

Beiträge zur Kenntnis der Keratine

1. Mitteilung: Die Schwefelbleireaktion

Von

ERNST BEUTEL und ARTUR KUTZELNIGG

Aus dem Technologischen Institut der Hochschule für Welthandel in Wien

(Mit 1 Textfigur)

(Vorgelegt in der Sitzung am 26. April 1934)

1.

Vor geraumer Zeit hat der eine von uns Studien „Über das Bleichen des Hornes“¹ und über die „Theorie und Praxis der Hornfärbung“² veröffentlicht. Diese Untersuchungen haben unter anderem ergeben, daß das *rohe Horn mit Bleinitratlösung unter Bildung von Bleisulfid reagiert und sich dabei braun bis schwarz färbt, während das mit Wasserstoffsperoxyd gebleichte Horn durch Bleinitratlösung nicht gefärbt wird.* An diese Beobachtungen anknüpfend, unternahmen wir es nun, das Verhalten von *Keratin verschiedenen Ursprungs* gegen Bleisalzlösungen zu prüfen.

Während die mit alkalischer Plumbitlösung ausgeführte Schwefelbleireaktion als verlässlicher Nachweis von Schwefel in Eiweißstoffen allgemein bekannt ist, wurde das Verhalten von Keratin gegen neutrale oder saure Bleilösungen bisher nicht genügend studiert. So finden sich in der Literatur z. B. Angaben, wonach Haare durch Bleiazetatlösungen dunkelbraun oder schwarz gefärbt werden^{3, 4}, was nach unseren Versuchen in dieser allgemeinen Form keineswegs zutreffend ist.

2.

Zunächst soll ein Überblick über das *Verhalten verschiedener Keratine* gegeben werden (Tabelle 1).

¹ E. BEUTEL, D. MARGOLD, H. ZINK, Österr. Chem. Ztg. 38, 1913, S. 21.

² E. BEUTEL, Z. ang. Chem. 28, 1915, S. 170.

³ J. M. MATTHEWS, W. ANDERAU, Die Textilfasern, Berlin 1928, S. 90: „Lösliche Bleisalze, z. B. Bleiazetat, färben die Haare dunkelbraun“.

⁴ F. PAX und W. ARNDT, Die Rohstoffe des Tierreiches, Berlin 1932, S. 1094 (Beitrag von G. FRÖHLICH, W. SPÖTTEL und E. TÄNZER): „Infolge des Schwefelgehaltes geben Haare beim Kochen mit Bleizuckerlösung eine charakteristische Schwarzfärbung“.

Um zu vergleichbaren Ergebnissen zu gelangen, führten wir die Versuche in der folgenden Weise aus: Die Proben (etwa 0.1 g) wurden in Proberöhren mit etwa 5 cm³ 20%iger Bleinitratlösung übergossen (Reaktion schwach sauer!) und durch einen Glasstab beschwert. Nun wurden die Proberöhren in ein siedendes Wasserbad gesenkt, in dem sie 5 Minuten blieben.

Tabelle 1.

Nr.	Bezeichnung	Schwefelbleireaktion
1	rohes Horn	+ dunkelbraun
2	gebleichtes Horn	—
3	Fingernägel	—
4	Rupffedern	—
5	Daunenfedern	—
6	Schweinsborsten (Japan)	—
7	Schweinsborsten (Rumänien)	—
8	Roßhaar, hell	—
9	Blondes Frauenhaar	—
10	Australische Wolle (weiß)	+ graubraun
11	Cotswold-Wolle (weiß)	+ schwach graubraun
12	Cheviotwolle (weiß)	+ schwach graubraun

Aus der Tabelle geht hervor, daß neben dem rohen Horn nur noch die Schafwolle gefärbt wird. Verwendet man wenig Wolle, z. B. nur einige Fasern, so ist die Verfärbung kaum wahrnehmbar. — Ein augenfälliger *Unterschied* zwischen dem Verhalten des *Hornes* und der *Wolle* besteht noch darin, daß die Hornspäne sich schon bei Zimmertemperatur nach einigen Minuten dunkelbraun färben.

