

Ueber Einführung von Jod in das krystallisirte Serum- und Eieralbumin.

Von

Dr. D. Kurajeff (aus St. Petersburg).

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Strassburg. Neue Folge Nr. 15.)
Der Redaction zugegangen am 28. November 1898.)

I.

Versuche, Halogenverbindungen der Eiweisskörper zu erhalten, sind, seit Mulder¹⁾ bei Einwirkung von Chlor auf einige Eiweissstoffe chlorhaltige Produkte erhalten hat, von Boehm und Berg,²⁾ Loew,³⁾ Liebrecht und Röhmann,⁴⁾ F. Blum und W. Vaubel,⁵⁾ F. Gowland Hopkins und St. N. Pinkus,⁶⁾ F. Hofmeister⁷⁾ und Anderen ausgeführt worden. Von einer Fortführung dieser Untersuchungen war Sicherung und Ausgestaltung der bereits erlangten Ergebnisse zu erhoffen, und ich habe darum, einer Aufforderung von Herrn Professor Hofmeister folgend, die Einwirkung von Jod auf krystallisirtes Serum- und Eieralbumin unter wechselnden Bedingungen genauer studirt.

Von den Ergebnissen, welche seitens früherer Untersucher in Betreff der Jodirung der Eiweisskörper zu Tage gefördert worden sind, seien kurz die wichtigsten hierher gehörigen mitgetheilt.⁸⁾

1) Journ. f. prakt. Chem., XXXIV, S. 487.

2) Archiv für exp. Path. u. Pharm., Bd. V, S. 329.

3) Journ. f. prakt. Chem. [2], Bd. XXXI, S. 138.

4) D.R.P. 79 926 (1894) und chem. Berichte, Bd. XXX, S. 1824.

5) Münchner med. Wochenschr., 1896, Nr. 45 u. Journ. f. prakt. Chemie, N. F. 56, 393 und 57, 365.

6) Berichte d. deutsch. ch. Ges., Bd. XXX, S. 1860; Bd. XXXI, S. 1311.

7) Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. XXIV, S. 159.

8) Betreff der älteren Angaben verweise ich auf die Zusammenstellung bei Hofmeister l. c.

In einer Patentschrift von 1894 bemerken A. Liebrecht und F. Röhm ann, dass beim Erwärmen von Eiweisskörpern mit Jod Verbindungen erhalten werden, die nach Ausziehen mit Aether, Chloroform und Aehnlichem kein freies Jod mehr enthalten, solches aber beim Kochen mit Wasser und Alkali leicht abgeben. Dass bei Einwirkung von Halogenen auf feuchtes Eiweiss Halogensubstitutionsprodukte desselben entstehen, ist dann von Blum in einer vorläufigen Mittheilung ausdrücklich hervorgehoben worden. In seiner ausführlichen Publication¹⁾ theilte Liebrecht das von ihm und Röhm ann benutzte Isolirungsverfahren mit, das am Casein eingehender geprüft wurde. Ein inniges Gemisch von 80 gr. Casein und 20 gr. Jod wird unter Umrühren bei Wasserbadtemperatur erwärmt. Es entsteht ein gleichmässiges braunes Pulver, das im Soxhlet'schen Extractionsapparat mit Aether erschöpft wird. Das so erhaltene lufttrockene Produkt, «Perjodcasein», enthält 17,8 % Jod. Dasselbe Produkt erhält man durch Kochen von Casein mit 70% ige m Alkohol und Jod. Das Perjodcasein geht dabei in Lösung und scheidet sich beim Erkalten aus. Es enthält den grössten Theil des Jod locker gebunden. Bei Behandlung mit unterschwefligsaurem Natron entfärbt es sich und liefert nach Auswaschen mit Wasser, Alkohol und Aether ein «Jodcasein», das neben Phosphor und Schwefel 5,7 % Jod enthält.

F. G. Hopkins²⁾ erhielt aus verdünntem, globulinfreiem Hühnereiweiss durch Einwirkung von Jod bei 40°—45° einen flockigen Niederschlag, der durch Auswaschen mit Wasser und tagelanges Dialysiren aschefrei gemacht wurde. Dieses Rohprodukt, durch Lösen in 5% iger Sodalösung, Ausfällen mit Essigsäure und 48stündiges Dialysiren gereinigt, gab ein Jodeiweiss mit 6,11—6,29 % Jod, im Mittel (aus 4 Bestimmungen) 6,20 % Jod. Wurde es mit Alkohol ausgezogen, so resultirte ein in Wasser und Aether nahezu unlöslicher Körper, welcher 17,99 % Jod enthielt. Hopkins spricht ihn als Additionsprodukt an, weil die homologen Chlorverbindungen aus Jodkalium Jod frei machen.

¹⁾ Berichte d. dt sch. chem. Ges., Bd. XXX, S. 1824.

²⁾ Berichte d. dt sch. chem. Ges., Bd. XXX, S. 1860.

F. Hofmeister¹⁾ suchte zunächst am rohen Eiereiweiss die Bedingungen für eine maximale Jodaufnahme zu ermitteln. Dieselbe wurde bei Anwesenheit von 1 gr. Jod auf 2 gr. Eiweiss durch 4—8stündiges Erhitzen auf dem Wasserbade in schwach saurer Flüssigkeit erreicht. Für das aus Roheiwiss erhaltene Jodprodukt ergab sich ein Gehalt von 6,9—7,2^o%, im Mittel von 7,06^o% Jod. Sodann wandte er die Jodirung auf nach seinem Verfahren dargestelltes krystallisirtes Eieralbumin an, wobei er auf 10 gr. Eiweiss in 100 ccm. Wasser eine Mischung von 5 gr. Jodkalium, 2,5 gr. Kaliumjodat und 2 ccm. concentrirter Schwefelsäure einwirken liess, was einem genügenden Zusatz von freiem Jod und einem kleinen Ueberschuss von Jodsäure entspricht. Nach Bindung des dabei frei werdenden Kaliums durch die Schwefelsäure als neutrales Kaliumsulfat bleibt noch etwa 1^o% Schwefelsäure (oder die entsprechende Menge Kaliumhydrosulfat) in der Lösung. Diese saure Reaction wurde im Hinblick auf das Ergebniss der Vorversuche gewählt, um beim Erhitzen die Coagulation des Albumins zu vermeiden.

Das Reactionsprodukt wurde durch wiederholtes Lösen in Ammoniak, Fällen mit Essigsäure, Auswaschen mit Jodkaliumlösung und Wasser gereinigt, dann mit Alkohol und Aether erschöpft: es enthielt constant 8,9^o% Jod.

Ueber die Zusammensetzung dieses Jodeiwisses, sowie die Schlüsse, welche sich daraus ergeben, soll, soweit nöthig, unten im Anschlusse an meine eigenen Untersuchungen die Rede sein.

Aus einer kurz darauf erschienenen Mittheilung von Blum und Vaubel²⁾ ging hervor, dass Blum seine Jodeiwisspräparate durch Einwirkung von Jodjodkalium oder Jodtinctur erhalten hatte. Genaueres ergibt sich über die Darstellung aus einer in jüngster Zeit erschienenen Arbeit der genannten Autoren,³⁾ die erst nach Abschluss meiner Versuche erschien.

¹ Liebrecht, Blum, Hopkins und Hofmeister haben, wie aus Zeit und Umständen hervorgeht, die Untersuchungen unabhängig von einander ausgeführt. Die Publicationen erfolgten in der oben eingehaltenen Reihenfolge.

² Journ. f. prakt. Chem. N. F. LVI, S. 393.

³ Journ. f. prakt. Chem. N. F. LVII, S. 365.

