

Beiträge zur Kenntniss der Albumosen

(II. Mittheilung)

von

Hugo Schrötter.

Aus dem chemischen Institute der k. k. Universität in Graz.

(Vorgelegt in der Sitzung am 14. Juni 1895.)

Die Körpergruppe der Albumosen und Peptone ist von dem Eiweiss schon durch die Löslichkeit in der Wärme und Nichtcoagulirbarkeit ziemlich streng geschieden. Anders verhält es sich aber mit der Unterscheidung der Albumosen von den Peptonen, die nur eine geringe Differenz in ihren äusseren Eigenschaften aufweisen. Kühne, wohl einer der besten Kenner dieser Körper, hat das Verhalten gegen gesättigte Ammonsulfatlösung als Differentialreaction vorgeschlagen, indem er jene Eiweissumsetzungsproducte, die durch dieses Reagens gefällt werden, als Albumosen, die nicht gefällt werden, als echte Peptone bezeichnet. Obwohl die Berechtigung dieser Differenzirung vielfach angezweifelt wurde, hat man doch bei den geringen Kenntnissen, die man von diesen Körpern hatte, keine andere an deren Stelle setzen können.

Ebenso allgemein acceptirt ist wohl die Ansicht, dass das Eiweiss durch Einwirkung von Fermenten, wie auch von Säuren, zuerst in Albumosen übergeführt wird, die dann bei weiterer Einwirkung dieser Agentien in echte Peptone übergehen, dass also stets die Umwandlung Albumin—Albumose—Pepton erfolgt.

Sämmtliche ältere Untersuchungen hatten aber mit der grossen Schwierigkeit zu kämpfen, dass die Materialbeschaffung eine äusserst langwierige und schwierige war und dass die

Körper, die schliesslich untersucht wurden, auch deshalb wenig Kriterien der Reinheit boten. Diese Schwierigkeiten sind nun in neuester Zeit theilweise dadurch gemindert worden, dass man durch die schönen Untersuchungen Paal's¹ im Stande ist, sich verhältnissmässig leicht grössere Mengen Pepton darzustellen und auch von dem chemischen Verhalten desselben mehr kennen gelernt hat, wie auch dadurch, dass durch meine ältere Veröffentlichung² und die vorliegende besser charakterisirte Albumosen bekannt wurden.

Dass die in mancher Beziehung überraschenden Resultate dieser Untersuchungen uns zwingen, obige Ansichten zu modificiren, werde ich nach der Beschreibung meiner neueren Versuche erörtern. Vorausschicken muss ich nur noch, dass ich meine Versuche in der Voraussetzung anstellte, dass der Übergang von Albumose in echtes Pepton durch Einwirkung von Säuren viel leichter vor sich gehen wird als von Eiweiss in Pepton, und dass ich dadurch, dass ich von einer reinen Albumose ausgehe, auch zu einem reinen Pepton gelangen werde, welches ich dann näher studiren wollte. Dass diese Voraussetzung nicht eintraf, werden folgende Untersuchungen zeigen.

Einwirkung von Salzsäure und Wasser auf Pepton Witte (Albumosen).³

Da ich auf echtes Pepton nach Kühne hinarbeitete, liess ich starke Salzsäure auf das Witte'sche Albumosengemenge so lange einwirken, bis ich nur mehr eine sehr geringe Trübung bei Zusatz von überschüssigem Ammonsulfat erhielt. Es wurden demgemäss schliesslich 100 g Pepton Witte mit 200 g concentrirter Salzsäure im Kolben auf dem Wasserbade durch 3 Stunden digerirt, dann noch 100 g Salzsäure zugesetzt und abermals 5 Stunden digerirt. Erst bei so lange dauernder Einwirkung und ohne Wasserzusatz konnte ich es dazubringen, dass die wässrige Lösung mit Ammonsulfat nur mehr wenig getrübt

¹ Ber. der deutschen chem. Gesellsch., XXV, 1202 und XXVII, 1826.

² Monatshefte für Chemie, XIV, 612.

