

## Kommt in der Sepia-Schulpe Cellulose vor?

Von

Fr. N. Schulz.

Aus dem physiologischen Institut zu Jena. (Chemische Abtheilung.)  
(Der Redaction zugegangen am 1. Januar 1900.)

Ambrohn<sup>1)</sup> hat die Meinung ausgesprochen, dass in den sogenannten Sepiaknochen neben dem Chitin eine Cellulose vorhanden sei. Er stützt sich hierbei einmal auf das Verhalten der durch Säure entkalkten organischen Stützsubstanz gegen Jod und Schwefelsäure, sowie gegen Chlorzinkjodlösung. Sodann macht er aber auch die Angabe, er habe durch Schweitzer'sches Reagens diese Cellulose isolirt. Beim Ansäuern des Kupferoxydammoniakauszugs mit Salzsäure entstand ein feiner, langsam sich absetzender Niederschlag, der mit Chlorzinkjodlösung die charakteristische Violettfärbung ergab. Eine weitere Untersuchung dieses Niederschlages fand nicht statt.

Inzwischen haben die Untersuchungen von Krawkow<sup>2)</sup> und von E. Zander<sup>3)</sup> gezeigt, dass die erwähnten Farbenreactionen mit Jod für eine Anwesenheit von Cellulose neben Chitin nicht als beweisend angesehen werden können. Aber auch dem zweiten Stützpunkt Ambrohn's für seine Ansicht konnten Krawkow sowohl wie Zander sich nicht anschliessen. Krawkow sagt nur: Es ist uns nicht gelungen, die Cellulose in dem Chitin nachzuweisen, und sind wir demnach eher geneigt, an deren Vorhandensein bei den genannten Mollusken

1) Ambrohn, Mittheil. aus d. zool. Station zu Neapel. Bd. IX. S. 475—478. 1890.

2) N. P. Krawkow, Ueber verschiedenartige Chitine. Zeitschr. f. Biologie, N. F., Bd. 11. S. 177—198, 1892.

3) E. Zander, Vergl. u. krit. Untersuch. z. Verständniss d. Jodreaction des Chitins. Pflüger's Archiv, Bd. 66. S. 545—573.

zu zweifeln. Zander macht direkt die Angabe, dass es ihm nicht gelungen sei, mit Kupferoxydammoniak, selbst unter den günstigsten Bedingungen, Cellulose aus Sepiaknochen zu isoliren. Ich zweifle nicht daran, dass Ambronn einen Niederschlag mit Salzsäure in dem Kupferoxydammoniak erhalten hat, glaube aber, dass dieser Niederschlag auf Verunreinigungen durch Cellulose zurückzuführen ist. Die Berührung mit Cellulose, wie Leinwand und Filtrirpapier, ist ja bei dem Reinigungsprocess des Chitins kaum zu vermeiden.

Diese Erklärung der Angabe Ambronn's kann nicht als ausreichend betrachtet werden. Ambronn sagt an der betreffenden Stelle: „Die gewaschenen und getrockneten Schulpé wurden gepulvert, sodann entkalkt, mit frisch dargestelltem Kupferoxydammoniak extrahirt und die abfiltrirte Lösung mit Salzsäure ausgefällt.“ Von einem Reinigungsprocess des Chitins ist also nicht die Rede und es ist nicht anzunehmen, dass bei den beschriebenen Manipulationen eine Verunreinigung mit Leinwand oder Filtrirpapier stattgefunden hat, da eine Filtration unmöthig und wegen der bestehenden Gefahr auch sicher unterlassen worden ist. Auch ist der durch Salzsäure erzeugte Niederschlag offenbar nicht unbedeutend gewesen, da Ambronn empfiehlt, grössere Mengen der thierischen Cellulose darzustellen und eine eingehendere chemische Untersuchung dieses Körpers vorzunehmen.

Durch Herrn Prof. Biedermann auf diesen Widerspruch aufmerksam gemacht, habe ich es versucht, eine Aufklärung für denselben zu finden.

