

542. Erich Harnack: Ueber die Darstellung und die Eigenschaften aschefreien Albumins.

(Eingegangen am 18. November; mitgetheilt in der Sitzung von Hrn. W. Will.)

In einer früheren Abhandlung¹⁾ habe ich die Resultate meiner Untersuchungen über die Kupferverbindungen des Albumins zur Mittheilung gebracht. Es war ein dreifacher Zweck, welchen ich bei jener Arbeit verfolgte: einmal wollte ich feststellen, ob die Verbindungen des Eiweisskörpers mit Metallen in gesetzmässigen Gewichts-(Aequivalent-)verhältnissen vor sich gehen, sodann suchte ich hieraus das denkbar kleinste Moleculargewicht des Albumins zu ermitteln, und endlich war ich bemüht, die Metallverbindung des Eiweisses in reinem, d. h. abgesehen vom Metalloxyd »aschefreiem« Zustande herzustellen und als Ausgangspunkt für die analytische Untersuchung des Albumins zu verwerthen.

Nach allen drei Richtungen hin erhielt ich positive Resultate und berechnete das Moleculargewicht des Albumins auf 4618. Später hat Loew²⁾ die Hauptresultate meiner Arbeit bei Untersuchung von Silberverbindungen des Albumins bestätigt und unter Verdreifachung der seiner Zeit von Lieberkühn³⁾ aufgestellten Formel ein Moleculargewicht von 4836 für das Albumin berechnet. Wenn übrigens Loew meint, ich hätte eine neue Eiweissformel aufzustellen gesucht, weil ich zu niedrigeren Zahlen für den Schwefelgehalt des Albumins gelangt wäre, als Lieberkühn, so irrt er. Mir lag hauptsächlich daran, das denkbar niedrigste Moleculargewicht des Albumins (ausgehend vom Kupfergehalte des Kupferalbumins von constanter Zusammensetzung) zu bestimmen. Lieberkühn legte seiner Berechnung einen Kupfergehalt von ca. $4\frac{1}{2}$ pCt. zu Grunde; nach meinen Untersuchungen hat die kupferärmste Verbindung nur ca. 1.35 pCt., und hieraus berechnete sich das obige Moleculargewicht. Dieses Hauptresultat meiner Untersuchungen hat Loew, wie schon bemerkt, voll bestätigt, indem er zu dem Ergebniss gelangte, dass die Lieberkühn'sche Albuminformel zu verdreifachen sei. Dass die empirische Formel, welche ich aufzustellen versuchte, noch nicht als definitive zu betrachten sei, war mir nicht zweifelhaft: ob im Moleküle des Albumins 206 oder 216 Atome Kupfer enthalten sind, das wird sich vorläufig noch nicht sicher entscheiden lassen. Einige minder wesentliche Einwände von Loew⁴⁾ übergehe ich, auf die Frage nach dem

¹⁾ Zeitschr. für physiolog. Chem. V, 198.

²⁾ Loew, Pflüger's Archiv Bd. 31, S. 393.

³⁾ Lieberkühn, Poggend. Annal. 86, 121. 1852.

⁴⁾ Erwähnt sei nur noch, dass ich Platinalbuminate weder selbst hergestellt noch untersucht habe, wie es nach Loew's Bemerkungen darüber den

Schwefelgehalte des Albumins werde ich in einer besonderen Abhandlung zurückkommen.

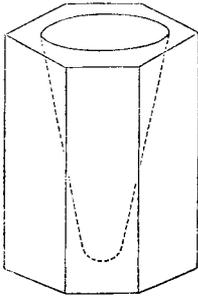
Zunächst interessirte mich eine andere, weit wichtigere Frage, der ich im Anschluss an meine früheren Untersuchungen nachging. Ich hatte mich davon überzeugt, dass es durch wiederholtes Lösen und Wiederausfällen des Kupferalbuminates ohne Schwierigkeit gelingt, das letztere so darzustellen, dass es beim Verbrennen ausser dem Kupferoxyd keinen anderen anorganischen Bestandtheil hinterlässt. Ich bemühte mich nun, aus solchem Kupferalbuminate durch Trennung der Verbindung von Kupfer und Eiweiss das letztere unverändert in reinem unverbundenen, wie man zu sagen pflegt, aschefreiem Zustande darzustellen. Nach manchen vergeblichen Bemühungen gelangte ich schliesslich auf relativ einfachem Wege zum Ziele, und die dabei gemachten Beobachtungen über die Eigenschaften des gewonnenen Eiweisskörpers dürften für die Chemie der Albuminate von nicht geringem Interesse sein.

