

## Ueber eine im Hühnereiweiss in reichlicher Menge vorkommende Mucinsubstanz.

Von

Carl Th. Mörner in Upsala.

(Der Redaction zugegangen am 8. October 1893).

Als ich beim Studiren der im Hühnereiweiss befindlichen Zuckerart das Filtrat nach der Coagulirung des Eiweiss in Wärme mit Essigsäurezusatz stark concentrirte, wurde ich dadurch überrascht, einen ansehnlichen, der Consistenz nach gelatinösen, in Wasser unlöslichen Rückstand zu finden, während ich eine syrupöse, in Wasser lösliche Masse aus Salzen, Zucker und übrigen etwaig befindlichen Extractivstoffen erwartete. Durch das völlig negative Resultat der Prüfung mit Heller's Probe erwies sich nämlich die Flüssigkeit von den wohlbekannten Eiweisskörpern des Hühnereiweiss, Ovalbumin und Globulin, ganz befreit, und andere Bestandtheile des Hühnereiweiss waren mir nicht bekannt als einerseits die erwähnten beiden Eiweisskörper, andererseits Salze und Extractivstoffe, da einige kurzgefasste Angaben, die Neumeister in Betreff einer im Hühnereiweiss befindlichen Substanz, dem Pseudopepton, und die mehr versteckt in seiner

<sup>1)</sup> R. Neumeister: «Zur Physiologie der Eiweissresorption und zur Lehre von den Peptonen». Zeitschr. f. Biologie, N. F., Bd. 9, S. 369, 1890.

Abhandlung über die Resorption des Peptons eingeschoben worden war, bisher meiner Aufmerksamkeit entgangen.

Obgleich ein leicht erreichbares Untersuchungsmaterial und auch fleissig untersucht, hat man dem Hühnereiweiss bis in jüngster Zeit keine anderen Proteinstoffe zugeschrieben, als die typischen Eiweisskörper der Albumin- und Globulin-Gruppe. Ausser einer Angabe von Corin und Berard<sup>1)</sup> über das Vorkommen von «Pepton» im Hühnereiweiss, eine Angabe, die sich auf keine nähere Untersuchung der Natur des betreffenden «Pepton» stützt, ist Neumeister der erste, welcher eine von den früher bekannten getrennte Protein-substanz, die er unter der Benennung «Pseudopepton» zur Gruppe der Eiweisskörper führt, aus dem Hühnereiweiss isolirte und rücksichtlich der wichtigsten, qualitativen Reactionen beschrieb.

Dieser Auffassung beizustimmen ist mir aber unmöglich, nachdem aus meinen zahlreichen Versuchen mit Bestimmtheit hervorgegangen, dass die betreffende Substanz, Neumeister's Pseudopepton, zu den Mucinsubstanzen hinzuführen ist, näher bestimmt zu der Gruppe der *mukoiden* Substanzen. Am geeignetsten dürfte diese Substanz unter der Benennung *Ovomukoid* auftreten. Nachdem man mittelst Coagulirung in Wärme unter passendem Essigsäurezusatz und darauf folgender Filtrirung alles coagulabele Eiweiss (völlig negativer Ausfall von Heller's Probe) aus dem mit einigen Volumen Wasser verdünntem Hühnereiweiss gänzlich entfernt hat, kann man verschiedene Wege einschlagen zur Isolirung des im Filtrat befindlichen Ovomukoïds.

Neumeister bereitete sein Pseudopepton (= Ovomukoid), indem er das Filtrat mit Ammoniumsulphat sättigte, nach der Auspressung den entstandenen Niederschlag in etwas Wasser löste, und nach anhaltender Dialyse der erhaltenen Lösung dieselbe mit Alkohol unter Erwärmung niederschlug. Nach diesem Verfahren ist auch mein Präparat Nr. 6 hergestellt.

<sup>1)</sup> Travaux du laboratoire Léon Frédéric, Université de Liège. Institut de physiologie, Vol. 2, p. 170.

Im Uebrigen wurden folgende verschiedene Herstellungsmethoden von mir angewendet:

2. Das Filtrat wurde mässig concentrirt, mit Alkohol niedergeschlagen, der Niederschlag ausgepresst, in Wasser gelöst und wieder mit Alkohol niedergeschlagen, was noch 2 Mal wiederholt wurde. Präparat Nr 2.

