

# Ueber die chemische Natur des Peptons und sein Verhältniss zum Eiweiss.

von Dr. Robert Herth.

(Aus dem Laboratorium von Prof. Maly in Graz).  
(Der Redaktion zugegangen am 23. Oktober 1877).

Die zahlreichen, diesem wichtigen Gegenstand schon gewidmeten Arbeiten haben bis jetzt zu einer genügenden Uebereinstimmung der Meinungen nicht geführt; vielmehr differiren gerade die in den letzten Jahren bekanntgemachten Resultate so wesentlich, dass es wohl gerechtfertigt erscheint, sich von Neuem mit dieser Frage zu beschäftigen.

Durch die Untersuchungen Maly's, der durch neue Methoden alte Schwierigkeiten der Darstellung überwand und zum ersten Mal (gleichzeitig mit Plósz) das physiologische Experiment zur Entscheidung heranzog, schien um so mehr eine befriedigende Lösung erreicht, als beide: die chemische Untersuchung des Peptons und diejenige seines physiologischen Werthes vollkommen übereinstimmten. (1)

Da wurden wiederum die alten Zweifel in die Diskussion geworfen, ja gleich die erste Grundlage zur Beurtheilung: die procentische Zusammensetzung als eine solche dargestellt, dass die sogenannten «Peptone» allerdings nur als Zersetzungsprodukte der Eiweisskörper betrachtet werden könnten.

Es wird sich Gelegenheit finden, später hierauf zurückzukommen.

Bei der künstlichen Verdauung von Eiweiss tritt früher oder später vollständige Verflüssigung zu einer stark opalescirenden Flüssigkeit ein.

Dieser Vorgang kann, wie bekannt, ausserordentlich beschleunigt werden durch die vorbereitende Behandlung

---

(1) Journal. f. pract. Chemie, Bd. II. 1875 u. Pflüger's Arch. Bd. IX.

des Eiweisses, insbesondere durch genügendes Aufquellenlassen in Säure, bei welchem Verfahren ich niemals Anstand gehabt habe, selbst grosse Mengen gekochten Hühnereiweisses in 5—8 Stunden zu verflüssigen, während mir dies bei nicht vorher aufgequollenem Eiweiss nur unter besonders günstigen Umständen gelang.

Das Verhältniss der in einer solchen rohen Verdauungsflüssigkeit enthaltenen Bestandtheile ist an sich bei den einzelnen Darstellungen ein verschiedenes; es wird in allen Fällen noch weiter verändert durch die Zeit, während welcher man die Verdauung noch über jenes Stadium der Verflüssigung unterhält, und hierin liegt der Grund wesshalb die meisten Autoren diese letztere noch tagelang, Einzelne selbst wochenlang weiter fortsetzten.

Da gegenwärtig wohl kein Zweifel obwalten kann, dass die Zeit innerhalb welcher die Eiweissstoffe im Organismus der Einwirkung peptonisirender Fermente ausgesetzt sind, sei es auch nur diejenige ihres Verweilens im Magen, genügt, um auch bei der künstlichen Verdauung dieselben zum grössten Theil in Pepton zu verwandeln, so lege ich keinen Werth darauf, bei der Darstellung dieses einzelnen Bestandtheiles gerade jene Zeitgrenzen einzuhalten, um so weniger als ich glaube, dass die Gefahr der Bildung weitgehender Zersetzungsprodukte, insbesondere von Leucin und Tyrosin vielfach zu hoch veranschlagt wurde, — in Wirklichkeit aber, was die Pepsinverdauung betrifft selbst bei Verwendung von 2—3 Tagen, wie ich wiederholt erfahren habe, eine minimale ist.

Auch lagen die Schwierigkeiten der Darstellung eines reinen Peptons nicht hierin; die Bildung solcher Nebenprodukte kann beschränkt und ihre geringe Menge, ebenso wie Reste von Fett und sogenannten extractiven, mehr minder gefärbten, amorphen Substanzen, — später genügend entfernt werden; — sie ergeben sich vielmehr aus der Art, wie aus der sauren Flüssigkeit das vorhandene Syntonin weggeschafft wird, in zweiter Linie aus der Entfernung der möglicherweise vorhandenen Reste nativen Eiweisses.

Nach den Untersuchungen Meissners<sup>(1)</sup> verlangt das Syntonin zu seiner Ausscheidung kein vollständiges Neutralisiren, es verträgt in der salzhaltigen Flüssigkeit noch einen geringen Säuregrad, und es würde die Benützung dieses Umstandes einigen Vortheil bieten, wenn nicht durch das Zurücklassen eines, wenn auch geringen Mineralsäurerestes (ebenso wie von Alkali) später ein relativ beträchtlicher Theil von Pepton sich dem Ausfällen durch Alkohol entzöge und dadurch die Untersuchung der Gesamtmasse auf ihre chemische Individualität natürlich in Frage gestellt würde, — und wenn nicht aus demselben Grunde dadurch die Möglichkeit verringert würde durch Aufkochen der von Syntonin befreiten Flüssigkeit noch vorhandene Reste unveränderten Eiweisses nachträglich zu entfernen.

Ich lege desshalb zunächst auf ein vollständiges Neutralisiren Gewicht.

Die Mittel, deren man sich hierzu bediente, waren seit Lehmann vorzugsweise die Carbonate der alkal. Erden oder deren Hydrate, bisweilen auch das kohlensaure Natron.

In allen Fällen machen sich sofort zwei Schwierigkeiten bemerkbar:

die Neigung des Peptons mit den verschiedensten Metallen salzartige Verbindungen einzugehen, leider nicht in constanten, sondern in sehr wechselnden Verhältnissen ohne Zweifel je nach der Dauer und Intensität der Einwirkung; — sodann der stets sehr beträchtliche Gehalt an Salzen, der nun in die Flüssigkeit gelangt ist. Dazu kommt, besonders in jenen Fällen wo das Hydrat alkal. Erden (gewöhnl. Barytwasser) verwendet wurde, auch wenn ein etwaiger Ueberschuss durch Einleiten von CO<sub>2</sub> grösstentheils wieder entfernt war, eine weitere Gefahr, mit der gerechnet werden muss, nämlich die einer möglichen Zersetzung der viel Baryt (-pepton) enthaltenden Flüssigkeit beim Erhitzen, und ich möchte gerade diesem Umstand einen Einfluss auf die öfters citirten Resultate Möhlpfeld's zuschreiben.<sup>(2)</sup>

(<sup>1</sup>) Zeitschrift f. rat. Med. Bd. VIII.