Zunächst benutzte ich mein schon früher geübtes Verfahren zur Herstellung von reinem Kupferalbuminat. Der Gang ist dabei der, dass eine Lösung von möglichst reinem Albumin nach Abscheidung der Globuline etc. aus dem Eiweiss gewonnen, durch Fällen mit Kupfersalzlösung das Metallalbuminat erzeugt und letzteres durch wiederholtes Lösen und Fällen salzfrei gemacht wird. Ein grösseres Quantum gut zerschnittenes Eiweiss wurde mit Wasser und reichlich mit Essigsäure versetzt, das Filtrat genau neutralisirt, nochmals klar filtrirt und die Eiweisslösung hierauf mit Kupfervitriollösung gefällt. Der entstandene blaugrüne feinflockige Niederschlag wurde nun sorgfältigst ausgewaschen, sodann in etwas Wasser vertheilt, durch einige Tropfen Natronlauge gelöst, aus der Lösung aber durch Neutralisiren mit Essigsäure sofort wieder gefällt¹⁾. Dieselbe Procedur wurde nochmals wiederholt, der Niederschlag wieder aufs Sorgfältigste ausgewaschen, sodann in einer reichlichen Menge Natronlauge gelöst und die dunkelviolettblaue, beinahe gallertige Flüssigkeit 24 Stunden lang rubig stehen gelassen. Hierbei tritt nun die Zerlegung der Kupfer-Eiweissverbindung durch die Einwirkung des starken Alkalis ein, und fällt man am folgenden Tage durch Neutralisiren der Lösung mit Salzsäure, so erhält man einen farblosen, flockigen, im Ueberschuss der Säure nicht mehr löslichen Eiweissniederschlag, der sich gut absetzt, während das alles Kupfer in Lösung enthaltende hellgrüne Fil-

Anschein gewinnen könnte. Ich habe bisher nur Albuminate mit Cu, Pb und Zn hergestellt.

¹⁾ Das frisch gefällte Metallalbuminat löst sich bekanntlich sowohl im Ueberschuss des Alkalis, wie in dem der Säure auf, wird aber durch Neutralisiren der Lösung immer wieder gefällt.

trat leicht auf dem Filter abfließt. Man wäscht den Niederschlag nun auf dem Filter sorgfältig aus, bemerkt aber dabei bald, dass allmählich eine Quellung und Lösung des Eiweisses im Waschwasser stattfindet. Man muss daher von vornherein mit ziemlich grossen Quantitäten arbeiten, um einen Verlust ertragen und dabei



doch die grössere Menge des Eiweisses auf dem Filter möglichst vollkommen auswaschen zu können. Ist letzteres geschehen, so bringt man den Eiweisskörper in einer Platinschale zur Trockne: man kann dies getrost in einem Trockenschranke bei 100° C. und darüber vornehmen; denn anstatt dabei zu gerinnen, schmilzt die Eiweisssubstanz anfangs und trocknet schliesslich zu einer leimartigen, durchsichtigen, überaus harten und spröden, in dickeren Schichten gelbroth gefärbten Masse ein. Zum Pulverisiren derselben liess ich mir einen

tiefen Mörser aus einem Achatblock herstellen, ein zwar kostspieliges, aber sehr brauchbares Instrument. Ein Stahlmörser musste vermieden werden, da ich die Abwesenheit von Eisen in meinem Eiweisskörper darthun wollte, und eine flache Achatschale eignet sich für derartig harte und spröde Substanzen nicht. Der Mörser hatte folgende Form:

Der so gewonnene Eiweisskörper erwies sich nun als nahezu aschefrei: erhitzt man im Platintiegel, so tritt Schmelzung, Zersetzung bei mässig starkem charakteristischem Geruche und Verkohlung ein, die Masse bläht sich mächtig auf, und die Kohle verbrennt bei heller Rothgluth ohne jede Schwierigkeit, wie überhaupt bei verkohlenden aschefreien organischen Substanzen. Ein für das Auge kaum wahrnehmbarer Anflug hinterbleibt als Verbrennungsrückstand. Das Gewicht desselben betrug für ein Gramm der Eiweisssubstanz etwa ein Milligramm, was überaus wenig ist, wenn man erwägt, dass es sich nicht um eine krystallisirte Substanz, sondern um einen auf dem Filter ausgewaschenen Niederschlag handelt und dass man das Auswaschen wegen der allmählichen Lösung der Substanz in reinem Wasser nicht gar zu weit treiben kann.

