

Ueber die Einwirkung gespannter Wasserdämpfe auf Keratin.

Von
cand. med. **Richard Bauer.**

(Aus dem Universitäts-Institute für medicinische Chemie in Wien.)

(Der Redaction zugegangen am 23. April 1902.)

Der einzige Autor, der sich bisher mit diesem Thema beschäftigte, war Krukenberg.¹⁾ Er schloss Hornspäne mit destillirtem Wasser in Glasröhren ein und erhitze durch 24 Stunden auf 200°. Die Späne gingen in Lösung und beim Oeffnen der Röhren entwich eine grosse Menge Schwefelwasserstoff. Auf Anregung des Herrn Hofrath E. Ludwig wiederholte ich mit einigen Abänderungen die Versuche Krukenberg's, wobei ich meine Aufmerksamkeit zunächst darauf lenkte, ob nicht neben Schwefelwasserstoff noch andere flüchtige Schwefelverbindungen zur Entwicklung kämen. Der Gang der Untersuchung war folgender:

Die Hornspäne wurden zunächst mit 1%iger Kalilauge, dann mit 1%iger Salzsäure auf dem Wasserbade erwärmt; dann wurden sie im fliessenden und destillirten Wasser gewaschen, mit Alkohol und Aether in der Wärme behandelt und an der Luft getrocknet. Je 2 g der so gereinigten Substanz wurden mit 50 ccm. destillirtem Wasser in Glasröhren gefüllt, dieselben in Capillaren ausgezogen und 24 Stunden auf 150° erhitzt; es wurde absichtlich nicht wie von Krukenberg auf 200° erhitzt, da ich eine weitergehende Zersetzung nach Thunlichkeit vermeiden wollte.

¹⁾ Krukenberg, Sitzungsbericht der Jenaischen Gesellschaft f. Naturwissenschaften. 1886.

Nach dem Erkalten wurden die Röhren geöffnet, wobei sich kein besonderer Gasdruck bemerkbar machte. Wohl aber war ein intensiver lachartiger Geruch zu verspüren, der in wenigen Minuten den ganzen Arbeitsraum erfüllte. Der Röhreninhalt bestand aus einer rothgelben Flüssigkeit, in der einige ungelöste Späne umherschwammen, während die Wand der Röhren einen feinen gelblichen Beschlag zeigte. Auch Krukenberg erhielt eine gelbliche Lösung, doch thut er des lachartigen Geruches keine Erwähnung. Was diesen Geruch betrifft, bemerkt J. J. Abel¹⁾ in seiner Arbeit über das Harnsulfid des Hundes, dass es nur eine beschränkte Anzahl von Verbindungen gibt, die einen lachartigen Geruch besitzen. Es sind dies die Selenide, Telluride, Arsenverbindungen, Phosphine, Isocyanide und die flüchtigen organischen Schwefelverbindungen.

Da die vier erstgenannten Verbindungen in meiner Substanz auszuschliessen waren, die Isocyanide aber einen mehr stechenden Geruch besitzen, als der beobachtete war, so konnte es sich nur um eine flüchtige organische Schwefelverbindung handeln. Ueberdies war dies bei dem hohen Schwefelgehalt der Hornsubstanz und der leichten Abspaltbarkeit desselben sehr wahrscheinlich.

Die lachartig riechenden organischen Schwefelverbindungen sind die

Merkaptane, z. B.	CH_3SH
Sulfide	$\text{> } (\text{CH}_3)_2\text{S}$
Disulfide	$\text{> } (\text{CH}_3)_2\text{S}_2$

Zur Entscheidung, ob in einer Flüssigkeit Merkaptane und Sulfide absorbirt sind, hat J. J. Abel eine sehr brauchbare Methode angegeben. Er benutzt hierzu einerseits die von ihm entdeckte Eigenschaft der Sulfide, sich in concentrirter Schwefelsäure zu lösen, andererseits die Löslichkeit der Merkaptane in Alkalien.

Durch die zu untersuchende Flüssigkeit wird Luft geleitet, welche die flüchtigen Verbindungen mitnimmt und der

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XX.

Reihe nach durch Salzsäure, Kalilauge, Chlorcalcium und concentrirte Schwefelsäure geht.