(<sup>2</sup>) Pflüger's Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. V., 381.

Bei Benützung der alkal. Erden wurde im günstigen Fall ein Ca- oder Ba-Pepton erhalten, wie bei Thiry's Verfahren, der übrigens zur Vermeidung des grossen Salzgehaltes die Pepsinverdauung ganz umging und, auf die Angaben Mulder's fussend, sein Pepton durch tagelanges Kochen mit Wasser darstellte, so dass dessen Resultate erst durch Vergleich mit andern, mit Hilfe der Fermentwirkung erhaltenen, ihren Werth erlangen konnten.

Bei dem durch künstliche Verdauung dargestellten Pepton war es nun ausserdem der sehr beträchtliche Salzgehalt, der die grössten Schwierigkeiten bereitete, in dem Grade, dass er meistentheils geradezu maassgebend wurde für die Wahl der Methode, und der, wo seine Entfernung nicht genügend zu bewirken war, nicht nur die Analyse störend beeinflussen, sondern auch zu den gezwungensten Anschauungen Veranlassung geben musste, wie dies erst neuerdings in der Arbeit von Kossel der Fall war.<sup>(1)</sup> Man hat gesucht das entstandene  $\text{CaCl}_2$  durch wiederholtes Fälln und Digeriren mit Alkohol wegzubringen; es gelingt diess aber niemals in einem auch nur annähernd wünschenswerthen Grad.

Man hat ferner den überschüssigen Baryt durch Schwefelsäure ausgefällt und die wieder frei gewordene  $\text{HCl}$  durch feuchtes Silberoxyd entfernt, — eine Methode auf der eine Reihe zumeist aus dem Laboratorium von Hoppe-Seyler hervorgegangener Arbeiten basirt, deren Resultate zwar keineswegs unter einander übereinstimmen, wie diess in dem verschiedenen Grad der Einwirkung der benützten Agentien liegt, — die aber alle, gegenüber den auf verschiedenen andern Wegen erhaltenen Ergebnissen, das Gemeinsame eines relativ niederen Kohlenstoff-, meist auch niederen Stickstoffgehaltes des gewonnenen Peptons aufweisen.

Bei Benützung der Alkalicarbonate sind die genannten Schwierigkeiten jedenfalls geringer, es machen sich dabei aber diejenigen einer unvollständigen Neutralisation geltend und ich schlage die Schwierigkeit, grössere Massen der rohen Verdauungsflüssigkeit genau zu neutralisiren, nicht gering an.

(1) Pflüger's Archiv f. d. ges. Physiologie, Bd. XIII.

Diess scheint auch der Grund gewesen zu sein, warum man immer wieder auf die alkal. Erden zurückkam, obwohl schon Lehmann empfohlen hatte, den Baryt durch Alkali zu ersetzen und die entstandene Alkaliverbindung durch Alkohol auszuziehen.

Auch Maly hat das  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  benützt, ohne Weiteres aber nur bei der Darstellung des zur Verfütterung bestimmten Peptons, wo es auf den hohen Grad von Reinheit nicht ankommen konnte, wie ihn die chemische Untersuchung verlangte; bei dem hierzu benutzten Theil umging aber Maly die genannten Schwierigkeiten durch Anwendung der Dialyse.

Dagegen möchte ich es auf eine solche unvollständige Neutralisation zurückführen, dass Adamkiewicz in seinem Pepton noch Eiweissstoffe zurückliess, die wenn auch nicht die physiologischen Versuche störten, doch das ganze chemische Bild des Peptons in hohem Grade trüben mussten.

Es hängt also von der Art, wie die Ausscheidung des Syntonins bewirkt wird, zugleich die grössere oder geringere Sicherheit ab, mit der noch vorhandene Reste nativen Eiweisses durch das nachträgliche Kochen ausgeschieden werden.

Diese Reste sind gerade bei dem meistbenützten Untersuchungsobjekt dem rohen Fibrin<sup>(1)</sup> am beträchtlichsten, scheinen aber selbst bei Verwendung von gekochtem Eiweiss, wenn auch in geringer, doch nach Umständen wechselnder Menge vorhanden zu sein, und selbst bei vollkommenem Neutralisiren und Aufkochen in Spuren zurückzubleiben, wie ich dies aus der Wirksamkeit gewisser Reagentien schliesse, die wohl auf Eiweiss, nicht aber auf reines Pepton wirken, und welche aufgehoben werden kann durch Verfärbungsweisen, die gerade auf Eiweiss charakteristisch einwirken.

Diesen Anforderungen habe ich durch das von mir eingeschlagene Verfahren Rechnung zu tragen gesucht.

#### Darstellung.

Als Säure habe ich die Phosphorsäure gewählt, von der auffallender Weise Lehmann angibt, dass sie gar nicht, Gorup-Besanez, dass sie nur in der zehnfachen Menge

(<sup>1</sup>) Brücke, Physiologie.

wirke wie die Salzsäure; als Untersuchungsobjekt geronnenes Eiweiss von frischen Eiern und als Ferment eine Pepsinlösung, die nach dem auch von Maly benützten (nach Krasilnikoff's und Brücke's Methode) combinirten Verfahren durch Dialyse gereinigt, fast wasserklar, ohne Kalk- und Chlorgehalt war. (Das Kalkpräcipitat wurde mit  $\text{PO}_4 \text{H}_3$  statt mit  $\text{HCl}$  gelöst).

Ich habe nun, um in Kürze den Weg zu skizziren, die Phosphorsäure und damit das Syntonin durch Neutralisiren mit Bleicarbonat ausgeschieden, die restirende geringe Bleimenge mit etwas Schwefelwasserstoff entfernt, reingedampft, mit Alkohol gefällt und mit Aether extrahirt, durch dieses Verfahren also die Säure entfernt, ohne den so störenden Salzgehalt dafür einzutauschen, und complete Neutralisation erreicht.