Es darf somit der Eiweisskörper als ein nahezu aschefreier bezeichnet werden: namentlich wurde constatirt, dass weder Phosphor noch Spuren eines Phosphates in der Substanz enthalten sind; auch Eisen habe ich nicht nachzuweisen vermocht.

Die Haupteigenschaften dieses »aschefreien Albumins« sind die folgenden: im feuchten Zustande quillt der Körper allmählich in reinem Wasser, wird gelblich durchscheinend und bildet endlich eine sogenannte Lösung in Wasser. Durch Kochen wird das Zustandekommen der Lösung erheblich beschleunigt. Die in Wasser aufgequollene Masse wird durch Säuren compact, bröcklich oder flockig.

Ist das Eiweiss zuvor völlig getrocknet worden, so findet die Quellung compacter Stücke in Wasser und die »Lösung« nur sehr langsam statt; hat man aber die Substanz pulverisirt und erhitzt das Wasser zum Sieden, so kommt ziemlich rasch eine klare farblose Lösung zu stande. Das aschefreie Albumin wird also durch die Siedhitze nicht in eine unlösliche Modification verwandelt oder zur Gerinnung gebracht. Die aus der Lösung durch Abdampfen des Wassers eingetrocknete Substanz ist, soweit sich dies vorläufig beurtheilen lässt, unverändert geblieben (bis auf Spuren von Pepton, die sich gebildet haben) und immer wieder in Wasser quellbar und »löslich«.

Das aschefreie Albumin wird aus seiner wässrigen Lösung gefällt: einmal durch Säuren, unlöslich im Ueberschuss, sodann durch Neutralsalzlösungen (Chlornatrium etc. etc.), selbst recht verdünnte, erst durch sehr starkes Verdünnen des Gemisches wieder löslich. Das Ausgefällte ist unverändert geblieben, nach dem Abfiltriren und Auswaschen zeigt es wieder die obigen Eigenschaften. Kocht man dagegen den durch Kochsalzlösung etc. erzeugten Niederschlag zusammen mit der Lösung, so wird er mehr und mehr in die in Wasser unlösliche Modification des Albumins übergeführt. Natürlich fallen auch lösliche Salze der schweren Metalle, die eben in Wasser unlösliche Metallalbuminate bilden, selbstverständlich fallen auch die Phosphorwolframsäure, das Ferrocyankalium u. s. w. Wie dagegen das aschefreie Albumin aus seiner Lösung nicht durch Siedhitze zur Gerinnung gebracht wird, so wird es auch weder durch Alkohol, noch durch Aether, noch durch Phenol oder Tannin gefällt.

Die geschilderten Eigenschaften unserer Substanz liefern den Beweis, dass es sich bei dem Herstellungsverfahren nicht etwa um die Umwandlung des Albumins in eine andere Eiweisscategorie handelt. Es wird Niemandem einfallen, etwa an das Myosin zu denken, weil unser Eiweisskörper aus seinen Lösungen durch Neutralsalze und durch Säuren gefällt wird. Von den Alkalialbuminaten, an deren Bildung man am ehesten denken könnte, unterscheidet er sich schon durch die Unlöslichkeit des durch Säuren erzeugten Niederschlags im Säureüberschuss, ferner durch die »Löslichkeit« in reinem Wasser, die Fällbarkeit durch Neutralsalze und durch das Fehlen der anorganischen Substanzen. Ammoniak ist bei unserem Herstellungsverfahren gar nicht zur Anwendung gekommen.

Die Nichtfällbarkeit durch Alkohol unterscheidet unser Albumin von den verschiedensten anderen Eiweissstoffen, während es sich andererseits durch zahlreiche Eigenschaften als ein genuiner Eiweisskörper documentirt und z. B. auch von den Peptonen wesentlich unterscheidet.

Wir haben es also in der That mit Albumin, aber mit aschefreiem, d. h. mit unverbundenem Albumin zu thun, welches eben zum Theil ganz andere Eigenschaften besitzt, als nachdem es sich mit

Kalkphosphat u. s. w. verbunden hat. Die bemerkenswerthesten Unterschiede sind die folgenden:

1. Reines, d. h. unverbundenes Eieralbumin ist durch Siedhitze nicht coagulirbar und scheint überhaupt für sich der sogenannten geronnenen Modification nicht fähig zu sein.