Danach haben Blum und Vaubel das ursprünglich angewandte Verfahren wesentlich abgeändert. Sie beobachteten, dass bei der Einwirkung von Jod auf Eiweiss grosse Mengen Jodwasserstoff gebildet wurden und die weitere Substitution mit Jod hinderten. Als brauchbarstes Mittel, diese Schwierigkeiten zu umgehen, erwies sich ihnen die Jodirung bei Anwesenheit von Natriumbicarbonat. Die wässrige Eiweisslösung wurde mit diesem Salz im Ueberschuss versetzt, das Jod zugefügt und das Gemisch auf dem Wasserbade unter Umschütteln auf ca. 50° erwärmt. Von Zeit zu Zeit wurden kleine Mengen von Jod und Bicarbonat hinzugebracht. Nach etwa 4—5 Stunden war die Reaction zu Ende. Die erhaltenen Lösungen wurden abfiltrirt, mit Natronlauge versetzt, sofort mit Essigsäure gefällt und der erhaltene Niederschlag nach Abfiltriren auf dem Wasserbade getrocknet. Um das Jod sowie das unzersetzte Natriumjodid zu entfernen, wurde mit absolutem Alkohol und mit Wasser ausgekocht. Das aus Roheiweiss erhaltene Produkt enthielt etwa 7% Jod in fester Bindung. Aus Casein wurde ein Jodderivat mit 6—7%, aus Myosin mit 10,2—11,1%, aus Merck'schem Hefenuclein mit 6,9%, aus Schilddrüsen-eiweiss von 6,5% Jod erhalten.¹⁾

In der ebenfalls erst vor Kurzem erschienenen ausführlichen Mittheilung von G. Hopkins und St. Pinkus²⁾ finden sich in Betreff der Jodirung von Eiweissstoffen genauere Angaben über die Jodeinführung in Eiereiweiss. Verdünntes, mit Essigsäure bis zu schwach saurer Reaction versetztes Eiweiss wurde bei 35—40° mit Jodüberschuss behandelt; es trat dann plötzlich ein Niederschlag ein, der abfiltrirt, mit Natriumsulfatlösung gewaschen und dann analysirt wurde. Er enthielt 7,2% Jod. Wurde er in 2%iger Sodalösung gelöst und neuerdings gefällt, so enthielt er nur noch 6,24—6,30% Jod.

Wie aus diesen Angaben ersichtlich, ist, soweit es sich um Jodderivate von Eiweiss handelt, nur Hofmeister von

1) Die verwendeten Eiweisskörper waren anscheinend keiner besonderen Reinigung unterworfen worden.

2) Chem. Berichte: XXXI. S. 1312.

einwurfsfreiem krystallinischem Material ausgegangen. Daneben liegen nur einige Angaben von Hopkins und Pinkus über Bromprodukte aus krystallinischem Eieralbumin vor, wonach die daraus erhältlichen Perbromide 15—16 % Brom enthielten, während sich aus dem Eiweiss der Mutterlauge nur Produkte mit um 3 % niedrigerem Bromgehalt erhalten liessen.

In Betreff der chemischen Eigenschaften der Jodeiweissverbindungen — ich habe dabei stets die Produkte mit festgebundenem Jod im Auge — ist fast allen Beobachtern an ihnen das Fehlen der Millon'schen Reaction und der Bleischwärzung beim Erhitzen mit alkalischer Bleioxydlösung aufgefallen. Eine Deutung dieses Verhaltens ist von Hofmeister und noch eingehender von Blum und Vaubel versucht worden. Doch enthalte ich mich einer zusammenfassenden Darlegung dieser Verhältnisse, da eine Besprechung derselben anlässlich der bei Spaltung von Jodeiweiss gemachten Erfahrungen von anderer Seite in Aussicht steht. Soweit diese Angaben meine eigenen Erfahrungen unmittelbar berühren, sollen sie unten Erwähnung finden.

II.

Versuchsmaterial, Versuchsbedingungen und Methodik.

Wie Eingangs erwähnt, war es meine Aufgabe, die Bildung von Jodeiweissverbindungen ausgehend von krystallisirtem Eiweiss und unter wechselnden Bedingungen zu studiren.

Von den drei derzeit in genügender Menge in krystallinischem Zustand beschaffbaren Eiweisskörpern, Eieralbumin, Serumalbumin und Hämoglobin, habe ich für meine Zwecke nur die beiden ersten herangezogen, da das Hämoglobin wegen Anwesenheit der Hämatingruppe und der dadurch gegebenen Complication minder geeignet schien.

Die Gewinnung des reinen Serumalbumins erfolgte im Ganzen nach Gürber¹⁾ aus mit Ammoniumoxalat ungerinnbar

¹⁾ Verhandl. der physik.-med. Gesellschaft zu Würzburg. N. F. XXIX. S. 117 und G. Meyer's Dissertation. Würzburg. 1896.

gemachtem Pferdeblut. Die Ausscheidung von Krystallen trat beim Versetzen des von Fibrinogen und Globulin befreiten Plasmas mit Ammonsulfatlösung bis zur beginnenden Trübung in den meisten Fällen, wenn auch in ungleicher Reinheit und Menge, ein. Der Niederschlag wurde durch Umkrystallisiren gereinigt, bis er ganz frei von amorphen Beimengungen war, was gewöhnlich erst durch mehr als viermaliges Umkrystallisiren erreicht wurde. Verwendet wurden nur Niederschläge, die aus Krystallen von typischer Form, d. h. hexagonalen Prismen mit einseitig aufgesetzter Pyramide bestanden. Die feuchte Krystallmasse wurde abfiltrirt, sorgfältig zwischen Filterpapier abgepresst, in Wasser gebracht und die erhaltene Lösung, die in der Regel vollständig klar war, oder, was bei mehr als fünfmaligem Umkrystallisiren meist vorkam, leicht opalescente Beschaffenheit aufwies, direkt zu den Jodirungsversuchen benutzt.

Die Gewinnung krystallisirten Eieralbumins wurde nach F. Hofmeister's¹⁾ Angaben durchgeführt. Mit Hilfe der Einimpfung von vorräthigem krystallisirten Material gelang es bei Anwendung frischer Eier in der Regel in 1—2 Wochen ans Ziel zu kommen. Durch Umkrystallisiren konnten die zunächst noch beigemengten Globuliten leicht beseitigt werden. Ein zweimaliges Umkrystallisiren und Waschen der Krystalle mit halbgesättigter Ammonsulfatlösung war hierzu in der Regel genügend.

Um die Bedingungen einer maximalen oder doch constanten Jodeinführung zu ermitteln, wurden sie in den einzelnen Darstellungsversuchen unter Verwendung von Serumalbumin in mannigfaltiger Weise abgeändert.

1. Reaction. Bis auf Blum und Vaubel haben alle bisherigen Untersucher die Jodirung theils in absichtlich angesäuerter Lösung, theils bei jener sauren Reaction vorgenommen, die sich in Folge der Bildung von Jodwasserstoff einstellt. Ich habe in einzelnen Versuchen ohne Zusatz, in anderen mit Zusatz von Säure operirt; in einem Versuche aber durch Zusatz von überschüssigem Magnesiumcarbonat für eine stete

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. XIV, S. 165 und XXIV, S. 161.

Abstumpfung der freiwerdenden Säure Sorge getragen, so dass sich in diesem Falle die Jodirung in schwach alkalischer Lösung vollzog.

2. Temperatur. Ein grosser Theil der Versuche wurde bei einer Temperatur von 40—50°, ein anderer auf dem Wasserbade durchgeführt.

3. Die Zeitdauer wechselte von 1 Stunde bis zu 7 Tagen.

4. Die Jodzufuhr erfolgte theils durch Zusatz von Jod als solchem neben Jodkalium, theils durch Zufuhr von Jodkalium und jodsaurem Kalium, wobei durch einen entsprechenden Zusatz von Schwefelsäure für das Freiwerden des Jods gesorgt wurde.

