

Bemerkungen über Hofmeister's krystallinisches Eieralbumin.

Von

Dr. S. Gabriel.

(Mittheilung aus dem tierchemischen Institut der Universität Breslau.)
(Der Redaction zugegangen am 29. März 1891.)

Mit der Darstellung des krystallinischen Eieralbumins von F. Hofmeister¹⁾ ist die für die physiologische Chemie so ausnehmend bedeutsame Frage nach der Krystallisirbarkeit der Eiweisskörper in ein neues Stadium getreten. Die bisherigen hierher gehörigen Beobachtungen von Schmiedeberg, Maschke, Drechsel, Barbieri, Grübler, Ritt-
hausen beziehen sich auf vegetabilische Eiweissstoffe und zwar sind es vorzugsweise die globulinartigen Proteinsubstanzen von Oelsamen, welche das Material zur Darstellung mikroskopischer, zum Theil an's Makroskopische reichender Krystalle liefern. Hofmeister's Untersuchungen haben einen animalischen Eiweisskörper zum Gegenstande, welcher gleichzeitig so ganz und gar der Typus eines colloidalen Körpers ist, dass mit dem Augenblicke, wo es gelingt, diesen Körper krystallisirt zu erhalten, die Unfähigkeit zu krystallisiren aufhört, eine charakteristische Eigenschaft der Colloidsubstanzen zu sein.

Auf Veranlassung des Herrn Prof. Dr. Weiske habe ich die Versuche Hofmeister's wiederholt und mich zunächst streng an dessen Vorschriften gehalten. Nur in einem Punkte

¹⁾ F. Hofmeister, Ueber die Darstellung von krystallisirtem Eieralbumin und die Krystallisirbarkeit colloidalen Stoffe, diese Zeitschrift, Bd. XIV, S. 165.

stellte sich von vornherein die Nothwendigkeit heraus, von den Angaben Hofmeister's abzuweichen. Hofmeister löst den ersten Eiweissniederschlag in einer halbgesättigten Lösung von schwefelsaurem Ammon. Diese Operation wollte nicht gelingen und dürfte auch nicht ausführbar sein. Denn löst man das abgepresste Eiweiss in reinem Wasser und fügt das gleiche Volumen gesättigter schwefelsaurer Ammonlösung hinzu, so tritt bereits reichliche Eiweissfällung ein. Ich verfuhr daher stets in der Art, dass ich das Eiweiss in einer mässigen Menge destillirten Wassers auflöste und nun allmählig und unter Umschwenken so viel gesättigte Lösung von schwefelsaurem Ammon zufügte, bis eben eine leichte bleibende Trübung entstand, welche ich mit einem oder einigen Tropfen Wasser zum Verschwinden brachte. Dieses Verfahren verbürgt die Ueberzeugung, die Lösung in denjenigen Zustand gebracht zu haben, in welchem sie in Beziehung auf das Eiweiss gesättigt ist und beim geringsten Wasserverlust dasselbe ausfallen lässt; man vermeidet jedes nutzlose Verdunsten überschüssigen Wassers und reducirt die Zeit der Darstellung auf das geringste Maass.

Es gelang ohne Schwierigkeit, die von Hofmeister beschriebenen Formelemente darzustellen und dieselben in allen Stadien ihrer Entwicklung zu beobachten. Hofmeister legt grosses Gewicht auf die Langsamkeit und Gleichmässigkeit der Verdunstung, so dass z. B. — seiner Meinung nach — der Eintritt starker Sommerhitze genügt, das Gelingen der Darstellung in Frage zu stellen. Demgegenüber möchte ich betonen, dass die Krystallbildung beim Verdunsten in offenen Schalen bei hoher Zimmertemperatur, ja sogar beim Stehen über Schwefelsäure im Exsiccator ebenso leicht und reichlich erfolgte, wie bei dem sehr langsamen Verdunsten in bedeckten Gefässen.