3. Das Filtrat wurde bis zur Trockenheit concentrirt; der lamellöse Rest unter anhaltender Decantirung mit destillirtem Wasser während einiger Tage ausgewaschen, wobei die Lamellen bedeutend anschwollen. Behandlung mit Alkohol. Präp. Nr. 1 u. 3.

4. Das Filtrat wurde durch Sättigung mit Natriumsulphat in Wärme niedergeschlagen. Die zusammengebäckene, schwammig poröse, niedergeschlagene Masse wurde ausgepresst und in kochendem Wasser aufgelöst: die Lösung wurde wieder mit Natriumsulphat in Wärme niedergeschlagen, welche Procedur noch ein Mal (Präparat Nr. 4) oder zwei Mal (Präparat Nr. 5) wiederholt wurde, wonach der zuletzt erhaltene Niederschlag mit dest. Wasser fleissig decantirt und schliesslich alkoholextrahirt wurde.

Das Ovomukoid tritt in zwei verschiedenen Modifikationen auf, und zwar in einer in kaltem Wasser leicht löslichen und in einer darin unlöslichen Form, und lassen sich dieselben in anscheinbar unbegrenzter Anzahl von Wiederholungen in einander überführen. Wenn eine Lösung von Ovomukoid stark in Wärme concentrirt wird, so bilden sich nach Abdampfen des meisten Wassers an der Oberfläche und den Rändern des Gefässes durchsichtige Häute, die sich nicht wieder auflösen, wenn sie mit der übrigen Flüssigkeit vermischt werden. Gegen Ende der Concentrirung erstarrt die Masse zu einem durchsichtigen, in Wasser unlöslichen Gelé, das nach weiterer Austrocknung klar durchsichtige, gelbliche, spröde Lamellen bildet, die zwar in kaltem Wasser schwellen, sich aber nicht darin auflösen. Wird aber das Gelé resp. die Lamellen in kochendes Wasser gebracht, so löst es sich nach einigem Kochen vollständig auf und diese Lösung verhält sich in Allem wie die ursprüngliche. Diese Procedur lässt sich vielmals mit demselben Erfolg wiederholen.

Von den eben angeführten, verschiedenen Darstellungsarten des Ovomukoïds gibt nur die Methode Nr. 2 ein Präparat der löslichen Modifikation, alle anderen geben in kaltem Wasser unlösliche Präparate, die aber, wie bereits betont, mit Leichtigkeit in lösliche Form und zwar durch Behandlung mit kochendem Wasser gebracht werden können.

Die wichtigsten qualitativen Verhältnisse, die einer Lösung des Ovomukoïds (= Pseudopeptons) zukommen, sind schon von Neumeister angegeben worden und werden in von mir complettirtem Zustand angeführt.

1. Physikalische Eigenschaften. Lösung fast farblos (sehr concentrirte Lösung hell gelbbraun); beim Schütteln stark schäumend; nicht fadenziehend oder in erheblichem Grade dickflüssig. Bei langsamer Eintrocknung gummiartig klebend.

2. Fällbarkeitsverhältnisse. Säuren. Salpetersäure, Salzsäure, Schwefelsäure, Metaphosphorsäure, Phosphormolybdänsäure, Essigsäure, Pikrinsäure und Citronensäure, sei es in grösseren oder kleineren Mengen — geben keinen Niederschlag. Wird dagegen von Phosphorwolframsäure und Gerbsäure gefällt.

Metallsalze. Zinnchlorür, neutr. Bleiacetat, Bleiessig, Kupfersulphat, Silbernitrat, Quecksilberchlorid, Quecksilberchlorid + Salzsäure, Quecksilberjodid-Jodkalium, Quecksilberjodid-Jodkalium + Salzsäure, Millon's Reagens, Eisenchlorid (sauer und neutralisirt), Ferrocyankalium + Essigsäure oder Salzsäure, Zinkchlorid + Salzsäure und Alaun — fallen nicht. Niederschlag wird von Bleiessig + Ammon bewirkt.

