

Aus dem Analytischen Laboratorium der Universität Lettlands in Riga
Vorstand: Prof. Dr. M. Straumanis

Umwandlung einiger Sphäroproteine in Linearproteine bei Desaminierung, II

Von B. Jirgensons

Mit 6 Abbildungen

(Eingegangen am 24. November 1942)

In einigen unlängst veröffentlichten Arbeiten wurde gezeigt, daß Casein und andere Proteine bei Desaminierung in Linearproteine umgewandelt werden¹⁾. Das Hauptmerkmal, das solche Umwandlung kundgibt, ist die sehr beträchtliche Zunahme der Viscosität der Lösungen. Während 0,1—0,5% Lösungen des Caseins oder Albumins eine spezifische Viscosität (η_{sp}) von etwa 0,02—0,1 haben, beträgt die η_{sp} von ebenso konzentrierten Lösungen der Desaminoproteine 0,4—2,0.

In der vorliegenden Arbeit wird über weitere Versuche mit Desaminohämoglobin, sowie Desaminoalbumin berichtet. Es wurde gefunden, daß auch Hämoglobin bei der Desaminierung in ein Linearprotein umgewandelt wird. Werden die Desaminoproteine in möglichst verdünnter Lauge gelöst, so erhält man besonders zähe Lösungen. So hatte z. B. eine 0,072%-ige neutrale Lösung des Desaminoalbumins $\eta_{sp} = 2,42$. Im Falle sehr kleiner Laugekonzentration erniedrigt sich die Viscosität nur sehr wenig mit der Zeit, oder in einigen Fällen sogar erhöht sie sich.

Es ist auch interessant, daß hinsichtlich der Koagulation durch Neutralsalze die Desaminoproteine sich sehr ähnlich verhielten: alle untersuchten Desaminoproteine sind z. B. durch

¹⁾ B. Jirgensons u. M. Strautmanis, Kolloidn. Schurnal (russ.) 7, 129 (1941); B. Jirgensons, J. prakt. Chem. [2] 160, 120 (1942); B. Jirgensons, J. prakt. Chem. (im Druck).

0,1 mol.-CaCl₂ leicht koagulierbar. Die unveränderten Proteine, z. B. Albumin einerseits und Casein andererseits, sind in dieser Beziehung ganz verschieden: während die Albuminsole sehr beständig gegen CaCl₂ sind, kann man die Caseinate leicht auskoagulieren. Charakteristisch dagegen sind die Unterschiede (z. B. eines Desaminoalbumins von einem Desaminohämoglobin) bei der Fällung durch konzentriertes Calciumchlorid und varrierende Mengen eines Alkohols. Die Fällungseffekte sind bei solcher Arbeitsweise praktisch unabhängig vom p_H²⁾.

Beschreibung der Versuche

A. Desaminohämoglobin. Als Ausgangssubstanz wurden Hämoglobine von der Firma E. Merck verwendet. Diese erwiesen sich bei einer spektroskopischen Untersuchung als Gemische von Oxy- und Methämoglobin. Zwei Proben wurden desaminiert, die eine wurde in Gegenwart von 2n-Essigsäure eine kurze Zeit mit salpetriger Säure behandelt, die andere dagegen in verd. Essigsäure eine längere Zeit desaminiert.

Desaminohämoglobin I: 4 g Hämoglobin wurden in 80 ccm dest. Wasser gelöst, filtriert und mit einer Lösung von 5 g NaNO₂ in 20 ccm Wasser versetzt. Dabei erfolgten keine sichtbaren Veränderungen. Nun wurde bei 15° unter ständigem Umrühren tropfenweise so viel konz. Essigsäure zugesetzt, bis die Säurekonzentration im Gemisch 2n war. Die Desaminierung erfolgt sehr rasch, wobei ein dunkelgrüner Niederschlag sich bildete. Nach 2-stündigem Stehen bei + 15° wurde der Niederschlag abgenutscht, mit warmem Wasser (bis zum Verschwinden der sauren Reaktion), dann mit Alkohol und Äther gewaschen. (Das Filtrat war fast farblos, also ist die Häminkomponente bei dem Desaminoprotein geblieben.) Die graugrüne Substanz wurde im Vakuumexsiccator und weiter 3 Stunden bei 90—95° getrocknet.

Desaminohämoglobin II: 4,0 g Hämoglobin wurden ebenso wie oben beschrieben gelöst und mit so viel 3n-Essigsäure versetzt, daß die Säure im Gemisch 0,25n war. Dabei erfolgen keine besonderen Veränderungen. Nun wurde langsam, unter ständigem Rühren gelöstes Natriumnitrit (5 g in 20 ccm Wasser) zugesetzt, wobei bald ein Niederschlag des Desaminohämoglobins sich bildete. Das Gemisch wurde 24 Stunden bei + 15° stehen gelassen und dann abgenutscht. Der Niederschlag wurde weiter ebenso wie im ersten Fall behandelt.