Die anfangs entstehenden Kugeln, von Hofmeister Globulithe genannt, sind ihrer Grösse nach sehr verschieden und haben ganz das Ansehen von Fetttröpfchen in der Milch. Sie sind optisch durchaus homogen. Im Verlauf der Darstellung jedoch, bisweilen auch beim blossen Stehen, verlieren

sie diese Homogenität und zeigen dann eine radial-fasrige Textur. Der Uebergang der einen Form in die andere gleicht täuschend dem Erstarren eines Flüssigkeitströpfchens zu einem concentrisch-strahligen Krystallaggregat. Die neuen Formen, von Hofmeister als Sphärolithe bezeichnet, sind die sicheren Vorboten der eigentlichen Eiweisskrystalle. Die letzteren sind in den ersteren bereits präformirt, sie sind die Structurelemente, aus denen sich die Krystallaggregate zusammensetzen. Die Sphärolithe zerfallen zunächst in Nadelbüschel, dann in einzelne Nadeln. Man kann den Uebergang der Sphärolithe in Nadeln auch willkürlich auf mechanische Weise, z. B. durch einen leisen Druck auf das Deckglas, herbeiführen und dann unter dem Mikroskop ganz direct beobachten.

Nebenbei sei bemerkt, dass die Globulithe nicht etwas ganz Neues darstellen. Drechsel¹⁾ hat ähnliche Gebilde am Globulin des Blutserums beobachtet und gleichzeitig die Vermuthung ausgesprochen, dass dieselben krystallinisch sind. Auch H. Ritthausen²⁾ ist bei der Darstellung krystallinischer Eiweisskörper aus Oelsamen auf kuglige Absonderungen gestossen.

Bei dem hohen Interesse, welches die Hofmeister'schen Präparate in Anspruch nehmen, erschien es natürlich wünschenswerth, dieselben in irgend einer Form zu fixiren. Leider hatten darauf gerichtete Bemühungen nicht den gewünschten Erfolg. Trocknet man das abgepresste, in Nadeln abgeschiedene Eiweiss bei gewöhnlicher Temperatur über Schwefelsäure, so erhält man eine spröde, sehr leicht zerreibliche Masse, deren Pulver unter dem Mikroskop nicht die leiseste Andeutung von Krystallen oder Bruchstücken derselben erkennen lässt. Auch Versuche, das trockene Eiweiss mit indifferenten Flüssigkeiten aufzuschlämmen oder das schwefelsaure Ammon in Flüssigkeiten zu lösen, in denen das Eiweiss unlöslich ist, führten zu keinem befriedigenden Resultate.

¹⁾ Handwörterbuch der Chemie von Ladenburg, Breslau, Eduard Trewendt, Artikel Eiweisskörper.

²⁾ Journal f. praktische Chemie, Bd. 23, S. 481.

Lässt man die Präparate auf dem Objectglas eintrocknen, so bleiben die verhältnissmässig grossen Kugeln erhalten, wenn auch der grösste Theil derselben durch mächtige Säulen von schwefelsaurem Ammon verdeckt ist; die feinen Nadelchen dagegen sind der Beobachtung entweder sämmtlich oder bis auf wenige einzelne entzogen. Ich brachte deshalb die Eiweissfällungen, um dieselben für Demonstrationszwecke aufzubewahren, zusammen mit ihrer Mutterlauge in verschliessbare Stöpselcylinder. Dabei stellte sich nun die überraschende Thatsache heraus, dass die Globulithe auch ohne jede weitere Manipulation, bei Ausschluss jeder Verdunstung und Concentrationsänderung, allmählig in Sphärolithe und Nadeln übergehen. Ein Präparat, welches anfänglich fast nur aus Globulithen bestanden hatte, zeigte nach mehrwöchentlichem Stehen nur wenige derselben; dagegen war das ganze Gesichtsfeld mit Nadeln übersät. Nach dieser vorläufig noch vereinzelt beobachteten wäre die Darstellung der Nadeln einer bedeutenden Vereinfachung fähig. Man brauchte die erste Eiweissfällung nur in verschliessbare Gefässe zu bringen und der Ruhe zu überlassen.

