

Ueber die Darstellung von krystallisirtem Eieralbumin und die Krystallisirbarkeit colloider Stoffe.

Von

Franz Hofmeister.

(Der Redaction zugegangen am 3. August 1889.)

Bei Gelegenheit der Untersuchungen über das Verhalten von Eiweisskörpern und anderen colloiden Stoffen gegen Salzlösungen, welche in meinem Institut ausgeführt worden sind¹⁾, habe ich wiederholt Beobachtungen gemacht, welche darauf hinwiesen, dass den bisher krystallinisch nicht dargestellten thierischen Eiweissstoffen die Krystallisirbarkeit nicht fehlt. Es ist mir aber nach mehrjähriger Unterbrechung dahin gerichteter Versuche erst im letzten Winter gelungen, das methodische Verfahren, wenigstens für einen leicht und in grossen Mengen zugänglichen Eiweisskörper, das Eieralbumin, so auszuarbeiten, dass fortan dessen Gewinnung in krystallinischem Zustand und zwar in beliebigen Mengen keiner Schwierigkeit unterliegt.

Frisches Eiereiweiss, welches von beigemengtem Dotter frei sein muss, wird mit einem gut wirksamen Eierschläger zu feinem Schaum geschlagen, dann 24 Stunden sich selbst überlassen. Die am Boden des Gefässes sich ansammelnde fast völlig klare, dünnflüssige Eiweisslösung wird vom Schaum abgossen und behufs Abscheidung des Globulins mit dem

¹⁾ Man vergleiche die letzten Jahrgänge des Archivs für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, sowie die voranstehende Arbeit von J. Pohl.

gleichen Volum¹⁾ einer kaltgesättigten neutral reagirenden Ammonsulfatlösung versetzt. Der entstandene ziemlich reichliche Niederschlag wird abfiltrirt und die völlig klare, salzhaltige Flüssigkeit auf grossen flachen Schalen mit ebenem Boden der Verdunstung bei Zimmertemperatur überlassen.

Nach einigen Tagen hat sich dann am Boden eine mehr oder minder dicke Schichte eines feinkörnigen weissen, manchmal auch gelblich oder röthlich gefärbten Niederschlags abgesetzt, welcher sich bei mikroskopischer Betrachtung als aus durchsichtigen, das Licht einfach brechenden, ziemlich grossen Kugeln oder Kugelaggregaten ohne strahliges oder schaliges Gefüge (Globuliten) zusammengesetzt erweist. Aus denselben Formelementen besteht auch die dünne Membran, welche die Oberfläche zu bedecken pflegt.

Filtrirt man, wenn eine Vermehrung des Niederschlags bei weiterem Verdunsten nicht mehr erkennbar ist, ab, so erhält man fast das gesammte Albumin in Form einer grobkörnigen, rein weissen oder wenig gefärbten, in Wasser völlig löslichen, durch Abpressen von der Mutterlauge ziemlich vollständig zu trennenden Masse, welche behufs weiterer Reinigung in halbgesättigter Ammonsulfatlösung gelöst, neuerdings der allmählichen Ausscheidung beim freiwilligen Verdunsten überlassen wird. Diese Procedur wird dann so lange wiederholt, als das Eiweiss sich noch in Globuliten abscheidet.

Gewöhnlich bei der dritten Abscheidung, eventuell bei der vierten, bemerkt man bei mikroskopischer Untersuchung, dass neben den Globuliten feine Nadelchen auftreten, welche dann bei weiterem Stehen zum Theil auf Kosten bereits vorhandener Globuliten rasch zunehmen. Die Nadelchen treten theils isolirt, theils in strahligen Aggregaten (Sphärolithen) auf. Oefter beobachtet man, dass sich die Globuliten von einem in ihnen vorhandenen krystallinischen Kern aus allmählich in Sphärolithe umwandeln, oder dass sie von den Krystallgruppen förmlich aufgezehrt werden.

¹⁾ Vergl. Kauder, Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 20. S. 412, und Pohl, ebenda, S. 426.