Die für die Analysen bestimmten Proben der Desaminohämoglobine sowie der Hämoglobine wurden fein gepulvert und parallel bei derselben Temperatur getrocknet. Die N-Bestimmungen wurden nach der Methode von Dumas (mikro) ausgeführt.

²⁾ B. Jirgensons, Koll.-Beihefte 44. 285 (1936); Koll.-Z. 99, 314 (1942).

Tabelle 1

Hämoglobin I	15,60% N	Hämoglobin II	14,50% N
Desaminohämoglobin I	14,34% N	Desaminohämoglobin II	14,12% N
	Differenz 1,26% N		Differenz 0,38% N

Da Hämoglobin etwa 8% Lysin enthält und Lysin 9,58% N in Form freier Aminogruppen, so sollte bei vollständiger Desaminierung der freien $-\text{NH}_2$ der N-Verlust 0,76% betragen. Die gefundene Differenz ist bei dem Desaminohämoglobin I größer, bei dem zweiten Präparat aber geringer.

Das Desaminohämoglobin löste sich nicht in Wasser, oder organischen Lösungsmitteln, auch nicht in Säuren. In Laugen geht es unter vorheriger Quellung langsam in Lösung. Die Lösungen sind grünlichbraun gefärbt. Durch Säuren, sowie durch Neutralsalze kann man die Substanz aus den basischen Lösungen leicht ausfällen. Starke Trübung entsteht schon nach der Zugabe von einigen Tropfen 0,2 m- CaCl_2 oder 1 n- NaCl .

Die Lösungen des Desaminohämoglobins sind sehr zäh. 0,5—1,0%-ige Lösung in 0,01—0,02 n- NaOH ist eine typische Gellösung. Die spezifische Viscosität solcher Lösungen liegt zwischen 1,0—6,5 und fällt mit der Zeit. Bei verdünnten 0,03—0,3%-igen Lösungen dagegen fällt die η_{sp} mit der Zeit nur dann, wenn ein Laugeüberschuß vorhanden ist. Haben wir keinen Laugeüberschuß, so bleibt die Viscosität praktisch konstant. Nur bei sehr alten Lösungen, wo eine Zersetzung durch Faulnisbakterien eintritt, wurde dann weiter eine Erniedrigung der Viscosität beobachtet.

Die Viscosität wurde mit einem Wi. Ostwaldschen Viscosimeter, der den Wasserzahl von 80,0 Sekunden hatte, bei $+25^\circ$ im Thermostaten ausgeführt.

Die für die Messungen bestimmten Lösungen wurden durch Auflösen von 0,25 oder 0,50 g Substanz in 50 ccm 0,005, 0,01 oder 0,02 n- NaOH hergestellt. Die Substanz wurde mehrere Stunden mit der Lauge angerührt, über Nacht stehen gelassen und die Lösung dann durch ein Glasfilter von Ungelöstem abgetrennt. In den meisten Fällen war die Auflösung vollständig.

Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen und Abbildungen dargestellt.

Tabelle 2

Vergleich der η_{sp} beider Desaminohämoglobine verschiedener Konzentration (c). Grundlösung: 0,5 g Substanz in 50 ccm 0,02n-NaOH. Messungen 24 Stunden nach der Herstellung

Desaminohämoglobin I		Desaminohämoglobin II	
$c\%$	η_{sp}	$c\%$	η_{sp}
1,0	1,13	1,0	0,381
0,50	0,629	0,50	0,232
0,25	0,382	0,25	0,133
0,125	0,281		
0,06	0,181		

Die verdünnteren Lösungen wurden aus der Grundlösung (1%) durch fortschreitende Verdünnung mit dest. Wasser hergestellt. Wie aus der Tab. 2 ersichtlich ist, sind die Lösungen des Desaminohämoglobins II viel weniger zäh als die Lösungen des I. Die Lösungen des unveränderten Hämoglobins in 0,02n-NaOH sind aber noch viel weniger viscos. So hatte eine 0,5%-ige Lösung des Hämoglobins $\eta_{sp} = 0,062$. Auch eine 1 Tag alte Lösung des Hämoglobins in 1n-Essigsäure hatte eine η_{sp} von nur 0,050.

Die in der Tab. 2 beschriebenen Lösungen sind basisch. In solchen basischen Lösungen fällt die Viscosität mit der Zeit sehr beträchtlich, wie es aus der Tab. 3 ersichtlich ist.