2. Reines Eieralbumin wird durch Alkohol, Aether, Phenol und Tannin nicht gefällt.

3. Reines Eieralbumin bildet mit reinem kaltem Wasser eine Quellung, die allmählich, namentlich beim Erhitzen bis zum Sieden, den Charakter einer »Lösung« annimmt. Aus letzterer wird das Albumin gefällt durch Neutralsalzlösungen (wieder löslich durch sehr starke Verdünnung) und durch Säuren (unlöslich im Ueberschuss), nicht durch Alkalien. Wird der durch Neutralsalzlösung erzeugte Niederschlag zusammen mit der Lösung gekocht, so wird er mehr und mehr in die unlösliche Eiweissmodification übergeführt.

4. Das durch Eindampfen seiner Lösung bei 100° eingetrocknete Eiweiss hat seine Eigenschaften nicht verändert, quillt immer wieder in Wasser, löst sich beim Sieden u. s. w.

Indem ich mich für diesmal auf die obigen Angaben beschränke, will ich nur noch darauf hinweisen, dass mit der Unfähigkeit des »aschefreien« Albumins, durch Siedhitze coagulirt zu werden, etwas bestätigt worden ist, was man schon wiederholentlich vorausgesagt hat. Man hat sich ja schon vielfach bemüht, salzfreies Albumin herzustellen. Am Besten ist dies Alex. Schmidt und seinen Schülern¹⁾ auf dem Wege der Dialyse gelungen. Hierbei wurde bereits die Beobachtung gemacht, dass durch Dialyse nahezu salzfrei gewordenes Albumin weder durch die Siedhitze coagulirt noch durch Alkohol gefällt wurde, während dies sofort geschah, sobald ein gewisses Quantum von Chlornatrium der Lösung hinzugefügt wurde.

Ob in letzterer Hinsicht nicht vielleicht ein kleiner Irrthum in der Beobachtung vorliegt, vermag ich nicht sicher zu entscheiden. Schmidt und Aronstein scheinen nämlich nicht beobachtet zu haben, dass das Chlornatrium an sich schon das salzfreie Albumin aus seiner Lösung ausfällt, ohne Siedhitze oder Alkohol. Nach meinen Beobachtungen verhält sich die Sache in folgender Weise: setzt man zu der Lösung des aschefreien Albumins tropfenweise Kochsalzlösung oder sonst ein Neutralsalz, so löst sich anfänglich der entstehende

¹⁾ Vergl. B. Aronstein, über die Darstellung salzfreier Albuminlösungen mittelst der Diffusion. Diss. inaug. Dorpat, 1873.

Niederschlag beim Umschütteln wieder klar auf. Kocht man dann sofort diese Lösung, so tritt keine Coagulation ein. Versetzt man die Lösung aber weiter mit Kochsalz, so wird bald der Niederschlag bleibend. Durch starkes Verdünnen mit Wasser ist dieser Niederschlag wieder löslich; verdünnt man dagegen nicht, kocht man vielmehr den Niederschlag zusammen mit der Lösung, so wird er mehr und mehr in Wasser unlöslich gemacht. Diese Thatsachen beweisen: einmal, dass das Albumin nur in seiner Verbindung mit Salzen der Coagulation durch Siedhitze fähig ist, und sodann, dass es sich nicht um eine Vermischung des Albumins mit den Salzen, sondern um eine Verbindung handelt; denn die Coagulationsfähigkeit des Albumins durch Siedhitze tritt nur allmählich ein, je mehr sich das Eiweiss wieder mit Neutralsalzen zu vereinigen vermag. Ausserdem wird dadurch bewiesen, dass unser Präparat genuines Eiweiss geblieben ist. Mit der Fällbarkeit durch Alkohol u. s. w. verhält es sich ganz analog: die Lösung des aschefreien Albumins wird durch Alkohol nicht gefällt. Setzt man blos soviel Kochsalz hinzu, dass der entstehende Niederschlag sich beim Umschütteln wieder löst, so wird die Lösung durch Alkohol direct nicht gefällt, bei längerem Stehen aber tritt eine mehr und mehr zunehmende Trübung auf. Auch daraus ergibt sich also, dass das Eiweiss eine gewisse Zeit braucht, um sich wieder mit dem Neutralsalze zu vereinigen und dadurch seine Fällbarkeit durch Alkohol wieder zu gewinnen.¹⁾

Die weitere umfassende chemische Untersuchung des aschefreien Albumins wird darzuthun haben, dass hier wirklich ein chemisches Individuum gegeben ist; a priori lässt sich das zwar nicht mit Sicherheit erweisen, aber kaum bezweifeln, da bei dem Herstellungsverfahren die Globuline des Eiweisses entfernt wurden. Indessen thut das auch vorläufig gar nichts zur Sache. Das Wichtige sind die Unterschiede in den Eigenschaften des aschefreien und aschehaltigen Albumins.