Da bei der zu erwartenden Jodsubstitution die Bildung von Jodwasserstoff zu erwarten ist, der seinerseits die weitere Jodirung zu hindern pflegt, so wurde, um ihn unschädlich zu machen, in einem Versuche, wie schon erwähnt, Magnesiumcarbonat, in anderen Fällen jodsaures Kalium zugefügt. Um aber einerseits den Einfluss der Jodwasserstoffsäure, andererseits der Jodsäure klarzustellen, wurden Versuche mit überschüssiger Jodwasserstoffsäure (beim Eieralbumin, siehe unten) und mit Jod neben viel Jodsäure (beim Serumalbumin) angestellt.

Der entstandene Jodeiweissniederschlag wurde zur Entfernung von Jod und Jodwasserstoff durch 2—3maliges Lösen in schwachem Ammoniak, Ausfällen mit Essigsäure unter Verwendung eines Ueberschusses und Auswaschen mit Wasser bis zum Verschwinden der Jodreaction, dann Auswaschen mit Alkohol und Aether gereinigt.

Zur Prüfung auf Anwesenheit von Jod oder Kaliumjodid ging ich in nachstehender Weise vor. Ein Theil des Niederschlages wurde mit verdünnter Schwefelsäure, Kaliumnitrit und Chloroform kräftig geschüttelt. Trat innerhalb der ersten 15 Minuten keine Färbung des Chloroforms auf, so wurde der Niederschlag als frei von anhaftendem Jod angesehen. Nach 15—30 Minuten gibt Jodeiweiss stets Spuren von Jod ab, was der Einwirkung der zugefügten Schwefelsäure zuzuschreiben sein dürfte.

III.

Eigenschaften und Zusammensetzung des jodirten Serumalbumins.

Ich habe von Jodserumalbumin 10 verschiedene Präparate dargestellt und mehr oder weniger vollständig analysirt. Die Verschiedenheit der dabei eingehaltenen Bedingungen ist aus Nachstehendem ersichtlich.

Präparat A₁ (Jod, Jodkalium, jodsaures Kalium; Temperatur 40—50° C., Dauer der Einwirkung 3×24 Stunden).

Ca. 5,0 krystallisirtes Serumalbumin, 2,0 Jodkalium, 1,0 Jod, 0,05 jodsaures Kalium wurden in 250 ccm. Wasser zusammengebracht. Unter häufigem Schütteln wurde die Mischung 3 Tage lang bei 40—50° C. stehen gelassen. Die Bildung des braunen voluminösen Niederschlages erfolgte erst am zweiten Tage; die über der Fällung stehende Flüssigkeit enthielt, dem Anscheine nach, nur eine geringe Menge freien Jods, da sie schwach gelb gefärbt war. Der Niederschlag wurde abfiltrirt und mit Wasser so lange gewaschen, bis keine Reaction auf Ammonsulfat mehr eintrat. Dann wurde er dreimal in verdünntem Ammoniak gelöst und mit Essigsäure wieder ausgefällt, schliesslich auf einem seidnen Filter gesammelt, aufs Neue mit Wasser, 95%igem Alkohol und Aether so lange gewaschen, bis die Reaction auf Jod, resp. Jodwasserstoffsäure verschwunden war. Zur Analyse gelangte das bei 110° bis zu constantem Gewichte getrocknete Präparat.

Präparat A₂ (Jod, Jodkalium, jodsaures Kalium; Temperatur 40—50°, Dauer der Einwirkung 4×24 Stunden).

Verwendet wurden ca. 20,0 krystallisirtes Serumalbumin, 16,0 Jodkalium, 8,0 Jod, 0,4 jodsaures Kalium, ca. 750 ccm. Wasser. Die Mischung stand 4 Tage bei 40—50° C.; der Ueberschuss von freiem Jod in der Flüssigkeit war bedeutend. Die übrige Bearbeitung des Niederschlages wurde genau wie bei Präparat A₁ ausgeführt.

Präparat A₃ (Jod, Jodkalium, jodsaures Kalium; Temperatur 40—50°, Digestionsdauer 7×24 Stunden).

Ca. 10,0 krystallisirtes Serumalbumin, 10,0 Jodkalium, 5,0 Jod, 0,2 jodsaures Kalium, 600 ccm. Wasser. Das Gemisch stand 7 Tage bei 40—50° C. Der Jodüberschuss war sehr gross; alles Uebrige wie früher.

Präparat A₄ (Jod, Jodkalium, jodsaures Kalium; Temperatur 40—50° C., Versuchsdauer 7×24 Stunden).

Ca. 13,0 krystallisirtes Serumalbumin, 15,0 Jodkalium, 7,5 Jod, 0,3 jodsaures Kalium, 600 ccm. Wasser wurden gemischt. Die Mischung stand 7 Tage bei 40—50° C. Die Behandlung so wie früher.

Präparat A₅ (Jodkalium, Jodsäure, Schwefelsäure; Temperatur 40—50°, Digestionsdauer 7×24 Stunden).

Ca. 20.0 krystallisirtes Serumalbumin, 15.0 Jodkalium, 10.5 Jodsäure, 2.43 cem. concentrirte Schwefelsäure (4.42 gr. Schwefelsäure), ca. 900 cem. Wasser. Die Menge der Jodsäure war so hoch gewählt, um die Wirkung des bei der Jodirung des Eiweisses sich etwa bildenden Jodwasserstoffs vollständig zu eliminiren. Concentrirte Schwefelsäure war in der Menge zugesetzt, welche die Reaction nach folgender Formel erfordert:



Zur Albuminlösung wurde zunächst Jodkalium hinzugefügt, darauf Jodsäure, schliesslich die vorher mit 200 cem. Wasser verdünnte concentrirte Schwefelsäure. Dabei wurde die Mischung beständig geschüttelt und darauf bei 40–50° der Ruhe überlassen. Die Mischung stand im Ganzen 7 Tage und wurde häufig durchgeschüttelt; der Ueberschuss an freiem Jod war sehr gross. Das Filtrat von dem dunkelbraunen Niederschlag besass schwach saure Reaction und gab auf Zusatz gesättigter Ammonsulfatlösung eine starke Fällung. Das erhaltene Jodprodukt wurde successive dreimal in verdünntem Ammoniak gelöst und mit Essigsäure gefällt, worauf der Niederschlag 4 Tage lang ausgewaschen wurde, d. h. so lange, bis das Waschwasser keine Reaction auf Jod mehr gab. Dabei verlor der Niederschlag seine bräunlichgelbe Farbe und nahm einen grauen Ton an. Er wurde darauf mit Alkohol und Aether ausgewaschen, bis das Filtrat keine Jodreaction mehr gab.

Präparat A₆ (Jodkalium, jodsaures Kalium, Schwefelsäure; Temperatur 90–100°, Versuchsdauer 4 Stunden).

Ca. 10.0 krystallisirtes Serumalbumin, 5.0 Jodkalium, 2.5 jodsaures Kalium, 2 cem. Schwefelsäure, ca. 300 cem. Wasser. Die mit Wasser verdünnte Säure wurde zuletzt hinzugefügt, wobei fast sofort der braune Niederschlag entstand. Die Mischung wurde auf dem Wasserbad 4 Stunden lang unter beständigem Schütteln erhitzt; der Ueberschuss an freiem Jod war bedeutend. Die Behandlung des Niederschlags war wie bei A₅. Das erste Filtrat vom erhaltenen Jodprodukt wurde auf ein kleines Volumen eingedampft, wobei das freie Jod sich fast vollständig verflüchtigte und die Flüssigkeit nicht gelb gefärbt erschien. Nach der Neutralisation mit Kalilauge wurde sie mit gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt, wobei sich ein brauner Niederschlag bildete. Dieser wurde mit Ammonsulfatlösung bis zum Verschwinden der Jodkaliumreaction ausgewaschen und darauf in Wasser gelöst; die gewonnene Lösung gab eine sehr starke Biuretreaction (von rothvioletter Farbe), dagegen nicht die Millon'sche oder Molisch'sche Probe. Die wässrige Lösung des Niederschlags wurde zur Trockene verdampft und mit Soda und Salpeter zusammengeschmolzen; die erhaltene Schmelze gab eine sehr scharfe Jodreaction.