Tabelle 3

Desaminohämoglobin I, 0,25 g in 50 ccm 0,01n-NaOH.
Erniedrigung der Viscosität mit der Zeit

18 Stdn. alte Lösung		60 Stdn. alte Lösung		106 Stdn. alte Lösung	
$c\%$	η_{sp}	$c\%$	η_{sp}	$c\%$	η_{sp}
0,50	1,39	0,50	0,938	0,50	0,602
0,25	0,681	0,25	0,598	0,25	0,409
0,125	0,397	0,125	0,363	0,125	0,225
0,06	0,257	0,06	0,221	0,06	0,136
0,03	0,130	0,03	0,102	0,03	0,052

Wird die Substanz in 0,05n-NaOH gelöst (z. B. 0,5 g in 50 ccm 0,05n-NaOH), so fällt die η_{sp} schon nach 1 bis 2 Tagen

auf 0,05—0,15. Die minimalste Laugekonzentration, in der man Desaminohämoglobin zu 0,5% auflösen kann, ist 0,005 n. Solche Lösungen haben einen p_H von ~ 7 , wobei die Viscosität so groß ist, daß die Messungen im Falle 0,5%-iger Lösung oft nur nach einer mechanischen Vorbehandlung, z. B. Filtrieren durch ein Glasfilter unter Druck, möglich ist. Aus den Tabellen 4 und 5 ist nun zu ersehen, daß die Viscosität solcher Lösungen, besonders im Fall kleiner c , praktisch unverändert bleibt, oder sogar noch sich erhöht.

Tabelle 4

Desaminohämoglobin I, 0,25 g in 50 ccm 0,005 n-NaOH.
Einfluß der Zeit und Konzentration

Messungen 20 Std. nach d. Herstellung		66 Std. nach d. Herstellung	
c %	η_{sp}	c %	η_{sp}
0,50	4,48	0,50	3,55
0,25	1,01	0,25	1,60
0,125	0,375	0,125	0,783
0,06	0,181	0,06	0,457
0,03	0,070		

Tabelle 5

Desaminohämoglobin II, 0,25 g in 50 ccm 0,005 n-NaOH.
Einfluß der Zeit und Konzentration

Messungen 24 Std. nach Herstell.		Nach 72 Std.		Nach 140 Std.	
c %	η_{sp}	c %	η_{sp}	c %	η_{sp}
0,8	3,96	0,8	2,82	0,8	2,49
0,4	1,64	0,4	1,31	0,4	1,12
0,2	0,824	0,2	0,725	0,2	0,620
0,1	0,422	0,1	0,471	0,1	0,350
0,05	0,199	0,05	0,239	0,05	0,175

In Abb. 1 sind die Resultate der Tab. 4 graphisch dargestellt. Im Falle kleiner c erhöhten sich die η_{sp} -Werte mit der Zeit.

In der Tab. 6 und Abb. 2 ist der Einfluß von NaCl auf die Viscosität sichtbar. Schon geringe Konzentrationen des Salzes erniedrigen die Viscosität beträchtlich. Bei 0,05 n-NaCl (im Gemisch) beginnen die Gemische mit der Zeit trüb zu werden. Die Viscosität fällt von 0,629 auf 0,231. Jedenfalls

ist auch dann noch die η_{sp} des Desaminohämoglobins etwa 7-mal höher als die η_{sp} des Hämoglobins.

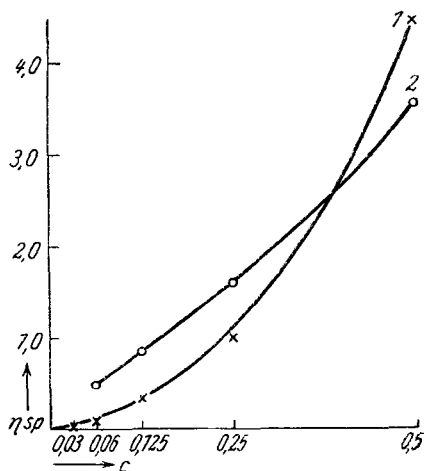


Abb. 1

Abb. 1. Abhängigkeit der Viscosität von der Konzentration des Desaminohämoglobins I. Messungen 20 Stunden (Kurve 1) und 66 Stunden (Kurve 2) nach Herstellung der Lösungen

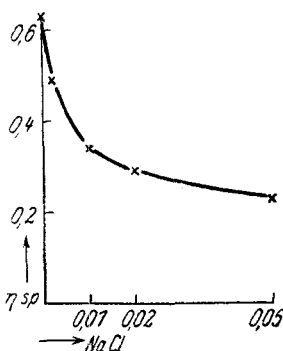


Abb 2

Abb. 2. Abhängigkeit der Viscosität einer 0,5%-igen Lösung des Desaminohämoglobins vom NaCl

Tabelle 6

Desaminohämoglobin I, 0,25 g in 50 ccm 0,01 n-NaOH. Einfluß von NaCl

NaCl Mol i. Liter des Gemisches	η_{sp}	
0,00	0,629	klare Lösung
0,002	0,495	
0,010	0,343	
0,020	0,295	
0,050	0,231	
		schwach trübe Lösung

