

Ueber das Mucin der Submaxillardrüse.

Von

Olof Hammarsten.

(Der Redaction zugegangen am 29. September 1887.)

Erste Abhandlung.

Darstellung, Zusammensetzung und Eigenschaften des Submaxillarismucins.

Die erste, eingehendere Untersuchung über das Mucin der Submaxillardrüse rührt von Obolensky¹⁾ her. Die von ihm angewandte Methode zur Reindarstellung dieses Mucins war folgende. Die Speicheldrüsen wurden, nachdem sie möglichst rein auspräparirt und gewaschen worden, frisch mit Glasstückchen in einer Reibschale zerstoßen und zerrieben, die Masse in Wasser eingetragen, über Nacht stehen gelassen, dann filtrirt und der Rückstand wieder mit Wasser behandelt. Die Filtrate wurden mit überschüssiger Essigsäure gefällt, der Niederschlag erst anhaltend mit Wasser und etwas Essigsäure (bis das Filtrat durch Ferrocyankalium nicht mehr getrübt wurde), dann mit heissem Alcohol ausgewaschen und zuletzt getrocknet. Das so dargestellte Mucin enthielt 6,55% Asche, darunter 4,11% Glaspulver, welches bei der Filtration mit der zähen Mucinlösung durch das Papier hindurch gedrungen war. Der eigentliche Aschegehalt dieses Mucins betrug sonach 2,44% und die Zusammensetzung desselben war folgende:

C	52,31—52,08,
H	7,22— 7,14,
N	11,84—11,90,
O	28,63—28,88.

¹⁾ Pflüger's Archiv, Bd. IV, 1871, S. 336.

Schwefel fand Obolensky nicht in diesem Mucin, und der Gehalt desselben an Phosphor entsprach demjenigen der Asche.

In der letzten Zeit hat Landwehr werthvolle Beiträge zur Kenntniss der Mucine geliefert und dabei auch dem Submaxillarismucin eine besondere Aufmerksamkeit gewidmet. Landwehr¹⁾ extrahirte die fein zerschnittenen Submaxillardrüsen mit Wasser, filtrirte durch Leinen, fällte mit Essigsäure, löste wieder in einer 1—2^o/₁₀₀igen Lösung von kohlensaurem Natron, goss die Flüssigkeit vom Ungelösten ab und fällte mit Essigsäure.

Im Gegensatz zu Obolensky fand er das Submaxillarismucin schwefelhaltig. In einem, bald nach dem Ausfällen in Arbeit genommenen Präparate fand er 0,505 und in einem anderen, welches während mehrerer Tage durch öfteres Decantiren gereinigt worden war, 0,86^o/₁₀₀ Schwefel. Ueber die Zusammensetzung des Submaxillarismucins im Uebrigen hat Landwehr in dem ersten Aufsätze keine weiteren Angaben gemacht; in einer neulich erschienenen Abhandlung²⁾ theilt er aber beiläufig die Resultate zweier von ihm ausgeführten Analysen des Submaxillarismucins mit.

Dieses von ihm analysirte Mucin war in der Weise gewonnen worden, dass der von Blut möglichst befreite Drüsenbrei mit einer 1procentigen Lösung von Natriumcarbonat ausgezogen und der filtrirte Auszug mit Essigsäure im Ueberschuss gefällt wurde. Das Gerinnsel wurde vier Mal mit verdünnter Essigsäure behandelt, wobei letztere immer eine halbe Stunde auf dem Coagulum unter wiederholtem Durchkneten desselben blieb. Das Mucin wurde dann mit Alcohol, mit Aether und schliesslich mit absolutem Alcohol ausgewaschen, im Vacuum getrocknet und bei 120^o C. bis zum constanten Gewicht erwärmt.

1) Diese Zeitschrift, Bd. V, S. 371.

2) H. Landwehr, Ueber die Bedeutung des thierischen Gummis. Pflüger's Archiv, Bd. XXXIX, S. 193.

Die Elementaranalyse gab für dieses Präparat folgende Mittelwerthe:

C	49,93 ⁰ / ₀ .
H	7,27 ⁰ / ₀ .
N	13,98 ⁰ / ₀ .

Vergleicht man mit einander die von Obolensky und Landwehr für die Zusammensetzung des Submaxillarismucins vom Rinde gefundenen Zahlen:

	C:	H:	N:	S:
nach Obolensky	52,20	7,18	11,87	0,0
» Landwehr	49,93	7,27	13,98	0,5 - 0,86,

so ersieht man sogleich, dass die Uebereinstimmung keine gute ist. Die Abweichung in dem Kohlenstoffgehalte beträgt nämlich 2,27 und in dem Stickstoffgehalte 2,11⁰/₀.

Die Zusammensetzung des reinen, durch die chemischen Manipulationen nicht veränderten Submaxillarismucins ist also noch nicht bekannt. Für die Kenntniss von der Natur wie für das Studium der Zersetzungsproducte dieses Mucins muss es doch eine unabweisbare Forderung sein, diese Substanz wenn möglich in reinem Zustande darzustellen, und auf diese Aufgabe habe ich deshalb auch vor Allem mein Augenmerk gerichtet. Ich habe zwar auch die Zersetzungsproducte des Submaxillarismucins zum Gegenstand meiner Untersuchungen gemacht, und ich werde in einer folgenden Abhandlung meine diesbezüglichen Beobachtungen mittheilen; für jetzt will ich mich aber darauf beschränken, über meine Darstellungsmethode wie auch über die Zusammensetzung und die Eigenschaften des Submaxillarismucins zu berichten.

Sämmtliche hier unten mitzutheilenden Untersuchungen und Angaben beziehen sich ausschliesslich auf das aus den Submaxillardrüsen vom Rinde gewonnene Mucin.

Einer Reindarstellung des Submaxillarismucins stehen nicht unbedeutende Schwierigkeiten im Wege. Bei der Extraction der Drüsen mit Wasser wird die Flüssigkeit von Formelementen mehr oder weniger getrübt. Beim Filtriren durch gewöhnliches Papier können letztere mit dem zähen Schleime durch das Papier hindurchgehen, wie dies in den

Versuchen von Obolensky mit dem feinen Glaspulver der Fall war. Ein Filtriren durch Leinen ist darum auch ganz verwerflich. Wenn man aber ein nicht zu dickflüssiges Wasserextract macht, kann dies durch ein ganz dickes Papier vollkommen klar und frei von Formelementen filtriren. Ich benutze desshalb auch zu meinen Arbeiten ein ganz besonders dickes, schwedisches Filtrirpapier, durch welches die Filtration allerdings ziemlich langsam von statten geht, während sie dagegen, bei Verwendung von ganz fehlerfreien Filtren, ein vorzüglich klares, von Formelementen ganz freies Filtrat liefert. Die in einem filtrirten, anscheinend ganz klaren Drüsenextract etwa noch vorhandenen, aufgeschwemmten, spärlichen Formelemente setzen sich natürlich nur sehr langsam zum Boden und können demnach der Aufmerksamkeit leicht entgehen. Ich habe mich desshalb auch durch 6stündiges Centrifugiren meiner Filtrate wiederholt davon überzeugt, dass mit Hülfe von fehlerfreien Filtren aus dem obengenannten, dicken Papiere von Formelementen ganz freie Wasserextracte der fraglichen Drüsen erhalten werden können.

Als Extractionsmittel benutze ich ausschliesslich Wasser. Wegen der grossen Empfindlichkeit des Submaxillarismucins gegen Kalkwasser oder verdünnte Alkalien überhaupt, eine Empfindlichkeit, von der ich später weiter sprechen werde, ist es nach meiner Erfahrung ganz unstatthaft, eine Extraction mit halbgesättigtem Kalkwasser oder mit alkalihaltigem Wasser vorzunehmen. Die Anwendung von alkalihaltigem Wasser hat ausserdem auch die Unannehmlichkeit, dass das Drüsenextract dadurch bedeutend reicher als sonst an einer zweiten, von Essigsäure fällbaren Proteinsubstanz wird, auf deren Eigenschaften ich in der Folge näher eingehen werde.

Wenn man also mittels Filtration durch ein sehr dichtes Papier ein von Formelementen ganz freies Wasserextract erhalten hat, so handelt es sich dann zunächst darum, aus diesem Filtrate das Mucin mit einer Säure auszufällen. Hierzu wurde bisher wohl immer, nach dem Vorgange älterer Forscher, die Essigsäure benützt, und ich habe auch lange ausschliesslich dieser Säure mich bedient. In der That können auch

die Mineralsäuren hierzu weniger geeignet erscheinen, weil das Submaxillarismucin in einem kleinen Ueberschuss derselben ausserordentlich leicht löslich ist, während ein Ueberschuss von Essigsäure keine Auflösung bewirkt.