Die nähere Ausführung geschah in folgender Weise: Das auf's feinste zerriebene Eiweiss von 50—60 gekochten Eiern wurde zur möglichsten Entfernung der Salze 24—30 Std. mit Phosphorsäure à 1% digerirt, dann colirt, mit heissem Wasser extrahirt und hierauf mit 4 Liter  $\text{PO}_4 \text{H}_3$  von 0,65% und 40 Ccm. der klaren Pepsinlösung einer Temperatur von 40° C. ausgesetzt. In kaum 5 Stunden war die ganze Portion nahezu vollständig verflüssigt, doch wurde der Process noch mehrere Stunden im Gang erhalten. Nun wurde die Flüssigkeit überm Sandbad erhitzt und frisch gefälltes, ausgewaschenes  $\text{Pb CO}_3$  eingetragen, bis die klare gelbe Flüssigkeit sich gegen Lakmus (Papier und Tinktur) vollkommen neutral erwies und die gewöhnlichen Reaktionen auf  $\text{PO}_4 \text{H}_3$  ausblieben.

Der im Filtrat enthaltene Bleirest war so gering, dass weniger als 100 Ccm.  $\text{H}_2 \text{S}$ -wasser genüigten, ihn auszuschneiden. Es wurde nach seiner Entfernung auf dem Wasserbad concentrirt, mit starkem Alkohol gefällt und digerirt, wieder gelöst und nochmals gefällt, im Ganzen dies drei mal.

Die in den Alkohol übergegangene, nicht bedeutende Menge noch fällbarer Substanz, wurde nach dem Abdestilliren desselben und Einengen des Rückstandes ebenfalls noch 2 mal mit Alkohol gefällt und sorgfältig damit digerirt, zum Ganzen gefügt und

dieses mehrere Tage lang mit erneuten Portionen Aether extrahirt. Was jetzt noch im Alkohol zurückblieb war eine braune, amorphe sich grösstentheils wieder leicht selbst in stärkerem Alkohol lösende Masse, deren Menge im Verhältniss zur ausgefallten Peptonmasse, so gering war, dass nicht daran zu denken gewesen wäre, dass mit ihr ein integrierender Theil des Peptons entfernt würde.

Das entstandene Bleiphosphat war so vollkommen rein weiss, dass mit Sicherheit eine Schwefelabspaltung aus dem Eiweiss ausgeschlossen werden konnte.

Ich will gleich hier bemerken, dass gegenüber der frisch erhaltenen, nur entsprechend eingeeengten Peptonlösung, durch die Alkoholfällung und Aetherbehandlung das Verhalten des Peptons nicht wesentlich geändert wurde, dass insbesondere von den prägnanten Eiweissreaktionen jetzt schon keine mehr eintrat ausser Trübung durch basisches Bleiacetat und durch Ferrocyankalium mit Essigsäure, welche letztere in der sehr concentrirten Lösung sich zu einem mehr minder kompakten Niederschlag absetzte, jedoch ebenso wie die Reaktion mit basischem Bleiacetat bei den einzelnen Darstellungen in sehr verschiedener Stärke sich zeigte. Ob dieses Verhalten in der That durch noch vorhandene Reste von nativem Eiweiss bedingt war, musste von vornherein zweifelhaft sein. Ich hoffte, wenn dies der Fall, durch weitere Prozeduren dieselben abscheiden zu können. Allein weder Auskochen mit nahezu absolutem Alkohol, weder wochenlanges Verweilen unter solchem, Trocknen bei 100°, noch Behandeln des als Bleiverbindung gefällten Peptons mit Alkohol konnten die Reaktion mit  $K_4Cfy$  und Essigsäure verhindern.

Die notorische Hartnäckigkeit aber, mit der Eiweissreste sich in Lösungen behaupten, sogar ausgefällt wieder in solche übergehen, — eine Schwierigkeit, die Alex. Schmidt bei seinen Eiweissbestimmungen nur dadurch umgehen konnte, dass er das ausgeschiedene Eiweiss gar nicht mehr in Berührung mit Wasser brachte, <sup>(1)</sup> — liessen dennoch jene Möglichkeit nicht ausschliessen.

<sup>(1)</sup> Pflügers Archiv, Band XI.

Dazu kommt, dass die Fällung durch Ferrocyankalium und Essigsäure eine relativ so geringe, wechselnde ist, dass sie durch genügend lang fortgesetzte Einwirkung des Ferments, allerdings auf Gefahr sonstiger Zersetzungen, wirklich beseitigt werden kann und endlich dass, wie Kossel angibt, das Pepton wenn es den Dialysator passirt hat, dieselbe nicht mehr zeigt.

In der Meinung nun, dass möglicherweise die beträchtliche in der rohen Verdauungsflüssigkeit vorhandene Syntoninmenge, die selbst der weiteren Verwandlung in Pepton so schwer zugänglich, vielleicht gar nicht in wirklicher Lösung vorhanden ist, solche geringe Eiweissreste der Einwirkung des Fermentes entziehe, habe ich nach Ausfällen des Syntonins (und Bleirestes) eine solche Peptonlösung abermals angesäuert und mit etwas Pepsinlösung noch 6—8 Stunden verdauen lassen. Nachdem die Masse wieder in der oben angegebenen Weise behandelt war, zeigte sich jetzt  $K_4 Cfy + \text{Essigsäure}$  wirkungslos und die damit versetzte Flüssigkeit blieb auch 4—5 Stunden klar; dann erst entstand eine leichte Trübung, die bald einen geringen Niederschlag gab, der rasch durch grün in blau überging, also eine Zersetzung des  $K_4 Cfz$  anzeigte.

Diesen Erfolg hatte ich auch ein zweites Mal; beim dritten Versuch gelang es nicht, die Pepsinlösung hatte mittlerweile an Güte verloren; vermuthlich ist auch ein gewisser Concentrationsgrad der Flüssigkeit einzuhalten.

Auch mit basischem Bleiacetat war jetzt nicht die geringste Trübung mehr hervorzubringen.

Da also durch ein relativ einfaches, gerade auf Eiweiss charakteristisch wirkendes Mittel, das Verhalten zu den genannten Reagentien geändert wurde, so bin ich unter Berücksichtigung der schon oben citirten Gründe der Meinung, dass der Eintritt jener Reaktionen in der That von Resten unveränderten Eiweisses herrühre, nicht aber dem Pepton an sich zukomme.