#### Neutralsalze.

Bei Sättigung mit Chlornatrium in Zimmerwärme	— keine Fällung.
» » » » bei +30° C.	— » »
» » » » im Kochen	— » »
» » » Natriumsulphat in Zimmerwärme	— » »
» » » » bei +30° C.	— » »
» » » » im Kochen	— vollstünd. »
» » » Magnesiumsulphat in Zimmerwärme	— keine »
» » » » bei +30° C.	— » » <sup>1)</sup>
» » » » im Kochen	— vollstünd. »

<sup>1)</sup> Oder höchst unvollständige Fällung.

Wenn ein wenig Säure, z. B. Essigsäure, Salpetersäure zu der mit Natriumsulphat oder Magnesiumsulphat in Zimmerwärme gesättigten Lösung hinzugefügt wird, so entsteht reichlicher Niederschlag; die mit Chlornatrium (in Zimmerwärme, bei 30° C. oder im Kochen) gesättigte Lösung bleibt dagegen klar auch beim Zusatz von mehr oder weniger Säure.

Zusatz von gleichem Volum gesättigter Ammoniumsulphatlösung bewirkt keinen Niederschlag, wohl aber 2 Volume davon, obgleich die Fällung nicht vollständig ist. Bei Sättigung mit Ammoniumsulphat in Substanz — vollständige Fällung.

Die Niederschläge, welche also bei Sättigung mit Neutralsalzen, allein oder mit Zusatz von Säure, entstehen können, sind beim Verdünnen mit Wasser alle leichtlöslich, ausser denen im Kochen erhaltenen.

3. Färbungsreactionen. Bei Ausführung der Xantoproteinsäure- und Millon'schen Reaction wird die Flüssigkeit stark orange- resp. rothgefärbt, zeigt aber keine Fällung oder Niederschlag.

Die Biuretreaction fällt deutlich aus; hinsichtlich der Nüance der Färbung (auch bei geringem Kupferzusatz vorwiegend blau) mehr übereinstimmend mit der, welche den gewöhnlichen Eiweisskörpern und den Mucinsubstanzen angehört, als der mehr röthlichen der Peptone und Albumosen.

Die Färbungsreactionen mit concentrirter Salzsäure und Adamciewic's Reagenz fallen dagegen negativ aus (nur bräunliche Färbung).

Dass eine Proteinsubstanz vorliegt, ist also offenbar, welche sind aber die Verhältnisse, die mich dazu berechtigen, Neumeister gegenüber ihre Eiweissnatur zu verneinen und dieselbe zur Gruppe der Mucinsubstanzen hinzuführen? Theils erzeugt das Ovomukoïd beim Kochen mit verdünnter Salzsäure eine reducirende Substanz in reichlicher Menge, theils besitzt es einen Stickstoffgehalt von nur 12,65%.

Stickstoff- und Schwefelbestimmungen ergaben folgende Werthe:

Auf aschefreier Substanz (%) <sup>1)</sup>	Präp. 1.	Präp. 2.	Präp. 3.	Präp. 4.	Präp. 5.	Präp. 6.	Mittelwerth.
Stickstoff . . . .	12,59	12,38	12,34	12,73	12,66	12,48	12,65
Schwefel <sup>2)</sup> . . . .	2,18	2,20	2,19	—	—	2,25	2,20

Der Gehalt des Schwefels ist also besonders hoch (2,20%) und der Schwefel befindet sich, wie Versuche mit alkalischer Bleilösung erwiesen, wesentlich in lose gebundenem Zustand.

Um eine Vorstellung vom Ovomukoidgehalt des Hühnereiwisses zu erhalten, verfuhr ich folgendermassen:

Vom filtrirten Hühnereiwiss wurden abgewogen:

a) 10 Gr., die eingetrocknet wurden, wonach der Rest gewogen, eingeäschert und die Menge der Asche bestimmt wurde. Hierdurch erhielt man Kenntniss über den Gehalt organischer Trockensubstanz.

b) 50 Gr., die nach der Verdünnung mit Wasser unter Zusatz von Essigsäure in Wärme coagulirt wurden. Die Coageln wurden ausgepresst und in destillirtem Wasser ausgewässert, wonach  $\frac{1}{10}$ <sup>3)</sup> der gesammelten, filtrirten Flüssigkeit im Wasserbad bis zur Trockenheit in einer Porzellanschale abgedampft wurden. Der Rest wurde ein paar Tage lang mit dest. Wasser ausgewässert, in eine Platinschale übergeführt, gewogen und eingeäschert. Nach Abzug der Asche ergab der Rest die Menge des Ovomukoids.