Wird das mucinhaltige Drüsenextract mit Essigsäure gefällt, so kann der Mucinniederschlag, je nach der Art und Weise, wie der Essigsäurezusatz geschieht, ein verschiedenes Aussehen annehmen. Setzt man auf einmal einen Ueberschuss von Säure zu der Lösung, so windet sich das Mucin beim Umrühren mit dem Glasstabe als eine zähe Masse um ihr herum, und es kann das Mucingerinnsel als ein zusammenhängender grosser Klumpen herausgehoben werden. Setzt man dagegen die Essigsäure nur sehr allmählich und unter Umrühren zu, so wird die Flüssigkeit stark sauer und opalescirend, bevor noch eine Fällung entsteht, und beim Umrühren kann das Mucin durch weiteren, vorsichtigen Zusatz von Essigsäure als ein feinflockiger Niederschlag, welcher sich allmählich zum Boden setzt, gewonnen werden. Man könnte meinen, dass diese letztere Verfahrungsweise vorzuziehen sein sollte, da ein Auswaschen des Mucins in diesem Falle leichter zu bewirken sein müsse als in jenem, wo es als ein grosser zäher Klumpen sich ausscheidet. Beide Verfahrungsweisen kommen doch etwa auf Eins heraus, denn in beiden Fällen ist ein weiteres Auswaschen mit Essigsäure unbedingt nothwendig, und dabei ballt sich auch das feinflockig ausgefällte Mucin, wenn es seine typische Beschaffenheit nicht verloren hat, rasch zu einem zähen, zusammenhängenden Klumpen zusammen.

Hat das feinflockig ausgefällte Mucin keine Neigung, durch die Essigsäureeinwirkung in eine zähe Masse sich umzuwandeln, kann ein Auswaschen auf dem Filter versucht werden; aber in diesem Falle kann man auch ganz sicher sein, dass das Submaxillarismucin aus irgend einem Grunde seine typische Beschaffenheit mehr oder weniger eingebüsst hat.

Das Auswaschen des Mucins mit essigsäurehaltigem Wasser wird nach der älteren Vorschrift fortgesetzt, bis das Filtrat von Ferrocyankalium nicht mehr getrübt wird; aber

ein solches Auswaschen führt nach meiner Erfahrung nicht zum Ziele. Das mit Essigsäure ausgefällte Submaxillarismucin enthält nämlich, so weit meine Erfahrung reicht, ohne Ausnahme als Verunreinigung ein Nucleoalbumin, von dem ich später sprechen werde und welches von dem Mucin sehr hartnäckig zurückgehalten wird. Erst durch sehr anhaltende und energische Essigsäurebehandlung kann diese Verunreinigung entfernt werden, und bei zu kurz dauernder Einwirkung des essigsäurehaltigen Wassers, wie z. B. beim Auswaschen auf dem Filtrum, gehen nur Spuren dieses Nucleoalbumins in Lösung. Hierzu kommt noch, dass dieses Nucleoalbumin, wenn es nur in sehr kleiner Menge in dem sauren Filtrate enthalten ist, bei der Ferrocyankaliumprobe leicht übersehen werden kann. Während seine saure Lösung von einem Minimum des Reagenses getrübt wird, kann sie nämlich bei Zusatz auf einmal von mehreren Tropfen der Ferrocyankaliumlösung einige Zeit klar bleiben.

Die ältere Darstellungsweise des Mucins — durch Ausfällen mit Essigsäure und Auswaschen auf dem Filtrum mit essigsäurehaltigem Wasser, bis zur Nichtfällbarkeit des Filtrates mit Ferrocyankalium — ist also überhaupt nur in dem Falle für das Submaxillarismucin brauchbar, wenn dies schon theilweise verändert worden ist, und sie liefert keine Garantie für die Reinheit des Präparates.

Wegen der Zähigkeit des ausgefällten, typischen Mucins ist es darum auch richtiger, das Coagulum längere Zeit mit verdünnter Essigsäure unter wiederholtem Durchkneten in Berührung zu lassen, und diesen Weg hat auch Landwehr eingeschlagen. Er behandelte nämlich das Mucin viermal mit verdünnter Essigsäure, wobei letztere unter wiederholtem Durchkneten des Coagels immer eine halbe Stunde mit dem letzteren in Berührung blieb.

Selbst dieses Verfahren ist doch nach meiner Erfahrung lange nicht genügend. Ich habe in den letzten 3 Jahren gar zu viele vergebliche Versuche zur Reindarstellung des Mucins nach verschiedenen Methoden gemacht, und ich habe dabei oft das Mucin mehrere Tage mit verdünnter Essigsäure unter

wiederholtem Durchkneten des Mucinklumpens behandelt, ohne die obengenannte Verunreinigung vollständig entfernen zu können. Das essigsäurehaltige Wasser gab stets eine, wenn auch schwache, Trübung bei vorsichtigem Zusatz von Ferrocyankalium. In der That ist es auch, in Anbetracht der ausserordentlich zähen Beschaffenheit des typischen Mucincoagels, von vorneherein zu erwarten, dass die Essigsäure erst durch sehr anhaltende und energische Einwirkung die verunreinigende Substanz aus dem Gerinnsel vollständig extrahiren werde.

Damit das Mucin mit einer möglichst grossen Oberfläche mit der Essigsäure in Berührung kommen werde, habe ich es auch versucht, den Mucinklumpen erst mit einer grossen Menge von reinem, ausgeglühten Quarzsand zu zerreiben, dann wiederholt mit Essigsäure unter Durchkneten zu behandeln, die Essigsäure durch Auswaschen mit Wasser zu entfernen, das Mucin wieder mit Hülfe von möglichst wenig Alkali in Wasser zu lösen und dann von Neuem mit Essigsäure zu fällen. Selbst auf diese Weise konnte ich indessen durch mehrtägige Essigsäurebehandlung das Mucin nicht vollständig reinigen und nach allen diesen vergeblichen Versuchen, welche viel Zeit und Arbeit gekostet hatten, musste ich einen anderen Weg einschlagen. Ich versuchte nämlich das Mucin durch wiederholtes Auflösen in alkalihaltigem Wasser und Ausfällen mit Essigsäure zu reinigen.

Eine unabweisbare Bedingung für die Anwendbarkeit eines solchen Verfahrens ist die, dass das Mucin einer solchen Behandlung unterworfen werden könne, ohne dabei seine typischen Eigenschaften im Geringsten zu verlieren. Dies ist nun in der That auch wohl möglich. Das Submaxillarmucin ist zwar, wie ich wiederholt gesehen und später des Näheren zeigen werde, ausserordentlich empfindlich gegen die Einwirkung von verdünnten Alkalien; wenn aber jeder, selbst der allergeringste Alkaliüberschuss vermieden wird, kann das Mucin wiederholt aufgelöst und ausgefällt werden, ohne die Spur einer Veränderung zu zeigen. Ich habe also in mehreren Fällen dasselbe Mucin 2—4 mal ausgefällt und dabei doch

zuletzt ein Coagulum von der gewöhnlichen zähen Beschaffenheit erhalten, und dieses Coagulum könnte mit Hülfe von möglichst wenig Alkali wieder in Wasser zu einer, physikalisch wie chemisch, ganz typischen Mucinlösung aufgelöst werden. Ueber die Art und Weise, wie man bei dem Wiederauflösen des Mucins mit Hülfe von Alkalien verfahren soll, werde ich später, bei Besprechung derjenigen Methode, welche allein als brauchbar sich erwiesen hat, des Näheren berichten.

Da es bei einiger Vorsicht gar nicht schwierig ist, das Mucin mit unveränderten Eigenschaften auszufällen und wieder aufzulösen, lag es mir also ob, zu prüfen, in wie weit die Reindarstellung des Mucins durch ein solches Verfahren möglich sei. Zu dem Ende habe ich einige, nach diesem Verfahren dargestellte Präparate nach vorheriger Alcohol-Aetherbehandlung nach bekannten Methoden elementaranalytisch untersucht. Die Stickstoffbestimmungen sind nach der Kjeldahl'schen Methode ausgeführt, nachdem ich bei einer Voruntersuchung gefunden hatte, dass diese Methode für das Mucin dieselben Zahlen wie die Dumas'sche gab. Die 4 Präparate No. 1, 2, 3 und 4 waren resp. 1, 2, 3 und 4 mal mit Essigsäure gefällt worden. Die Zusammensetzung, auf aschefreie Substanz bezogen, war folgende:

	C:	H:	N:	
No. 1.	50,76	6,83	13,31 13,30	13,305%
» 2.	50,49	6,84	13,27	13,27%
» 3.	50,44	6,78	12,90 13,15	13,03%
» 4.	50,33	6,77	12,75 12,75	12,75%

Wie man sieht, nimmt mit dem wiederholten Ausfällen und Auflösen des Mucins mit Essigsäure und Alkali der Kohlen- wie der Stickstoffgehalt regelmässig ab. Es könnte dies entweder von einer theilweisen Zersetzung des Mucins in Folge der chemischen Manipulationen herrühren, oder auch darin seinen Grund haben, dass das Mucin von einer anderen kohlen- und stickstoffreicheren Substanz verunreinigt sei, welche bei der wiederholten Ausfällung immer zum Theil

entfernt wurde. Gegen die erste Annahme sprach die anscheinend ganz unveränderte physikalische und chemische Beschaffenheit des Mucins und es blieb also die letztere die wahrscheinlichere.

Das Mucin kann auch mit Chlorwasserstoffsäure ausgefällt werden, wenn auch die Anwendung dieser Säure, wegen der Leichtlöslichkeit des Submaxillarismucins in einem Ueberschuss derselben, etwas Vorsicht erfordert. Da es nun denkbar war, dass die Reindarstellung des Mucins bei Anwendung von dieser Säure leichter gelingen würde, habe ich auch zwei, durch 2—3maliges Ausfällen des Mucins mit dieser Säure (wie oben nach der Essigsäuremethode) dargestellte Mucinpräparate analysirt. Die Ergebnisse waren folgende:

	C:	H:	N:	
No. 1 (2 mal gefällt)	50,24%	6,76%	13,18 13,15	} 13,165%
No. 2 (3 mal gefällt)	—	—	12,99	

Der Stickstoffgehalt war in diesen Präparaten höher als in denjenigen, welche 3—4 Mal mit Essigsäure gefällt worden waren, während der Kohlenstoffgehalt etwas niedriger war. Diese Methode schien also keine bessere Resultate zu geben.