#### Eigenschaften des Peptons und Verhalten zu Reagentien.

Das also dargestellte Pepton ist rein weiss, man hat, glaube ich, an diesem Aussehen, wenigstens in Bezug auf



gewisse Verunreinigungen ein Kriterium seiner Reinheit; nach vielwöchentlichem Verweilen unter einer guten Luftpumpe über  $\text{SO}_4 \text{H}_2$  verlor es bei  $100^\circ \text{C}$ . noch 4—6% Wasser und wurde bei dieser Temperatur bräunlich. Seine Lösung reagirte vollkommen neutral.

Seine sonstigen Eigenschaften sind so, wie sie fast alle Beobachter übereinstimmend angeben; vor Allem bemerkenswerth seine unbeschränkte Löslichkeit in Wasser, die weder durch wochenlanges Verweilen unter Alkohol, noch Auskochen damit, kurz auf keine Weise beeinträchtigt werden kann.

Durch Erwärmen wird die Lösung etwas beschleunigt, doch nicht vermehrt, geschweige dass sich aus der selbst honigdicken Flüssigkeit beim Erkalten etwas ausschiede oder die Andeutung eines Galatinirens zu bemerken wäre.

Adamkiewicz (1) hat «als fundamentale Eigenschaft» dem Pepton eine «Schmelzbarkeit» vindicirt. Ich habe jenes Verflüssigen der frisch mit Alkohol gefällten käsigen Massen, wenn sie rasch vom Filter weg über das Wasserbad kommen, ebenfalls beobachtet und zwar in dem Momente wo jedesmal der Alkohol verdunstet war, der die Masse ausgefällt hatte und am Zerfliessen verhindert, trotz der noch eingeschlossenen, für sich zur syrupartigen Lösung genügenden Wassermenge; ohne Alkohol aber, blos durch Verdunsten von Wasser einmal kompakt gewordenes Pepton konnte ich durch Erwärmen niemals mehr verflüssigen, nicht einmal erweichen, obwohl ich dazu ein solches verwendete, das blos unterm Exsiccator oder unter der Luftpumpe noch viele Procente an Wasser abzugeben hatte. Gewöhnlich ist aber die Bildung von Häuten auf der Oberfläche, die allerdings im Stande sind, nicht zu grosse Mengen der eingeschlossenen dicken Flüssigkeit festzuhalten, beim Erwärmen jedoch springen, die flüssige Masse hervorquellen lassen und sich selbst darin wieder auflösen können.

(1) Die Natur und der Nährwerth des Peptons. Berlin 1877, Hirschwald.

Anders präsentirte sich mir der Vorgang beim Erwärmen niemals, auch bei vorsichtigem Manipuliren auf einer mikroskopischen Objektplatte. Ich konnte auf keine Weise irgend eine Aehnlichkeit mit einem Schmelzungsprocess im gewöhnlichen chemischen Sinne finden, nicht einmal mit dem Schmelzen eines Körpers in seinem Krystallwasser; auch nichts von einer Art Gelatiniren in der Kälte, ganz abgesehen davon, dass es doch höchst auffallend wäre, dass Eiweiss durch einen Vorgang eine Eigenschaft erst erhalte, deren Verschwinden beim Leim durch denselben Process gerade charakteristisch ist.

Was sein Verhalten zu Fällungsmitteln betrifft, so waren ohne Wirkung die meisten Metallsalze, Kochen, Säuren (auch durch  $\text{NO}_3\text{H}$  blos Gelbfärbung) Neutralsalze mit Essigsäure.

Gefällt wurde durch Alkohol, Bleiacetat + Ammon, durch Sublimat.

Alle diese Prüfungen wurden mit möglichst concentrirten Lösungen angestellt, ich kann also die Angabe von Adamkiewicz, dass das Pepton «den wichtigsten chemischen Reagentien gegenüber dieselbe Fällbarkeit besitze wie Eiweiss», nicht bestätigen. Adamkiewicz liess diese Reagentien auf Peptonlösungen von verschiedener Concentration einwirken und begann mit einer so verdünnten, in der eben noch durch eine Farbenreaktion sich konstatiren liess, dass etwas in Lösung gegangen sei. Mit allmählig bewirkter Zunahme in der Concentration der Peptonlösung gaben nach einander die verschiedenen Fällungsmittel für Eiweiss Niederschläge und er erhielt schliesslich sogar Fällung durch Salpetersäure, sogar mit Neutralsalzen. Ich habe nicht den mindesten Zweifel, dass das von Adamkiewicz beobachtete stufenweise Eintreten jener Fällungen, durch die immer zunehmende Eiweissmenge, die in die stufenweis concentrirte Lösung übergang, bedingt war.

Das Pepton bildet zwar ganz ebensolche Verbindungen mit Metallen wie Eiweiss, selbst mit schweren Metallen, jene aber sind meist löslich, diese meist unlöslich.

Ich bin weit entfernt, bei der immerhin nur relativ vollständigen Reinheit eines Präparates wie das Pepton, die

Grenze durch den Eintritt dieser oder jener Reaktion bestimmen zu wollen, allein ich halte es doch für wesentlich bei der Bemühung nach Reindarstellung einen Unterschied zu machen zwischen so wenig systematischen, möglicherweise durch Zersetzung wirkenden Fällungsmitteln wie die Phosphorwolframsäure und die Phosphormolybdänsäure, selbst dem Tannin und zwischen den für Eiweiss so charakteristischen Ausfällungen durch Neutralsalze und durch Salpetersäure; ja selbst betreffs der Wirkung des basischen Bleiacetats und des Ferrocyankaliums mit Essigsäure unter Berücksichtigung der eigenthümlichen Art, wie dieselbe aufgehoben werden kann.

#### Analysen des Peptons.

Zur Analyse wurde bei 100–105° getrocknet (bis zu constantem Gewicht). C und H durch Verbrennen mit CuO und PbCrO<sub>4</sub> im Sauerstoffstrom, Asche meist durch Zurückwägen im Schiffehen bestimmt; der N volumetrisch durch Verbrennung mit CuO und nachdem 6–12 Stunden CO<sub>2</sub> durch das Rohr geleitet war: stets mit vorgelegter Silberspirale.

Die sehr hygroskopische Substanz wurde beim Wägen vor der äusseren Luft geschützt.

Eine Probe wurde genau bei 100° im H-strom getrocknet; sie gab kein wesentlich von den andern abweichendes Resultat.