Präparat A₇ (Jodkalium, jodsaures Kalium, Schwefelsäure; Temperatur 90–100°, Versuchsdauer 4³/₄ Stunden).

Genommen wurden ca. 8,0 krystallisirtes Serumalbumin, 5,0 Jodkalium, 2,5 jodsaures Kalium, 2 ccm. concentrirte Schwefelsäure, ca. 500 ccm. Wasser. Die Mischung wurde unter häufigem Schütteln 4 Stunden 45 Minuten lang auf dem Wasserbade erhitzt. Die weitere Bearbeitung des Präparates wie früher.

Präparat A₈ (Jodkalium, jodsaures Kalium, Schwefelsäure; Temperatur 90—100°, Versuchsdauer 6 Stunden).

Genommen wurden ca. 6,0 krystallisirtes Serumalbumin, 5,0 Jodkalium, 2,5 jodsaures Kalium, 2 ccm. concentrirte Schwefelsäure, ca. 400 ccm. Wasser. Die Mischung wurde 6 Stunden lang auf dem Wasserbade erhitzt. Der Ueberschuss von freiem Jod war sehr gross. Die Bearbeitung des Präparates wie vorher. Die Filtrate von den Niederschlägen 7 und 8 gaben beim Versetzen mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung starke braune Fällungen, wie bei Präparat A₆.

Präparat A₉ (Jodkalium, jodsaures Kalium, Schwefelsäure; Temperatur 90—100°, Versuchsdauer 1 Stunde).

Genommen wurden ca. 10,0 krystallisirtes Serumalbumin, 5,0 Jodkalium, 2,5 jodsaures Kalium, 2 ccm. concentrirte Schwefelsäure, ca. 350 ccm. Wasser. Die Mischung wurde unter beständigem Schütteln 1 Stunde auf dem Wasserbad erhitzt und darauf über Nacht erkalten gelassen. Das Filtrat des Niederschlages gab mit Ammonsulfat eine bedeutende Fällung.

Präparat A₁₀ (Jod, Jodkalium, Magnesiumcarbonat; Temperatur 40—50°, Versuchsdauer 7 × 24 Stunden).

Ca. 20,0 krystallisirtes Serumalbumin, 15,0 Jod, 10,0 Jodkalium, 10,0 Magnesiumcarbonat, ca. 600 ccm. Wasser. Die Mischung stand 7 Tage bei einer Temperatur von 40—50°, die Reaction war anfangs neutral, wurde jedoch in der Folge alkalisch. Eine Fällung von Albumin in der Flüssigkeit fand nicht statt. Die Flüssigkeit war wenig gefärbt. Sie wurde filtrirt, das Filtrat mit Ammoniak versetzt und darauf mit Essigsäure gefällt. Die weitere Behandlung des Präparates wie vordem.

Die dargestellten Präparate des Serumalbumins besaßen im Allgemeinen dieselben Eigenschaften, wie das Jodalbumin Hofmeister's. Das getrocknete und zu Pulver zerriebene Jodserumalbumin war gewöhnlich von bräunlich grauer Farbe, unlöslich in Wasser und Alkohol, leicht löslich in Alkalien: aus alkalischer Lösung liess es sich durch vorsichtiges Ansäuern mit Essigsäure in Form eines voluminösen Niederschlages quantitativ herausfällen, der sich im Ueberschuss von Essigsäure etwas löste. Es gab die Xanthoprotein- und Biuret-

Präparat	A ₁		A ₂	
Zusatz	J. KJ, KJO ₃		J, KJ, KJO ₃	
Temperatur	40—50°		40—50°	
Dauer der Einwirkung . .	3 × 24 Stunden		4 × 24 Stunden	
		Mittel		Mittel
C	—	—	—	—
H	—	—	—	—
J	10,75, 10,75, 10,38	10,62	12,29, 12,16, 12,04	12,16
N	14,46	14,46	14,59, 14,56	14,57
S	1,93, 1,81	1,87	1,51, 1,69	1,60
O	—	—	—	—

A ₃		A ₄		A ₅	
J, KJ, KJO ₃		J, KJ, KJO ₃		KJ, KJO ₃ , H ₂ SO ₄	
40—50°		40—50°		40—50°	
7 × 24 Stunden		7 × 24 Stunden		7 × 24 Stunden	
	Mittel		Mittel		Mittel
47,49, 47,66	47,57	—	—	49,09	49,09
6,13, 6,09	6,11	—	—	6,45	6,45
12,11, 11,99	12,05	11,93	11,93	9,99, 9,73	9,86
14,56	14,56	14,62	14,62	15,39, 15,39	15,39
1,13	1,13	0,93	0,93	—	} 19,21
—	18,59	—	—	—	

Präparat	A ₉		A ₆	
Zusatz	KJ, KJO ₃ , H ₂ SO ₄		KJ, KJO ₃ , H ₂ SO ₄	
Temperatur	90—100°		90—100°	
Dauer der Einwirkung . .	1 Stunde		4 Stunden	
		Mittel		Mittel
C	47,87, 48,09	47,98	48,11, 47,39	47,75?
H	6,31, 6,31	6,31	6,00, 6,18	6,09
J	12,24, 12,32, 12,31	12,28	12,11, 11,76, 12,10	11,99
N	14,45, 14,42	14,43	14,34, 14,40	14,37
S	0,84, 0,88	0,86	1,06, 1,15	1,10
O	—	18,14	—	18,70?

A ₇		A ₈		A ₁₀	
KJ, KJO ₃ , H ₂ SO ₄		KJ, KJO ₃ , H ₂ SO ₄		J, KJ, MgCO ₃	
90—100°		90—100°		40—50°	
4¾ Stunden		6 Stunden		7 × 24 Stunden	
	Mittel		Mittel		Mittel
—	—	—	—	47,89, 48,05	47,97
—	—	—	—	6,26, 6,11	6,18
11,86	11,86	11,66, 11,30	11,48	10,92, 10,98	10,95
14,59	14,59	14,59	14,59	14,86, 14,90	14,88
—	—	—	—	1,44	1,44
—	—	—	—	—	18,58

probe, sowie die Zuckerreaction nach Molisch (mit α -Naphthol, jedoch nicht die Reactionen von Adamkiewicz und Millon. Es hinterliess beim Verbrennen keine Asche. Leicht abspaltbarer Schwefel wurde nur in den Präparaten A_1 und A_2 constatirt; beim Kochen des Jodserumalbumins mit Bleiacetat in alkalischer Lösung trat in diesen Fällen eine Schwärzung der Flüssigkeit ein.

Die Resultate der Elementaranalyse der von mir dargestellten Jodserumalbumin-Präparate sind in der umstehenden Uebersichtstafel (Seite 172-173) angeführt.

Die Bestimmung des Kohlenstoffs und Wasserstoffs geschah durch Verbrennung im offenen Rohre mit Bleichromat, Kupferoxyd und vorgelegter Silberspirale im Luft- und Sauerstoffstrom. Der Stickstoff wurde nach Kjeldahl, der Schwefel nach v. Asboth-Düring bestimmt.