³ Ich habe, um wenigstens einigermassen über die Zusammensetzung des verwendeten Pepton Witte orientirt zu sein, folgende Bestimmungen ausgeführt: $8 \cdot 7^0_{10}$ H₂O bei 115°, $2 \cdot 1^0_{10}$ Asche, $1 \cdot 2^0_{10}$ Schwefel.

wurde. Bei der Untersuchung des Reactionsproductes ergab sich aber, dass die Albumosen sich vollkommen zersetzt hatten, da die Lösung keine Biuretreaction mehr gab und aus der alkoholischen Lösung wohl Leucin, aber kein Peptonchlorhydrat zu isoliren war.

Da ich auf diese Weise nicht zu dem gewünschten Ziele gelangte, stellte ich weitere Versuche ganz unter denselben Bedingungen, die Paal für die Überführung des Eieralbumins in Peptonchlorhydrat angibt, an. Es wurden demgemäss 30 g Pepton Witte mit 25 g concentrirter Salzsäure und 5 g Wasser durch 4 Stunden am Wasserbade in einem Kolben erwärmt, dann in einer Schale heiss mit kohlensaurem Blei neutralisirt, filtrirt, das Filtrat mit Schwefelwasserstoff entbleit, eingedampft und schliesslich in vacuo zur Trockene gebracht. Der trockene Rückstand wurde nun mit 95% Alkohol ausgekocht, wobei aber der grösste Theil ungelöst blieb. Die alkoholische Lösung mit Äther gefällt, gab eine syrupöse Fällung, die, abermals mit heissem Alkohol behandelt, sich auch nur zum Theil löste und beim Erkalten Schmierer absetzte. Die wässrige Lösung des in Alkohol Unlöslichen, wie auch des sich beim Erkalten desselben Abscheidenden gaben keine Biuretreaction. Die kalte alkoholische Lösung endlich gab mit Äther eine Fällung, die beim Trocknen im Vacuum zu einer blasigen Masse erstarrte, äusserst hygroskopisch war, Biuretreaction zeigte, mit einem Überschuss von Ammonsulfat in wässriger Lösung theilweise gefällt wurde und schwefelfrei¹ war, also jedenfalls Peptonchlorhydrat enthielt, aber lange nicht rein war, da es sich selbst in Methylalkohol nur theilweise löste und viel Asche enthielt. Das Gewicht war circa 2 g. Es wurde also unter Bedingungen, bei denen Glutin und Eiereiweiss fast vollständig peptonisirt werden, aus dem Albumosengemenge eine nur sehr geringe Menge Pepton erhalten.

Einwirkung von Alkohol und Salzsäuregas auf Pepton Witte.

Da ich, wie soeben besprochen, aus dem Witte'schen Pepton mit wässriger Salzsäure nur sehr geringe Mengen

¹ 0.8 g vacuumtrockener Substanz gaben mit 5 g KOH und 4 g KNO₃ verschmolzen und entsprechend behandelt nur unwägbare Spuren von SO₄Ba.