				Mittel.		
C	52.6	52.4	52.6	} 52.53	Asche = 1.03.	
H	7.12	7.1	7.0			7.04
N	16.8	16.65	—			16.72

Diese Zahlen fallen offenbar innerhalb der für die Eiweisskörper im Allgemeinen geltenden, nähern sich speziell sehr denjenigen des Wurtz'schen Eiweisses.

Obwohl nun schon diese Uebereinstimmung es höchst unwahrscheinlich macht, dass man es hier mit einem Gemenge zu thun habe, so suchte ich doch nach dem Vorgange von Maly das einzige uns zu Gebote stehende Mittel in Anwendung zu bringen, welches geeignet ist die einheitliche Natur eines Eiweisspeptons zu beweisen. Ein solches Mittel ist bei chemischen Individuen, die weder krystallisiren noch unzersetzt flüchtig sind, die fractionirte Fällung.

Ich habe dieselbe in zweierlei Weise durchgeführt a) mit Alkohol; ausserdem aber auch b) mit Bleiacetat und Ammon.

#### A) 4 Alkoholfraktionen.

Eine Portion bereits mit Alkohol und Aether (wie oben angegeben) behandelten und wieder in Wasser gelösten Peptons wurde durch successiven Zusatz von Alkohol (98% in 4 Fraktionen ausgefällt, Frakt. I, weil etwas gefärbt nochmals besonders gefällt.

Nach dem Verdunsten des zur Fällung benutzten Alkohols blieb eine relativ sehr geringe schmierige, grösstentheils wieder in Alkohol lösliche Masse zurück in der (wie schon bei der ersten Behandlung des Peptons mit Alkohol) nach dem Eindampfen keinerlei Krystallbildung zu erkennen war.

	Frakt. I. Mittel.		Frakt. II. Mittel.		Frakt. III. Mittel.		Frakt. IV. Mittel.					
C	52.5	52.38	52.44	52.47	52.6	52.57	52.19	52.3	52.25	52.18	52.	52.07
H	7.04	7.5	7.07	7.	6.91	6.96	7.2	7.06	7.13	7.	7.02	7.04
N	16.5	16.93	16.66	16.9	17.	16.95	16.8	—	16.8	16.48	—	16.48
Asche bes. best.	0.43		zurückgew.		0.56		—		0.8		0.8	
S	—		—		—		1.14		—		1.14	

Phosphorsäure sollte in der letzten Fraktion bestimmt werden, doch war ihre Menge in mehr als einem Gramm Substanz zu gering, um sich genau quantitativ ermitteln zu lassen.

#### B) 3 Bleifractionen.

Weit grössere Schwierigkeiten fand ich bei dieser Behandlung. Ich theile die Resultate jedoch schon deshalb mit, weil daraus hervorgeht, mit welcher Vorsicht auf diese Weise bewirkte Fraktionen bei der Prüfung auf etwaige Differenzen zu beurtheilen sind, wobei ich speziell die Angaben von de Bary<sup>(1)</sup> im Auge habe, der ebenfalls die fraktionirte Bleifällung schon benützte und dabei erhebliche Unterschiede in Bezug auf die Drehung der Polarisationssebene erhielt.

Die ziemlich concentrirte Peptonlösung (frisch) wurde mit Bleizuckerlösung versetzt und Ammon zugetropft, bis sich die erste rein weisse Flocke zeigte: von der geringen

(<sup>1</sup>) Med.-chem. Untersuchungen, Hoppe-Seyler, p. 77.

Menge des so erhaltenen braunen Niederschlags wurde abfiltrirt und nun in 3 möglichst gleichen Fraktionen durch weiteren Zusatz von Ammon und etwas Bleizuckerlösung, das Pepton in schneeweissen massigen Flocken gefällt, zuerst bei Luftabschluss rasch mit Wasser, dann mit verdünntem Alkohol gewaschen. In Fraktion I wurde nun nach Suspensiren in Wasser  $\text{CO}_2$  geleitet (ohne Erwärmen); da aber hierdurch die Zerlegung sehr langsam von Statten ging, indem die Masse immer mehr ihre lockere Beschaffenheit verlor, so wurde abgegossen, und ferner mit  $\text{H}_2\text{S}$  unter Erwärmen zerlegt (Darstellung I).

Das Filtrat wurde eingeengt, je dreimal durch Alkohol gefällt und mit Aether behandelt; die Lösung reagirte neutral.

• Schon bei längerem Stehen des ursprünglichen Bleipeptons war eine Veränderung seines Aussehens auffallend, es wurde zäh und missfarbig; bei gelindem Erwärmen aber pflasterartig weich und dunkelgrau. War schon hierdurch der Verdacht einer Zersetzung erregt, so wurde er durch die Analysen bestärkt.

	Frakt. I.	Mittel.	Frakt. III.	Mittel.
C	51.4 51.	51.2	—	50.
H	6.9 6.85	6.87	—	7.1
N	— 14.	14.	13.9 14.3	14.1
Rückstand	— —	1.3	—	2.

Nach diesen Erfahrungen habe ich eine neue Portion ebenso behandelt nur unter Vermeidung jedes Erwärmens und mit möglichst rascher Manipulation (Darstellung II). Sämmtliche Fraktionen waren etwas bleihaltig.

Die Fraktionen dieser zweiten Darstellung ergaben:

	Frakt. I.	Mittel.	Fraktion II.	Mittel.	Frakt. III.	Mittel.
C	51.4 51.18	51.14	52. 51.77	51.89	50.7 51.	50.9
H	6.81 6.9	6.86	6.94 7.	6.92	7.2 7.04	7.12
N	15.55 —	15.55	16.35 16.	16.18	15.2 14.9	15.05
Rückstand	— —	1.	— —	1.3	— —	1.14

Es besteht also ohne Zweifel bei diesem Verfahren die Gefahr eines Stickstoffverlustes vielleicht unter gleichzeitiger Abspaltung einer geringen Menge von C, H und O. Daher ist anzunehmen, dass auch bei den Fraktionen der zweiten

Darstellung der gefundene Stickstoffgehalt niedriger ist und auch der Kohlenstoffgehalt eher geringer als er der gefällten Substanz in Wirklichkeit zukommt.