Zur Jodbestimmung benutzte ich zumeist das Volhard'sche Verfahren, welches nach Hofmeister's, von Blum und Vaubel bestätigter Angabe bei den Jodderivaten der Eiweisskörper gute Resultate gibt. Ich selbst habe bei Vergleichsbestimmungen nach Volhard und Carius identische Werthe erhalten. So gab Präparat A_1 nach Carius 10.98, nach Volhard 10.92% Jod; doch setzt das vielfach so bequeme Volhard'sche Verfahren grosse Sorgfalt und Vorsicht bei der Ausführung voraus.

IV.

Discussion der analytischen Ergebnisse.

Der Vergleichung der in der Tabelle angeführten Werthe entnimmt man sofort, dass unter verschiedenen Bedingungen der Jodirung ein gleicher Jodgehalt des Produktes von rund 12% erhalten werden kann (Präparat A_2 , A_3 , A_4 , A_6 , A_7 , A_9) und dass dieser Jodgehalt zugleich der erreichbar höchste ist. Sollen jedoch aus diesem Befund Schlüsse auf das Molekulargewicht des Serumalbumins gestattet sein, so muss der Nachweis geführt werden, dass auch im Uebrigen die Zusammensetzung der gewonnenen Produkte die gleiche ist, und dass sie aus der Muttersubstanz, dem Serumalbumin, direkt, nicht erst durch einen Spaltungsvorgang hervorgehen: denn der maximale Jodgehalt könnte ebensowohl durch eine entsprechende Jodaufnahme seitens des ganzen Moleküls, wie bei geringerer Jodaufnahme durch Abspaltung jodarmer Gruppen bedingt sein.

Ein Blick auf die gefundenen Schwefelwerthe lehrt, dass eine völlige Identität der erhaltenen maximal jodirten Produkte nicht besteht. Hingegen lassen bei ihnen die Kohlenstoff- und Stickstoffwerthe und ihr Verhältniss zu einander eine beachtenswerthe Uebereinstimmung erkennen. Aus der Betrachtung dieser beiden Momente lässt sich der Einfluss der einzelnen Reaktionsbedingungen auf die endgültige Jodaufnahme am besten entnehmen.

I. Einfluss der sauren Reaction. Wie F. Goldschmidt¹⁾ in sorgfältigen Versuchen ermittelt hat, ist das krystallisirte Serumalbumin gegen Säure relativ widerstandsfähig. Bei 40° war eine Veränderung desselben durch $\frac{1}{16}$ Normalsalzsäure in merklichem Maasse erst in 48 Stunden, durch $\frac{1}{4}$ Normalsalzsäure in 16 Stunden erkennbar. Dabei war es keineswegs Acidalbumin, das als erstes Produkt der Säurewirkung auftrat, sondern eine kleine Menge primärer und secundärer Albumosen. Hingegen führte $\frac{1}{16}$ Normalsalzsäure bei 95° schon in einer Stunde zur Bildung von Acidalbumin, primären und secundären Albumosen.

Die von mir analysirten Präparate lassen sich in Betreff der Reaction gruppiren: 1) in solche, wo die Reaction im Beginn neutral war, allmählich aber in Folge der Bildung von Jodwasserstoff sauer wurde (A_1, A_2, A_3, A_4); 2) wo die Reaction durch Säurezusatz von Anbeginn sauer erhalten wurde (A_5, A_6, A_7, A_8, A_9); 3) wo durch Zusatz von Magnesiumcarbonat für eine stetige Neutralisation der entstandenen Säure Sorge getragen war (A_{10}).

Nach dem eben angeführten Befunde von Goldschmidt wäre zu erwarten gewesen, dass bei den ersten 2 Gruppen neben dem Jodprodukt sich merkliche Mengen abgespaltener Albumosen in der Reactionsflüssigkeit finden liessen. Dies war aber nur

1) Ueber die Einwirkung von Säuren auf Eiweissstoffe. Dissertation Strassburg 1898. Die Untersuchungen von Goldschmidt sind nach Abschluss meiner Versuche über Eiweissjodirung ausgeführt worden. Ich konnte daher aus ihrem Ergebniss leider für meine Arbeit keinen Nutzen ziehen. Sie geben aber Anhaltspunkte für die Beurtheilung meiner Versuchsergebnisse.

bei den im Wasserbad hergestellten Präparaten der Fall, ähnlich wie auch beim Eiereiweiss (s. unten), wo die relative Resistenz des sonst leicht angreifbaren Eiweisskörpers noch mehr auffällt. Es macht geradezu den Eindruck, dass die einmal erfolgte Jodirung Schutz gegen die weitere Aufspaltung durch Säure gewährt. Wenn bei ein- und mehrstündigem Erhitzen auf 100° in der absichtlich sauer gemachten Lösung (Gruppe 2) Albumosen auftraten, so ist das übrigens noch kein Beweiss dafür, dass diese Abspaltung schon vor Eintritt des Jods stattgefunden hat. Da diese Albumosen, wo darauf geachtet wurde, sich selbst als jodhaltig erwiesen, so blieb es fraglich, ob sie nicht einer nachträglichen Spaltung des bereits fertig jodirten Albumins entstammen. Es bleibt dann immer noch möglich, dass die vorgefundene Hauptmenge von jodirtem Eiweiss dem ursprünglichen unverkleinerten Molekül entspricht.

Dem widerspricht nur die Thatsache, dass die verschiedenen Jodprodukte in ihrem Schwefelgehalt merkliche Abweichungen unter einander und eine der Intensität des chemischen Eingriffs nahezu proportionale Abnahme der Schwefelwerthe erkennen lassen.

Somit erfährt das ursprüngliche Eiweissmolekül selbst bei 40—45° eine Veränderung, die sich als Abgabe von Schwefel oder einer schwefelhaltigen Gruppe darstellt. Um zu prüfen, ob hier eine tiefgreifende Spaltung des Materials vorliegt, kann man als Kriterium das gegenseitige Verhältniss der Kohlenstoff- und Stickstoffatome heranziehen. Es ist sehr unwahrscheinlich, dass eine tiefgreifende Spaltung, d. i. eine Abspaltung irgend grösserer Complexe, dieses Verhältniss intact lassen sollte.

In dieser Beziehung zeigen nun die analysirten Präparate A₃, A₉, A₆ keine auffallende Abweichung von der Muttersubstanz, wohl aber Präparat A₅ und A₁₀.

	Serumalbumin	Präp. A ₃	A ₉	A ₆	A ₅	A ₁₀
C: N-Relation	3,888	3,811	3,855	3,878	3,729	3,761

Man muss daher zunächst annehmen, dass bei der Bildung der in saurer Lösung erhaltenen Präparate, wo keine Säure zugeführt wurde (Präparat A₁—A₄), oder diese nur kurze Zeit einwirken konnte (Präparat A₉ und A₆), eine Abspaltung von

Albumosen nicht oder nur in geringem Umfang eingetreten sein konnte, und ist sonach berechtigt, die erhaltenen Körper als Derivate eines, wenn auch nicht intacten, so doch nur wenig veränderten Eiweissmoleküls anzusehen. Wird der Säuregrad absichtlich gesteigert, wie im Präparat 5, dann allerdings tritt eine Aenderung in dem C:N-Verhältniss ein. In diesem Fall erhält man aber nicht, wie man erwarten könnte, jodreichere, sondern jodärmere Produkte.

Wie Blum und Vaubel und ich unabhängig von einander gefunden haben, gelingt die Jodirung auch bei neutraler oder schwach alkalischer Reaction. Blum und Vaubel glauben nur auf diesem Wege zu Jodderivaten des intacten Eiweissmoleküls gelangen zu können. Meine Erfahrungen stehen damit nicht ganz im Einklang. Zwar wird der Schwefelgehalt, wie aus der Analyse des Präparates A₁₀ hervorgeht, nicht in dem Maasse verändert, wie in derselben Zeit bei saurer Reaction: er geht nur auf 1,44 %₀, gegen 1,9 %₀ des nativen Eiweisses, zurück. Allein das C:N-Verhältniss erfährt eine stärkere Veränderung, als selbst bei Einhalten von mässig saurer Reaction bei 90–100° (3,761 gegen 3,888 der Muttersubstanz). Es erfolgt hier sonach in geringem Umfange Abspaltung einer kohlenstoffreicheren, stickstoffärmeren oder stickstofffreien Substanz.