Peptonchlorhydrat erhalten konnte, habe ich die Einwirkung von Salzsäure in alkoholischer Lösung untersucht, in der Hoffnung, eventuell Peptonäther zu erhalten, und habe deshalb die Versuchsbedingungen gewählt, welche meist bei der Esterificirung eingehalten werden. Es wurden dementsprechend 100 g Pepton Witte mit 500 g 95% Alkohol übergossen und trockene Salzsäure bis zur Sättigung eingeleitet. Die Flüssigkeit erwärmt sich stark, färbt sich dunkel, und der grösste Theil der Albumosen geht in Lösung; dann wurde etwa eine halbe Stunde am Wasserbade unter Rückfluss gekocht, wobei eine klare dunkle Lösung entstand, und schliesslich im Salzsäurestrom erkalten gelassen. Es setzten sich hiebei anorganische Salze ab, von denen abgegossen wurde. Aus der alkoholischen Lösung wurde dann das Reactionsproduct mit viel Äther als hellgraues Pulver gefällt, das sich gut absetzte. Es wurde nun durch einen Filtrirbeutel filtrirt, der Niederschlag mit den Händen abgepresst, mittelst eines Spatels rasch in eine Glasschale übergefüllt und in das Vacuum über Schwefelsäure gestellt. Obwohl der Niederschlag recht hygroskopisch ist, kann man bei raschem Arbeiten denselben fast ohne Verlust erhalten, nur hat man nicht mit Äther nachzuwaschen, da derselbe scheinbar lose gebundenen Alkohol löst und dadurch der weissliche Niederschlag zu einem gelben Syrup zerfliesst. Aus demselben Grunde zerfliesst der Niederschlag auch beim Stehen im Vacuum über Schwefelsäure zu einer mehr oder weniger dunkelgefärbten dicken Flüssigkeit, die nach dem Abdunsten des Alkohols eine blasige hellgraue Masse bildet. Das Gewicht derselben betrug vacuumtrocken 77 g. In der ätherisch-alkoholischen Lösung waren nur geringe Mengen Zersetzungsproducte enthalten, die keine Biuretreaction gaben. Das Rohproduct wurde durch öfteres Lösen in Alkohol und Fällen mit Äther gereinigt und ergab schliesslich ein hellgelbes Pulver, das selbst in absolutem Alkohol in der Hitze vollkommen löslich war; beim Erkalten scheidet sich ein Theil mikrokrySTALLINISCH ab.

Gegen die üblichen Eiweissreagentien verhält es sich folgendermassen: Mit Ferrocyankalium und Essigsäure entsteht Fällung (die Peptone geben keine); es zeigt die Biuret-, Xanthoprotein- und Millon'sche Reaction; mit Sublimatlösung

entsteht eine schwache, mit Phosphorwolframsäure und mit überschüssigem schwefelsauren Ammonium eine dicke Fällung; mit salpetersaurem Silber nur eine Trübung, erst bei Zusatz von viel Salpetersäure und Erwärmen entsteht Chlorsilber; es ist endlich schwefel- und stickstoffhaltig. Schliesslich ist noch hervorzuheben, dass es zwar hygroskopisch ist, aber lange nicht in dem Masse als die Peptonchlorhydrate,¹ da man es trocken ganz gut umfüllen kann, ohne dass es an Gewicht zunimmt. Diesem Verhalten und den Reactionen gemäss ist das Product jedenfalls als ein Chlorhydrat von Albumosen, und zwar, wie ich unten zeigen werde, hauptsächlich zweier Albumosen anzusprechen und enthält kein oder höchstens äusserst geringe Mengen Pepton.

Von diesem Chlorhydrat wurde nur eine Chlor- und Aschenbestimmung gemacht, die 12·6% Cl und 2·5% Asche ergab.

Ein Theil dieser Chlorhydrate wurde durch Behandeln mit Silbersulfat in die Sulfate und diese durch genaues Ausfällen mit Ätzbaryt in die freien Albumosen übergeführt, in derselben Weise, wie Paal die freien Peptone aus den Chlorhydraten darstellt. Die auf diese Weise erhaltene wässrige Lösung der freien Albumosen wurde eingedampft, in vacuo zur Trockene gebracht und der Rückstand mit absolutem Methylalkohol wiederholt ausgekocht, wobei ein Theil in Lösung ging, während der grössere ungelöst blieb. Diese Lösung wurde mit Äther gefällt und diese Operation so oft wiederholt, bis ein vollkommen methylalkohollösliches Product resultirte.

Der in Methylalkohol unlösliche Theil wurde mit 95% Äthylalkohol übergossen und in der Hitze so viel Wasser tropfenweise zugefügt, bis sich Alles gelöst hatte. Beim Erkalten dieser wässrig-alkoholischen Lösung krystallisirt nun wieder ein Theil als hellgelbes Pulver heraus, das abfiltrirt, mit Alkohol

¹ Es ist überhaupt für Jeden, der Peptonchlorhydrate und Albumosenchlorhydrate in der Hand hatte, schon durch das Ansehen leicht zu erkennen, was vorliegt, da die Albumosensalze aus alkoholischer Lösung in reinem Zustand als weisses Pulver gefällt werden, das man abfiltriren kann, die Peptonsalze aber mehr oder weniger schmierig fallen und so hygroskopisch sind, dass sie nicht zu filtriren gehen.