Es wird dann nichts Gezwungenes haben, die für die einzelnen Fraktionen geltenden Zahlen, die an sich schon solchen Grenzen nahe liegen, als mit den für Eiweissstoffe im Allgemeinen gefundenen übereinstimmend zu betrachten, wenn man nicht gerade annehmen will, dass man es bei den einzelnen Fraktionen der Bleifällung wiederum ursprünglich mit Gemengen zu thun habe, was in diesem Falle zu weit gegangen wäre; dazu sind die Differenzen wieder zu gering. Insbesondere hebe ich die bei Fraktion II. der zweiten Darstellung gefundenen Zahlen hervor wegen ihrer grossen Annäherung an die bei der blossen Alkoholfällung gefundenen, überhaupt wegen der nahen Uebereinstimmung der durch diese wesentliche Variation der Darstellung erhaltenen Resultate mit der auf ganz verschiedenen Wegen erzielten. Die Differenzen der einzelnen Fraktionen erklären sich mir aus den Schwierigkeiten der Darstellung, zunächst aus dem Umstand, dass dieselben nicht ganz gleichmässig behandelt, nicht gleichzeitig und gleich schnell verarbeitet werden konnten.

Ich habe die Ueberzeugung, dass sie sich noch weiter vermindern liessen.

Bei der ersten Darstellung, wo absichtlich erwärmt wurde, zeigen auch in der That die beiden Endglieder eine bemerkenswerthe Uebereinstimmung.

Dies zusammengefasst halte ich mich zum Schluss berechtigt, dass auch die fraktionirte Bleifällung keinen Grund bietet, das Pepton als ein Gemenge verschiedener Substanzen zu betrachten, halte dasselbe vielmehr nach den Resultaten der Gesamtanalyse und denjenigen der beiden fraktionirten Fällungen für einen einheitlichen Körper.

#### Verhältniss zum Eiweiss.

Die Veränderungen, welche das Eiweiss bei seiner Umwandlung in Pepton erleidet, manifestiren sich also hauptsächlich in der unzerstörbaren Löslichkeit in Wasser und in der Unwirksamkeit der prägnantesten Fällungsmittel für Eiweiss.

Die mitgetheilten Analysen, welche die procentischen Zahlen für Eiweiss zeigen, gestatten hier nicht einmal die Annahme einer Hydratation etwa wie sie bei der sonst so ähnlichen Umwandlung von Stärke in Traubenzucker stattfindet.

Die Annahme eines verminderten Salzgehaltes, wie sie Adamkiewicz gegenüber unpeptonisirtem Eiweiss macht und zwar auf Grund von Lehmanns Fibrinanalysen (2,17) scheint mir weder vom chemischen noch vom physiologischen Standpunkt gerechtfertigt.

Maly, auf dessen Analysen Adamkiewicz sich sonst bezieht, hat den Salzgehalt nicht vermindert gefunden, obwohl gerade sein Verfahren (Dialyse) geeignet wäre, hierüber Aufschluss zu geben; Kistiakowsky hat sogar im Fibrin nur 0,65 % Asche gefunden, gegenüber der fast doppelten Menge in Adamkiewicz's Pepton (1,167). Der Salzgehalt ist eben ganz von der Darstellung abhängig; je reiner wir Eiweiss oder Pepton erhalten, um so aschenärmer werden sie sein. Wenn wir keines von beiden bisher völlig frei von Anorganischem erhalten haben, so beweist dies blos die bisherige Unmöglichkeit der absoluten Reindarstellung; aber einen fundamentalen Unterschied zweier Körper kann doch ihre ungleiche Verunreinigung mit Asche nicht darstellen wie Adamkiewicz will.

Da nun diese analytischen Daten keinen Anhaltspunkt bieten, um auf die wirklichen Veränderungen, die das Eiweiss erlitten hat, zu schliessen, so liessel sich an eine Umlagerung der Atome, an eine verschiedene Gruppierung derselben im Eiweissmolekül durch den Prozess der Peptonbildung denken, eine Annahme, die übrigens nach den Ergebnissen des physiologischen Experimentes wie wir sie Maly und Plósz verdanken, nicht wahrscheinlich sind. Einen weiteren Aufschluss in dieser Hinsicht möchte ich noch erwarten von einem Studium der Zersetzungsprodukte des Peptons, ihrer Art und möglichst ihrer Menge, verglichen mit dem auf analoge Weise erhaltenen des Eiweisses. Eine Vermuthung auf die Identität dieser dürften bereits die Erfahrungen gestatten, die man bei lang fortgesetzter Pankreasverdauung von Eiweiss

gemacht hat, bei welcher die wichtigsten Produkte der künstlichen Zersetzung ebenfalls erhalten wurden, während schon der dem Eiweiss nächststehende Leim sowohl qualitativ wie quantitativ hiervon verschieden liefert. <sup>(1)</sup>

Bei der erwiesenen energischen peptonbildenden Kraft des Pankreasfermentes lässt sich annehmen, dass diesen weitergehenden Zersetzungen die Peptonisirung vorausgegangen sei.

Würden diese Voraussetzungen durch die künstliche Zersetzung des Peptons eine weitere Stütze erhalten, so bliebe nur noch die Annahme, dass die Veränderungen, welche das Eiweiss bei seiner Umwandlung in Pepton erleidet, gar nicht das einzelne Grundmolekül betreffen, dass sie überhaupt so wenig eingreifende sind, dass auch die Vorstellung einer Rückverwandlung in gewöhnliches Eiweiss alle die Unwahrscheinlichkeit verlöre, an der man bisher so vielfach Anstoss genommen hat.