Die von Hofmeister befolgte Methode der Darstellung des krystallinischen Eieralbumins könnte zu der — auch von Hofmeister vertretenen — Anschauung verleiten, dass die Ursache der Krystallisation in einer Reinigung des Eiweisses liegt, welche durch das mehrmalige Auflösen und Wiederausfällen in ähnlicher Weise bewirkt wird, wie durch das Umkrystallisiren eines Salzes. Gegen eine solche Auffassung sprechen folgende Thatsachen: Es ist allerdings, wie Hofmeister angiebt, richtig, dass die ersten Nadeln in der Regel bei der dritten oder vierten Ausscheidung auftreten; dagegen konnten auch Fälle beobachtet werden, in denen gleich bei der ersten Ausscheidung neben den Globulithen Nadeln, bisweilen sogar in überwiegender Menge, vorhanden waren. Andererseits kamen Proben von Eiweiss zur Verarbeitung, welche sich immer wieder in Globulithen abschieden, so oft man auch das Auflösen und freiwillige Verdunsten wiederholte. Die Neigung zur Krystallisation nimmt

also mit dem Fortschreiten der Reinigung nicht zu, womit auch die Thatsache im Einklang steht, dass bereits krystallisirt gewesenes Eiweiss beim nochmaligen Auflösen keineswegs gleich wieder in Nadeln ausfällt. Das gewichtigste Argument gegen die oben erwähnte Anschauung bildet aber die bereits mitgetheilte Beobachtung, der zufolge die Globulithe auch ganz spontan in Nadeln übergehen können. Findet also eine Reinigung des Eiweisses statt — was an sich sehr wahrscheinlich ist, so ist dieselbe doch nicht die wahre, jedenfalls nicht die einzige Ursache der Krystallisation, wie denn überhaupt die Reinheit einer Substanz weit weniger die Ursache, als vielmehr die Folge der Krystallisation ist.

Wir werden der Wahrheit näher kommen, wenn wir den Grund für die Krystallisation des Eiweisses in der Natur des angewandten Lösungsmittels suchen. Dass die Krystallisation eines Körpers von der Art des Lösungsmittels beeinflusst wird, geht einfach aus der Thatsache hervor, dass viele Substanzen aus der einen Flüssigkeit leichter krystallisirt erhalten werden können, als aus der anderen. Dass dieser Einfluss aber auch bis zur völligen Verhinderung der Krystallisation anwachsen und die Natur des gelösten Körpers gänzlich verändern kann, zeigen z. B. Beobachtungen, welche B. Pawlewski¹⁾ neuerdings am Paraffin gemacht hat. Eine einprocentige, bei 20° erhaltene, Lösung von Paraffin in Benzol erstarrt, um 5—7° abgekühlt, zu einer gleichmässigen Gallerte, welche sich aus den Gefässen nicht herausgiessen lässt. Eine Lösung von 3,53 gr. Paraffin in 100 gr. Chloroform, bei 25—27° erhalten, giebt beim Abkühlen auf 18° eine so consistente Gallerte, dass sie 300 gr. Gewicht verträgt, ohne zusammengedrückt zu werden. Aehnlich verhalten sich Lösungen des Paraffins in Schwefelkohlenstoff und Terpentin. Dagegen scheidet sich das Paraffin aus seinen Lösungen in Essigsäure in Gestalt kleiner Schuppen ab, welche sich vollkommen vom Lösungsmittel trennen. Das Paraffin verhält sich also der Essigsäure gegenüber wie ein Krystalloid, dem Benzol u. s. w.

¹⁾ Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 23, S. 327.

gegenüber wie ein Colloid. Die Untersuchung des Paraffins nach Raoult's Gefriermethode, welche die eigentliche Veranlassung zur Anstellung der eben erwähnten Experimente war, führte zu dem Resultate, dass die Molekulargrösse des Paraffins in seinen essigsauren Lösungen zwischen den Formeln $C_{24}H_{50}$ und $C_{27}H_{56}$ liegt, dass aber nicht gesättigte Lösungen in Benzol auf die doppelte, und gesättigte wahrscheinlich auf die vierfache Molekulargrösse schliessen lassen.