Zur Untersuchung gelangten gewöhnliche käufliche ossa sepiae (von Merck bezogen). An denselben lassen sich mechanisch zwei Schichten scheiden: eine harte, spröde Schicht, welche die Matrix der Schulpé darstellt, und eine weiche, poröse Schicht, in der bekannten, äusserst zierlichen, zelligen Structur. Beide Theile enthalten neben einer organischen Grundsubstanz grosse Mengen von anorganischen Salzen und zwar vorwiegend kohlensauren Kalk. In Bezug auf die organische Grundsubstanz verhalten sich die beiden Theile der Sepia-Schulpé verschieden. Beiden Theilen gemeinsam ist, wie schon längst bekannt, eine

reichliche Menge von Chitin, das bei Säurespaltung Glykosamin liefert. Die Chitinmenge ist so reichlich, dass Krukenberg<sup>1)</sup> die Sepia-Rückenschilder als am besten geeignet zur Reindarstellung des Chitins empfiehlt.

Während aber der weiche, poröse Theil als organische Grundsubstanz anscheinend ausschliesslich Chitin enthält, weist der harte, die Matrix darstellende Theil neben dem Chitin grosse Mengen von Eiweiss auf. Behandelt man den harten Theil der Schulppe nach dem Entkalken mit Salzsäure mit verdünnter Natronlauge, so gehen grosse Mengen von Eiweiss in Lösung, was schon aus der starken Biuretreaction ersichtlich ist, welche dieser Auszug gibt. Durch Neutralisation mit Salzsäure wird ein Niederschlag<sup>2)</sup> hervorgerufen, welcher sich im Ueberschuss von Salzsäure nur zum Theil auflöst.

Dieser Niederschlag gibt die gewöhnlichen Eiweissreactionen, Biuret, Millon, Xanthoproteinsäure, Adamkiewicz.

Dieses Eiweiss ist ursprünglich nicht in dieser in Alkali löslichen Form vorhanden, sondern anscheinend an irgend einen anderen Complex gebunden, aus welcher Bindung es durch die beim Entkalken angewandte Säure frei gemacht wird. Dies geht daraus hervor, dass durch direkte Extraction ohne vorheriges Entkalken mit Säure, auch wenn man aufs Feinste pulverisirt hat, sich nur Spuren von Eiweiss extrahiren lassen. Das durch die Säure frei gemachte Eiweiss ist in Säure völlig unlöslich, denn die beim Entkalken angewandte Säure gibt keine Biuretreaction.<sup>2)</sup>

Das durch die Säure frei gemachte Eiweiss wird durch die Einwirkung der Natronlauge sehr leicht verändert. Lässt man die Natronlauge (1—2%) nur kurze Zeit einwirken, so ist der beim Neutralisiren entstehende Niederschlag im Ueberschuss von Salzsäure so gut wie unlöslich. Je länger man die Lauge einwirken lässt, desto geringer ist der in Säure unlösliche Antheil, bis er schliesslich ganz verschwindet, namentlich beim Einwirken heisser Natronlauge. Der Neutralisations-

<sup>1)</sup> Vergl. physiol. Vorträge, Bd. I, S. 200, 1886.

<sup>2)</sup> Bei der Biuretprobe muss natürlich von dem durch Alkalizusatz ausgefallenen Calciumoxyd abfiltrirt werden.

niederschlag bleibt jedoch auch bei längster Einwirkung der Natronlauge bestehen. Das, sei es durch Neutralisation, sei es durch Säureüberschuss, gefällte Eiweiss zeigt grosse Neigung zum Verquellen, so dass sich der Isolirung durch Filtration und dem Auswaschen auch durch Decantation grosse Schwierigkeiten entgegenstellen.