Bedeckt man zu der Zeit, wo die Krystallausscheidung nachweisbar begonnen hat, die flachen Schalen mit Glasplatten; um die Verdunstung zu mässigen, so gelingt es, den grössten Theil, manchmal die gesammte Masse des Albumins allmählich in Form von Nadeln oder schiefwinkligen dünnen Plättchen zu erhalten. Meist jedoch widersteht ein Theil des in Globuliten ausgeschiedenen Albumins dieser Umwandlung. Auch wiederholtes Umkrystallisiren auf die beschriebene Art führt da nicht zum Ziele, wohl deshalb, weil die Verdunstung selbst bei gewöhnlicher Temperatur immer noch zu rasch, namentlich aber zu ungleichmässig erfolgt.

Eine völlige Ueberführung in Krystalle lässt sich jedoch, wenn man einmal so weit ist, leicht erzielen, wenn man den abfiltrirten und abgepressten Niederschlag neuerdings in halbgesättigter Ammonsulfatlösung auflöst, in einen Schlauch von Pergamentpapier füllt, und diesen, an beiden Enden gut verschlossen, in eine Schale mit halbgesättigter Ammonsulfatlösung legt, so dass er allenthalben von Flüssigkeit umspült ist. Die Concentrationszunahme der äusseren Flüssigkeit beim Verdunsten wirkt sehr allmählich und gleichmässig auf die im Schlauch eingeschlossene Eiweisslösung wasserentziehend ein. Das Albumin scheidet sich dann, wenn es vorher schon sehr rein war, direct in Täfelchen ab, oder falls es zuerst zur Globulitenbildung kommt, werden dieselben bald vollständig von Nadelchen oder höchst feinen Plättchen verdrängt.

Behufs rascherer Reinigung scheint es einerseits zweckmässig, die allerersten in Globuliten sich abscheidenden Antheile abzufiltriren und zu entfernen, weil dabei etwaige schwerer lösliche Verunreinigungen mit beseitigt werden; andererseits bei dem Auskrystallisiren nie die Verdunstung so weit gehen zu lassen, dass sich krystallinisches Ammonsulfat abzuscheiden beginnt, weil nach meinen Erfahrungen diese zuletzt ausfallenden Antheile eine nur geringe Neigung zur Krystallisation besitzen. Die ausgeschiedene Krystallmasse kann mit Vortheil in der Art von der Mutterlauge befreit werden, dass man sich eine Ammonsulfatlösung von der Dichtigkeit der Mutterlauge herstellt und damit auswäscht.

Doch darf das Auswaschen nicht allzu lange fortgesetzt werden, wenn man Verluste vermeiden will.

Der dargestellte Eiweisskörper erwies sich bei näherer Untersuchung als identisch mit dem bisher von Starke¹⁾ am reinsten dargestellten Eieralbumin. Es war dies nicht anders zu erwarten, da bei der Darstellung andere Eiweissstoffe vom Charakter der Albumine nicht abgetrennt wurden. Der Umstand, dass das Eierweiss, von dem leicht zu entfernenden Globulin abgesehen, das Eieralbumin als den einzigen in erheblicher Menge vorhandenen Eiweisskörper enthält, muss als ein für die krystallinische Gewinnung desselben sehr günstiger angesehen werden.

Leider gelang es mir bisher nicht, die durch Diffusion des krystallisirten Eiweiss erhaltene salzfreie Lösung zur Krystallisation zu bringen. Die im heurigen Jahr so früh einsetzende, überaus warme Temperatur und eine mich völlig in Anspruch nehmende Amtsthätigkeit machte den diesfälligen und ähnlichen Versuchen vorzeitig ein Ende. Ich muss mir vorbehalten, auf einzelne der naheliegenden, an die Gewinnung grösserer Mengen krystallinischen thierischen Eiweisses sich knüpfenden Fragen später einzugehen. Auch die nächstliegende Frage, ob der dargestellte krystallinische Körper blos aus Eiweiss besteht, oder aber, was mir allerdings minder wahrscheinlich erscheint, eine Verbindung desselben mit Ammonsulfat darstellt, muss ich vorläufig unerledigt lassen. Hingegen kann ich schon jetzt mittheilen, dass das angewandte Verfahren auch bei der krystallinischen Gewinnung anderer Eiweissstoffe und dem Eiweiss verwandter Körper gute Dienste zu leisten vermag.