In Abb. 3 ist ferner der Einfluß von Laugekonzentration auf die Viscosität sichtbar. Eine 1%-ige Lösung des Desaminohämoglobins I in 0,02n-NaOH wurde mit 0,01n- oder 0,1n-HCl bzw. NaOH versetzt, und mit so viel Wasser verdünnt, daß die Konzentration des Proteins im Gemisch 0,5% war. Bei einer bestimmten OH'-Konzentration ist ein Maximum der Viscosität sichtbar. Die Erniedrigung der Viscosität bei sehr

kleiner Laugekonzentration kann aber auch als Folge der Einwirkung des bei der teilweisen Neutralisation gebildeten Natriumchlorids angesehen werden, denn bei direkter Auflösung in möglichst wenig Lauge ist die Viscosität sehr hoch. Übrigens ist die Kurve sehr ähnlich den Kurven des Desaminocaseins, Desaminoalbumins³⁾, sowie der Polyacrylsäuren⁴⁾.

Die Lösungen der Desaminohämoglobine wurden auch mit Hilfe der Fällungstitration untersucht⁵⁾. Die Lösungen wurden mit Aceton bis zu beginnender Trübung titriert⁶⁾. Die Endpunkte waren aber unscharf, so daß es schwer war die Resultate quantitativ auszuwerten. Für die Charakterisierung der Substanzen eignet sich hier die Methode der Reihenversuche, wo die Fällung durch variierende Mengen z. B. des

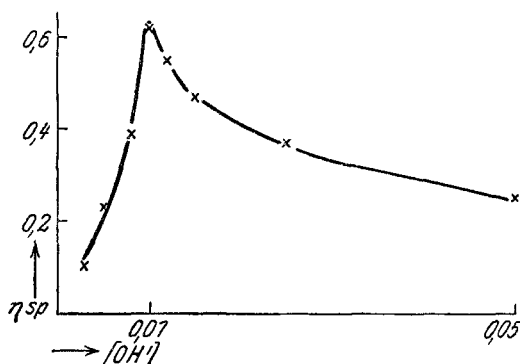


Abb. 3. Abhängigkeit der Viscosität einer 0,5%-igen Lösung des Desaminohämoglobins von der NaOH-Konzentration

Propylalkohols und konstante Konzentration eines Neutralsalzes (z. B. CaCl_2) vorgenommen wird⁷⁾. In eine Reihe von Reagenzgläsern wurde eine bestimmte Menge der Lösung des Desaminoproteins, sowie Salz, Propylalkohol und dest. Wasser gegeben, vermischt und die Koagulation beobachtet. Das Volumen einzelner Gemische in den Reihen war konstant (10 ccm). Jede Reihe bestand aus 9 Gemischen in denen die Konzentration des Proteins und des Salzes konstant waren, und die Konzentration des

³⁾ B. Jirgensons, a. a. O., Anm. 1.

⁴⁾ H. Staudinger u. E. Trommsdorff, Liebigs Ann. Chem. 502, 201 (1933).

⁵⁾ Über Fällungstitration vgl. G. V. Schulz, Z. physik. Chem. (A) 179, 321 (1937); G. V. Schulz u. B. Jirgensons, Z. physik. Chem. (B) 46, 105 (1940); B. Jirgensons, J. prakt. Chem. [2] 161, 30 (1942).

⁶⁾ B. Jirgensons, J. prakt. Chem. [2] 161, 30 (1942).

⁷⁾ B. Jirgensons, a. a. O., Anm. 2.

Alkohols regelmäßig anstieg. Die Reihen wurden bis zum nächsten Tag (24 Stunden) beobachtet. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Abb. 4 sichtbar. Schon vor einer längeren Zeit wurde gefunden, daß bei solcher kombinierten Fällung des Hämoglobins eine Fällungs- und eine Stabilisationszone in den Reihen zu beobachten ist (a. a. O., Anm. 2). Bei 5–30 Vol.-% Propylalkohol fällt Hämoglobin aus, bei 40–60 Vol.-% des Nichtelektrolyts dagegen bleibt es in hochdispenser Lösung. Vergleicht man nun das unveränderte Hämoglobin mit den Desaminohämoglobinen, so ist es auffallend, daß die Desaminohämoglobine stärker stabilisiert werden, als Hämoglobin. Die Konzentration der Proteine war 0,1%, des Calciumchlorids 0,2 Mol/Liter (im Gemisch).

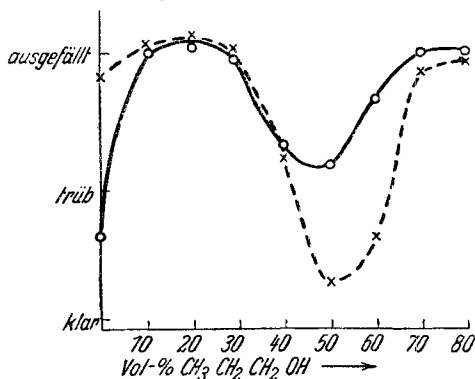


Abb. 4. Flockungsgrad des Hämoglobins und Desaminohämoglobins (gestrichelte Kurve) in Reihen mit konstanter großer CaCl_2 -Konzentration (0,2 Mol im Liter) und variierenden Mengen des *n*-Propylalkohols

B. Desaminoalbumin. Es wurden hier hauptsächlich 2 Desaminoalbumine untersucht; das eine wurde durch rasche, das andere durch langdauernde Behandlung mit HNO_2 hergestellt.