3.

Hornproben standen uns in Form von 2 mm starken, polierten Plättchen von 3 × 6 cm Oberfläche zur Verfügung. Vor der Verwendung wurden sie mit Benzin abgerieben. Zu den Bleichversuchen verwendeten wir olivbraune Plättchen, die wir in Pulvergläsern mit je 100 cm³ 3%iger Wasserstoffsperoxydlösung übergossen. Der *Erfolg der Bleichung* ist durch Gegenüberstel-

lung der *Durchlässigkeitskurven* des rohen und des gebleichten Hornes in Fig. 1 veranschaulicht.

Wir bedienen uns des Pulfrichphotometers von Zeiß. Beleuchtung: Stupholampe mit Tageslichtfilter. Da das rohe Horn im kurzwelligen Gebiet sehr stark absorbiert, verwendeten wir zur Grobabschwächung ein Platingraufilter.

Die *Abnahme des Wasserstoffsuperoxydgehaltes* während der Bleichung wurde durch Titration mit $n/10$ Kaliumpermanganatlösung verfolgt.

Unmittelbar dem Bleichbade entnommen, erscheint das Horn etwas getrübt und seine Oberfläche schimmert perlmutterartig. Erst nach 24stündigem Trocknen an der Luft erreicht es die maximale Durchlässigkeit und ist dann fast glasklar.

Das *gebleichte Horn* färbt sich auch nach längerem Kochen mit 20%iger *Bleinitratlösung* nicht. Man kann daher auch das Fortschreiten der Bleichung von außen nach innen mit Hilfe der Schwefelbleireaktion verfolgen: wenn man ein nur teilweise gebleichtes Plättchen quer durchschneidet und dann mit Bleinitratlösung erhitzt, so färbt sich der Kern des Querschnittes dunkelbraun, während der Rand ungefärbt bleibt.

Nach *früheren Versuchen*¹ ist die Abnahme des Schwefelgehaltes beim Bleichen nur geringfügig (z. B. Brasilhorn, ungebleicht 3.52% S, gebleicht 3.41% S). Auch gibt das gebleichte Horn mit *alkalischer Bleilösung* nach wie vor die Schwefelbleireaktion, daher kann die Reaktion des rohen Hornes mit Bleinitratlösung nicht auf dessen Zystingehalt beruhen. Vielmehr muß das ungebleichte Horn geringe Mengen einer Schwefelverbindung enthalten, die bereits mit neutralen oder sauren⁵ Bleisalzlösungen reagiert. Mit dem Farbstoffe, der durch das Bleichen entfernt wird, kann diese Verbindung nicht identisch sein, da ungebleichtes, naturhelles Horn im Gegensatz zu gebleichtem Horn derselben Helligkeit immer noch die Schwefelreaktion gibt.

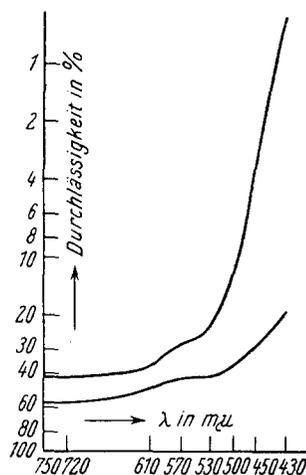


Fig. 1.

⁵ Die Bleinitratlösungen reagieren mit steigender Konzentration zunehmend saurer (B. D. H.-Indikator).

Bestrahlt man ungebleichtes Horn mehrere Stunden mit dem *Lichte einer Quarzlampe*, so erlangt es in erhöhtem Maße die Fähigkeit, sich mit Bleinitratlösung zu färben. Hornplättchen, die bei der Bestrahlung zur Hälfte abgedeckt waren, erschienen, nachdem sie kurze Zeit in Bleinitratlösung gekocht worden waren, in der belichteten Hälfte weit tiefer rotbraun gefärbt als in der unbelichteten.