Das Eiweiss lässt sich jedoch leicht in Form einer Kupferverbindung gewinnen. Setzt man zu der alkalischen Lösung des Eiweisses Kupferoxyd hinzu und neutralisirt nunmehr mit Salzsäure, so erhält man einen feinen, blaugrünen Neutralisationsniederschlag, der sich leicht abfiltriren, auswaschen und trocknen lässt. Der Niederschlag zeichnete sich durch einen ausserordentlich hohen Kupfergehalt aus, der bis zu 20% betrug.<sup>1)</sup> Es kommt also diesem Eiweiss ein sehr hohes Basenbindungsvermögen zu, was wohl darauf zurückzuführen ist, dass dasselbe ursprünglich in gebundener Form vorhanden war.

Der Kupferniederschlag stellt nichts Einheitliches dar, sondern ein Gemenge, denn es ergaben sich keine constanten Werthe für den Kupfergehalt.

Durch einen Ueberschuss von Salzsäure wird das Eiweiss wieder frei und es wird dadurch wieder in einen in Säure löslichen und einen unlöslichen Antheil getrennt.

Gegenüber Ammoniak verhält sich das Eiweiss der Sepia-Schulpe ganz analog. Auch im Schweitzer'schen Reagens ist es naturgemäss löslich, und aus dieser Lösung durch Neutralisation mit Salzsäure als Kupferverbindung fällbar. Beim Zerlegen mit Salzsäure im Ueberschuss bleibt ebenfalls ein Theil des Eiweisses ungelöst, der also wohl im Stande ist, Cellulose vorzutäuschen.

In dem weichen Theil der Sepia-Schulpe lässt sich von diesem Eiweiss nichts nachweisen.

Aus dem Vorstehenden ergibt sich die Erklärung des Widerspruchs zwischen der Angabe von Ambrogn einerseits und von Krawkow und Zander andererseits. Man erhält in

<sup>1)</sup> Die von Harnack untersuchten, aus gewöhnlichem Eiweiss dargestellten Kupferalbuminate enthielten 1,3% und 2,6% Cu. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. V. S. 198.

der That durch Uebersäuren des Kupferoxydammoniakauszugs der ganzen Schulppe einen Niederschlag, der jedoch nicht Cellulose, sondern Eiweiss ist.

Ambrohn gibt an, dass dieser Niederschlag sich mit Chlorzinkjod violett färbt, und findet darin seine Hauptstütze für die Annahme des Vorkommens von Cellulose. In der That kann man beim Anstellen dieser Probe mit dem fraglichen Niederschlag violett schimmernde Färbungen erhalten, für gewöhnlich nimmt derselbe jedoch die braune Färbung der Jodeiweissverbindungen an.

Der Niederschlag besteht aber auch nicht aus einem Gemenge von Eiweiss und Cellulose. Denn erstens kann man aus dem mit verdünnter Natronlauge bis zum Verschwinden der Biuretreaction extrahirten, entkalkten, harten Theil der Schulppe durch nachträgliche Extraction mit Schweitzer'schem Reagens keinen in Säure unlöslichen Theil mehr in Lösung bringen. Zweitens ist der beim direkten Extrahiren mit Schweitzer'schem Reagens erhaltene säureunlösliche Niederschlag in den geringsten Spuren von Natronlauge vollständig löslich. Drittens hat der ziemlich überflüssige Versuch, durch Säurespaltung reducirenden Zucker aus dem fraglichen Niederschlag zu erhalten, ein völlig negatives Ergebniss.

Dass Krawkow und Zander diesen säureunlöslichen Niederschlag nicht erhielten, kann einmal daran gelegen haben, dass der harte Theil der Schulppe nicht mit zur Extraction kam.<sup>1)</sup> Sodann ist aber auch zu berücksichtigen, dass durch Einwirkung des Alkali das Eiweiss vollständig in die säurelösliche Form umgewandelt werden kann.

Das angenommene Vorkommen von Cellulose bei Mollusken ist also auf einen Irrthum zurückzuführen.

Jena, den 31. December 1899.

<sup>1)</sup> Die Extractionsbedingungen sind für den harten, compacten Theil ungünstig, so dass man feinstens zerkleinern und gründlich extrahiren muss.