Desaminoalbumin V: 5 g Ovalbumin (E. Merck) wurden in 100 ccm dest. Wasser gelöst und dialysiert. Die ausgefallenen Globuline wurden abfiltriert. Dann wurde die Lösung mit soviel konz. Essigsäure versetzt, daß die Konzentration der Säure im Gemisch 2n war. Die Desaminierung wurde mit einer Lösung von 10 g NaNO_2 in 30 ccm Wasser ausgeführt. Die Nitritlösung wurde langsam zugesetzt. Nach einer kurzen Zeit beginnt das Gemisch zu opaleszieren und trüb zu werden. Gleichzeitig wurde auch Gasentwicklung festgestellt. Nach 2-stündigem Stehen bei $+15^\circ$ wurde das ausgefallene Desaminoalbumin abgenutscht anfangs mit kaltem, dann mit warmem Wasser, weiter mit Alkohol und Äther gewaschen. (Aus dem klaren Filtrat fiel kein weiterer Niederschlag mehr aus.) Die gewonnene Substanz war schwach graugelb gefärbt.

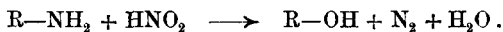
Desaminoalbumin III: 5 g Ovalbumin wurden ebenso wie oben beschrieben gelöst und dialysiert. Die Desaminierung wurde aber mit 10 g NaNO_2 in 1 n-Essigsäure ausgeführt. Das Gemisch blieb 24 Stunden bei $+15^\circ$ und am Ende wurde noch 30 Minuten bei 50° erwärmt. Die gewonnene Substanz war hellgelb gefärbt.

Für die N-Bestimmungen genommene Proben wurden fein gepulvert und $2\frac{1}{2}$ Stunden bei $85-90^\circ$ getrocknet. Ebenso getrocknet wurden auch die Bezugsproben des dialysierten Ovalbumins. Die Analysenergebnisse (Mikro-Dumas) sind in Tab. 7 zusammengestellt.

Tabelle 7

Albumin I	14,54% N	Albumin II	14,42% N
Desaminoalbumin V	13,67% N	Desaminoalbumin III	14,31% N
	Differenz 0,87% N		Differenz 0,11% N

Da Ovalbumin $6,4\%$ Lysin enthält, sollte bei vollständiger Desaminierung der freien Aminogruppen der Lysinradikale der N-Gehalt um $0,61\%$ vermindert sein. Man kann also daraus schließen, daß bei rascher Desaminierung (Herstellung von V) die Reaktion auch glatt nach dem bekannten Schema verläuft:



Wird aber ein Protein eine längere Zeit mit dem Nitrit-Essigsäure-Gemisch behandelt, so verlaufen anscheinend noch verschiedene Nebenreaktionen (Einführung von Nitroso- sowie Nitrogruppen), wobei der N-Gehalt wieder wächst. Die kleine Differenz von $0,11\%$ im Fall von Desaminoalbumin III ist also kein Beweis dafür, daß die Desaminierung unvollständig war.

Die Desaminoalbumine, gleich den anderen Desaminoproteinen, lösten sich nicht in Wasser, in organischen Lösungsmitteln oder in Säuren. Auch in 6-molarer Harnstofflösung lösten die Desaminoproteine sich nicht auf. Die Desaminoalbumine sind aber löslich in Laugen. Diese Lösungen sind hellgelb bis rotbraun gefärbt. Gelbe Lösungen gab Desaminoalbumin V bei möglichst geringer Laugekonzentration. Bei größerem Laugeüberschuß sind die Lösungen rotbraun. Die Lösungen verhielten sich gegen Neutralsalze ganz anders, als die Lösungen des Albumins. Schon von $0,2$ mol.- CaCl_2 oder 1 n- NaCl erfolgt Koagulation. In dieser Hinsicht sind alle untersuchten Desaminoproteine sehr ähnlich.

Hinsichtlich der Viscosität verhielten sich diese Lösungen ebenso wie die oben beschriebenen Lösungen der Desamino-

hämoglobine, sowie die früher untersuchten und beschriebenen (a. a. O., Anm. 1) Desaminocaseine und Desaminoalbumine. Neu ist hier erstens die Beobachtung, daß im Falle sehr kleiner Laugekonzentration und kleiner Konzentration des Proteins die Viscosität mit der Zeit sich nicht nur erniedrigen sondern sich auch erhöhen kann. Die Resultate sind in den folgenden Tabellen und Abbildungen zusammengestellt.