II. Der Einfluss der erhöhten Temperatur macht sich in Beschleunigung der Jodaufnahme geltend, wie am besten daraus hervorgeht, dass bei 90–100° in einer Stunde ebensoviel Jod aufgenommen wurde, wie bei 40° in 4×24 Stunden. Längere Einwirkung der Temperatur drückt in Folge secundärer Vorgänge den Jodgehalt des resultirenden Präparats wieder herunter (Präparat A₈). Dass sich bei saurer Reaction auch eine raschere Abnahme des Schwefelgehalts und auch merkliche Albumosenbildung einstellen, ist bereits hervorgehoben worden.

III. Der Einfluss der Digestionsdauer ist bei 40–50° wenig, bei 90–100° recht merklich. In beiden Fällen hat die längere Jodeinwirkung von einem gewissen Punkt ab (4×24 Stunden bei 40–50° und 1 Stunde bei 90–100°) keine Vermehrung, sondern eine, wenn auch geringe, Verminderung des Jodgehalts zur Folge.

V.

Beziehung des Jodprodukts zur Muttersubstanz.

Die Thatsache, dass trotz wechselnder Jodirungsbedingungen kein Jodprodukt erhalten wurde, in dem mit Sicherheit das Albuminmolekül als ganz intact angenommen werden kann, zwingt zu grosser Vorsicht bei Verwerthung der analytischen Ergebnisse für die Ermittlung des Molekulargewichts. Immerhin kann eine Betrachtung der einschlägigen Beziehungen nicht bei Seite gelassen werden, da, bei dem Fehlen irgend besserer Anhaltspunkte, die gefundenen Thatsachen für so lange, als nicht die Bestimmung des Molekulargewichts der Eiweisskörper auf anderem, zuverlässigerem Wege gelingt, auf Werth Anspruch erheben können. Auch ist bei dem Umstand, dass das krystallisirte Serumalbumin ein relativ beständiger Eiweisskörper ist, jedenfalls viel beständiger als das krystallisirte Eieralbumin¹⁾ oder das Hämoglobin, vorläufig wenig Aussicht, bei einem anderen Proteinkörper dem erstrebten Ziele näher zu kommen.

Für das krystallisirte Serumalbumin liegen sorgfältige Analysen von Gürber und Michel²⁾, sowie von Fr. N. Schulz³⁾, überdies genaue Schwefelbestimmungen von E. Middeldorf⁴⁾ vor.

Für eine Berechnung des Molekulargewichts aus diesen Analysen ist massgebend, ob im Eiweissmolekül ein oder mehrere Schwefelatome vorhanden sind.

Fr. N. Schulz hat mit Hülfe eines sorgfältig ausgearbeiteten und an Stoffen bekannter Zusammensetzung geprüften Verfahrens gezeigt, dass sich von den 1,9% Schwefel durch Kochen mit Metalloxyden in alkalischer Lösung unter Ausschluss secundärer Oxydation 1,28%, also fast genau zwei Drittel, in Form von Sulfid abspalten lassen, woraus sich ergibt, dass im krystallisirten Serumalbumin 3 Atome Schwefel oder ein Multiplum davon enthalten sein müssen.

1) Vergl. die einschlägigen Erfahrungen von F. Goldschmidt l. c.

2) Verhandlungen d. Würzburger physik.-med. Ges. N. F. XXIX. 117.

3) Zeitschrift f. physiol. Chemie XXV. S. 29.

4) Verhandlungen d. Würzburger physik.-med. Gesellschaft N. F. XXXI. Sep.-Abdr.

Middeldorf hat bei ähnlicher Versuchsanordnung, bei der aber die nachträgliche Oxydation des bereits gebildeten Schwefelbleis nicht ausgeschlossen war, die Menge des abspaltbaren Schwefels zu 1.113 bestimmt, und zieht daraus den Schluss, dass sich die Menge des Sulfid-schwefels zum nicht abspaltbaren wie 1.113 : 0.762 = 3:2 verhält. Demnach müsste das Serumalbumin zum Mindesten 5 Schwefelatome enthalten. Da Middeldorf's Verfahren, wie bemerkt, die nachträgliche Oxydation des bereits gebildeten Bleisulfids nicht ausschliesst, können die darnach gewonnenen Werthe nicht in Betracht kommen.

Auf Grund der einfachsten Annahme, dass 3 oder 6 Schwefelatome im krystallisirten Serumalbumin enthalten sind, ergaben sich aus den Analysenzahlen die Formeln: $C_{225}H_{360}N_{58}S_3O_{70}$ oder $C_{447}H_{719}N_{115}S_6O_{139}$, die vorläufig als der kürzeste Ausdruck der analytischen Resultate anzusehen sind.

A			B		
C ₂₂₅	=	2700 = 53,07	C ₄₄₇	=	5364 = 53,06
H ₃₆₀	=	360 = 7,07	H ₇₁₉	=	719 = 7,11
N ₅₈	=	812 = 15,96	N ₁₁₅	=	1610 = 15,93
S ₃	=	96 = 1,89	S ₆	=	192 = 1,90
O ₇₀	=	1120 = 22,01	O ₁₃₉	=	2224 = 22,00
		<hr/> 5088			<hr/> 10109
		100,00			100,00

Gefunden im Mittel

	Michel	Schulz	Middeldorf
C	53,08	52,95	—
H	7,10	6,96	—
N	15,93	—	—
S	1,90	1,94	1,88
O	21,99	—	—
	<hr/> 100,00		

Versucht man auf Grund der Formel A die Anzahl der eingetretenen Jodatome zu berechnen, so ergibt sich, dass auf 58 N 5 1/2 Jod kommen, dass somit die Formel A verdoppelt, oder die Formel B gewählt werden muss. Unter Rücksichtnahme auf den geringeren Schwefelgehalt ergibt sich dann als eine Formel, welche annähernd die Zusammensetzung des erhaltenen Jodsubstitutionsproduktes ausdrückt, die folgende: $C_{450}H_{693}J_{11}N_{116}S_4O_{132}$.

			Gefunden :					
			A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	A ₆	A ₇
C ₄₅₀	= 5400	= 47,56 %	—	47,57	—	47,98	47,75	—
H ₆₉₃	= 693	= 6,10 „	—	6,11	—	6,31	6,09	—
J ₁₁	= 1397	= 12,30 „	12,16	12,05	11,93	12,28	11,99	11,86
N ₁₁₆	= 1624	= 14,30 „	14,56	14,56	14,62	14,43	14,37	14,59
S ₄	= 128	= 1,13 „	1,60	1,13	0,93	0,86	1,10	—
O ₁₃₂	= 2112	= 18,60 „	—	18,58	—	18,14	18,70	—
	<u>11354</u>	<u>100,00</u>		<u>100,00</u>		<u>100,00</u>	<u>100,00</u>	

Beim Vergleich dieser Zahlen mit Formel A oder B sieht man, dass die Jodirung des Serumalbumins sich nicht durch einfache Vertretung von 11 H durch 11 J vollzieht, sondern dass eine von der Intensität des Eingriffs abhängige Schwefelabspaltung, überdies aber auch eine Abgabe von Sauerstoff und Wasserstoff erfolgt. Da sich bei der Jodirung Jodwasserstoff bildet, erscheint zunächst eine partielle Reduction des Jodproduktes nicht ausgeschlossen. Da aber die gleiche Erscheinung auch bei Jodirung in neutraler oder schwach alkalischer Lösung eintritt (Präparat A₁₀), so ist diese Erklärung nicht wahrscheinlich. Es kann sich daher nicht bloss um eine Sauerstoffabgabe handeln, sondern, wie auch aus den Wasserstoffwerthen wahrscheinlich wird, um einen Wasserverlust. Möglicher Weise handelt es sich dabei um intramolekulare Condensationen.