Ich kehrte darum wieder zu der Essigsäuremethode zurück und stellte mir ein neues, 4 mal mit Essigsäure gefälltes Mucin dar. Dieses Präparat wurde von mir nur mit Rücksicht auf den Stickstoffgehalt untersucht, und auffallenderweise war dieser ganz derselbe wie in dem oben (S. 170) angegebenen Präparate, d. h. 12,75%. Ich glaubte darum auch nun endlich eine brauchbare Methode zur Reindarstellung des Submaxillarismucins gefunden zu haben; aber aus einem anderen Grunde musste ich doch gewisse Zweifel an der Reinheit dieses Präparates hegen. Von diesem, zu der Stickstoffbestimmung verwendeten Mucin hatte ich auch eine grössere Menge in noch frischem, feuchtem Zustand zu qualitativen Versuchen benutzt und dabei beobachtet, dass es beim Kneten mit 1—2procentiger Essigsäure, dieser letzteren nicht ganz unbedeutende Mengen einer mit Ferrocyankalium fällbaren Substanz abgab.

Es führte mich dies zu der Frage, ob doch nicht auch das 4 Mal gefällte Submaxillarismucin eine verunreinigende Substanz enthalte, oder ob das Mucin durch anhaltende Einwirkung der Säure eine Zersetzung derart erfahre, dass eine durch Ferrocyankalium fällbare Substanz allmählich von ihm sich abspalte.

Um diese Frage zu entscheiden, fällte ich aus dem mit Wasser wie gewöhnlich bereiteten Drüsenextracte das Mucin mit Essigsäure, wobei das Gerinnsel wie gewöhnlich um den Glasstab sich herumwindete. Das Gerinnsel rührte ich dann mit einer sehr grossen Menge von reinem, vorher ausgeglühten Quarzsand aus und behandelte diese Masse mit 1procentiger Essigsäure Tag und Nacht, unter wiederholtem Durchkneten während des Tages. Nach Verlauf von 10 mal 24 Stunden gelang es mir endlich auf diese Weise so weit zu kommen, dass bei neuem Durchkneten mit Essigsäure die saure Flüssigkeit von Ferrocyankalium nicht mehr getrübt wurde.

Dieses Mucin wurde nun durch Kneten mit Wasser und Decantiren von Essigsäure befreit und in Wasser mit Hülfe von möglichst wenig Alkali fast vollständig gelöst. Die von dem Bodensatze getrennte Flüssigkeit wurde durch Centrifugiren von ungelösten Mucinpartikelchen getrennt. Sie war fadenziehend, schleimig. Sie wurde zum zweiten Male mit Essigsäure gefällt und das Mucin schied sich dabei als eine braungefärbte, zähe Masse aus. Nach dem Auswaschen mit Wasser und darauffolgender Alcohol-Aetherbehandlung wurde dieses Präparat analysirt und dabei folgende Zusammensetzung — wie gewöhnlich auf aschefreie Substanz berechnet — gefunden:

C:	H:	N:
49,21	6,92	12,47.

Das Ergebniss dieses Versuches war ein auffallendes. Der Kohlenstoffgehalt war 1% und der Stickstoffgehalt etwa 0,3% niedriger als in dem 4 mal mit Essigsäure gefällten Mucin, und es forderte dies also zu neuen Untersuchungen auf.

Das auf die nun geschilderte Weise gereinigte Mucin gab eine schleimige, wenn auch, wenn ich mich nicht geirrt

habe, vielleicht nicht ganz so fadenziehende Lösung wie das ganz typische Mucin, und ebenso hatte es vielleicht nicht in so hohem Grade wie dieses die Neigung, um den Glasstab zu einer festen Masse sich herumzuwinden. Ich will darum auch nicht ganz die Möglichkeit in Abrede stellen, dass das wie oben gereinigte Mucin in Folge der sehr anhaltenden Essigsäureeinwirkung ein wenig verändert worden war; dass es aber keine wesentliche und durchgreifende Veränderung erfahren hatte, dafür bürgte die in allem Wesentlichen sonst typische Beschaffenheit desselben. Selbst durch sehr anhaltende Essigsäureeinwirkung wird also das Mucin nicht wesentlich verändert, und vor Allem war es durch diesen Versuch klar geworden, dass die in den früheren Versuchen in dem essigsauren Wasser gefundene, durch Ferrocyankalium fällbare Substanz nicht von einer Zersetzung des Mucins in Folge der Essigsäurewirkung herrühren konnte. Es blieb also nur die Möglichkeit übrig, dass beim Ausfällen des Mucins mit Essigsäure eine andere, kohlen- und stickstoffreichere Substanz gleichzeitig mit niedergerissen werde, und es handelte sich also darum, die Art dieser Substanz wenn möglich zu erforschen und eine Methode zu ihrer Entfernung ausfindig zu machen.

Die Natur dieser Substanz betreffend glaubte ich auf Grund meiner früheren Beobachtungen wenigstens einige Vermuthungen hegen zu dürfen. Ausser den eigentlichen Mucin-substanzen, den Globulinen und den Albuminaten giebt es nämlich noch eine Gruppe von Proteinsubstanzen, welche von Essigsäure gefällt werden, nämlich die Nucleoalbumine. Das Verhältniss der zu dieser letztgenannten Gruppe gehörigen Stoffe zu überschüssiger Essigsäure ist ein wechselndes. Einige werden leichter, andere schwieriger von überschüssiger Essigsäure gelöst; alle sind sie aber, so weit meine bisherigen Erfahrungen reichen, zum Unterschied von den Mucinen löslich in überschüssiger Essigsäure, während sie schwerlöslicher in dieser Säure als die Globuline bezw. die Albuminate sind. Nach meinen (noch nicht abgeschlossenen und veröffentlichten) Untersuchungen über diese Stoffe finden sie sich nicht nur

fast überall im Thierkörper, sondern sie stellen oft einen sehr wesentlichen Bestandtheil des Protoplasmas dar und sie finden sich darum auch regelmässig in den Drüsen.

Ich hatte also Grund zu der Annahme, dass in den Speicheldrüsen neben dem Mucin auch Nucleoalbumin sich finden würde; und da ein solches Nucleoalbumin — wenn es in den Drüsen vorkäme — auch von der Essigsäure gefällt werden müsste, lag die Annahme nahe, dass gerade ein solcher Stoff es sei, welcher von dem Mucin als Verunreinigung mit niedergerissen worden war.

Es handelte sich also nur darum, zu zeigen, ob überhaupt ein Nucleoalbumin in der Submaxillardrüse vorhanden sei.

Wenn ein Nucleoalbumin in das Wasserextract der Drüse übergeht und dann wenigstens zum Theil von der Essigsäure gleichzeitig mit dem Mucin niedergeschlagen wird, so ist es leicht verständlich, dass die Reindarstellung einer für die Untersuchung genügenden Menge dieses Nucleoalbumins aus dem mit Essigsäure vom Mucin befreiten Extracte kaum möglich sein soll, trotzdem dass, wie ich später zeigen werde, ein solches Nucleoalbumin wirklich in dem ursprünglichen Wasserextracte sich vorfindet. Ich musste also ein anderes Verfahren wählen und ich ging dabei von folgender Betrachtung aus.

Das von Landwehr isolirte Drüsenmucin enthielt bedeutend mehr Stickstoff als die von mir analysirten Präparate, und es ist also ersichtlich, dass jenes Mucin vor Allem sehr reich an der verunreinigenden, stickstoffreicheren Substanz gewesen sein muss. Wenn man sich nun vergegenwärtigt, dass Landwehr sein Mucin ebenfalls mit Essigsäure fällte und dass er zur Extraction der Drüsenmasse eine 1procentige Lösung von Natriumcarbonat verwendet hatte, während ich als Extractionsmittel nur Wasser benutzte, so liegt die Annahme sehr nahe, dass man in dem Natriumcarbonate ein geeignetes Mittel zur Gewinnung von grösseren Mengen der fraglichen Verunreinigung haben muss. Von diesen Erwägungen ausgehend, verfuhr ich nun in der Weise, dass ich die fein

zerhackte Drüsenmasse erst mit kaltem Wasser erschöpfte, bis die Extracte keine Ausscheidung von Mucin nach Essigsäurezusatz zeigten. Nachdem also das Mucin (nebst einem Theile der zweiten Proteinsubstanz) aus den Drüsen entfernt worden war, zog ich die letzteren mit einer 1procentigen Lösung von krystallisirtem Natriumcarbonat ($\text{Na}_2\text{CO}_3 + 12\text{H}_2\text{O}$) aus. Das mit Natriumcarbonat erhaltene Extract (welches stets bei strenger Winterkälte bereitet wurde) war dünnflüssig, gar nicht schleimig und lieferte mit Essigsäure in mässigem Ueberschuss einen rein weissen, flockigen Niederschlag, welcher durch Auflösung in Wasser mit Hülfe von möglichst wenig Alkali und Wiederausfällen mit Essigsäure gereinigt wurde. Dieser Stoff löste sich weniger leicht in überschüssiger Essigsäure, löste sich aber sehr leicht in Chlorwasserstoffsäure von 0,1% HCl oder sogar weniger. Diese salzsäurehaltige Lösung konnte tagelang bei 40° C. ohne sichtbare Veränderung digerirt werden, während die mit Pepsin versetzte salzsaure Lösung innerhalb einiger Stunden sich zu trüben anfang und nach etwa 12 Stunden einen reichlichen, feinflockigen Niederschlag von s. g. Nuclein abgesetzt hatte. Dieser Stoff, auf dessen Eigenschaften ich in diesem Aufsätze nicht des Näheren eingehen kann, verhielt sich auch in allen anderen Beziehungen wie die s. g. Nucleoalbumine und muss wohl also zu dieser Gruppe von Protein-substanzen gerechnet werden.