Aus der Tab. 8 sind die Resultate mit Desaminoalbumin V zu ersehen. 0,25 g Substanz wurden in 50 ccm 0,01n-NaOH gelöst. Nach 20 Stunden war die Auflösung vollständig. Die Lösung war ganz klar und hatte eine hellorange Farbe. Auf Lackmus reagierte die Lösung schwach basisch.

Tabelle 8
Desaminoalbumin V, 0,25 g in 50 ccm 0,01n-NaOH

Messungen 24 Stunden nach Herstellung der Lösung		Nach 72 Stunden	
c ‰	η_{sp}	c ‰	η_{sp}
0,50	0,512	0,50	0,421
0,25	0,350	0,25	0,327
0,125	0,240	0,125	0,238
0,06	0,152	0,06	0,142
0,03	0,090	0,03	0,071

Viel zäher sind die fast neutral reagierenden Lösungen (Tab. 9).

Tabelle 9
Desaminoalbumin V, 0,25 g in 50 ccm 0,005n-NaOH.
Klare, hellgelbe Lösung

Messungen 24 Stunden nach Herstellung der Lösung		Nach 72 Stunden	
c ‰	η_{sp}	c ‰	η_{sp}
0,50	1,85	0,50	1,52
0,25	1,27	0,25	0,900
0,12	0,779	0,12	0,550
0,06	0,412	0,06	0,311
0,03	0,166	0,03	0,140

Die höchsten Viscositätszahlen wurden bei einer Lösung von Desaminoalbumin V in 0,0032n-NaOH festgestellt. 0,25 g

Desaminoalbumin V wurden mit 50 ccm 0,0032n-NaOH angerührt und 26 Stunden (unter ofttem Umrühren) stehen gelassen. Der größte Teil der Substanz war ungelöst, aber stark gequollen geblieben. Das Gemisch wurde nun durch ein Glasfilter filtriert. Das Filtrat war fast ganz klar und schwach citronengelb gefärbt. Durch Eindampfen und Trocknung wurde die Konzentration bestimmt, wobei sich herausstellte, daß die Substanz nur zu 0,072% sich aufgelöst hatte. Die Messungsergebnisse sind in der Tab. 10 wiedergegeben worden.

Tabelle 10

Desaminoalbumin V mit minimalster NaOH-Konzentration

c g/Liter	η_{sp}	Z_{η}
0,72	2,42	3,36
0,36	1,09	3,03
0,18	0,472	2,62
0,09	0,198	2,20

In der Tab. 11 und Abb. 5 sind die Messungsergebnisse mit dem Desaminoalbumin III dargestellt. 0,25 g Substanz wurde in 50 ccm 0,005n-NaOH gelöst, durch Glasfilter filtriert und viscosimetriert. Die Lösung war schwach trüb, strukturiert, neutral auf Lackmus; die Farbe war hellorange.

Tabelle 11

Desaminoalbumin III. Einfluß der Zeit

η gemessen 24 Stunden nach Beginn der Auflösung		Nach 96 Stunden	
c ‰	η_{sp}	c ‰	η_{sp}
0,50	5,20	0,50	4,33
0,25	1,24	0,25	1,39
0,12	0,526	0,12	0,600
0,06	0,225	0,06	0,243

In der Abb. 6 ist ferner die Abhängigkeit der Viscosität von der Konzentration im Falle zwei verschiedener NaOH-Konzentrationen graphisch dargestellt. Die Zahlen sind von den Tab. 8 und 9 genommen (erste Spalte). Vergleicht man die Kurven der Abb. 5 und 6 so ist der Gegensatz nicht zu verkennen. Der steile Anstieg der Kurve bei größerem c ist ein Hinweis

auf Strukturierung (im Fall des Desaminoalbumins III). Durch ein grobes Glasfilter filtrierte frische 0,5%-ige Lösung des

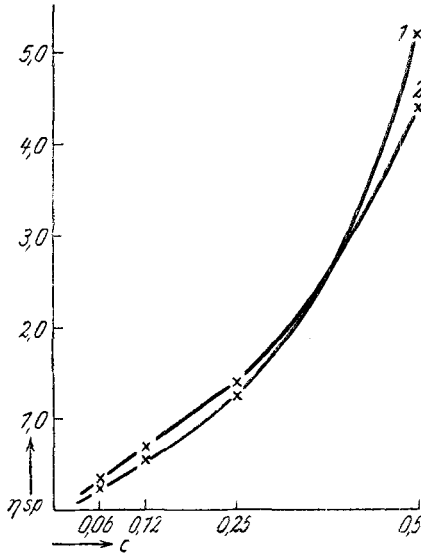


Abb. 5. Abhängigkeit der Viscosität von der Konzentration des Desaminoalbumins III. Messungen 24 Stunden (Kurve 1) und 96 Stunden (Kurve 2) nach Herstellung der Lösungen

