

3. Auf Physiologie und Pathologie bezügliche Methoden.

Von

K. Spiro.

Eiweissspaltungsprodukte. In der Eiweisschemie sind in den letzten Jahren die meisten Forscher bestrebt gewesen, nicht nur das physikalische Verhalten der Eiweisskörper, sondern auch deren chemischen Aufbau festzustellen. Wenn es nun auch noch an Methoden fehlt, alle Spaltungsprodukte eines Eiweisskörpers zu bestimmen, so lassen sich doch nach E. Fischer einzelne derselben leicht quantitativ bestimmen, wie Glutaminsäure, Tyrosin, andere wie Tryptophan, Cystin und Glykokoll mit Sicherheit nachweisen. Dies ist um so wertvoller, da das Vorkommen von Aminosäuren in Harn, Trans- und Exsudaten ein häufigeres zu sein scheint, als man früher annahm.

Für den Nachweis freier Aminosäuren empfiehlt E. Abderhalden¹⁾, die zu untersuchende Flüssigkeit mit Phosphorwolframsäure zu fällen und deren Überschuss aus dem Filtrat mit Baryt zu entfernen, jedoch muss die Phosphorwolframsäure vorher mit Lösungen eines Gemisches von Aminosäuren auf ihr Fällungsvermögen geprüft worden sein. Aus dem von Phosphorwolframsäure und Baryt befreiten Filtrate können die Aminosäuren durch fraktionierte Kristallisation beim Eindampfen gewonnen werden. Gelingt der direkte Nachweis nicht, so müssen Derivate, zum Beispiel mit β -Naphthalinsulfochlorid, Phenylisocyanat gebildet werden, die jedoch nicht quantitativ entstehen. Da das Naphtalinsulfochlorid leicht mit Ammoniak Naphtalinsulfamid bildet, so ist jede Angabe durch eine vollständige Elementaranalyse zu ergänzen.

Zur quantitativen Bestimmung von Glutaminsäure und Tyrosin genügen 25—50 g Eiweiss von bekanntem Trocken- und Aschegehalt; diese werden mit der 5—6fachen Menge 25prozentiger Schwefelsäure 16 Stunden am Rückflusskühler gekocht, die noch heisse Flüssigkeit wird nach dem Verdünnen mit dem halben Volumen Wasser mit viel Tierkohle durchgekocht, filtriert und die Tierkohle gründlich ausgekocht. Nun wird entweder die Schwefelsäure mit der berechneten Menge Baryt genau ausgefällt, oder die Flüssigkeit auf einen Gehalt von 5 % Schwefelsäure verdünnt, mit Phosphorwolframsäure gefällt, im Filtrat die Säuren mit Baryt, im neuerlichen Filtrat dieser mit Schwefelsäure

¹⁾ Zeitschrift f. exp. Pathol. u. Therap. 2, 642.

quantitativ gefällt; alle Niederschläge müssen ausgekocht und ausgewaschen werden, bis das Filtrat keine Millon'sche Reaktion mehr zeigt. Durch Einengen der Filtrate erhält man, wovon man sich wiederum durch Millon's Reagens überzeugen kann, alles Tyrosin quantitativ.

In die eventuell durch Kochen mit Tierkohle entfärbte Mutterlauge vom Tyrosin leitet man bis zur Sättigung gasförmige Salzsäure ein, kühlt mit Eis ab und impft ein Kriställchen Glutaminsäurechlorhydrat ein, die bald beginnende Abscheidung ist nach 48 Stunden beendet, im Filtrat erfolgt nach neuerlichem Einleiten von Salzsäure nur noch eine geringe Abscheidung, die gewonnene Glutaminsäure wird über Kalk und Schwefelsäure getrocknet.

Die Mutterlauge vom Glutaminsäurechlorhydrat dampft man unter vermindertem Druck im Destillationskolben möglichst stark ein, löst den Rückstand in etwa der 3-fachen Menge absolutem Alkohol und leitet zur Veresterung gasförmige trockne Salzsäure ein. Engt man die alkoholische Lösung der Esterchlorhydrate unter vermindertem Druck und bei einer 40° nicht übersteigenden Temperatur ein, so kann man durch Einimpfen eines Kriställchens von Glykokollesterchlorhydrat und Stehenlassen in einer Kältemischung das Glykokoll als Esterchlorhydrat abscheiden. Es empfiehlt sich, die Veresterung nochmals zu wiederholen, das heisst die alkoholische Lösung ganz einzudampfen, den Rückstand in absolutem Alkohol (der gleichen Menge wie beim ersten Mal) aufzunehmen und wieder gasförmige, trockne Salzsäure einzuleiten.

Zur Gewinnung der übrigen Aminosäuren wird die Mutterlauge des salzsauren Glykokollesters (immer unter vermindertem Druck und bei niedriger Temperatur) eingedampft, der Rückstand in Äthylalkohol gelöst und nun in einem aliquoten Teil der auf ein bestimmtes Volumen gebrachten Flüssigkeit titrimetrisch genau der Salzsäuregehalt ermittelt. Nun fügt man zur ursprünglichen Lösung nach vorherigem Zusatz von Äther und Einstellen in eine Kältemischung die genau berechnete Menge einer 2-prozentigen Natriumäthylatlösung, hebt nach weiterem Zusatz von Äther die alkoholisch-ätherische Lösung vom ausgeschiedenen Kochsalz ab, trocknet sie mit geglühtem Natriumsulfat und unterwirft in der von E. Fischer¹⁾ und seinen Schülern wiederholt dargelegten

1) Zeitschrift f. physiol. Chemie 33, 36, 44—46.