Aber auch das gebleichte Horn wird durch die Belichtung derart verändert, daß es nunmehr mit Bleilösungen unter Schwefelbleibildung reagiert. Dadurch wird die Frage aufgeworfen, ob nicht jener Stoff, der für die Schwefelbleireaktion des ungebleichten Hornes maßgebend ist, überhaupt erst unter Mitwirkung des Lichtes gebildet wird.

4.

Da bekannt ist, daß bei der Verarbeitung der *Wolle* „... in alkalischen oder neutralen Wässern in Gegenwart von Spuren von Blei — braune *Bleiflecken* auf der Faser entstehen können“⁶ war die Möglichkeit zu erwägen, daß sehr verdünnte Bleilösungen sich der Wolle gegenüber anders verhielten als stärkere Lösungen, die ja, wie unter (2) gezeigt wurde, manche Wollsorten nur wenig anfärben. Wir führten daher in der früher beschriebenen Weise Versuche mit verschiedenen konzentrierten Bleinitrat- und Azetatlösungen an verschiedenen Wollen aus. Die erste Versuchsreihe, die wir mit einer australischen Merinowolle⁷ durchführten, schien in der Tat für eine stärkere Einwirkung der verdünnten Bleilösungen zu sprechen.

Bei der Konzentration $c = 0.006 \text{ n}$ $[\text{Pb}(\text{NO}_3)_2]$ bzw. $c = 0.005 \text{ n}$ $[\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 3 \text{ aq}]$ trat ein ausgesprochenes Maximum der Färbung auf. Bei $c = 0.0006 \text{ n}$ bzw. 0.0005 n war die Färbung nur mehr schwach, bei $c = 0.00006 \text{ n}$ bzw. 0.00005 n blieb sie aus.

Allein, diese Erscheinung war nur mit dieser einen Wollsorte — hier allerdings durchaus reproduzierbar — zu erhalten. Bei allen anderen untersuchten Wollen nahm die Stärke der Färbung mit abnehmender Konzentration stetig ab, wobei die Grenzkonzentration, bei der noch eine Färbung auftrat, meist einige Zehnerpotenzen höher lag.

⁶ MATTHEWS-ANDERAU, a. a. O., S. 90, vgl. ferner S. 88 (Literaturhinweis) und siehe auch GÖHRING, Färb. Ztg. 1903, S. 53.

⁷ Dieses und andere Wollmuster wurden uns in liebenswürdiger Weise von der *Vöslauer Kammgarntspinnerei* zur Verfügung gestellt.

Vermerkt zu werden verdient, daß die Bleilösungen der Konzentration $c = 0.006 n$ bzw. $0.005 n$ dadurch ausgezeichnet sind, daß sie Bleisulfid zu peptisieren vermögen: Hornspäne geben mit dieser Lösung ein braunes Bleisulfidol.

Die *Hornspäne* verhalten sich im übrigen gegen verschieden konzentrierte Bleisalzlösungen ähnlich wie die Wolle.

Mit Lösungen der Konzentrationen 0.6 , 0.06 und $0.006 n$ färben sie sich annähernd gleich stark schokoladebraun, mit der $0.0006 n$ -Lösung schwächer braun, mit der $0.00006 n$ -Lösung eben noch erkennbar bräunlich.

5.

Da sich ein starker *Einfluß der Bleichung und der Belichtung auf das Verhalten des Hornes gegen Bleisalzlösungen* ergeben hatte, führten wir auch mit *Wolle* entsprechende Versuche aus.

Nahezu weiße, australische Wolle wurde mit schwach ammoniakalischer 0.3% iger Wasserstoffsuperoxydlösung 5 Stunden auf 50 — 60° erhitzt, wonach gründlich mit Wasser gewaschen wurde. Die lufttrockene Wolle war nun rein weiß.

Die Bleichung hatte das vollkommene Verschwinden der Schwefelbleireaktion zur Folge; weder mit der $0.006 n$ - noch mit der $0.6 n$ -Lösung von Bleinitrat erfolgte eine Verfärbung.