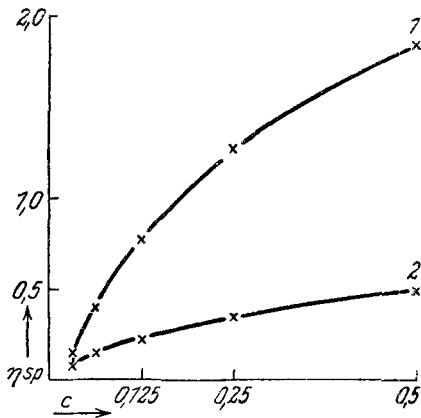


Abb. 6. Abhängigkeit der Viscosität von der Konzentration des Desaminoalbumins V bei verschiedener NaOH-Konzentration. Kurve 1 = NaOH in Grundlösung 0,005 n. Kurve 2 = NaOH in Grundlösung 0,01 n

Desaminoalbumins III kann man als ein Mittelding zwischen einer Lösung und einer Gallerte betrachten, denn beim Fließen durch eine Capillare oder durch ein nicht zu weites Glasrohr kann man mit unbewaffnetem Auge ganz kleine zusammenhängende Gelteilchen sehen. Die Lösungen des Desaminoalbumins V dagegen waren vollständig homogen. Die Viscositätszahlen $Z_{\eta} = \frac{\eta_{sp}}{c}$ sind in diesem Fall bei größeren Konzentrationen kleiner, als bei kleineren.

Bemerkenswert ist noch die Tatsache, daß die neutralen Lösungen des Desaminoalbumins V schon durch einige Kubikzentimeter 0,1 n-NaCl trüb werden. Auch bei der Fällung durch konz. CaCl_2 und variierende Konzentration des Propylalkohols konnte bei 40—60 Vol.-% Propylalkohol keine andauernde Stabilisation beobachtet werden. Hiermit unterscheiden sich diese Lösungen von denen des unveränderten Albumins oder von den Lösungen des Desaminohämoglobins.

Besprechung der Ergebnisse

Schon in den früheren Arbeiten wurde die Schlußfolgerung gezogen, daß die sehr hohe Viscosität der Desaminoproteine durch die Denaturierung und Umwandlung in Linearproteine bedingt ist. Durch Wegnahme der freien NH_2 -Gruppen wird die Bildung der sogenannten Salzbrücken zwischen den benachbarten Peptidketten unmöglich gemacht. Die Entstehung von linearmakromolekularen Stoffen bei Desaminierung ist also insofern geklärt, daß dabei die gegenseitigen Bindungen zwischen den Peptidketten des Sphäroproteins unterbrochen sind, wobei die Ketten sich frei entfalten können.

Vergleicht man verschiedenartig desaminierte Proteine, so ist es auffallend, daß den niedrigsten N-Gehalt gerade diejenigen Produkte hatten, die eine kurze Zeit mit salpetriger Säure behandelt wurden. Die kürzere Zeit desaminierten Produkte lösten sich in verdünntem NaOH auch mit hellerer Farbe, als die lange Zeit (24 Stunden) desaminierten. Das kann durch die bei andauernder Einwirkung von $\text{HN}(\text{O})_2$ verlaufenden Nebenreaktionen erklärt werden, nämlich durch Einführung von Nitroso- und Nitrogruppen in die Moleküle.

Vergleicht man jetzt verschiedene Desaminoproteine: Desaminocasein, Desaminoedestin, Desaminoalbumin und Desaminohämoglobin, so ist allen folgendes gemeinsam: Löslichkeit in Lauge und Farbe der Lösungen, hohe Viscosität, relativ leichte Fällbarkeit durch Neutralsalze, Erniedrigung der Viscosität mit der Zeit bei einem Laugeüberschuß, Abfallen der Viscosität mit zunehmender Salzkonzentration. Die Desaminoproteine sind in mancher Hinsicht den Polyacrylsäuren⁹⁾ ähnlich.

Wichtig ist die Frage über die Gründe der Erniedrigung der Viscosität mit der Zeit. Es wurde schon früher⁹⁾ die Schlußfolgerung gezogen, daß in basischer Lösung die Kettenmoleküle des Desaminoproteins gespaltet werden. In der vorliegenden Arbeit wurde nun die wichtige Tatsache festgestellt, daß in den Fällen, wo kein Laugeüberschuß vorliegt, die Viscosität mit der Zeit praktisch unverändert bleibt, oder sogar noch ansteigt. Es wurde auch versucht, die Spaltung durch Fällungstitration^{9a)} zu beweisen. In den meisten Fällen waren die Trübungspunkte aber so unscharf, daß keine sicheren Schlußfolgerungen möglich waren. Die Versuche sollen noch fortgesetzt werden. Von den bisherigen Ergebnissen kann man nur schließen, daß die Fällbarkeit nicht proportional der Erniedrigung der Viscosität zunimmt. Während die Viscosität sich erniedrigt, bleiben die für die Fällung notwendigen Acetonmengen annähernd konstant. Diese Tatsachen weisen darauf hin, daß parallel der Spaltung mit der Zeit noch andere Umwandlungsvorgänge stattfinden; es ist z. B. möglich, daß die Moleküle parallel der Längsachse sich zusammenlagern, oder daß die faserigen Teilchen sich wieder einrollen.