Nachdem es neuerdings geglückt ist, eines der typischen «Colloide» in krystallinischem Zustand zu erhalten, mag es gestattet sein, einigen Bemerkungen Raum zu geben über den Grund der Schwierigkeiten, welche sich dem Krystallisiren colloider Körper entgegensetzen. Ich halte mich insofern für

¹⁾ Jahresbericht für Thierchemie für 1881, S. 19.

hierzu berechtigt, als im vorliegenden Fall nicht ein zufälliger Fund, sondern nur das Festhalten an bestimmten, sofort dazulegenden Gesichtspunkten zu dem angestrebten Ziele führte.

Behufs Gewinnung von Stoffen in krystallisirtem Zustande ist allenthalben die Isolirung derselben und Befreiung von Beimengungen in erster Linie nothwendig. Nicht alle Arten von Beimengungen sind jedoch der Krystallisation in gleichem Masse hinderlich.. Vielmehr geniessen in dieser Richtung gerade wieder «colloide» Stoffe, Eiweisskörper, Gummiarten, Harze u. dergl., einen besonders schlechten Ruf. Diese lästige Eigenschaft colloider Beimengungen ist aber zumeist darin begründet, dass dieselben in den betreffenden Lösungen zum nicht geringen Theile nicht in gelöster Form, sondern in unlöslichem, aber stark gequollenem Zustande vorhanden sind. Quellbare, aber nicht oder nur schwierig lösliche Stoffe sind in pflanzlichen und thierischen Geweben ausserordentlich verbreitet. Bei Verarbeitung derselben gehen sie zum Theile in feinsten Vertheilung in die Lösungen über; öfter nimmt ihre Menge durch die Art der Verarbeitung noch zu. Die Anwesenheit kleinster, durch die gebräuchlichen mechanischen Trennungsmethoden nicht zu beseitigender gequollener Partikelchen verräth sich dem Auge oft, doch nicht immer, durch eine mehr oder weniger ausgesprochene Opalescenz oder Trübung, die nur der Ausdruck einer optischen Ungleichartigkeit der Flüssigkeit ist. Eine solche Lösung ist sonach von zahllosen kleinen, ungelösten, der Diffusion hinderlichen Partikelchen durchsetzt, wodurch die freie Beweglichkeit der kleinsten Theilchen des in Lösung befindlichen Körpers wesentlich beeinträchtigt wird. Eine solche Beweglichkeit ist aber Vorbedingung der Krystallisation, welche ja auf einer Bewegung gleichmässig in der Lösung vertheilter Theilchen nach einzelnen Punkten (Krystallisationspunkten) beruht.

Wie derartige mechanische Hindernisse die Krystallisation beeinflussen, kann man selbst an sehr leicht krystallisirenden Substanzen, z. B. Ferrocyankalium, zeigen, wenn man in ihre heiss gesättigten Lösungen Gelatine, oder auch nur Badeschwamm, oder Baumwolle einbringt.

Die Krystallisation erfolgt dann regelmässig an der Oberfläche des schwer durchlässigen Materials, des gebildeten Leimklumpens, des Schwamms oder der Baumwolle, allenfalls noch in einzelnen grösseren Höhlen desselben. In der erstarrten Leimmasse, obgleich sie ursprünglich ebenfalls von übersättigter Salzlösung durchsetzt gewesen sein musste, fehlen Krystalle ganz, in den feinen Maschen des Badeschwamms, der Baumwolle in der Regel.

Bei der Gewinnung von krystallinischem Eieralbumin konnte die eben besprochene Schwierigkeit in der Weise beseitigt werden, dass einerseits die das native Eierweiss durchsetzenden Membranen durch Schlagen mit dem Eierschläger abgetrennt wurden und beim Zusammenlaufen der Eiweisslösung in dem überstehenden Schaum zurückblieben, andererseits das Eierweiss unverdünnt zur Verwendung kam, so dass die beim Verdünnen auftretende Globulintrübung, welche sich leicht durch Unlöslichwerden des Globulins zu einer bleibenden, nicht mehr entfernbaren gestaltet, vermieden wurde.

Geringere Schwierigkeiten als die Beseitigung colloider Verunreinigungen dürfte die Entfernung von beigemengten krystalloiden Substanzen bereiten. Immerhin bildet auch diese bei der Reingewinnung colloider Stoffe ein erhebliches Hinderniss, da colloidale Niederschläge in ungewöhnlichem Mass die Fähigkeit besitzen, durch Adsorption in der Lösung befindliche Verunreinigungen festzuhalten, wie die Verwendung derselben zur Klärung und Entfärbung, sowie das ganze tinctorielle Verhalten der Gewebe beweist. Bei der Darstellung des Eierweiss kommt meines Erachtens der Umstand, dass sich das Eiweiss langsam, in ziemlich grossen Globuliten, nicht in feinkörnigen Flocken abscheidet, der Reingewinnung sehr wesentlich zu Hülfe, indem dabei Verunreinigungen nicht in dem Masse mit niedergerissen werden, als bei plötzlicher Erzeugung eines dichten Niederschlags.