Dieses Nucleoalbumin, welches gegen 17% Stickstoff enthält, findet sich nun, wie ich nach einem anderen Verfahren habe zeigen können, nicht nur in dem mit alkali-haltigem, sondern auch in dem mit destillirtem Wasser allein dargestellten Drüsenextracte; und da es von Essigsäure gefällt wird, ist es leicht verständlich, dass es von dem gleichzeitig ausfallenden Mucin mit niedergerissen werden muss. Da es nun weiter von überschüssiger Essigsäure zwar gelöst, aber doch nicht gerade leicht gelöst wird, ist es auch ersichtlich, dass die vollständige Entfernung dieser Verunreinigung aus dem zähen, fast kautschukähnlichen Mucinklumpen recht schwierig sein soll. Von Ferrocyankalium wird dieses

Nucleoalbumin in essigsaurer Lösung gefällt; und es kann wohl also keinem Zweifel unterliegen, dass gerade dieses Nucleoalbumin es sei, welches als Verunreinigung in dem Submaxillarismucin bei der gewöhnlichen Darstellung desselben sich vorfindet.

Nach den nun mitgetheilten Erfahrungen ist es offenbar, dass die bisher zur Reindarstellung der Mucine geübte Methode, d. h. die Essigsäuremethode, für das Submaxillarismucin kaum brauchbar sein kann. Ich musste darum auch einen ganz neuen Weg einschlagen.

Ich habe oben gesagt, dass das Submaxillarismucin in sehr verdünnter Salzsäure (0,1—0,2%) leicht löslich ist, namentlich wenn es frisch gefällt mit der Säure behandelt wird. Verdünnt man nun eine solche, saure Mucinlösung mit dem 3—4fachen Volumen Wasser oder mehr, so scheidet sich das Mucin wieder mit unveränderten Eigenschaften aus. Ganz anders verhält sich das oben genannte, in den Drüsen vorkommende Nucleoalbumin. Dieses löst sich ebenfalls sehr leicht in verdünnter Salzsäure von der obengenannten Stärke; wenn aber diese Lösung mit destillirtem Wasser verdünnt wird, bleibt das Nucleoalbumin fortwährend gelöst.

Geht man von diesen Verhältnissen aus, so ist es offenbar, dass sie einem weit rationelleren Verfahren zur Reindarstellung des Submaxillarismucins zu Grunde gelegt werden können. Fällt man nämlich das Mucin aus salzsaurer Lösung durch Verdünnung mit Wasser aus, so kann man hoffen, dass das Nucleoalbumin in Lösung bleiben werde; und da von ihm wohl höchstens diejenigen kleinen Mengen, welche in der von dem Mucinoagulum eingeschlossenen Flüssigkeit enthalten sind, als Verunreinigung zurückgehalten werden, könnte man weiter hoffen, dass diese unbedeutende Verunreinigung durch wiederholtes Auflösen und Ausfällen vollständig entfernt werden würde.

Ich stellte mir also ein neues Mucinpräparat auf folgende Weise dar. Das von Formelementen ganz freie, filtrirte, klare Wasserextract der Drüsen versetzte ich unter Umrühren

mit Salzsäure bis zu 0,1%, wobei der zuerst auftretende, reichliche Mucinniederschlag sich fast sogleich wieder löste. Die saure Lösung wurde unmittelbar darauf mit 4 Vol. destillirtem Wasser versetzt und darauf umgerührt, wobei das Mucin wie gewöhnlich um den Glasstab sich so fest herumwindete, dass es einen einzigen, zähen Klumpen darstellte. Das Mucin wurde nun unter Umrühren rasch wieder in Salzsäure von 0,1% gelöst, die Lösung rasch filtrirt und zum zweiten Male mit destillirtem Wasser gefällt. Das Mucin war auch diesmal vollkommen typisch. Es wurde nun mit Wasser vollständig ausgewaschen und für die Analyse mit Alcohol und Aether behandelt. Die Stickstoffbestimmung ergab in diesem Präparate, auf aschefreie Substanz berechnet:

a)	12,33% N,
b)	12,31% N,
als Mittel	12,32% N.

Da ich einen Theil von diesem, noch feuchten, mit Wasser ausgewaschenen, aber mit Alcohol noch nicht behandelten Mucin mit 1- oder 2procentiger Essigsäure mehrere Stunden unter wiederholtem Durchkneten behandelte, konnte ich nach dieser Zeit in der sauren Flüssigkeit mit Ferrocyankalium keine Spur einer Proteinsubstanz nachweisen. Ich hatte also allen Grund anzunehmen, dass die Entfernung des Nucleoalbumins mir wirklich gelungen sei.

Ich wiederholte nun diesen Versuch mit einem neuen Drüsenextracte und fällte wie oben 2 mal mit Wasser. Dieses neue Präparat hatte indessen einen Gehalt von 12,52% N, also 0,2% mehr als das vorige, was zuerst etwas auffallend mir erschien. Der Grund dieses abweichenden Verhaltens wurde mir doch bald klar. Um auf einmal eine grössere Menge des Mucins zu gewinnen, hatte ich 15 Liter Drüsenextract in Arbeit genommen, und da diese Menge also mit etwa 60 Liter Wasser verdünnt werden sollte, glaubte ich, aus öconomischen Rücksichten, ungestraft gewöhnliches Wasserleitungswasser zu der Ausfällung nehmen zu können. Dies war auch der einzige Unterschied, welcher zwischen meinem Verfahren in dem früheren und in diesem Versuche bestand;

und da ich übrigens in beiden Fällen mit derselben Genauigkeit gearbeitet hatte, musste ich den Grund der abweichenden Resultate in der Verwendung von Wasserleitungswasser suchen. Nun enthält das hiesige Wasserleitungswasser ziemliche Mengen von Calciumcarbonat; und es war also klar, dass die Salzsäure bei der Verdünnung mit diesem Wasser eine theilweise Neutralisation erfahren hatte, welche zu einer theilweisen Ausfällung des Nucleoalbumins vielleicht geführt hätte. Um die Berechtigung dieser Annahme zu prüfen, machte ich mir eine Lösung von Submaxillarisnucleoalbumin in Salzsäure von 0,1% und versetzte je 1 Vol. dieser Lösung mit je 4 Vol. von destillirtem bezw. von Wasserleitungswasser. Die mit destillirtem Wasser verdünnte Lösung blieb klar, die andere dagegen wurde sogleich opalescirend und setzte binnen Kurzem einen flockigen Niederschlag von Nucleoalbumin ab.

Allem Anscheine nach rührte also der etwas höhere Stickstoffgehalt des zweiten Präparates daher, dass es, in Folge der Anwendung von Wasserleitungswasser zu seiner Darstellung, von ein wenig Nucleoalbumin verunreinigt worden war. Ich habe diesen Versuch auch nur darum angeführt, damit nicht Andere, welche grössere Mengen Mucin darstellen wollen, durch Anwendung von Wasserleitungswasser vielleicht zu unbefriedigenden Resultaten kommen werden.

Ich habe oben gesagt, dass in dem Wasserextracte der Drüsen neben dem Mucin auch etwas Nucleoalbumin enthalten ist, und ich habe oben angedeutet, dass der Nachweis von dieser Substanz in dem Extracte mir auch gelungen ist. Es gelang mir dies durch vorsichtige, theilweise Neutralisation der salzsäurehaltigen Flüssigkeit, aus welcher das Mucin durch Verdünnung mit destillirtem Wasser vorher entfernt worden war. Hierbei schied sich das fragliche Nucleoalbumin allmählich als ein weisser, feinflockiger Niederschlag von den obengenannten Eigenschaften aus.

Zur Ausfällung des Mucins aus der salzsauren Lösung muss also destillirtes Wasser unbedingt verwendet werden. Dass das auf diese Weise durch zweimalige Ausfällung ge-

wonnene Mucin ganz frei von anderen, in Essigsäure löslichen Proteinsubstanzen ist, lässt sich, wie ich oben bemerkt habe, leicht zeigen. In wie weit das nach dieser neuen Methode dargestellte Mucin im Uebrigen als ein reines Mucin anzusehen sei, kann wohl nur aus den bei der Elementaranalyse gewonnenen Resultaten erschlossen werden. Zu dem Ende habe ich 7 verschiedene Präparate, welche resp. 2, 3, 4 und 5 mal mit Wasser aus der salzsäurehaltigen Lösung gefällt worden waren, analysirt, und ich glaube, dass die bald hierunter mitzutheilenden Resultate genügende Beweise für die Reinheit des Mucins liefern werden.