Soweit die Ergebnisse meiner Versuche ein Urtheil gestatten, muss sonach das Molekulargewicht des krystallisirten Serumalbumins sehr hoch, zu 10,100—10,200 angenommen werden. Es entfernt sich dann nicht zu weit von jenem des Oxyhämoglobins, mit welchem das reine krystallisirte Serumalbumin manches in seinem molekularphysikalischen Verhalten, so die Löslichkeit in Wasser und die Fähigkeit, aus halbgesättigter Ammonsulfatlösung auszukrystallisiren, gemein hat.

VI.

Versuche mit krystallisirtem Eialbumin.

Ueber die Jodirung des rohen Hühnereiweisses liegen derzeit mehrfache Angaben vor. Hofmeister fand nach 4—8-stündiger Jodirung bei 90—100° in saurer Lösung im Produkt 7,06% Jod, Blum und Vaubel bei Jodirung in Gegenwart von

Natriumbicarbonat 6—7^o %, Hopkins und Pinkus bei einfacher Jodzufuhr (Temperatur 40^o) 7,2^o %, nach Lösung mit Soda und Fällung mit Säure 6,28^o % Jod.

Da das rohe Hühnereiweiss ein Gemenge mehrerer Eiweisskörper darstellt, so können diese Zahlen keinen Ausgangspunkt für Betrachtungen über die Molekulargrösse abgeben.

Hofmeister hat bei Jodirung des krystallisirten Eieralbumins bei sonst gleichem Verfahren ein Produkt mit 8,93^o % Jod erhalten; es müssen sonach im rohen Eiereiweiss neben dem krystallisirten Albumin noch Eiweissstoffe von geringerem Jodbindungsvermögen vorhanden sein. Das Gleiche ergibt sich bei Betrachtung der von Hopkins und Pinkus mitgetheilten Resultate über die Bromeinwirkung. Das Perbromid des rohen Eiweisses zeigte einen Gehalt von im Mittel 14,91^o % Brom, das entsprechende Produkt aus den ersten Fractionen des krystallisirten Albumins 15,29^o %, 16,48^o %, 15,67^o %, während den in den Mutterlaugen verbleibenden Eiweisskörpern ein viel geringeres Bromaufnahmevermögen zukam: 12,64^o % und 12,79^o % Brom.

Da Hofmeister sein Jodeiweiss bei 90—100^o dargestellt hatte, so erschien es erwünscht, seine Angaben durch bei 40—50^o ausgeführte Versuche zu ergänzen.

Präparat B₁ (Jod, Jodkalium, jodsaures Kalium; Temperatur 40—50^o, Digestionsdauer 5×24 Stunden). Ca. 3,5 krystallisiertes Eieralbumin, 4,5 gr. Jodkalium, 2 gr. Jod, 0,1 gr. Kaliumjodat, 250 ccm. Wasser. Die Lösung wurde unter häufigem Umschütteln bei 40—50^o stehen gelassen. Der entstandene braune Niederschlag wurde abfiltrirt; das jodreiche Filtrat gab mit gesättigter Ammonsulfatlösung keine Fällung. Die Verarbeitung des Jodproduktes erfolgte wie beim Jodserumalbumin.

Präparat B₂ (Jod, Jodkalium, Kaliumjodat; Temperatur 40—50^o, Dauer der Einwirkung 4×24 Stunden). Ca. 7 gr. krystallisiertes Eieralbumin, 8,6 Kaliumjodid, 4,0 gr. Jod, 0,2 gr. Kaliumjodat, ca. 400 ccm. Wasser. Die Mischung wird unter häufigem Schütteln 4 Tage bei 40—50^o digerirt. Verarbeitung wie gewöhnlich. Das Filtrat des gebildeten Jodalbumins gab mit gesättigter Ammonsulfatlösung keine Fällung.

Präparat B₃ (Jod, Jodkalium, Kaliumjodat, Temperatur 40—50^o, Dauer der Digestion 6×24 Stunden). Ca. 20 gr. krystallisiertes Eieralbumin, 20 gr. Jodkalium, 10 gr. Jod, 0,4 gr. Kaliumjodat, ca. 800 ccm. Wasser. Die Mischung stand unter häufigem Schütteln 6 Tage lang bei 40—50^o C. Die übrige Verarbeitung war die gewöhnliche.

Präparat B₄ (Jodwasserstoff, Temperatur 40—50°, Dauer der Einwirkung 6 × 24 Stunden). Ca. 5 gr. krystallisirtes Eieralbumin in 50 ccm. Wasser gelöst; zur Eiweisslösung wurden 125 ccm. ca. 10% iger Jodwasserstoffsäure hinzugefügt. Die Mischung stand 6 Tage bei 40—50°. Das Filtrat des erhaltenen Jodproduktes gab keinen Niederschlag mit gesättigter Ammonsulfatlösung. Die übrige Verarbeitung des Produktes war die gleiche wie oben.

Präparat B₅. Ca. 15.0 krystallisirtes Eieralbumin, 10.0 gr. Jodkalium, 7.0 gr. Kaliumjodat, 2.95 gr. concentrirter Schwefelsäure, 400 ccm. Wasser. Die Berechnung, von welcher ich mich bei diesem Versuche leiten liess, war vollkommen analog jener beim Versuch 5 (A₅) mit krystallisirtem Serumalbumin. Die concentrirte Schwefelsäure war vorher mit 200 ccm. Wasser verdünnt und wurde zur Albuminlösung zuletzt zugesetzt. Die Mischung stand unter öfterem Umschütteln 5 Tage bei 40—50° C. Die weitere Behandlung des gefällten Jodproduktes war die gleiche wie im entsprechenden Versuch mit Serumalbumin (Versuch 5). Auch hier war der Ueberschuss an freiem Jod ein sehr grosser, so dass das Auswaschen des Niederschlages mit Wasser, Alkohol und Aether sehr lange Zeit erforderte.

Die erhaltenen Präparate besaßen die gleichen Eigenschaften wie das von Hofmeister dargestellte Jodalbunin; sie gaben die Biuret- und Molisch'sche Probe, aber keine Reaction mit Millon'schem und Adamkiewicz'schem Reagens.

Mit Ausnahme des Präparates B₄ gab das Jodeieralbumin keine Reaction auf leicht abspaltbaren Schwefel beim Kochen mit Bleiacetat in alkalischer Lösung.

Die Resultate der Elementaranalyse unserer Jodeieralbuminpräparate sind in der nachstehenden Tabelle ersichtlich gemacht.