ausgewaschen und aus wässerigem Alkohol umkrystallisiert wurde. Dasselbe, das sich, wie unten zu ersehen, schon durch seinen hohen Schwefelgehalt deutlich unterscheidet, zeichnet sich auch durch sein grösseres Krystallisationsvermögen gegenüber den anderen bekannten Albumosen aus, da es sich beim langsamen Abkühlen der verdünnt alkoholischen Lösung entweder unter günstigen Bedingungen in plattgedrückten, gut ausgebildeten Prismen oder in kernigen Krystallen abscheidet. Auch die Zerfliesslichkeit unter Wasseranziehung, die ich bei anderen Albumosen beobachtet hatte, zeigt dasselbe nicht.

Aus der wässerig-alkoholischen Lösung wurde schliesslich der Rest der Albumosen mit Äther als Syrup gefällt, der im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet eine dunkelgelb gefärbte blasige Masse bildete, die nicht weiter gereinigt wurde.

Alle drei Fractionen waren schwefelhaltig und zeigten die Reactionen der Albumosen, die Analysen derselben gaben aber ganz unerwartete Resultate. Während nämlich die methylalkohollösliche Albumose so ziemlich dieselben Zahlen gab wie die vor zwei Jahren von mir auf anderem Wege dargestellte krystallinische Albumose (loc. cit.) und sich auch sonst gleich verhielt, zeigte die aus der verdünnt-alkoholischen Lösung krystallisirende so hohe Schwefelzahlen, wie sie meines Wissens bei Albumosen noch nie beobachtet wurden. Die dritte Fraction scheint ein Gemenge beider zu bilden.

Die erhaltenen Zahlen sind:

Schwefelärmere, methylalkohollösliche Albumose, mikrokrySTALLINISCH bei 105° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. In kaltem Wasser trüb löslich,¹ also etwas esterificirt.

$C = 51.7\%$ $H = 7.1\%$ $N = 16.7$ $S = 0.8^2$
Asche 0.5; anorg. ClH 0.3% best. durch Kochen der wässerigen Lösung mit HNO_3 und $AgNO_3$.

¹ Die von mir loc. cit. beschriebene Albumose gab folgende Zahlen als Mittel meiner Analysen: C 50.7, H 6.5, N 16.9, S 1.1. Die um 1% höhere Kohlenstoffzahl hat wohl ihren Grund darin, dass Esterification eingetreten ist, was auch P a a l bei dem Pepton beobachtet hat.

² Die Bestimmung wurde durch Verschmelzen mit der zehnfachen Menge KOH und der achtfachen KNO_3 ausgeführt, es ist hiebei aber hervorzuheben, dass die mit dem Barytsalz versetzte salpetersaure Lösung der Schmelze

Schwefelreiche, in heissem wässrigen Alkohol lösliche und beim Erkalten auskrystallisirende Albumose wie oben getrocknet, ebenfalls theilweise esterificirt.

$$C = 49.48\% \quad H = 6.7 \quad N = 16.3$$

S = 1.8; Asche 0.3%; anorg. HCl nicht wägbar.

S = 1.4 (bei einem nicht umkrystallisirten unreinen Präparat).

3. Fraction nicht weiter gereinigt.

$$N = 16.6 \quad S = 1.15.$$

Betreffs der Mengenverhältnisse, in welchen diese Albumosen in dem ursprünglichen Chlorhydrat enthalten sind, muss ich vorausschicken, dass die zur Reinigung vorgenommenen Operationen mit viel Substanzverlust verbunden sind. Ich habe schliesslich aus 20 g Chlorhydrat 10 g reiner trockener Albumose erhalten, wovon etwa 3.5 g schwefelärmere, 2.5 g schwefelreichere Albumose waren und 4 g der dritten Fraction angehörten.