Bevor ich diese Resultate mittheile, muss ich doch zuerst einige theoretische Einwendungen besprechen, welche gegen die neue Methode gemacht werden können, und dann die Methode selbst genauer beschreiben. Das Wesentlichste der neuen Methode besteht darin, dass das Mucin in überschüssiger verdünnter Salzsäure gelöst und aus dieser Lösung mit Wasser gefällt wird; und es fragt sich also, ob nicht etwa das Mucin durch die freie Säure verändert werden könne.

Gegen diese Annahme ist nun von theoretischer Seite einzuwenden, dass die Proteinsubstanzen, während sie im Allgemeinen äusserst empfindlich gegen die Einwirkung von verdünnten Alkalien sind, gegen die Einwirkung von verdünnten Säuren bei niedrigeren Temperaturen eine ziemlich grosse Resistenz zeigen. Während also das Auflösen des Mucins in Salzsäure von 0,1—0,2% HCl schon a priori weit weniger gefährlich als das Auflösen desselben in Kalkwasser, sei es auch in halbgesättigtem, erscheinen muss, liefert in der That die physikalisch wie chemisch ganz typische Beschaffenheit des nach der neuen Methode dargestellten Mucins einen schlagenden Beweis für die Brauchbarkeit dieser Methode. Selbst das 5 mal mit Wasser aus salzsaurer Lösung gefällte Mucin hat eine ganz typische Beschaffenheit und liefert dementsprechend mit einem Minimum von Alkali physikalisch wie chemisch ganz typische Mucinlösungen.

Um indessen diese Frage auch von einer anderen Seite prüfen zu können, habe ich durch Bestimmung des Stick-

stoffgehaltes verschiedener Präparate die Einwirkung einer Salzsäure von 0,15% zu prüfen mich bemüht. Ich stellte mir zu dem Ende durch 4malige Ausfällung mit Wasser aus Salzsäure von 0,15% ein Mucin dar, von dem ein Theil wie gewöhnlich direct für die Analyse vorbereitet wurde. Der Rest wurde in Salzsäure von 0,15% gelöst und die Lösung bei etwa + 2 à 3° C. filtrirt. Nach 24 Stunden wurde ein Theil des Filtrates und nach 48 Stunden der Rest desselben mit Wasser gefällt, wobei also die 2 letzten Proben 5 mal ausgefällt worden waren. Diese 2 Proben, welche die Eigenschaften des typischen Mucins zeigten, wurden mit Wasser gewaschen, mit Alcohol und Aether behandelt und dann analysirt. Das Präparat No. 1 war also 4, die Präparate No. 2 und 3 dagegen 5 mal gefällt. No. 2 war einer 24-stündigen, No. 3 dagegen einer 48stündigen Einwirkung der Salzsäure (von 0,15%) ausgesetzt worden. Die Resultate waren folgende:

No. 1	enthielt	12,29%	N,
» 2	»	12,32%	N,
» 3	»	12,30%	N.

Wenn ich mit diesen Zahlen diejenige Beobachtung zusammenstelle, dass das mit Wasser aus Salzsäure gefällte Mucin nicht nur eine ganz typische Beschaffenheit hat, sondern auch mit möglichst wenig Alkali fadenziehende, anscheinend ganz typische Mucinlösungen giebt, glaube ich auch damit den Beweis geliefert zu haben, dass die Einwirkung der verdünnten Salzsäure keine nachweisbare Veränderung des Mucins bewirkt. Diese Behauptung gilt indessen, wie ich schon jetzt ausdrücklich hervorhebe, nur für die hier angegebenen, niedrigen Säuregraden, wie auch nur für eine verhältnissmässig niedrige Temperatur. Ich werde nämlich in einem folgenden Aufsätze zeigen, dass das Mucin bei Körpertemperatur und, wenn auch langsamer, auch bei Zimmertemperatur von verdünnter Salzsäure allmählich verändert und zerspaltet wird. Ob die neue Methode auch während der wärmeren Jahreszeit brauchbar ist, kann ich nicht sagen.

Wenn das Submaxillarismucin eine ziemlich grosse Resistenz gegen die Einwirkung verdünnter Salzsäure zeigt, so verhält es sich dagegen den verdünnten Alkalien gegenüber ganz anders. Von sehr verdünnten Alkalien — etwa 0,1% NaOH oder weniger —, wie auch von Kalkwasser oder halbgesättigtem Kalkwasser wird das Submaxillarismucin sehr leicht verändert; und die zur Darstellung der Mucine oft benutzte Methode, das Mucin in Kalkwasser aufzulösen oder mit Kalkwasser aus den Geweben auszuziehen, ist für das Submaxillarismucin nicht zu empfehlen. Ich habe genau ausgewaschenes Submaxillarismucin in halbgesättigtem Kalkwasser bei Zimmertemperatur gelöst und dabei wiederholt gesehen, dass die typische Beschaffenheit des Mucins im Laufe von 12—18 Stunden verloren gehen kann, so dass das Mucin nunmehr von überschüssiger Essigsäure feinflockig und nicht wie eine zähe zusammenhängende Masse gefällt wird. Hand in Hand mit dieser Veränderung der physikalischen Beschaffenheit geht auch eine Zersetzung des Mucins unter schwacher Ammoniakentwicklung von Statten. Trotz dieser Abspaltung von Ammoniak, welche allerdings nur schwach und nur bei geeigneter Versuchsanordnung zu beobachten ist, enthält auffallender Weise das so veränderte, mit Essigsäure gefällte Mucin nicht weniger, sondern im Gegentheil mehr Stickstoff als das typische. Um diesen, anscheinend paradox klingenden Satz zu beweisen, will ich hier ein Beispiel anführen. Ein mit Wasser aus salzsäurehaltiger Lösung 3 mal gefälltes Mucin, von dem ein Theil zur Analyse verwendet wurde und dabei einen Gehalt von 12,34% Stickstoff zeigte, wurde noch feucht nach vollständigem Auswaschen mit Wasser in halbgesättigtes Kalkwasser eingetragen, worin es bald gelöst wurde. Die nicht vollständig gefüllte Flasche wurde mit einem Korkstopfen, in welchem ein feuchtes rothes Lackmuspapier eingeklemmt war, genau geschlossen und bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach etwa 3 Stunden fing das Reagenspapier allmählich an sich schwach zu bläuen und es wurde allmählich ganz blau. Die schleimige Beschaffenheit der Lösung nahm allmählich

ab, und nach 24 Stunden war sie dünnflüssig, gar nicht fadenziehend.

Die Flüssigkeit wurde nun mit überschüssiger Essigsäure gefällt, der Niederschlag vollständig ausgewaschen und für die Analyse vorbereitet. Dieses veränderte Mucin hatte einen Gehalt von 13,43% N, d. h. 1,1% mehr als das ursprüngliche.

Auf dieses Verhalten werde ich ausführlicher in einem folgenden Aufsätze über die Zersetzungsproducte des Mucins eingehen, und hier will ich nur die Ursache dieses auffallenden Verhaltens ganz kurz angeben. Diese Ursache liegt darin, dass das Submaxillarismucin durch die Einwirkung von selbst sehr verdünnten Alkalien eine Spaltung erfährt, wobei — unter Abspaltung von ein wenig Ammoniak — einerseits eine stickstoffreichere, den Acidalbuminaten etwas näher stehende, von Essigsäure fällbare und andererseits eine stickstoffärmere, mehr peptonähnliche Substanz entsteht. Je nach der Intensität der Alkalieinwirkung fällt diese albuminatähnliche Substanz rein oder mit nicht zersetztem Mucin vermischte bei dem Essigsäurezusatz aus; und dem entsprechend kann auch ihr Stickstoffgehalt ein wechselnder sein. Immer aber ist er grösser als derjenige des ursprünglichen Mucins.

Nachdem ich nun über die Einwirkung der verdünnten Säuren und Alkalien auf das Submaxillarismucin das Wichtigste angegeben habe, dürfte ich zu einer genaueren Beschreibung der von mir angewandten, neuen Darstellungsmethode übergehen können.

Die Speicheldrüsen werden zuerst von anhängendem Fett- und Bindegewebe, wie auch und besonders von den von Blut gefärbten Theilen befreit. Sie werden dann möglichst fein zerhackt oder zerschnitten, mit Wasser abgewaschen und dann in so viel Wasser zerrührt, dass ein ziemlich dünnflüssiges, filtrirbares Extract erhalten wird. Das Filtrat muss ganz klar sein und darf nach mehrstündigem Centrifugiren keine Formelemente oder feste Partikelchen abgesetzt haben. Ebenso wenig darf es von Blutfarbstoff gefärbt sein, denn

dieser wird von dem Mucingerinnsel wenigstens zum Theil stets aufgenommen. Wenn die Drüsen nicht genügend blutfrei sind, ist es am besten, das erste, blutfarbstoffhaltige Extract wegzuworfen und nur die folgenden, welche allerdings ärmer an Mucin sind, in Arbeit zu nehmen.