Wir wollen vorläufig darauf verzichten, auf all die weit gehenden Folgerungen hinzuweisen, die sich in physiologischer Hinsicht ergeben, namentlich für alle Gerinnungsvorgänge, bei denen Eiweisskörper betheiligt sind, z. B. in der Milch, im Blute u. s. w. Zahl-

¹⁾ Versuche, aschefreies Albumin herzustellen, sind ausser den oben genannten noch vielfach ausgeführt worden. Nach einem dem meinigen ganz analogen Darstellungsverfahren, nämlich mittelst Zersetzung von Bleialbuminat durch Kohlensäure und SH_2 , bemühte sich Wurtz (*Annal. de Chim. et de Phys.* 3. Sér. T. XII, pag. 217) zum Ziele zu gelangen, doch enthielt sein Präparat noch Kalkphosphat. — Neuerdings hat Schrötter (diese Berichte XX, pag. 1950) aschefreie, in Alkohol lösliche Benzoyläther von Eiweisskörpern dargestellt.

reiche Beobachtungen haben uns ja schon darauf hingewiesen, dass die im Eiweiss enthaltenen, oder richtiger gesagt, die mit dem Eiweiss verbundenen Salze hierbei eine hochwichtige Rolle spielen. Auch in pharmakologischer Hinsicht ist der Umstand, dass wir es im lebenden Organismus stets mit aschehaltigem Eiweiss zu thun haben, jedenfalls von höchster Bedeutung. Dass das Eiweiss bei seiner Vereinigung mit Metalloxyden seine basischen Phosphate u. s. w. allmählich verliert, ist eine sehr bemerkenswerthe Thatsache.

Es war bisher die Annahme sehr verbreitet, dass sich aschefreies Albumin gar nicht in reinem Wasser lösen werde: jetzt wissen wir, diese Voraussetzung war eine irrthümliche. Im Gegentheil, das Albumin ist durch zahlreiche Einwirkungen unlöslich zu machen nur, wenn es mit Aschebestandtheilen verbunden ist. Erklären lässt sich diese Thatsache nicht, sie ist ein Räthsel mehr in dem eigenthümlichen Verhalten der Eiweissverbindungen; aber bekanntlich lässt sich bei anderen »colloïden« Substanzen ein ganz analoges Verhalten beobachten. Die mit Hilfe des Dialysators erhaltenen »Lösungen« von Kieselsäure oder Thonerde gerinnen sofort auf Zusatz einer kleinen Salzmenge, oder aber beim Erhitzen auf Zusatz von Kochsalz bezw. Glaubersalz. Die Löslichkeit des aschefreien Albumins in Wasser ist freilich nur in dem Sinne zu verstehen, wie die Löslichkeit des Eiweisses überhaupt. Um eine wirkliche Lösung in Wasser handelt es sich bei dem colloïden Eiweisskörper wohl ebenso wenig, wie bei jenen Substanzen: es ist vielmehr der Zustand einer sehr vollkommenen Quellung, in welchem sich die colloïde Substanz befindet.

Ob es jemals gelingen wird, reines Eialbumin in krystallisirtem Zustande darzustellen, ist fraglich. Neuerdings ist es Hofmeister¹⁾ gelungen, krystallisirte Verbindungen des Eialbumins mit Ammoniumsulfat zu gewinnen, aber aus der durch Dialyse salzfrei gemachten Albuminlösung erhielt er keine Krystalle. Immerhin erscheint die Sache bei dem gegenwärtigen Stande unseres Wissens und Könnens nicht als völlig aussichtslos, und Bunge hat Recht, wenn er sagt, dass die Analyse und Untersuchung der reinen Eiweisskrystalle und ihrer sämtlichen Spaltungsproducte das Fundament der ganzen physiologischen Chemie bilden würde. Durch die Möglichkeit der Herstellung aschefreien Albumins dürften wir diesem Ziele immerhin um ein Stück näher gekommen sein.

Halle a. S., im Novembér 1889.

¹⁾ Hofmeister, Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. XVI, pag. 165.