In der Salzsäure gelangt Ammoniak, in der Kalilauge Schwefelwasserstoff und Merkaptane, in der concentrirten Schwefelsäure die organischen Sulfide zur Absorption. Das Chlorcalcium vor der Schwefelsäure dient dazu, die Sulfide zu trocknen, da sonst die Schwefelsäure Wasser anziehen würde; in verdünnter Schwefelsäure sind aber die Sulfide weniger löslich als in concentrirter.

Der Versuch wurde durch 3 Mal 24 Stunden fortgesetzt und ein halber Liter Hornspänelösung, entsprechend 20 g Spänen, hierzu verwendet. Zunächst wurde die concentrirte Schwefelsäure darauf untersucht, ob sie organische Sulfide absorbirt habe.

Es wurde unter Kühlung soviel 4%ige Schwefelsäure zugesetzt, dass eine 30%ige Säure resultirte. Diese wurde mit Aether ausgeschüttelt, der aus der verdünnten Schwefelsäure das Sulfid aufnehmen sollte. Dabei soll sich, wie Abel berichtet, der Geruch des Sulfids in sehr intensiver Weise geltend machen. In diesem Falle war hiervon nichts zu bemerken. Der Aether wurde dann mit alkoholischer Sublimatlösung versetzt, um die Verbindung des Sulfids mit Sublimat darzustellen. Aber auch dieser Versuch ergab ein völlig negatives Resultat; ebenso ging es mit den anderen von Abel benutzten Reactionen, wie Grünfärbung mit Natriumnitrit, Bildung eines Additionsproductes mit Brom und Jod.

Um ganz sicher zu gehen, stellte ich mir Aethylsulfid nach P. Clason¹⁾ synthetisch dar: dasselbe gab alle von Abel angegebenen Reactionen in ausgezeichneter Weise.

Ein organisches Sulfid liess sich also nicht nachweisen.

Die Kalilauge, die bei vorerwähntem Versuche zur Absorption von Schwefelwasserstoff und Merkaptanen verwendet worden war, hatte einen ganz intensiven Knoblauchgeruch angenommen.

Hier also schien ein Merkaptan absorbirt zu sein.

¹⁾ P. Clason, Berliner chem. Berichte, Bd. 20, S. 3407.

Eine sehr bequeme Reaction auf Mercaptane ist von Rubner¹⁾ angegeben worden. Eine gelbrothe Lösung von Isatin in concentrirter Schwefelsäure färbt sich durch Mercaptandämpfe grasgrün. Dass diese Reaction unter den hier in Betracht kommenden, flüchtigen Schwefelverbindungen nur den Mercaptanen zukommt, davon habe ich mich dadurch überzeugt, dass ich weder mit Schwefelwasserstoff, noch Schwefelammonium noch mit organischen Sulfiden Grünfärbung erhielt. Wohl aber gelang die Reaction mit Methylmercaptan, das ich nach Pierre Clason²⁾ dargestellt hatte.

Um mit dieser Reaction das in der Kalilauge absorbirte Mercaptan nachzuweisen, wurde die Lauge mit Oxalsäure neutralisirt, zum Sieden erwärmt und die Dämpfe in Isatinschwefelsäure geleitet: doch trat die erwartete Grünfärbung erst nach längerer Zeit und ziemlich undeutlich ein. Da die Verbindung der Mercaptane mit Alkalien nicht sehr beständig ist und die Lauge erst nach einiger Zeit in Arbeit genommen wurde, so war der unsichere Ausfall der Reaction leicht zu erklären.

Es wurde deshalb ein neuer Versuch ausschliesslich zum Nachweis des Mercaptans angestellt und hierbei die Dämpfe direkt in Isatinschwefelsäure geleitet.

Zu diesem Zwecke wurde eine neue Portion Hornspänelösung, bestehend aus dem Inhalt von 10 Röhren, in einen Kolben gefüllt, durch dessen doppelt gebohrten Stopfen ein langes und ein kürzeres Knierohr gesteckt waren. An das kürzere Rohr schloss sich ein Kühler und eine Woulff'sche Flasche zur Aufnahme der condensirten Dämpfe, hieran ein Chlorecalciumthurm und an diesen eine kleine Flasche mit Isatinschwefelsäure. Der Kolbeninhalt wurde mit Oxalsäure angesäuert, langsam erwärmt und mittelst Saugpumpe die Dämpfe in die Isatinschwefelsäure geleitet.