Die klaren Filtrate werden nun unter Umrühren mit so viel Salzsäure versetzt, dass der Gehalt an HCl 0,1—0,15% wird. Man beobachtet hierbei, wie das Mucin sich erst ausscheidet und fast sogleich wieder gelöst wird. Nachdem dies geschehen ist, fügt man die vorher abgemessene, 3—5fache Menge destillirten Wassers hinzu und rührt um. Es scheidet sich hierbei das Mucin wieder als eine zähe, faserige Masse aus, welche um den Glasstab sich herumwindet, so dass sie als ein zäher, blass braungelblich gefärbter Klumpen herausgenommen werden kann. Dieser Klumpen wird nun in Salzsäure von 0,1—0,15% eingetragen, von welcher er (unter Umrühren) leicht wieder gelöst wird. Diese Lösung wird bei niedriger Temperatur, wenn nöthig, filtrirt und zum zweiten Male mit Wasser gefällt. Durch 2maliges Ausfällen kann das Mucin rein gewonnen werden, aber ein wiederholtes Auflösen in Säure und Ausfällen mit Wasser schadet andererseits auch nicht.

Bezüglich der Menge Salzsäure, welche zur Wiederauflösung gewonnen werden soll, können keine allgemeingültige Angaben gemacht werden, denn dies hängt wesentlich von dem Reichthum des ursprünglichen Extractes an Mucin und also von der Grösse des mit Wasser ausgeschiedenen Gerinnsels ab. Im Allgemeinen habe ich mich bemüht, nicht zu grosse Mengen verdünnter Säure zur Wiederauflösung des Mucins zu nehmen, da ich, obwohl ich keine schädliche Wirkung davon gesehen habe, einen unnöthigen Ueberschuss von Säure vermeiden wollte. Löst man eine kleine Menge Mucin in einer grossen Menge der verdünnten Salzsäure, so sind zur Ausfällung nicht nur bedeutend grössere Mengen Wasser nöthig, sondern die Ausfällung gelingt schwieriger und die Ausbeute an Mucin wird eine geringere. Die Handhabung der Methode ist übrigens eine so einfache, dass be-

sondère Vorschriften bezüglich der Säuremenge ganz überflüssig sein dürften, und es wird ein Jeder gewiss die in dem speciellen Falle erforderliche Säuremenge leicht finden. Bezüglich des Säuregrades kann ich zufügen, dass er vielleicht ohne Schaden etwas höher als 0,1—0,15, etwa 0,2—0,3%, genommen werden kann. Mit einem höheren Säuregrade wächst doch natürlich auch die Menge des zur Ausfällung des Mucins erforderlichen Wassers.

Das wie oben mit Wasser ausgefällte Mucin stellt eine zähe, klebrige Masse dar, welche zu mehrere Fuss langen Fäden ausgezogen werden kann und fast wie Vogelleim an den Gefässen und trockenen Gegenständen überhaupt haftet. Von einem Auswaschen auf dem Filtrum kann also nicht die Rede sein. Behufs des Auswaschens dieses Mucins muss man es in einem Becherglase wiederholt mit neuen Mengen Wasser durchkneten, und man beobachtet dabei, wie die Oberfläche des Mucingerinnsels in dem Maasse, wie die Säure entfernt wird, eine weisse Farbe annimmt und in weisse, aufgequollene Fäserchen und Partikelchen zerfällt. Diese Partikelchen werden mit dem Wasser abgegossen, und beim Durchkneten des Gerinnsels mit neuen Wassermengen wandelt sich allmählich die ganze Masse desselben in weisse, gequollene Flöckchen um, die dann durch Decantation mit Wasser weiter ausgewaschen werden können. Auf diese Weise kann also das ursprünglich blassbraungelb gefärbte Mucingerinnsel in eine, anscheinend fast rein weisse flockige Masse verwandelt werden, welche ein vollständiges Auswaschen gestattet. Dieses, fast weisse, flockige Mucin wandelt sich sogleich durch Zusatz von Essigsäure in die ursprüngliche zähe, blassbraungelblich gefärbte Masse um. In Wasser löst es sich mit Hülfe von äusserst wenig Alkali leicht zu einer fadenziehenden, schleimigen, anscheinend ganz typischen Mucinlösung auf.

Als Vorbereitung für die Elementaranalyse wurde dieses ausgewaschene Mucin erst mit Alcohol entwässert, dann mit Aether behandelt und zu einem staubfeinen Pulver zerrieben, welches vollständig mit Alcohol und Aether erschöpft wurde. Das so behandelte Präparat, welches eine fast rein weisse

Farbe hatte, wurde zu der Analyse verwendet. Ich theile hier die Analysen von 7 Präparaten mit, welche 2—5 mal mit Wasser aus der salzsäurehaltigen Lösung gefällt worden war. Die Zahlen für C, H, N und S sind auf aschefreie Substanz berechnet.

No.		C:	H:	N:	S:	Asche:
1.	2 mal gefällt	48,81	6,82	12,32	—	0,37
»	2 »	49,01	6,75	12,38	—	0,34
»	3 »	48,76	6,87	12,29	—	0,40
»	4 »	48,82	6,76	12,34	0,836	0,35
»	5 »	48,82	6,82	12,29	0,849	0,31
»	6 »	—	—	12,32	—	0,35
»	7 »	—	—	12,30	—	0,31
Mittel		48,84%	6,80%	12,32%	0,843%	0,35%

Die übereinstimmende Zusammensetzung der verschiedenen analysirten Präparate dürfte wohl eine genügende Garantie für ihre Reinheit und die Brauchbarkeit der neuen Methode liefern, und ich glaube mich also zu der Behauptung berechtigt, dass die Reindarstellung des Submaxillarismucins nach dieser Methode leicht und sicher gelingt.

Wie sämmtliche in der letzten Zeit untersuchten Mucine ist auch das von mir isolirte Submaxillarismucin eine schwefelhaltige Substanz und meine Beobachtungen stimmen also in dieser Hinsicht mit denjenigen von Landwehr, welcher das Submaxillarismucin ebenfalls schwefelhaltig fand, überein. Wenn ältere Forscher keinen Schwefel in dem Mucin fanden, kann ich auch kein zu grosses Gewicht hierauf legen, denn die nicht unbedeutende Löslichkeit des Bariumsulfates in Salzsäure war damals nicht genügend bekannt oder beachtet, und der Schwefelgehalt des Mucins ist so gering, dass er bei der qualitativen Probe bei zu starker Ansäuerung mit Salzsäure leicht übersehen werden kann.

Mit Rücksicht auf die Frage von einem etwaigen Phosphorgehalte des Submaxillarismucins habe ich auch einige Bestimmungen ausgeführt und dabei in der Kali-Salpeterschmelze regelmässig etwas Phosphorsäure nachweisen können. Die Menge davon war indessen ausserordentlich klein. So

erhielt ich das eine Mal aus 1,5473 gr. Mucin nur 0,0027 gr. P_2O_5 und das andere Mal in 1,2766 gr. Mucin 0,0024 gr. P_2O_5 . Die absolute Menge der Gesamttasche war in jenem Falle 0,0059 und in diesem 0,0046 gr. Die gefundene Phosphorsäure kann also sehr wohl von der Asche allein herühren und man ist jedenfalls nicht zu der Annahme berechtigt, dass das Submaxillarismucin eine phosphorhaltige Substanz sei.

Vergleicht man mit der nun gefundenen, mittleren Zusammensetzung des 2 - 5 mal mit Wasser aus salzsäurehaltiger Lösung gefällten Mucins diejenige des mit Essigsäure gefällten und mehr als eine Woche damit gewaschenen, so findet man, dass die Zusammensetzung des letzteren nur wenig abweicht. Die Zusammensetzung dieses Präparates war nämlich C 49,21, H 6,92, N 12,47 (und Asche 1,06), während die mittlere Zusammensetzung des aus salzsaurer Lösung gefällten Mucins C 48,84, H 6,80, N 12,32 (mit 0,35% Asche) war. Die Abweichung ist zwar eine unbedeutende, aber sie dürfte doch zeigen, dass die Reindarstellung des Mucins nach der Essigsäuremethode selbst in diesem Falle nicht ganz vollständig gelungen war. Wenn es auch möglich sein dürfte, ein ganz reines Mucin nach der Essigsäuremethode darzustellen, so ist dies doch mit Aufwand von so viel Zeit und Arbeit verknüpft, dass man der Salzsäuremethode unbedingt den Vorzug geben muss.

Vergleicht man weiter die von mir für die Zusammensetzung des Submaxillarismucins gefundenen Zahlen mit denjenigen, welche von Landwehr und Obolensky erhalten worden sind, so ersieht man sogleich, dass die Uebereinstimmung keine gute ist. In dem von Landwehr analysirten Submaxillarismucin war der Kohlenstoffgehalt etwa 1% und der Stickstoffgehalt etwa 1,3% höher als in dem meinigen, was leicht dadurch zu erklären ist, dass sein Mucin von etwas Nucleoalbumin verunreinigt gewesen ist. Noch grösser ist die Abweichung, welche die von Obolensky gefundenen Zahlen aufzuweisen haben. Der Stickstoffgehalt weicht zwar nur um 0,5% ab, aber dagegen hat er etwa 3% mehr Kohlen-

stoff gefunden. Dieser Mangel an Uebereinstimmung dürfte doch nicht sehr auffallend erscheinen, wenn man sich vergegenwärtigt, dass das von Obolensky analysirte Mucin dermassen unrein war, dass es mehr als 4% Glaspulver enthielt, welches bei der Filtration mit der Mucinlösung durch das Filtrum gedrungen war.