Einen Anhaltspunkt betreffs der Art dieser inneren Veränderung geben übrigens schon jetzt die Eigenschaften des Peptons gegenüber dem Eiweiss: seine leichte Filtrirbarkeit, seine grössere Diffusionsfähigkeit und vor Allem seine grosse Neigung in Lösung überzugehen. Sie lassen annehmen, dass hier eine Verringerung in der Grösse der kleinsten, sich eben noch als Ganzes selbstständig bewegenden, Massentheilen stattfindet. Sieht man nun schon ganz allgemein complicirtere Molekülverbindungen beim Uebergang in einen weniger dichten Aggregatzustand sich in einfachere auflösen und umgekehrt; sieht man ferner in ganzen Reihen organischer Körper schon mit blosser Vereinfachung des Moleküls gerade die Löslichkeit zunehmen: so findet doch diese wesentlichste Eigenschaft des Peptons und die Art, wie sie zu Stande kommen könnte, ohne dass eine Veränderung in der procentischen Zusammensetzung oder in der Gruppierung der Atome stattgefunden hätte, ihre naheliegende Analogie insbesondere bei der Cyansäure und bei der Gruppe der Aldehyde. Die einfachen Aldehyde sind ebenso wie die Cyansäure in Wasser

<sup>(1)</sup> Nencki, Bericht der deutschen chem. Gesellsch. VII, S. 1593



leicht löslich, haben überhaupt Neigung in den weniger dichten Aggregatzustand überzugehen; die Polymeren derselben sind in Wasser schwer oder nicht löslich und zeigen erst dann Neigung in den dünneren Aggregatzustand überzugehen, wenn die lebendige Kraft der Atome oder Moleküle vermehrt, ihre gegenseitige Anziehung aber vermindert wird, das ist durch Wärme. Das Paraldehyd  $(\text{CH}_2\text{O})_3$ , in gewöhnlichem Zustand fest und unlöslich in Wasser, wird durch Wärme verflüchtigt und zeigt eine Dampfdichte, entsprechend der Formel  $\text{CH}_2\text{O}$ : selbst Erhitzen mit Wasser genügt, um die Zerlegung des complicirten Moleküls zu bewirken und damit die Lösung in Wasser herbeizuführen, gerade so wie es auch beim Eiweiss durch Erhitzen mit Wasser der Fall ist.

Diese Verhältnisse scheinen mir es nahezu legen, auch bei dem Umwandlungsprozess des Eiweisses an eine solche Disgregation der Molekülverbindungen zu denken, d. h. die Peptonisirung desselben aufzufassen als die einfache Lösung einer Polymerisation, gleichviel ob dieselbe sich bis zur Trennung in die kleinstmöglichen chemischen Grundmoleküle erstreckte, oder, was wahrscheinlicher, nur bis zu einem gewissen Grad der Vereinfachung. Bei dieser Anschauung hätte die Annahme einer Rückverwandlung in gewöhnliches Eiweiss vielleicht unter Vermittlung von lebendem Eiweiss um so weniger Gezwungenes, als die Rolle, welche solche Condensationen, Polymerisationen beim Eiweisszuwachs in den Geweben spielen, durch Pflüger <sup>(1)</sup> als eine sehr allgemeine wahrscheinlich gemacht und principiell angenommen wurde.

Pflüger nimmt dabei allerdings eine ätherartige Verknüpfung unter Austritt von Wasser an.

Es erübrigt noch ein

#### Vergleich mit anderen Arbeiten.

mit denen ich mich in Widerspruch resp. in Uebereinstimmung befinde.

(<sup>1</sup>) Ueber die physiol. Verbrennung in den lebenden Organismen Pflügers Arch. X., S. 251.

Auf das Bedenkliche der Methode von Möhlenfeld, Kistiakowsky, Kossel, die mit Barythydrat und Silberoxyd in mehr oder minder complicirten Modificationen manipulirten, habe ich bereits früher hingewiesen. Schon Maly hat wiederholt die dadurch erhaltenen Resultate als durch das oxydirende Silberoxyd beeinflusst erklärt und auch Gorup-Besanez hält die Peptone Möhlenfeld's für Produkte der analytischen Methode. (1)

Kossel, der zuletzt diese Methode benutzte, hat nun gesucht durch Vergleichung mit einem unter Verwendung von Calciumcarbonat hergestellten Präparat, die durch erstgenanntes Verfahren erhaltenen Resultate zu stützen und auch in der That eine scheinbare Uebereinstimmung erzielt.

Das unter Verwendung von Barythydrat (und Eindampfen der stark barythaltigen Flüssigkeit), sodann von Silberoxyd im Ueberschuss dargestellte Pepton wurde als Silberverbindung durch Alkohol gefällt. Die Analyse gab:

C	45.9	S	0.9
H	6.7	O	31.
N	15.45	Asche	4.

Das ganze hier eingeschlagene Verfahren entspricht aber, ganz abgesehen von den schon früher gewürdigten Gefahren einer künstlichen Zersetzung, so wenig der Anforderung einer Reinigung, dass auch das Ausbleiben der Reaktion mit Ferrocyankalium und Essigsäure ohne Bedeutung wird.

Dass ein bis zu 8 Tagen unterhaltener Verdauungsprozess bei Benützung einer so unreinen, eine Menge leicht faulender Stoffe enthaltenden Pepsinlösung wie sie durch blosses Extrahiren der Magenschleimhaut gewonnen wird, von vornherein schon die Gefahr einer Zersetzung mitbringen muss, hat Kossel selbst erfahren, indem er sich wiederholt genöthigt sah, derartige Präparate wegen Zeichen von Fäulniss zu beseitigen. Unter solchen Umständen und bei Unterlassung einer vorgängigen besonderen Reinigung des benützten (blos mit Wasser gewaschenen) Fibrins mussten die Anforderungen an die späteren Reinigungsversuche um so grössere sein, es konnte keinesfalls genügen, die Silberverbindung mit starkem

(1) Physiologische Chemie.

Alkohol zu fällen, dieselbe mit  $H_2S$  zu zerlegen, blos einzudampfen und nach dem Trocknen bei  $100^\circ$  ohne Weiteres zu analysiren. Hierbei mussten natürlich alle diejenigen Nebenprodukte der Verdauung und Verunreinigungen mitgefällt werden, die mit Silberoxyd in verdünntem Alkohol nicht oder schwer lösliche Verbindungen bilden, oder die überhaupt in Alkohol nicht leicht löslich sind und durch eine einmalige Alkoholfällung, wie sie allerdings an dem ursprünglichen Barytpepton vorgenommen wurde, keinesfalls genügend entfernt werden sein können. Auch der grosse Aschgehalt (4%) spricht nicht zu Gunsten des Verfahrens.

Zum Vergleich hat nun Kossel eine andere Portion einer schon mit Barytwasser behandelten und dann durch  $SO_4 H_2$  von Baryt befreiten Peptonlösung mit Calciumcarbonat digerirt und drei mal mit Alkohol gefällt, durch diese wiederholte Fällung aber bereits die Gleichmässigkeit in der Behandlung dieses Theils mit dem als Silberverbindung gefällten unterbrochen, da hierdurch Bestandtheile weggeschafft worden sein können, die in der mit  $(Ag_2 O)$  behandelten Portion noch vorhanden sein mussten. Die Analyse dieses Theils gab:

C	45.13	S	1.67	Cl	2.34
H	6.23	O	25.57	Ca	5.68
N	13.96			Asche	13.48 (!)