Wenn schon die von vorneherein beigemengten Verunreinigungen die Krystallisirbarkeit colloider Stoffe zu beeinträchtigen vermögen, so erscheint dies doch als die geringere Schwierigkeit, jener gegenüber, welche sich aus einer sehr

verbreiteten Eigenthümlichkeit der Colloide ergibt, aus ihrer Neigung nämlich, auf geringen äusseren Anlass hin in unlösliche, aber quellbare Modificationen überzugehen. Die Vermeidung eingreifender chemischer Operationen, des Erhitzens, des Zusatzes coagulirender Stoffe, z. B. des Alkohols, reicht nicht hin, diese Klippe zu umgehen, da bei manchen solchen Stoffen, darunter auch den Eiweisskörpern, noch geringere äussere Einwirkungen vollständige oder theilweise Gerinnung hervorrufen. Am empfindlichsten von den natürlich vorkommenden thierischen Eiweisskörpern erweist sich in dieser Richtung das Fibrinogen. Ihm zunächst kommen die Globuline. Am wenigsten veränderlich sind die Albumine. Doch fehlt auch diesen, namentlich dem Eieralbumin, die Neigung, in unlösliche Modificationen überzugehen, so wenig, dass es an der Oberfläche immer wieder unlösliche Häutchen bildet, deren Menge beim Schütteln eine ganz erhebliche werden kann. Es scheint die einfache Eindunstung an der Oberfläche der Flüssigkeit (also eine geringe Wasserabgabe) zur Bildung dieser Membranen hinreichend. In salzreichen Albuminlösungen tritt diese Membranbildung, wenn sie auch nie ganz fehlt, doch so weit zurück, dass man geneigt sein könnte, sie einer schwer zu entfernenden Beimengung zuzuschreiben. Entfernt man jedoch das Salz durch Diffusion, so tritt die Membranbildung wieder in ungeschwächter Masse ein. Diesem Umstand möchte ich es zuschreiben, dass die concentrirte Lösung, wie sie durch Eindunsten des krystallisirten und durch Diffusion von Salz befreiten Eiweisses im Vacuum erhalten wurde, keine Neigung zum Krystallisiren zeigte. Sie war während des Einengens durch immer wieder erneute Bildung feinsten Membranen recht trüb geworden und durch Filtration nicht mehr klar zu erhalten.

Diese Neigung colloider Körper, durch scheinbar ganz unbedeutende Anlässe, z. B. durch den Wasserverlust beim Eintrocknen oder durch den Einfluss chemisch sonst indifferenten Stoffe, der coagulirenden Fermente, in unlösliche, aber quellbare Substanzen überzugehen, scheint mir für ihre Charakterisirung wichtiger als der angebliche Mangel der Krystallisir-

barkeit, welcher, so weit er überhaupt besteht, als eine Folge dieses Verhaltens, nicht aber als eine den Colloidstoffen als solchen innewohnende Eigenschaft aufzufassen ist. Dass diese Neigung gerade auch den chemischen Stoffen zukommt, welche an dem Aufbau der thierischen und pflanzlichen Gewebe wesentlichen Antheil haben, kann kein zufälliges Zusammenreffen sein. Die Existenz von Stoffen, welche an sich löslich, leicht in ungelöste quellbare Verbindungen übergehen, ist eine nothwendige Vorbedingung des Aufbaues der Zelle und somit allen organischen Lebens. So erhält auch der künstliche, physikalisch kaum mehr haltbare Gegensatz von «Colloid» und «Krystalloid» eine physiologische Bedeutung. Denn gerade jene Eigenschaft der «Colloide», welche sie zum Aufbau der Organismen befähigt, ihre leichte Ueberführbarkeit in unlösliche, aber quellbare Verbindungen ist eines der wichtigsten Hindernisse, welches sich ihrer Gewinnung in krystallinischer Form entgegenstellt.

Prag, im Juli 1889.