Wenn also das von mir isolirte Submaxillarismucin bezüglich seiner Zusammensetzung keine gute Uebereinstimmung mit dem von früheren Forschern isolirten Submaxillarismucin aufzuweisen hat, zeigt es eine um so erfreulichere Uebereinstimmung mit einem anderen, in der letzten Zeit analysirten und zwar wie es scheint in vorzüglicher Reinheit isolirten Mucin. Ich gedenke hier des von Loebisch isolirten und analysirten Sehnenmucins.

Als mittlere Zusammensetzung für das Sehnenmucin fand Loebisch¹⁾ C 48,30, H 6,44, N 11,75, S 0,81. Der Kohlen- und Stickstoffgehalt dieses Mucins ist also nur etwa 0,5% niedriger als in dem Submaxillarismucin, während der Schwefelgehalt in beiden etwa derselbe ist. Die qualitativen Reactionen des Submaxillarismucins und des Sehnenmucins sind zwar in einigen Hinsichten so verschieden, dass von einer Identität der beiden Stoffe nicht die Rede sein kann; da sie aber bezüglich der elementären Zusammensetzung eine so nahe Uebereinstimmung zeigen, dürften sie wohl wenigstens als sehr nahe verwandte Stoffe angesehen werden können.

Nachdem ich nun über die Darstellungsmethode und die Zusammensetzung des Submaxillarismucins gesprochen habe, dürfte ich zu den qualitativen Reactionen dieses Stoffes übergehen können.

Das vollständig ausgewaschene, noch feuchte Mucin stellt eine feinflockige, fast rein weisse Masse dar, welche bei Zusatz von Essigsäure wieder zu einer zähen, klebrigen Masse sich zusammenballt und dabei wieder eine blass

1) Diese Zeitschrift, Bd. X, Heft 1, S. 40 u. folg.

gelbbraunliche Farbe annimmt. Wäscht man das Mucin mit Wasser aus, bis dieses keine Spur von freier Säure enthält, so reagirt das Submaxillarismucin trotzdem noch stark sauer. Legt man es auf blaues Lackmuspapier, so wird dies ziegelroth gefärbt. Wäscht man das Mucin fortwährend beliebig lange mit Wasser aus, so reagirt es dennoch stark sauer.

Dieses Verhalten, welches wohl schwerlich durch die Annahme, dass das Mucin trotz dem sorgfältigen Auswaschen von anhängender Säure verunreinigt sei, erklärt werden kann, könnte vielleicht in zweifacher Weise erklärt werden. Einerseits könnte es um eine chemische Verbindung des Mucins mit einem Theil der zur Darstellung desselben benutzten Säure sich handeln oder es könnte auch das Mucin selbst eine Säure sein.

Zur Entscheidung dieser Frage verfuhr ich in der Weise, dass ich eine grössere Menge des mit Chlorwasserstoffsäure dargestellten, möglichst ausgewaschenen, sauer reagirenden Mucins in Wasser mit Hülfe von einem Ueberschuss von ganz chlorfreiem Natriumcarbonat löste, einen Theil dieser Lösung zur quantitativen Bestimmung des darin enthaltenen Mucins verwendete und den Rest nach Zusatz von noch etwas mehr Natriumcarbonat eintrocknete und vorsichtig einäscherte. Es wurde dabei zuerst sehr vorsichtig verkohlt, die Kohle mit Wasser ausgekocht und dann erst eingeäschert. In den nach den allgemein bekannten Methoden gewonnenen Auszügen der in Wasser löslichen resp. unlöslichen Aschenbestandtheile wurde dann die Menge des Chlors durch Titration bestimmt.

Ich habe 2 solche Bestimmungen ausgeführt. Zu der einen nahm ich 1,69 gr. Mucin (als wasserfrei berechnet) und fand darin 0,0014 gr. HCl. Das andere Mal nahm ich zu der Bestimmung nicht weniger als 4,55 gr. Mucin (ebenfalls als wasserfrei berechnet) und fand darin nur 0,0017 gr. HCl. In diesem letzten Falle kamen also auf 1 gr. trockenen Mucins etwa 0,00037 gr. HCl, und die stark saure Reaction des ausgewaschenen Mucins kann wohl also offenbar nicht

von einer Verunreinigung mit einem Theil der verwendeten Salzsäure herrühren. Bezüglich der Möglichkeit, dass das mit Salzsäure dargestellte Mucin eine sauer reagirende chemische Verbindung mit der Säure darstelle, ist es selbstverständlich etwas schwierig, eine ganz bestimmte Behauptung zu machen, da wir das Moleculargewicht des Mucins nicht kennen. Wollte man aber die Annahme machen, dass es um eine Verbindung von 1 Mol. Mucin mit 1 Mol. Chlorwasserstoffsäure sich handele, so müsste das Moleculargewicht des Submaxillarismucins etwa 25 mal grösser als das von Loebisch für das Sehnenmucin berechnete Moleculargewicht 3936 sein, was doch wohl kaum wahrscheinlich sein kann. Die einfachste Erklärung und die wahrscheinlichste Annahme ist also die, dass das Submaxillarismucin selbst eine Säure sei.

Mit dieser Annahme steht auch die Thatsache in bestem Einklange, dass das Submaxillarismucin mit Alkalien oder alkalischen Erden zu neutral reagirenden Verbindungen sich vereinigt. Wird das Submaxillarismucin auf die obige Weise durch Decantation mit Wasser von jeder Spur der anhaftenden Säure befreit, so kann man es leicht mit Hülfe von ein wenig Alkali in Wasser zu einer neutral oder jedenfalls gar nicht alkalisch, sondern eher äusserst schwach sauer reagirenden Flüssigkeit auflösen. Man muss dabei nur darauf achten, dass nie auf einmal so viel Alkali zugesetzt wird, dass man eine selbst vorübergehend alkalisch reagirende Flüssigkeit erhält. Am besten wird das Mucin in verhältnissmässig wenig Wasser zertheilt und dann von einer sehr verdünnten Kali- oder Natronlauge allmählich unter stetem Umrühren kleine Mengen zugesetzt. Das Mucin quillt dabei stark auf und die schleimige Masse reagirt (mit Lackmuspapier geprüft) fortwährend sauer, bis die zur Bindung der gesammten Mucinmenge erforderliche Menge Alkali zugesetzt worden ist. Dabei ist es natürlich nothwendig, allmählich mit neuen Mengen Wasser zu verdünnen. Auf diese Weise kann man das Mucin ohne alkalische Reaction allmählich gelöst erhalten, und wenn einzelne Klümpchen noch ungelöst

geblieben sind, versuche ich nicht durch Zusatz von etwas mehr Alkali dieselben zu lösen, sondern ich trenne einfach mittels der Centrifuge die Lösung von den ungelösten Partikelchen ab. Versucht man diese Partikelchen oder Flöckchen durch Filtration zu entfernen, so wird nämlich das Filtrum bald von ihnen verstopft und es filtrirt nur eine sehr stoffarme Lösung langsam durch.

Durch Zusatz von Ammon kann auch das Mucin in Wasser gelöst werden und ein Ueberschuss — wenigstens ein kleiner Ueberschuss davon — wirkt nicht auf die Eigenschaften des Mucins verändernd ein.

Es bietet also nicht die geringste Schwierigkeit, aus dem nach der neuen Methode dargestellten (wie auch aus dem mit Essigsäure gefällten) Submaxillarismucin durch vorsichtigen Alkalizusatz eine neutrale, schleimig fadenziehende Mucinlösung zu gewinnen. Selbst das mit Alcoholäther behandelte, über Schwefelsäure getrocknete Mucin kann auf diese Weise eine schleimig fadenziehende Lösung liefern.

Bezüglich der Reactionen einer auf obige Weise dargestellten, neutral reagirenden Mucinlösung will ich Folgendes mittheilen, wobei ich als Beispiel eine Lösung mit 0,228% aus salzsaurer Lösung 2 mal gefälltem Mucin wähle.

Beim Sieden gerinnt eine solche neutrale Lösung nicht und bei kurzdauerndem Erhitzen wird sie nicht merkbar verändert. In letzterem Falle wird sie (nach dem Erkalten) fortwährend von überschüssiger Essigsäure in der Weise gefällt, dass fast sämtliches Mucin um den Glasstab als eine zusammenhängende Masse sich herumwindet; und die spärlichen Fäserchen und kleinen Flöckchen, welche in der Flüssigkeit suspendirt sind, lösen sich bei Zusatz von Ferrocyankalium klar auf, was von ihrer Mucinnatur ein deutliches Zeugniß giebt. Diese Angaben gelten wenigstens für kleinere Mengen Mucinlösung, welche in einer Eprouvete rasch zum Sieden erhitzt werden können. Bei Gegenwart von einem selbst sehr geringfügigen Alkaliüberschuss wird das Mucin dagegen, besonders wenn die Lösung arm an Substanz ist, sogar

durch einmaliges Aufkochen verändert und zersetzt, so dass die Lösung dünnflüssig und von Essigsäure nur feinflockig gefällt wird.

Eine mit NaCl (bis zu 8%) versetzte neutrale Mucinlösung gerinnt nicht beim Sieden und kann sogar mit Essigsäure ein wenig — aber immerhin nur sehr schwach — angesäuert werden, ohne beim Sieden zu gerinnen.