Bei Berechnung auf Grund der Ca-, Cl- und S-Bestimmung war die Asche = 12.43%.

Da nun schon Lubavin in ungenügend gereinigtem, durch Alkohol gefälltem Pepton Ba und Cl, weingleich in verschiedenem Verhältniss gefunden hat (6.4 Cl und 18.2% Ba; in einem andern Fall 2.9 Cl und 16.7 Ba), so zieht Kossel die Aschenbestandtheile nicht etwa vom Gewicht der analysirten Substanz ab, sondern nimmt an, «dass bei Berechnung der Analyse für sie eine entsprechende Gewichtsmenge der vertretenen Atome oder der vertretenen Atomgruppen einzusetzen sei.» Er lässt die Aschenbestandtheile in einer chemischen Verbindung mit dem Pepton sein und hält es für wahrscheinlich, dass dieser Körper eine Verbindung von

Peptonecalcium mit HCl sei, ohne dies auch nur durch eine Analogie plausibel zu machen.

Die Sache wird aber noch verwickelter, wenn man, wie Kossel, das Pepton als ein Gemisch verschiedener Substanzen betrachtet.

Würde man bei Berechnung der Analyse die Asche einfach in Abzug bringen, so würde die Differenz der beiden verschieden behandelten Portionen eine noch grössere.

Kossel gelangt nach diesen gemachten Erfahrungen selbst zum Schluss, dass die Methode mit Silberoxyd zu beanstanden sei und damit verlieren auch die andern mit Hilfe dieser Methode bewirkten Resultate von Möhlenfeld und Kistiakowsky ihre Bedeutung.

Lehmann, der ebenfalls das Calciumcarbonat in Anwendung zog, jedoch ohne vorherige Behandlung der Peptonlösung mit Barythydrat, kam damit zu ganz andern Resultaten: er erklärt das Pepton als in der procentischen Zusammensetzung mit der Muttersubstanz übereinstimmend.

Ebenso Thiry<sup>(1)</sup> der ein Barytpepton analysirte, das allerdings durch Kochen mit Wasser dargestellt wurde und hohen Aschengehalt zeigte.

In Uebereinstimmung befinde ich mich schliesslich mit den Untersuchungen Maly's, der eigentlich zuerst auf Grund eines durch Fermentwirkung dargestellten Präparates detaillirte Angaben mittheilte, nach denen das Pepton ein einheitlicher Körper und in seiner Zusammensetzung wesentlich mit dem ursprünglichen Eiweiss identisch ist.

Hier wurde ein unter besonderen Cautelen gereinigtes Fibrin mit einer sehr reinen, an festen Bestandtheilen armen Pepsinlösung in kurzer Zeit verdaut, das Pepton selbst aber bis auf Bruchtheile eines Procentes durch die Dialyse von Salzen befreit und fraktionirt gefällt.

Der Einwurf der nicht genügenden Reinigung des so erhaltenen Peptons von Maly, den Hoppe-Seyler<sup>(2)</sup> erhoben hat, könnte sich höchstens auf geringe Spuren von noch

(<sup>1</sup>) Zeitschr. f. ration. Medicin von Heule u. Pfeufer Bd. XIV.

(<sup>2</sup>) Handb. d. physiol. u. pathol.-chem. Analyse, 4. Aufl. S. 249.

beigemischtem ursprünglichem Eiweiss beziehen und zwar gestützt auf das Eintreten einer geringen Trübung durch  $K_2CO_3$  und Essigsäure. Wer aber berücksichtigt, wie gering an Masse das ist, was von Eiweisskörpern noch eine Trübung veranlassen kann, wird bei Beurtheilung der analytischen Resultate hierauf keinen Werth legen.

Was die Meinung Kossel betrifft, dass noch Leucin vorhanden sein musste, so weise ich auf die notorische Leichtlöslichkeit des unreinen Leucins in verdünntem Weingeist hin, die gerade ein geeignetes Mittel zur Reinigung in die Hand gibt.

Bei dieser Löslichkeit des Leucins in verdünntem Alkohol konnte sich dasselbe nur in der letzten Fraktion angehäuft haben; diese wurde aber bei Berechnung des Mittels gar nicht berücksichtigt. Seine Menge konnte überhaupt, wie ich schon früher bemerkte, keine grosse sein, wenn mit so sorgfältig gereinigten Substanzen gearbeitet und in entsprechend kurzer Zeit verdaut wird, wie es hier der Fall war. Ich glaube nicht einmal, dass die letzten Fraktionen irgend in Betracht kommende Leucinmengen enthielten, da sonst unmöglich der Stickstoffgehalt ein so hoher sein konnte (Leucin = 10.68% N.)

Ich lege Gewicht darauf, mit diesen auf so verschiedenen Wegen erhaltenen Resultaten die meinigen in naher Uebereinstimmung zu sehen gegenüber den unter sich differirenden der Methode mit Barythydrat und Silberoxyd.

Allein auch von physiologischer Seite hat die aus jenen übereinstimmenden Resultaten gewonnene Anschauung eine gewichtige Stütze erhalten, nachdem zuerst Maly, gleichzeitig mit Plósz, durch Fütterungsversuche, Letzterer auch durch einen Vergleich der Stickstoff-Einnahme und -Ausgabe an einem durch Hunger herabgekommenen Hunde nachgewiesen haben, dass das Pepton wirklich das Eiweiss der Nahrung ersetzen und zur Anbildung von Organeiwiss dienen kann. Auch die Untersuchungen von Adamkiewicz, der genau nach Voit's Principien verfuhr und die Stickstoffbilanz durch die Bilanz des Wassers und das Verhalten des Körpergewichts controllirte, haben diese Anschauung bestätigt.

Diese Untersuchung habe ich auf Veranlassung und im Laboratorium des Herrn Prof. R. Maly angestellt; ich fühle mich verpflichtet, demselben für das gütige Entgegenkommen daselbst meinen Dank auszusprechen.

Graz, August 1877.