Man kann nicht leugnen, daß die sehr große Viscositätszunahme nicht nur durch die Fadenform der Moleküle, sondern auch durch die einsinnige Aufladung bedingt ist. Die Moleküle der Desaminoproteine sind keine Zwitterionen mehr, sondern mehrbasische Säuren. In verdünnter Lauge sind diese als Salze

⁹⁾ H. Staudinger u. E. Trommsdorff, Liebigs Ann. Chem. 502, 201 (1933); W. Kern, Z. physik. Chem. (A) 181, 249 (1937).

⁹⁾ B. Jirgensons, J. prakt. Chem. [2] 159, 303 (1942); 160, 120 (1942).

^{9a)} G. V. Schulz, Z. physik. Chem. (A) 179, 321 (1937); G. V. Schulz u. B. Jirgensons, Z. physik. Chem. (B) 46, 105 (1940); B. Jirgensons, J. prakt. Chem. [2] 161, 30 (1942).

dissoziiert und haben einsinnig negative Ladung. Durch Zugabe von Salzen wird die Ladung erniedrigt, wobei auch die Viscosität abfällt. Jedoch ist es hier schwer zu entscheiden, wie groß der eigentliche Ladungseffekt ist, denn schon durch 0,1—0,01n-Neutralsalz erfolgt Koagulation, wobei auch die Teilchenform sich ändern soll. Es ist kein Grund anzunehmen, daß in den trüben Lösungen die Dissymmetrie der Teilchen dieselbe ist, wie in den nicht koagulierten. Viel plausibler ist die Möglichkeit, daß die koagulierten Teilchen mehr kugelförmig sind. Die Abnahme der Viscosität durch Einwirkung der Salze hat ihren Grund nicht nur in der Abnahme der Ladung, sondern ist auch eine Folge der Erniedrigung der Dissymmetrie.

Die Lösungen der Desaminoproteine haben eine große Neigung zur inneren Strukturierung. Durch grobes Glasfilter filtrierte 0,5% - ige Lösungen bestehen oft aus zusammenhängenden kleinen Gelteilchen, die direkt sichtbar sind. Im Falle solcher Gellösungen kehrt sich die $\eta = f(c)$ -Kurve oberhalb von $c = 0,2—0,5\%$ steil nach oben; die $\frac{\eta_{sp}}{c}$ -Werte wachsen mit der Konzentration an¹⁰⁾. Ein solches Verhalten wurde aber nicht bei allen Desaminoproteinen festgestellt. So ist aus der Abb. 6 zu ersehen, daß beim Desaminoalbumin V die Zunahme der Viscosität mit der Konzentration im Gebiet kleiner Konzentration größer ist, als im Gebiet größerer Konzentration. Wir können also schließen, daß in diesem Fall keine Strukturierung erfolgt und die Moleküle frei beweglich sind.

Zusammenfassung

Die Desaminierung von Ovalbumin und Hämoglobin wurde weiter untersucht und die Viscosität und Koagulation der Lösungen der Desaminoproteine studiert. Die Lösungen der Desaminoalbumine, Desaminohämoglobine sowie Desaminocaseine zeigen ein fast vollständig übereinstimmendes Verhalten hinsichtlich der Abhängigkeit der Viscosität von der Konzentration, von der Zeit, von der Konzentration der Lauge, sowie der Salzkonzentration. Bei einem Überschuß von Lauge fällt

¹⁰⁾ Vgl. H. Staudinger, Organische Kolloidchemie, 2. Aufl. 1941. 6. Kapitel.

die Viscosität mit der Zeit. Ist kein Überschuß von Lauge vorhanden, so bleibt die Viscosität praktisch konstant. Durch Neutralsalze erfolgt Trübungsbildung und Erniedrigung der Viscosität. Die Viscositätszahlen (Z_{η}) verdünnter Lösungen der Desaminoproteine sind so hoch (0,1—3,3), daß die Desaminoproteine zu Linearkolloiden gerechnet werden können. Es wurde die Schlußfolgerung gezogen, daß bei der Desaminierung die Peptidketten entrollt und gegenseitig befreit werden, wobei fadenförmige Moleküle entstehen.

Dem Vorstand des Analytischen Laboratoriums Herrn Prof. Dr. M. Straumanis dankt der Verfasser für das große Entgegenkommen, das er ihm während der Ausführung dieser Arbeit zeigte.