Um zu sehen, ob dieses auf obige Weise dargestellte alkohollösliche Albumosechlorhydrat sich leichter und glatt in Peptonchlorhydrat überführen lässt, wurden 15 g desselben mit 15 g Salzsäure zuerst längere Zeit in der Kälte stehen gelassen, dann durch 4 Stunden am Wasserbade digerirt, hierauf mit Bleicarbonat neutralisirt, abfiltrirt, mit H₂S entbleit, filtrirt, eingedampft und schliesslich mit 95% Alkohol ausgekocht. Eigenthümlicher Weise bleibt auch in diesem Falle, in dem ich von einem alkohollöslichen Product ausgieng, der grösste Theil ungelöst, und die wässrige Lösung des Unlöslichen gab keine Biuretreaction.

Die alkoholische Lösung, mit überschüssigem Äther versetzt, schied nur sehr geringe Mengen einer syrupösen, an den Wandungen des Kolbens haftenden gelben Flüssigkeit ab, die zwar die Biuretreaction zeigte, aber so gering war, dass sie nicht weiter untersucht werden konnte. Es hat sich also auch

mindestens eine Stunde am Wasserbade zu digeriren ist, da der Niederschlag sehr langsam entsteht. Um sicher zu sein, dass mein Ätzkalium und Salpeter schwefelfrei sind, habe ich je 5 g genau so behandelt, wie bei der Bestimmung, aber keine Spur eines Niederschlages erhalten.

in diesem Falle, der doch nach unseren dermaligen Anschauungen die möglichst günstigen Bedingungen bot, wenn überhaupt, nur in ganz geringer Menge Pepton gebildet.

Schliesslich möchte ich noch hervorheben, dass ich, um die Peptonchlorhydrate kennen zu lernen, dieselben aus Eieralbumin mittelst Salzsäure dargestellt habe und sämtliche diesbezügliche Angaben Paal's vollinhaltlich bestätigen kann. Die Peptonchlorhydrate zeigten sich auch beim Verschmelzen mit Ätzkalium und Salpeter schwefelfrei, gaben aber beim Versetzen der wässrigen Lösung mit überschüssigem Ammoniumsulfat eine Fällung. Auch Paal hat unter der grossen Anzahl der Peptonchlorhydrate, die er dargestellt und analysirt hat, nur ein einziges mit sehr hohem Säuregehalt¹ erhalten, das mit Ammoniumsulfat nicht gefällt wurde.

Wenn man die Resultate meiner Untersuchungen über die Albumosen, wie auch derjenigen Paal's über die Peptone zusammenfasst, kommt man meiner Ansicht nach zu zweierlei Schlussfolgerungen, die ich auch deshalb getrennt besprechen und begründen möchte.

Albumosen und Peptone wie auch ihre Salze geben mit überschüssigem Ammoniumsulfat in wässriger Lösung Fällungen, es ist deshalb die von Kühne vorgeschlagene Differentialreaction, die auf der Fällbarkeit, respective Nichtfällbarkeit durch dieses Reagens beruht, nicht mehr aufrecht zu erhalten. Nun unterscheiden sich aber die Albumosen von den Peptonen sehr deutlich durch ihren höheren Stickstoffgehalt, durch ihr bedeutend höheres Moleculargewicht und endlich dadurch, dass sie schwefelhaltig sind, während die Peptone schwefelfrei sind.

Eine Trennungsmethode zwischen diesen Körpern ist uns derzeit nicht bekannt, aber um zu entscheiden, ob im gegebenen Falle Albumosen oder Peptone vorliegen, halte ich folgende Charakterisirung dieser Körpergruppen berechtigt: Albumosen sind jene Umwandlungsproducte des Eiweiss, welche

¹ Ber. der deutschen chem. Gesellsch., XXVII, 1834.

neben ihren anderen mit den Peptonen gemeinsamen Reactionen schwefelhaltig sind, Peptone jene, die schwefelfrei sind, selbstredend insofern diese Umwandlungsproducte noch als wahre Eiweisskörper aufzufassen sind.