Wird die *gebleichte Wolle* mehrere Stunden mit einer Quecksilber-Quarzlampe *bestrahlt*, so färbt sie sich mit Bleinitratlösung gekocht alsbald deutlich braun, verhält sich also auch hierin dem Horne ähnlich. *Ungebleichte Wolle* färbt sich nach der Belichtung viel stärker als zuvor. Auch an *belichtetem blondem Frauenhaar* ist die Schwefelbleireaktion zu erkennen.

FRITZ LIEBEN und GABRIELE EHRLICH⁸ haben gezeigt, daß aus künstlich bromiertem oder jodiertem Eiweiß das Halogen durch das Licht einer Quarz-Quecksilberlampe als Bromid oder Jodid abgespalten wird. Diese Beobachtung regte zu einem Analogieschlusse in bezug auf den Schwefel des Keratins an. Wir führten daher mit belichteter und unbelichteter Wolle die *Sulfidprobe nach FEIGL mit Jod-Azidlösung*⁹ aus.

Einige Wollfasern wurden auf einem Objektträger mit einem

⁸ FRITZ LIEBEN und GABRIELE EHRLICH, Biochem. Ztschr. 222, 1930, S. 221.

⁹ FRITZ FEIGL, Qualitative Analyse mit Hilfe von Tüpfelreaktionen, Leipzig, 1931, S. 284.

Tropfen der Jod-Azidlösung (gleiche Teile $n/5$ J-KJ und $n/5$ Na_3N) benetzt. Nachdem ein Deckglas aufgelegt worden war (auf die Vermeidung von Luftblasenbildung wurde besonders Bedacht genommen), wurde das Präparat mit der Präparierlupe bei schwacher Vergrößerung im durchfallenden Lichte gemustert.

Eine Probe der belichteten Wolle (Belichtungsdauer 9 Stunden, das Muster war bräunlich verfärbt) gab nun zu starker *Stickstoffentwicklung* Anlaß. Auch die gebleichte, unbelichtete Wolle gibt eine positive Reaktion, doch entstehen die Gasblasen in diesem Falle langsamer und weniger zahlreich.

Über die Art der *Bindung des Schwefels im Keratin* ist noch wenig Zuverlässiges bekannt. Als schwefelhaltiges Hydrolysenprodukt tritt das Zystin auf, weshalb man diesem eine maßgebende Rolle beim Aufbau des Keratins zuschreibt¹⁰. Ein Teil des Schwefels ist nach RAIKOW¹¹ direkt an Sauerstoff gebunden, da Phosphorsäure bei längerer Einwirkung aus Wolle und Haaren Schwefeldioxyd in Freiheit setzt. — R. HALLER vertritt den Standpunkt, daß der Schwefel in der Wolle zum weitaus größten Teil in *elementarer* Form vorhanden sei¹².

Die Jod-Azidreaktion ist spezifisch für Sulfidschwefel, sowohl in anorganischer als auch in organischer Bindung, freier Schwefel katalysiert die Reaktion nicht, ebensowenig der an Sauerstoff gebundene¹³. Der schwach positive Ausfall der Reaktion bei der gebleichten Wolle könnte auf die R-S-S-R-Gruppe des Zystins¹⁴ zurückgeführt werden (Zystin selbst gibt die Reaktion gleichfalls). — Die weit stärkere Stickstoffentwicklung durch die belichtete Wolle zeigt aber an, daß ein Teil des Schwefels in eine reaktionsfähigere Form übergeführt wurde. Als solche kommt das *Sulfidion* in Betracht. Zieht man in Erwägung, daß ja auch die Schwefelbleireaktion für das Sulfidion charakteristisch ist, so erscheint die Annahme begründet, daß tatsächlich analog der Halogenionenbildung in halogeniertem Eiweiß hier aus dem Schwefelvorrat des Keratins Sulfidionen gebildet werden.

¹⁰ C. OPPENHEIMER, Kurzes Lehrbuch der Chemie, Leipzig 1923, S. 784.