Weise nach Vertreibung des Äthers die alkoholische Lösung der freien Ester der fraktionierten Destillation.

Zum Nachweis des Cystins wird die durch 6-stündiges Kochen mit konzentrierter Salzsäure erhaltene Lösung des Eiweisskörpers mit Wasser verdünnt, mit Tierkohle gekocht, filtriert und mit so viel Natronlauge versetzt, dass die Lösung eben noch schwach sauer bleibt. Dabei fallen Tyrosin und Cystin aus, die in 10-prozentigem Ammoniak heiss gelöst werden; zur erkalteten Lösung wird soviel Eisessig zugegeben, dass die Reaktion noch alkalisch bleibt, das dabei zur Ausscheidung kommende Tyrosin wird abfiltriert und im Filtrat das Cystin durch Übersättigung mit Eisessig gefällt.

Zum Nachweis des Tryptophans dient entweder die Neubauer'sche Probe¹⁾ oder ein Pankreasverdauungsversuch, wo man im Verdauungsgemisch entweder die Farbenreaktion mit Bromwasser oder die Fällung mit 5-prozentigem Quecksilbersulfat nach Hopkins und Cole ausführt.

Zum Nachweis eines anderen Eiweisssspaltungsproduktes, des Guanidins empfiehlt D. Ackermann²⁾ die Darstellung des Benzolsulfoproduktes. Wenn sich in der durch Silber und Baryt fällbaren Argininfraktion grössere Mengen Arginin finden, so werden diese am besten durch Pikrolonsäure entfernt, ehe man mit Benzolsulfochlorid beim Schütteln in alkalischer Lösung das schwer lösliche Benzolsulfoguanidin $C_6H_5SO_2NH \cdot C \cdot (NH)NH_2$ zur Ausfällung bringt.

Für die quantitative Bestimmung der in den Eiweisskörpern enthaltenen Zuckergruppe hat Otto Krummacher³⁾ folgendes festgestellt: Im Wittepepton ist eine reduzierende Substanz enthalten, die mit Phenylhydrazin ein Osazon, vermutlich Dextrosazon liefert. In Anlehnung an das Verfahren von Allihn-Kjeldahl⁴⁾ bestimmte Krummacher zunächst das Verhältnis von Cu zu Glukosamin bei verschiedenen Glukosaminmengen. Es ergab sich, dass die so erhaltenen Werte mit den von Kjeldahl unter gleichen Bedingungen für Traubenzucker gefundenen ziemlich genau übereinstimmen; aber auch die für Lävulose und Galaktose gültigen Zahlen sind höchstens

1) Diese Zeitschrift 45, 404.

2) Zeitschrift f. physiol. Chemie 47, 366.

3) Zeitschrift f. Biologie 47, 612.

4) Diese Zeitschrift 35, 344.

um 10 % von den für Glukosamin berechneten verschieden, so dass auch beim Vorkommen dieser Zuckerarten brauchbare Resultate zu erzielen sind. Der Gang der Analyse ist demnach folgender: 6 g lufttrockene Substanz von ermitteltem Trockengehalt werden im Wasserbade mit 20 cc Salzsäure (spez. Gew. = 1,19) und 160 cc Wasser 4 Stunden gekocht. Die erkaltete und mit etwa 50-prozentiger Kalilauge neutralisierte Flüssigkeit wird mit Essigsäure schwach angesäuert und mit Wasser auf das Volumen 250 gebracht. Nach dem Filtrieren, wobei ein geringer Rückstand auf dem Filter bleibt, werden 40 cc dieses Filtrates I mit 60 cc Phosphorwolframsäure (20 : 100) im Mefskolben gemischt, nach neuerlicher Filtration werden vom Filtrat II 70 cc eben merklich alkalisch gemacht, auf ein bestimmtes Volumen (75 oder 80 cc) gebracht, wieder filtriert und 65 cc des Filtrats III zur quantitativen Bestimmung nach Kjeldahl verwandt: In einen Erlenmeyerkolben von 150 cc kommen zunächst 30 cc Fehling'scher Lösung (34,639 g Kupfersulfat, 65,0 g Ätznatron, 173,0 g Seignettesalz im Liter) und die 65 cc vom Filtrat III. Zum Schluss wird der Mefszylinder noch mit 5 cc Wasser nachgespült. Der Kolben trägt einen doppelt durchbohrten Gummipfropfen, in welchem sich zwei rechtwinklig gebogene Glasröhren befinden, durch die eine wird während des Kochens Wasserstoff geleitet, die andere dient dem Gas und dem Wasserdampf zum Austritt. Der so vorgerichtete Kolben wird bis zu 1 cm oberhalb des Flüssigkeitsspiegels in ein siedendes Wasserbad getaucht und verbleibt 20 Minuten darin. Nach erfolgter Reduktion wird die Flüssigkeit noch heiss durch Asbest filtriert, der Niederschlag mit kochendem Wasser, Alkohol und Äther gewaschen und nach Überführung in Kupfer gewogen. Der gefundene Wert ist mit 11,9 zu multiplizieren.

V. Atomgewichte der Elemente.

Von

A. Czapski.

Das Atomgewicht der seltenen Erden wurde bisher durch Überführen der Oxyde dieser Elemente in die Sulfate bestimmt. Aber schon Brauner und Pavliček¹⁾ haben darauf hingewiesen, dass diese Methode nicht einwandsfrei ist, da es nicht möglich ist, auch durch Anwendung hoher Temperaturen ein rein neutrales Sulfat zu

¹⁾ Proceed. chem. Soc. 38, 336; vergl. auch diese Zeitschrift 45, 268.