Die Analogie der Paraffinlösungen mit denen des Eiweisses legt uns die Annahme nahe, dass das in Nadeln abgeschiedene Eiweiss ein geringeres Molekulargewicht besitzt, wie das gewöhnliche; oder was dasselbe ist, dass das colloidale Eiweiss ein Polymerisationsproduct des krystallisirten ist. Ueber die Berechtigung dieser Annahme könnte die Raoult'sche Methode entscheiden, von welcher A. Sabanejeff¹⁾ kürzlich gezeigt hat, dass sie wohl geeignet ist, uns auch über die Molekulargrösse colloidaler Substanzen interessante Aufschlüsse zu gewähren. Sabanejeff hat auch das Eieralbumin in den Kreis seiner Untersuchungen gezogen. Dasselbe gab sehr kleine, aber messbare und übereinstimmende Depressionen, aus welchen sich als Minimum für die Molekulargrösse des Eiweisses die Zahl 15000 ableitet. Colloidale Kieselsäure gab so geringe Depressionen, dass dieselben in die Grenzen der Versuchsfehler fielen und den Schluss rechtfertigten, dass die Molekulargrösse der colloidalen Kieselsäure jedenfalls grösser als 49000 ist. Zu ebenso hohen oder noch höheren Werthen führte das colloidale Eisenhydroxyd. Die Molekulargrösse des Eiweisses ist also bedeutend, aber nicht so ungeheuerlich, wie vielfach angenommen wird. Sollte sich die Annahme, dass das krystallisirte Eiweiss ein noch geringeres Molekulargewicht besitzt, bewahrheiten, so würde dasselbe einen verhältnissmässig sehr einfach zusammengesetzten Eiweisskörper darstellen.

Berühren wir nun noch die Frage nach der chemischen Zusammensetzung des krystallinischen Eieralbumins, so lässt

¹⁾ Ref. im Chem. Centralblatt, 1891, S. 10.

es Hofmeister dahingestellt sein, ob reines Eiweiss oder eine Verbindung desselben mit schwefelsaurem Ammon vorliegt. Da wir wissen, dass das Eiweiss die Fähigkeit besitzt, sich mit verschiedenen Salzen in stöchiometrischen Verhältnissen zu verbinden¹⁾, so hat die Annahme einer Verbindung allerdings etwas für sich. Nähere Zahlenangaben fehlen in Hofmeister's Mittheilung. E. Harnack²⁾ äussert sich darüber bei Gelegenheit seiner Studien über das aschefreie Eieralbumin wie folgt: «In dieser Hinsicht habe ich bisher nur die Erfahrungen von Hofmeister zu bestätigen vermocht. Es ist mir ohne besondere Schwierigkeit gelungen, schön krystallisirte Verbindungen des Albumins mit schwefelsaurem Ammon in Säulen und Tafeln zu erhalten, aber diese Verbindungen sind fast alle sehr eiweissarm, sie enthalten nur etwa 5% Albumin.» Diese Worte lassen den Gedanken an Hofmeister's Präparat überhaupt nicht mehr aufkommen. Die Existenz einer Verbindung von 95% schwefelsaurem Ammon mit 5% Eiweiss ist bei dem hohen Molekulargewicht des Eiweisses höchst unwahrscheinlich und würde auch mit den bisher bekannten Thatsachen über die Zusammensetzung von Eiweissverbindungen in grellem Widerspruch stehen. In den Grübler'schen, aus Kürbissamen dargestellten, krystallinischen Präparaten³⁾ schwankte der Gehalt an den verschiedenen Salzen etwa zwischen 0,58 und 1,20%. Harnack⁴⁾ selbst giebt den Kupfergehalt der von ihm untersuchten Kupferalbuminate zu 1,35 und 2,64% an.

Ich habe, um wenigstens eine ungefähre Vorstellung von der Zusammensetzung des Hofmeister'schen Eiweisses zu erhalten, an einem sehr gelungenen, fast ausschliesslich aus Nadeln bestehenden Präparat, welches circa ein Jahr lang über Schwefelsäure gelegen hatte, nachfolgende Bestimmungen ausgeführt:

¹⁾ S. G. Grübler, Journal f. praktische Chemie, Bd. 23, S. 97.

