechnet werden, die zu 100 gr Eiweiss gegeben werden müssen, um

- a. Trübung hervorzurufen,
- b. die Trübung gerade wieder aufzuheben und
- c. Phenolphthalëin zu röthen.

Ein Beispiel möge auch hier die Anordnung und Berechnung des Versuchs erläutern:

Nr. des Versuches:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Eiweisslösung:	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10 ccm
Natronlauge:	1	1,1	1,2	1,3	1,4	1,5	2,1	2,2	2,3	2,4	2,5	2,6	3,2	3,3	3,4	3,5	3,6 ccm
	klar			trübe				klar u. Phenolphthalëin nicht röthend						Phenolphthalëin röthend			

In 10 ccm Eiweisslösung, enthaltend 0,00691 gr Eiweiss, rufen 1,4 ccm Natronlauge gerade Trübung hervor, 2,4 ccm heben die Trübung gerade wieder auf und 3,5 ccm rufen gerade Röthung von Phenolphthalëin hervor.

Nun enthielt, wie durch einen besonderen Versuch festgestellt war, 1 ccm der benutzten Natronlauge

0,0001896 gr NaOH.

Es entsprechen also: 1,4 ccm Natronlauge: 0,0002654 gr NaOH

2,4 ccm „ 0,00045504 gr „

3,5 ccm „ 0,00066360 gr „

Zu 0,00691 gr Eiweiss müssen also 0,00026544 gr NaOH gegeben werden, um eben eine Trübung hervorzurufen.

Folglich zu 100 gr Eiweiss 3,84 gr NaOH.

In analoger Weise beerechnet sich die Menge NaOH, die zu 100 gr Eiweiss gegeben werden muss, um die Trübung aufzuheben

zu: 6,58 gr und um Phenolphthalëin zu röthen,

zu: 9,60 gr.

Der Rest der Eiweisslösung endlich wurde zu Bestimmungen des specifischen Drehungsvermögens verwendet, und zwar wurde zunächst das Drehungsvermögen der sauren Eiweisslösung, deren Gehalt an Eiweiss ja bekannt war, bestimmt.

Dann wurde eine abgemessene Menge dieser Lösung mit gemessener Menge Natronlauge bis zum Klarwerden versetzt und wieder der Ablenkungswinkel bestimmt. Von der so erhaltenen Lösung wurde dann wieder eine bestimmte Menge abgemessen und mit gemessener Menge Natronlauge bis zur Röthung von Phenolphthalëin versetzt. Die so resultirende Lösung wurde dann auch polarisirt.

Da die alkalischen Lösungen des Eiweiss durch Salzlösungen nicht gefällt werden, so wurde, um zu ermitteln, in welchem Sinne die Anwesenheit von Salzen die specifische Drehung von Eiweisskörpern beeinflusst, eine abgemessene Menge der zuletzt erhaltenen Lösung mit gemessener Menge einer concentrirten Chlornatriumlösung versetzt, und der Ablenkungswinkel der so erhaltenen Lösung wieder bestimmt.

Der Gehalt der Lösungen an Eiweiss konnte, da immer mit abgemessenen Mengen gearbeitet worden war, leicht berechnet werden. Die Bestimmungen des Ablenkungswinkels, welcher in Folge des geringen Gehalts der Lösungen an Eiweiss allerdings meistens recht klein ausfiel, wurden mit einem Wild'schen Polaristrobometer in der Weise ausgeführt, dass 40 Ablesungen vorgenommen wurden, aus denen dann das Mittel gezogen wurde.

Die Resultate aller dieser Versuche sind in der Tabelle C zusammengestellt worden. In Spalte I und II stellen die erhaltenen Zahlen das Mittel aus gut stimmenden Doppelanalysen dar.

Spalte I gibt an, wieviel gr Eiweiss in 100 cem der zu den folgenden Versuchen verwendeten Lösung enthalten waren.

Spalte II enthält die Menge Salzsäure, die in 100 gr bis zur Gewichtsconstanz getrocknetem Eiweiss enthalten sind. Die Zahlen fallen, wie man sieht, besonders beim Hühnereiweiss recht verschieden aus. Dies kommt daher, dass es sehr schwierig ist, beim Aufhellen der bis zur Trübung dialysirten Lösung einen Ueberschuss an Salzsäure zu vermeiden. Beim Eindampfen geht dann die überschüssige Salzsäure nicht weg, sondern bleibt beim Eiweiss, dasselbe stark braun färbend. Ist ein Ueberschuss möglichst vermieden, z. B. bei Versuch 6, so ist das getrocknete Eiweiss nur leicht gelblich gefärbt. Auch beim Trocknen bei 105–110° geht dann diese, sei es chemisch gebundene oder nur mechanisch festgehaltene Salzsäure nicht weg, und so kommt es, dass die Zahlen in Spalte II nicht, wie ursprünglich angenommen wurde, die Menge Salzsäure angeben, die eben nöthig ist, um das Eiweiss in Lösung zu bringen, sondern grössere Werthe darstellen, die dann natürlich je nach der Menge der zum Aufhellen hinzugefügten Salzsäure verschieden ausfallen müssen.