Nach diesem Verfahren wurden vier verschiedene Partien Hühnereiwiss analysirt (I—IV):

- I. a) Organische Trockensubstanz (in 10 Gr. Eiweiss) . . . 1,160 Gr.  
 b) Ovomukoid (in  $\frac{1}{10}$  von 50 Gr. Eiweiss = 0,651 Gr.);  
 also in 10 Gr. Eiweiss . . . . . 0,145 "

<sup>1)</sup> Der Aschengehalt wechselte zwischen 1,60 und 2,48%.

<sup>2)</sup> In den Schwefelbestimmungen wurden Substanzmengen von 1,503 bis 1,728 Gr. angewendet.

<sup>3)</sup> Bei dem übriggebliebenen  $\frac{1}{10}$  überzeugte ich mich mittelst Heller's Probe, dass alles coagulable Eiweiss entfernt war.

II. a)	Organische Trockensubstanz (in 10 Gr. Eiweiss) . . .	1,210 Gr.
b)	Ovomukoid (in $\frac{9}{10}$ von 50 Gr. Eiweiss = 0,688 Gr.): also in 10 Gr. Eiweiss . . . . .	0,153
III. a)	Organische Trockensubstanz (in 10 Gr. Eiweiss) . . .	1,089
b)	Ovomukoid (in $\frac{9}{10}$ von 50 Gr. Eiweiss = 0,626 Gr.): also in 10 Gr. Eiweiss . . . . .	0,139
IV. a)	Organische Trockensubstanz (in 10 Gr. Eiweiss) . . .	1,186
b)	Ovomukoid (in $\frac{9}{10}$ von 50 Gr. Eiweiss = 0,652 Gr.): also in 10 Gr. Eiweiss . . . . .	0,145

Hieraus ergeben sich folgende Werthe von organischer Trockensubstanz resp. Ovomukoid für den Gehalt des natürlichen Hühnereiweiss:

Organische Trockensubstanz. "o.	Ovomukoid. "o.	Relation des Ovomukoids: organische Trockensubstanz.
11,60	1,45	1 : 8,0
12,10	1,53	1 : 7,9
10,89	1,39	1 : 7,8
11,86	1,45	1 : 8,2

Das Ovomukoid ist also der organische Bestandtheil des Hühnereiweiss, der in Bezug auf die Menge nach dem Ovalbumin den ersten Platz einnimmt. Besonders muss betont werden, dass es darin bedeutend die Globulinsubstanz des Hühnereiweiss übertrifft, deren Menge nach Dillner's<sup>1)</sup> Bestimmungen nur etwa 0,75 % in dem natürlichen Hühnereiweiss beträgt.

Durch das Nachweisen einer Mukoïds substanz im Hühnereiweiss hat eine von Hofmeister<sup>2)</sup> ausgesprochene Vermuthung Bestätigung erhalten. Hofmeister erhielt nämlich bei der Analyse des Ovalbumin, das er in krystallinischem Zustand aus dem Hühnereiweiss darstellte, Ziffern, die wesentlich von einem nach Starke's Methode dargestellten Ovalbumin abweichen: 1,09 % Schwefel anstatt 1,93 % und 53,28 % Kohlenstoff anstatt 52,25 % und äussert in Folge dessen: «Die Reinigung des Eiweiss durch Umkrystallisiren scheint sonach mit

<sup>1)</sup> Upsala Läkareförenings Förhandlingar, Bd. 20, S. 199.

<sup>2)</sup> Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 16, S. 187 (1892).

der Entfernung eines relativ kohlenstoffärmeren, aber sehr schwefelreichen Körpers einherzugehen».

Um eine richtige Auffassung der elementaren Zusammensetzung des *Ovalbumin* zu erhalten, ist es natürlich absolut nothwendig, auf diese Mukoids substanz Rücksicht zu nehmen, um sie mit geeigneten Mitteln zu entfernen, was bisher, da man in völliger Unkenntniss ihres Vorhandenseins lebte, nur selten und dann nur durch einen Zufall der Fall sein konnte.