Eine mit möglichst wenig Alkali bereitete Mucinlösung kann auch, wenn man die Fäulniss verhindert, lange Zeit aufbewahrt werden, ohne ihre typische, schleimige Beschaffenheit einzubüssen. Dies lässt sich besonders leicht an den mit Hülfe von Ammon bereiteten Mucinlösungen, welche ohne Schaden längere Zeit erwärmt werden können, demonstrieren. Ich habe solche, mit Ammon hergestellte, ziemlich concentrirte Mucinlösungen in Glasröhren eingeschmolzen, darauf etwa 1 Stunde im Wasserbade erwärmt und dann längere Zeit bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Da ich den Inhalt der Röhren untersuchte, fand ich ihn stets unverändert, und da ich vor einiger Zeit eine solche, 2 Jahre aufbewahrte Röhre öffnete, hatte die darin eingeschlossene Mucinlösung ihre fadenziehende, typische Beschaffenheit noch nicht eingebüsst. Von Essigsäure wurde sie wie vorher typisch gefällt.

Eine ganz neutrale, salzfreie Mucinlösung wird erst von einem höchst bedeutenden Ueberschuss von Alcohol gefällt. Nach dem Abgiessen des Alcohol ist der Niederschlag in Wasser löslich und diese Lösung hat eine typische Beschaffenheit. Eine neutrale, salzfreie Mucinlösung, welche mit einer grösseren Menge Alcohol versetzt worden ist, ohne eine Fällung zu geben, wird sogleich durch Zusatz von ein wenig NaCl reichlich gefällt, und das salzfreie Mucin verhält sich also zu Alcohol wie die salzfreien Lösungen von gewissen Eiweissstoffen und Kohlehydraten. Der durch Alcohol bei Gegenwart von NaCl erzeugte Mucinniederschlag wird doch sehr bald unlöslich oder fast unlöslich in Wasser. Eine salzfreie Mucinlösung, welche eine Spur von freiem Alkali enthält, wird von Alcohol überhaupt gar nicht gefällt.

Von Mineralsäuren, in sehr kleiner Menge und vorsichtig zugesetzt, wird das Mucin gefällt; aber es löst sich äusserst leicht in einem kleinen Ueberschuss der Säure wieder auf. Von besonderer Wichtigkeit ist, wie oben hervorgehoben wurde, die Löslichkeit des Mucins in einem kleinen Ueberschuss von Salzsäure und die Fällbarkeit des Mucins mit unveränderten Eigenschaften durch die genügende Verdünnung dieser Lösung mit Wasser.

Salpetersäure, in der bei der Heller'schen Eiweissprobe im Harn üblichen Weise zugesetzt, giebt in der Berührungsstelle beider Flüssigkeiten eine weissliche Trübung, welche beim Umschütteln wieder verschwindet. Die salpetersäurehaltige Mucinlösung giebt mit Phosphormolybdänsäure einen voluminösen Niederschlag.

Mit Kupfersulfat in sehr kleiner Menge giebt die neutrale Mucinlösung eine so reichliche und stark schleimig gequollene Fällung, dass das Ganze fast zu einer Gallerte geseht. Von einem grösseren Ueberschuss an Kupfersulfat kann der Niederschlag wieder ganz oder fast ganz gelöst werden, und wenn man auf einmal viel Kupfersulfatlösung zusetzt, kann die Ausfällung ganz ausbleiben. Der mit einer passenden Menge Kupfersulfatlösung erzeugte Niederschlag löst sich bei Alkalizusatz zu einer rothvioletten Flüssigkeit auf, in welcher beim Sieden keine mit Ausscheidung von Kupferoxydul verlaufende Reduction stattfindet.

Eisenchloridlösung in kleiner Menge giebt mit der Mucinlösung eine schleimig gequollene Masse. Bei allmählichem Zusatz von überschüssiger Eisenchloridlösung kann dieser Niederschlag nicht oder nur zum kleineren Theil wieder aufgelöst werden. Setzt man dagegen auf einmal einen grösseren Ueberschuss von Eisenchloridlösung zu, so löst der zuerst entstandene Niederschlag sich leicht auf oder der schleimig gequollene Niederschlag kommt überhaupt nicht zum Vorschein. Der mit Eisenchlorid erzeugte Niederschlag wird von überschüssigem Alkali nicht gelöst.

Von Quecksilberjodidjodkalium wird die neutrale Mucinlösung nicht gefällt. Quecksilberchlorid dagegen ver-

wandelt die Mucinlösung in eine schleimige, gequollene Masse, welche in einem Ueberschuss der Reagenslösung in Klumpen oder Flöckchen zerfällt. Wird die Reagenslösung auf einmal in grösserer Menge zugesetzt, so wird das Resultat dasselbe.

Bleizucker- oder Bleiessiglösung geben reichliche, schleimig gequollene Niederschläge, welche in einem Ueberschuss des Reagens, wenigstens wenn reichliche Mengen davon auf einmal zugesetzt werden, sich wieder lösen.

Kaliumbichromatlösung verwandelt die Mucinlösung in eine gequollene schleimige Masse.

Kalialaunlösung verwandelt die neutrale Mucinlösung in ein schleimiges Coagel, welches von überschüssiger Alaunlösung wieder zu einer dünnflüssigen, klaren Flüssigkeit gelöst wird.

Von Magnesiumsulfat oder Kochsalz in Substanz bis zur Sättigung der Lösung eingetragen, wird die neutrale Mucinlösung gefällt.

Millon's Reagens giebt eine deutliche Reaction; doch wird die Farbe mehr gelblich roth und nicht so schön roth wie bei den Eiweissstoffen.

Adamkiewicz's Reaction ist weniger stark und nicht von einer so schön violetten Farbe wie bei den Eiweissstoffen.

Die Xantoproteinsäurereaction ist deutlich, wenn auch nicht sehr stark.

Beim Sieden mit verdünnten Mineralsäuren giebt das reine Submaxillarismucin wie die anderen Mucine eine reducirende Substanz.

Für das Studium der sauren Mucinlösungen kann man theils die schwach salzsäurehaltige (etwa 0,1% HCl) und theils die kochsalzhaltige, mit Essigsäure angesäuerte Lösung verwenden.

Die Lösung des Mucins in sehr verdünnter Salzsäure giebt mit Ferrocyankalium keine Trübung oder Fällung im gewöhnlichen Sinne. Das Gemenge bleibt klar und durch-

sichtig. Wenn die Mucinlösung nicht zu verdünnt ist, bemerkt man doch deutlich, wie sie trotz der Durchsichtigkeit sehr dickflüssig und mehr schleimig wird, und das Mucin wird also doch wohl gewissermassen gefällt. Von Quecksilberchlorid oder Quecksilberjodidjodkalium wird die salzsäurehaltige Mucinlösung erst in einen dickschleimigen Klumpen verwandelt, welcher später in Flöckchen zerfällt.

Eine mit NaCl (etwa 5–10%) versetzte Mucinlösung kann bekanntlich mit Essigsäure ziemlich stark angesäuert werden, ohne einen Niederschlag zu geben.

Eine solche essigsäure Mucinlösung wird von Ferrocyanokalium gar nicht verändert. Sie giebt damit keine Spur einer Opalescenz oder einer Fällung irgendwelcher Art. Von Gerbsäure in kleiner Menge wird sie dagegen schleimig dickflüssig und von überschüssiger Gerbsäure wird sie grobflockig gefällt.

Die nun angeführten, qualitativen Reactionen, wie auch die elementäre Zusammensetzung des Submaxillarismucins dürften wohl zur Genüge zeigen, dass dieses Mucin mit keinem der bisher in reinem Zustande isolirten und genauer studirten Mucine identisch sein kann. Bezüglich der elementären Zusammensetzung steht es unzweifelhaft dem von Loebisch isolirten und studirten Sehnenmucin am nächsten. Von diesem aber unterscheidet sich das Submaxillarismucin vor Allen in folgenden Hinsichten: Die Lösung des typischen, nicht veränderten Submaxillarismucins wird nicht wie die Lösung des Sehnenmucins von überschüssiger Essigsäure flockig gefällt. Das Submaxillarismucin hat vielmehr eine hervorragende Tendenz, zu grösseren, zähen, faserigen Massen sich zusammenzuballen. Das Submaxillarmucin wird ferner von Salzsäure, selbst in einem kleinen Ueberschuss, leicht gelöst, während das Sehnenmucin davon nicht gelöst wird. Das Submaxillarmucin wird von verdünnten Alkalien oder halbgesättigtem Kalkwasser sogar bei Zimmertemperatur äusserst leicht angegriffen und zerspalten, während das Sehnenmucin gegen die Einwirkung von Kalkwasser eine sehr grosse Resistenz zeigt. Von den Mucinen aus der Weinbergschnecke, wie auch von

dem sogenannten Mucin der Galle unterscheidet sich das Submaxillarismucin — vor Allem bezüglich der elementären Zusammensetzung — noch mehr.

Ueber die Zersetzungsproducte des Submaxillarismucins habe ich eine ziemlich grosse Menge von Beobachtungen gesammelt, und vor Allem habe ich die bei Einwirkung von verdünnten Säuren, Alkalien oder von Magensaft entstehenden Spaltungsproducte, wie auch diejenigen Stoffe, welche beim Sieden des Mucins mit verdünnten Säuren oder beim Erhitzen desselben mit Wasser im Papin'schen Topfe entstehen, zum Gegenstand meiner Untersuchungen gemacht. Ueber die hierbei gewonnenen Resultate werde ich in einer anderen Abhandlung berichten.