Spalte III zeigt das Verhalten des Eiweiss gegen Natriumhydroxyd. Hierbei ist zu bemerken, dass die Bestimmung der Werthe in III a mit einem geringen Fehler behaftet ist. Versetzt

### Tabelle C.

[illegible]

man die salzsaure Eiweisslösung mit Natronlauge, so wird in Folge der Bildung von Chlornatrium und der Einwirkung dieses Salzes auf das Eiweiss eine Trübung eintreten, bevor die gesammte Menge der Salzsäure neutralisirt ist. Fasst man also die Menge Natriumhydroxyd, die zur Eiweisslösung gegeben werden muss, bis Trübung eintritt, als diejenige auf, die nöthig ist, um die vorhandene Salzsäure zu neutralisiren, so werden die so erhaltenen Werthe zu klein gefunden. Der Fehler ist ausserdem nicht gleichmässig. Die Eiweisslösungen haben ja einen verschiedenen Gehalt an Salzsäure, und folglich braucht man auch verschieden grosse Mengen von Natronlauge zum Neutralisiren. Das Verhältniss von Wasser zu Eiweiss und Chlornatrium wird also verschoben. Da aber stets mit sehr verdünnten Lösungen gearbeitet wurde, so habe ich geglaubt, diesen Fehler vernachlässigen zu dürfen, doch werden durch denselben wohl zum Theil die Unregelmässigkeiten in den Resultaten der folgenden Spalten bedingt.

Da die alkalischen Lösungen sich indifferent gegen Salze verhalten, so verschwindet dieser Fehler in den Spalten III b und c.

Spalte IV enthält den Werth  $(b-a)$  d. h. die Menge Natriumhydroxyd, die an 100 gr Eiweiss gebunden werden muss, um es in Wasser löslich zu machen, während der Werth  $(c-a)$  in Spalte V die Menge Natriumhydroxyd ausdrückt, die überhaupt von 100 gr Eiweiss neutralisirt werden kann.

Beide Werthe stimmen, wie man sieht, bei den einzelnen Eiweissarten ziemlich unter einander überein. Die Abweichungen werden wohl durch den oben erörterten Fehler in den Bestimmungen der Spalte III a erklärt, der ja in beiden Werthen enthalten ist.

Spalte VI enthält das Verhältniss der Menge Natriumhydroxyd, die nöthig ist, um überhaupt eine Salzbildung im Eiweiss und damit Lösung desselben zu veranlassen zu derjenigen, die nöthig ist, um es vollständig zu neutralisiren. Wie man sieht, sind bei den beiden Hühnereiweissarten die doppelte Anzahl Molecüle Natriumhydroxyd nöthig, um es vollständig zu neutralisiren, als um es in Lösung zu bringen. Dasselbe Verhältniss findet beim Weizeneiweiss B statt, während beim Weizeneiweiss A und beim Erbseneiweiss das Verhältniss 2:3 zu bestehen scheint.

Was endlich das spec. Drehungsvermögen der verschiedenen Eiweissarten unter den verschiedenen Bedingungen angeht, so möchte ich auf die erhaltenen Werthe nur geringes Gewicht legen, da 1. der

Gehalt an Eiweiss der einzelnen Lösungen sehr gering war und in Folge dessen 2. der abgelesene Winkel auch sehr klein wurde. Die Fehlergrenze ist bei diesen Werthen sehr gross und die Tabelle lehrt nur, dass durch geringe Beimengungen, sei es von Säuren, Basen oder neutralen Salzen, die Drehung der verschiedenen Eiweissarten sehr stark beeinflusst wird. Ueber diesen Gegenstand liegen einige ältere Beobachtungen vor, doch sind dieselben nicht recht mit diesen Versuchen zu vergleichen, da einmal kein aschefreies Eiweiss angewandt wurde<sup>1)</sup>, andererseits aber bei der Untersuchung des Einflusses von Säuren oder Alkalien auf das Drehungsvermögen des Eiweiss<sup>2)</sup> dieselben zu concentrirt angewandt sind, so dass nicht ausgeschlossen ist, dass chemische Veränderungen im Eiweissmolecul vorgegangen sind.

Fasst man nun zum Schluss die in dieser Arbeit gewonnenen Resultate zusammen, so ergibt sich:

1. Bei der Darstellung von aschefreiem Eiweiss entstehen auch aus demselben Ausgangsmaterial verschiedene Eiweissarten, welche sich im grossen und ganzen gleichmässig verhalten, deren Eigenschaften aber im einzelnen auseinander gehen.

2. Das völlig reine, aschefreie Eiweiss ist unlöslich in Wasser, es verbindet sich aber nach Art der Amidosäuren sowohl mit Säuren als auch mit Basen zu wasserlöslichen Salzen, und zwar findet die Vereinigung mit Basen in nachweislich zwei verschiedenen Verhältnissen statt.

3. Die sauren Eiweisslösungen sind sehr empfindlich gegen neutrale Salze. Schon ein geringer Zusatz bewirkt Abscheidung des Eiweiss. Die alkalischen Lösungen verhalten sich indifferent gegen Salze.

4. Die Stärke des Aussalzungsvermögens der Salze der Alkalimetalle nimmt zu von den Chloriden über die Nitrates zu den Sulfaten. Das moleculare Aussalzvermögen ist wesentlich von der Beschaffenheit der Säure abhängig. Die Reihenfolge bleibt in Bezug auf die Stärke dieselbe.

5. Das specifische Drehungsvermögen der Eiweisskörper wird sehr stark durch ihren Gehalt an Beimengungen beeinflusst.

---

1) Haas, dies Archiv 12, 378—410.

2) Hoppe-Seyler und Thierfelder, Handbuch der physiol. u. pathol. chem. Analyse. 6. Aufl. pag. 250, 258 u. 259.