Präparat	B ₁		B ₂		B ₃	
	J, KJ, KJO ₃	Mittel	J, KJ, KJO ₃	Mittel	J, KJ, KJO ₃	Mittel
Zusatz	40—50°		40—50°		40—50°	
Temperatur	5 × 24 Stunden		4 × 24 Stunden		6 × 24 Stunden	
Digestionsdauer						
C	—	—	—	—	49.27, 48.82	49.04
H	—	—	—	—	6.19, 6.36	6.27
J	8.34, 8.16, 8.28	8.29	8.42	8.42	8.51, 8.57	8.54
N	14.26	14.26	14.43	14.43	14.61, 14.62	14.61
S	—	—	1.33	1.33	1.33	1.32
O	—	—	—	—	—	20.22

Präparat	B ₄		B ₅		Hofmeister's Jodalbumin
Zusatz	HJ		KJ, HJO ₃ , H ₂ SO ₄		KJ, HJO ₃ , H ₂ SO ₄
Temperatur	40—50°		40—50°		90—100°
Digestionsdauer	6 × 24 Stunden		5 × 24 Stunden		4 Stunden
		Mittel		Mittel	
C	—	—	49.88, 50.18	50.03	47.92
H	—	—	6.85, 6.76	6.80	6.60
J	5.42	5.42	5.84, 5.94, 6.03	5.94	8.95
N	14.65	14.65	15.01, 15.09	15.05	14.27
S	—	—	—	} 22.18	1.26
O	—	—	—		21.00

Vergleicht man die Zusammensetzung der erhaltenen Jodprodukte mit einander und mit jener von Hofmeister's Jodalbumin unter den Gesichtspunkten, die beim Jodserumalbumin festgehalten wurden, so fällt auf, dass das krystallisirte Eieralbumin seinen Schwefel nicht einbüsst, dass somit die Abspaltung eines schwefelhaltigen Complexes hier nicht weiter in Frage kommt. Berechnet man ferner das C:N-Verhältniss, so ergibt es sich für

Präp.	B ₄	B ₅	Hofmeister's Jodalbumin	krystallisirtes Eieralbumin
zu:	3.916	3.878	3.916	4.144

Hieraus folgt, dass die von Hofmeister beobachtete Veränderung in dem Verhältniss von Kohlenstoff zu Stickstoff, die ihn zu der Annahme einer Abspaltung von Kohlenhydratgruppen bei der Bildung von Jodalbumin veranlasste, auch bei 40—50° eintritt: dabei nähert sich das C:N-Verhältniss auffällig dem für krystallisirtes Serumalbumin ermittelten (3,888), was auch darin zum Ausdruck kommt, dass die oben entwickelte einfachste Formel des Serumalbumins, $C_{225}H_{330}N_{58}S_3O_{70}$, derjenigen des Jodalbumins von Hofmeister, $C_{227}H_{370}J_4N_{58}S_2O_{75}$, auffallend nahe steht.

Dass die von Hofmeister bei saurer Reaction und einer Digestionstemperatur von 90—100° beobachtete Abspaltung eines stickstofffreien oder stickstoffarmen Complexes auch schon bei 40—50° eintritt, ist im Hinblick auf die Beobachtungen von

F. Goldschmidt, wonach das Eieralbumin von Säuren ausserordentlich viel leichter angegriffen wird als das Serumalbumin, ganz verständlich. Es muss eher Wunder nehmen, dass die Abspaltung nicht weiter geht. In dieser Richtung ist bemerkenswerth, dass ich in den Filtraten von den bei 40–50° digerirten Proben keine abgespaltenen Albumosen nachzuweisen vermochte. Es stützt dies die Vermuthung, dass es sich zunächst nur um eine Abspaltung von Kohlenhydraten handelt.

Während in dieser Richtung zwischen meinen Beobachtungen und jenen Hofmeister's Uebereinstimmung herrscht, ist eine solche für die aufgenommene Jodmenge nicht vorhanden. Die erhaltenen Jodwerthe waren stets in den hier allein heranzuziehenden Präparaten B₁, B₂, B₃ merklich geringere, und diese Differenz erscheint noch grösser, wenn man bedenkt, dass Hofmeister's Präparate einen merklich höheren Sauerstoff- und Wasserstoffgehalt in Folge der bei 100° eingetretenen Wasseraufnahme aufwiesen. Dennoch kann es sich nur um denselben Körper, wengleich in einer anderen Jodirungs- und Hydratationsstufe, handeln. In der Zusammensetzung ist nämlich, vom Jod- und Wassergehalt abgesehen, kein Unterschied vorhanden. Hofmeister's Formel nimmt als Grundsubstanz des Jodalbumins einen Eiweisskörper C₂₂₇H₃₇₁N₃₈S₂O₇₅ an. Bringt man von dieser 4 H₂O in Abzug und nimmt eine Substitution durch 3,7 Jodatome für Präparat B₃, durch 2,5 Jodatome für Präparat B₁ an, so erhält man zwischen Rechnung und Versuch genügende Uebereinstimmung.

	Präparat B		Präparat C	
	berechnet:	gefunden:	berechnet:	gefunden:
C	48,92	49,14	50,29	50,03
H	6,51	6,27	6,71	6,80
J	8,43	8,54	5,86	5,94
N	14,58	14,61	14,99	15,05
S	1,15	1,32	1,18	} 22,18
O	20,41	20,22	20,97	
	<u>100,00</u>	<u>100,00</u>	<u>100,00</u>	<u>100,00</u>

Die wahrscheinlichste Deutung dieses Verhaltens ist wohl

zunächst, dass in meinen Versuchen bei Brutwärme die maximale Jodaufnahme nicht erreicht wurde. Da die Reaction in allen Versuchen zum Schlusse sauer war, so darf wohl die entstandene Jodwasserstoffsäure als das die vollständige Jodirung behindernde Moment aufgefasst werden. Diese Annahme findet eine weitere Stütze darin, dass das bei absichtlich stark sauer gewählter Reaction erhaltene Produkt (Präparat B₅) einen Jodgehalt aufweist, der kaum höher ist, als er sich bei Einwirkung von Jodwasserstoff ohne gleichzeitige Jodzugabe (Präparat B₁) einstellt.

Es wäre zu erwarten, dass bei steter Abstumpfung der Säure mit Magnesiumcarbonat sich ein höheres Jodirungsprodukt erzielen lässt, eventuell bis zu dem von Hofmeister gefundenen Verhältniss: 4 Jodatome auf 58 Stickstoff- und 2 Schwefelatome. Leider war es mir nicht mehr möglich, meine Untersuchung in dieser Richtung zu vervollständigen. Dass die Jodirung des krystallisirten Eieralbumins schwieriger zu einer maximalen gemacht werden kann als jene des krystallisirten Serumalbumins, steht aber ausser Zweifel.

Trotz einzelner Lücken zeigen die vorggeführten Versuche, dass die Jodeinführung bei gut individualisirten Eiweisskörpern grosse Verschiedenheiten zwischen ihnen hervortreten lässt, und die Aufnahmefähigkeit für Halogene somit, wie auch Blum und Vaubel hervorheben, unter jene Momente aufzunehmen ist, welche eine chemische Charakterisirung der einzelnen Proteinstoffe gestatten. Dabei sind die bisher gefundenen Werthe, 9 % Jod für reines Eieralbumin, 12 % Jod für Serumalbumin, sicher nicht die am weitesten auseinanderliegenden, denn, wie oben bemerkt, enthält das Roheiweiss des Hühner-eies Proteinstoffe mit viel geringerem Bindungsvermögen (sicher unter 6,2 % Jod), während die Beobachtung von Blum und Vaubel, dass das nicht weiter gereinigte Myosin 11 bis 12 % Jod aufnimmt, auf die Anwesenheit noch höher jodirbarer Eiweisskörper im Muskelplasma schliessen lässt.

Die Verwendung der Jodaufnahmefähigkeit für die Unterscheidung der Proteinstoffe würde sehr an Werth gewinnen, wenn sich sicherstellen liesse, von welchen Structureigenthüm-

lichkeiten der einzelnen Eiweissstoffe sie abhängt. Darüber müssen weitere Untersuchungen Aufklärung geben.¹⁾ Ich musste mich im Hinblick auf die mir für Ausführung dieser Versuche zugemessene Zeit begnügen, die Bedingungen für die Gewinnung constant zusammengesetzter Produkte bei möglichstem Intactbleiben des Eiweissmoleküls genauer festzustellen und so die Grundlage für einen weiteren planmässigen Abbau der Substitutionsprodukte zu schaffen.

¹⁾ Solche Untersuchungen sind im hiesigen Institut seit geraumer Zeit im Gang.