¹¹ P. N. RAIKOW, Chem. Ztg. 1905, S. 900.

¹² R. HALLER, Melliand Textilberichte, 10, 1929, S. 544—46.

¹³ F. FEIGL, a. a. O., S. 283, S. 51.

¹⁴ Diese Gruppe gehört nach SCHACHERL (FEIGL, a. a. O., S. 51) zu den schwach reagierenden Typen.

Ob elementarer Schwefel oder Zystin den Schwefel spenden, soll dabei offen bleiben.

Daß die *Wolle lichtempfindlich* ist, ist seit längerer Zeit bekannt¹⁵, doch wurden bisher nur die folgenden Veränderungen infolge von Lichteinwirkung angegeben: Bräunung, Verminderung der Festigkeit, Veränderung des Anfärbevermögens, schnellere Quellung der belichteten Seite in Natronlauge, teilweises Löslichwerden in heißem, destilliertem Wasser, Rückgang des Schwefelgehaltes, Oxydation von Schwefel zu Schwefelsäure. — Wir selbst beobachteten¹⁶, daß belichtete Wolle sich im Joddampf tiefer färbt als unbelichtete.

Die Tatsache, daß ein Teil des Schwefels zu Sulfat oxydiert wird und daß der Schwefelgehalt der Wolle abnimmt, steht mit unserer Annahme der Bildung von Sulfidion nicht im Widerspruch, die andererseits die Löslichkeit in heißem Wasser erklärt. Übrigens fanden wir, daß der durch 1½stündiges Kochen von belichteter Wolle mit destilliertem Wasser erhaltene Auszug eine stärkere Jod-Azidreaktion gab als der Auszug aus der rohen Wolle. — Der *Einfluß der Bleichung* wäre im Sinne unserer Annahme in der Weise zu erklären, daß das Wasserstoffsperoxyd schon vorhandene *Sulfidionen* zu *Sulfationen* oxydiert.

Zusammenfassung.

1. *Ungebleichtes Horn* färbt sich mit *Bleinitratlösung* oder *Bleiazetatlösung* infolge Bildung von *Bleisulfid* tief rotbraun. Das mit Wasserstoffsperoxyd *gebleichte Horn* zeigt dieses Verhalten *nicht* mehr.

2. *Wolle* wird durch *kochende Bleisalzlösungen* schwach braun *gefärbt*. Im gebleichten Zustande reagiert sie mit Bleilösungen ebensowenig wie das gebleichte Horn.

3. *Federn, Borsten* und *helles Roßhaar* werden durch Bleisalzlösungen *nicht* gefärbt.

¹⁵ Vgl. z. B. MATTHEWS, a. a. O., S. 89, sowie die Literaturübersicht bei E. RISTENPART in *Ullmanns Enzyklopädie der technischen Chemie* Band X, 1932, S. 548.

¹⁶ ERNST BEUTEL und ARTUR KUTZELNIGG, *Anz. Ak. Wiss. Wien*, 1933, Nr. 18. — *Monatsh. Chem.* 64, 1934, S. 49, bzw. *Sitzb. Ak. Wiss. Wien (II b)* 142, 1933, S. 703.

4. *Ungebleichtes Horn*, das mit einer Quarzlampe *bestrahlt* wurde, nimmt in der Bleinitratlösung eine *tieferen Färbung* an als das unbelichtete. Dasselbe gilt für die Wolle. *Gebleichtes Horn* und *gebleichte Wolle* erhalten *erst durch die Bestrahlung* die Fähigkeit, mit Bleilösungen *Schwefelblei* zu bilden.

5. Es ist anzunehmen daß *ein Teil des Schwefels* des Keratins unter dem *Einfluß des Lichtes* in *Sulfidion* übergeführt wird. Diese Annahme stützt sich nicht nur auf die positive Schwefelbleireaktion der bestrahlten Keratine, sondern auch auf deren starke katalytische Wirkung dem Jod-Azidgemisch gegenüber.