²⁾ Ber. d. d. chem. Gesellschaft, Bd. 23, S. 3745.

³⁾ Journal für praktische Chemie, Bd. 23, S. 97.

⁴⁾ Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. 5, S. 198.

Wasser.

1,0382 gr. Substanz verloren durch Trocknen bei 110 -115° C. 0,0350 gr. = 3,37 %.	} Mittel: 3,39 % Wasser.
0,8651 gr. Substanz verloren durch Trocknen bei 110 -115° C. 0,0295 gr. = 3,41 %.	

Asche.

1,0382 gr. Substanz hinterliessen beim Einäschern 0,0020 gr. Asche = 0,19 %.	} Mittel: 0,19 % Asche.
0,8651 gr. Substanz hinterliessen beim Einäschern 0,0015 gr. Asche = 0,18 %.	

Gesamtstickstoff.

0,3600 gr. Substanz lieferten nach der Kjeldahl'schen Methode 0,055495 gr. N = 15,41 %.	} Mittel: 15,40 % N.
0,4868 gr. Substanz lieferten nach der Kjeldahl'schen Methode 0,074652 gr. N = 15,34 %.	
0,3521 gr. Substanz lieferten nach der Kjeldahl'schen Methode 0,054409 gr. N = 15,45 %.	

Ammoniakstickstoff.

0,5072 gr. Substanz lieferten bei directer Destillation mit MgO 0,016618 gr. N = 3,28 %.	} Mittel: 3,30 % Ammoniak-N.
0,5017 gr. Substanz lieferten bei directer Destillation mit MgO 0,016552 gr. N = 3,30 %.	
0,5812 gr. Substanz lieferten bei directer Destillation mit MgO 0,019267 gr. N = 3,32 %.	

100 Theile der analysirten Substanz enthalten also:

- 80,86 Eieralbumin (Differenz),
- 15,56 schwefelsaures Ammon (aus dem Ammonik-
stickstoff berechnet),
- 3,39 Wasser,
- 0,19 Asche (fixe Mineralstoffe).

Der Aschengehalt ist sehr gering und mit dem der bis jetzt am reinsten dargestellten Präparate vergleichbar. Der Gehalt an schwefelsaurem Ammon lässt sich ungezwungen aus der Menge der mechanisch anhaftenden Mutterlauge erklären. Wenn daher eine Verbindung von Eiweiss mit schwefelsaurem Ammon vorliegt, so dürfte der Salzgehalt derselben, ähnlich wie bei den Grübler'schen Präparaten, nur unbedeutend sein. Der Stickstoffgehalt des reinen Albu-

mins. frei von Wasser, Asche und schwefelsaurem Ammongedacht, berechnet sich aus den oben angeführten Zahlen zu 14,96%. Das Mittel aller bisher ausgeführten Analysen entspricht ungefähr 15,50%. Das sehr reine, von K. V. Starke¹⁾ dargestellte, Eieralbumin zeigte nach Hammarsten's Analyse einen Stickstoffgehalt von 15,25% — eine Zahl, welche sich der von mir erhaltenen schon mehr nähert.

In ähnlicher Weise habe ich ein aus Kugeln bestehendes Präparat, die zweite Ausscheidung aus schwefelsaurem Ammon, analysirt und bin dabei zu Zahlen gelangt, aus welchen sich der Stickstoffgehalt des reinen Albumins zu 15,10% ableitet. Das Eieralbumin scheint also wesentlich stickstoffärmer zu sein, als die übrigen thierischen Eiweissstoffe.

Schliesslich sei noch erwähnt, dass ich versucht habe, die Globulinsubstanz der Paranüsse nach der Hofmeister'schen Methode krystallisirt zu erhalten; es gelang jedoch nur Kugeln, und zwar solche von sehr ansehnlicher Grösse, darzustellen: Krystalle konnten auch nach mehrmaligem Auflösen der Niederschläge nicht beobachtet werden, womit jedoch die Möglichkeit der Darstellung derselben nicht in Abrede gestellt werden soll.

¹⁾ Jahresber. f. Thierchemie, 1881, S. 17.