Es hat diese Charakterisirung schon den Vortheil, dass sie nicht auf das Verhalten gegen ein einziges Reagens, sondern auf der chemischen Zusammensetzung der betreffenden Körpergruppen basirt ist und dass der Schwefelgehalt verhältnissmässig leicht festzustellen ist. Es ist diesbezüglich Folgendes hervorzuheben: der qualitative Schwefelnachweis durch Verkohlung der organischen Substanz mit Natrium und Versetzen der alkalischen Lösung mit Nitroprussidnatrium ist in diesem Falle, da wir keine exacten Trennungsmethoden besitzen, zu empfindlich und nicht zu gebrauchen. Es ist deshalb, um diesen Nachweis zu führen, nothwendig, eine entsprechende Menge Substanz (nicht unter 0·2 g) mit der zehnfachen Menge schwefelsäurefreien Ätzkaliums und der achtfachen Menge reinen Salpeters im Silbertiegel zu verschmelzen. Bei diesen Mengenverhältnissen geht, wenn man den Salpeter langsam zusetzt, die Zerstörung der organischen Substanz langsam und ohne Verpuffung vor sich. Ferner ist aber noch unbedingt nothwendig, die salpetersaure mit salpetersaurem Baryt versetzte Lösung mindestens eine halbe Stunde auf dem Wasserbade zu erwärmen, da die Abscheidung des schwefelsauren Baryts sehr langsam erfolgt.

Für die zweite Folgerung sind meiner Ansicht folgende Momente massgebend. Paal erhält durch Einwirkung von verdünnten Säuren in sehr guten Ausbeuten aus Glutin und aus Eiereiweiss Peptonsalze. Wenn nun bei der Einwirkung von verdünnten Säuren auf das Eiweiss sich zuerst Albumosen und daraus erst Peptonsalze bilden würden, so wäre es jedenfalls schwer zu erklären, dass Paal bei der grossen Anzahl von Peptonchlorhydraten, die er dargestellt und untersucht hat und bei deren Darstellung er die Einwirkungsdauer der Salzsäure so vielfach variirte, nicht ein oder andermal ein alkohollösliches schwefelhaltiges Albumosechlorhydrat, das bei dem grossen Unterschied im Aussehen und der Hygroskopicität hätte auffallen müssen, gefunden hätte.

Ich habe ferner aus Albumosen, ja aus vollkommen alkohollöslichen Albumosechlorhydraten bei Einwirkung von Salzsäure nur sehr wenig oder gar kein Peptonsalz erhalten können.¹

Aus dieser Betrachtung glaube ich folgende Schlussfolgerung ziehen zu können: Bei der Einwirkung von Säuren geht die Umsetzung des Eiweiss nicht in dem Sinne Albumin—Albumose—Pepton vor sich, sondern die Umwandlung von Albumin in Pepton ist eine directe, ohne den Albumosen als Zwischenstufe, und ferner; die Albumosen werden bei Einwirkung von Säuren grösstentheils zersetzt und bilden nur wenig oder kein Pepton. Ich verhehle mir aber nicht, dass diese letzteren Folgerungen noch durch weitere Versuche gestützt werden müssen.

Schliesslich drängt sich, wie ich glaube, bei diesen Betrachtungen noch eine Frage auf, deren Beantwortung aber wohl nicht dem Chemiker, sondern dem Physiologen zukommt: Ist das Pepton, das sich so bedeutend von den anderen Eiweisskörpern unterscheidet, noch als richtiger Eiweisskörper anzusprechen? Die Beantwortung, die vielleicht durch Fütterungsversuche u. dgl. zu führen wäre, wäre jedenfalls für die Chemie des Eiweiss, wie auch für die Beurtheilung der Verdauungsvorgänge sehr wichtig und wünschenswerth.

Das Studium der beschriebenen Albumosen und deren Umsetzungen werde ich fortsetzen.

¹ Eine etwaige Einwendung, dass ich stets zu lange Salzsäure einwirken liess und dadurch die etwa gebildeten Peptone weiter zersetzt wurden, wird wohl dadurch widerlegt, dass Paa1 selbst bei viel längerer Einwirkung der Säure in sehr guter Ausbeute Peptone erhielt.