Aber auch diesmal trat die Grünfärbung der Isatinschwefelsäure erst nach geraumer Zeit und nicht so deutlich

1) Rubner, Archiv f. Hygiene, Bd. 19. 1893.

2) P. Clason, siehe oben.

ein, wie ich sie mit den Dämpfen des synthetisch dargestellten Methylmerkaptans erhalten hatte.

Ich konnte mir den unsicheren Ausfall der Reaction nur so erklären, dass ich annahm, es handle sich hier um Methylmerkaptan mit dem Siedepunkte 5,8; da dasselbe als das einzige von den Merkaptanen bei Zimmertemperatur ein Gas ist, so musste es beim Oeffnen der Röhren zum grössten Theil entwichen sein; der zurückbleibende, in der Flüssigkeit absorbirte Rest gab die obenerwähnte schwache Grünfärbung mit Isatinschwefelsäure.

Von dieser Erwägung ausgehend, kühlte ich bei Anstellung des nächsten Versuches die Röhren vor dem Oeffnen in Eis, um eine Condensation des bei 5,8° siedenden Merkaptans zu erzielen.

Diese Maassregel war von dem besten Erfolge begleitet. Diesmal trat die Grünfärbung beinahe augenblicklich ein. Kaum dass die Pumpe zu saugen begonnen hatte, und noch vor dem Erhitzen der Flüssigkeit war die Isatinschwefelsäure tiefgrün. Es hatte sich also die Vermuthung bestätigt, dass es sich hier um ein Merkaptan handle und zwar um das bei Zimmertemperatur gasförmige Methylmerkaptan.

Schaltet man vor die Isatinschwefelsäure eine Flasche mit Kalilauge, so wird der Eintritt der Reaction wesentlich verzögert; es ist dies wohl darauf zurückzuführen, dass die Merkaptandämpfe Anfangs von der Lauge absorbirt und erst nach und nach aus der wenig beständigen Verbindung frei werden.

Eine weitere Eigenschaft der Merkaptane ist, mit Quecksilbercyanid in wässriger Lösung Verbindungen einzugehen, die in verdünnter Salzsäure löslich sind. Diese Verbindung konnte jedoch nicht direkt dargestellt werden, da die der Flüssigkeit entströmenden Dämpfe neben Merkaptan reichlich Schwefelwasserstoff enthalten. Leitet man also die Dämpfe in Quecksilbercyanidlösung, so entsteht nicht das weisse Mercaptid, sondern ein gelbgrüner Niederschlag, bestehend aus Quecksilbersulfid + Merkaptid.

Um aus diesem Gemenge das Merkaptan zu gewinnen,

behandelt man den Niederschlag mit 5%iger Salzsäure in der Wärme. Die Salzsäure macht aus dem Merkaptid das Merkaptan frei, während das Sulfid von der Säure nicht angegriffen wird. Die so vom Schwefelwasserstoff befreiten Merkaptandämpfe werden wieder in Quecksilbercyanid aufgefangen und geben jetzt das reine Merkaptid.

In meinem Falle liess sich nur 0,02 g dieser Verbindung gewinnen, welche Menge zu einer Analyse nicht ausreichte. Doch entwickelte sich beim Behandeln derselben mit Salzsäure derselbe knoblauchartige Geruch, wie er Anfangs den Röhren entströmte war.

Als Resultat meiner Versuche ergibt sich also Folgendes:

Behandelt man Keratin mit gespannten Wasserdämpfen bei 150° C., so entwickelt sich neben einer grossen Menge von Schwefelwasserstoff eine lauchartig riechende Substanz, die schon bei Zimmertemperatur flüchtig ist. Dieselbe verbindet sich mit Kalilauge, gibt mit Isatinschwefelsäure Grünfärbung, verbindet sich mit Quecksilbercyanid zu einer grauweissen Verbindung, aus der sie sich durch verdünnte Salzsäure freimachen lässt. Die Substanz gibt nicht die Reactionen eines organischen Sulfids.

Ein organisches Disulfid kann der Körper nicht sein, da sein Siedepunkt nahe bei Null liegt, die Disulfide aber sämtlich bei Temperaturen von über 100° sieden.

Es ist also mit aller Wahrscheinlichkeit anzunehmen, dass ein Merkaptan, und zwar das bei Zimmertemperatur gasförmige Methylmerkaptan, den lauchartigen Geruch verursacht.

Die gelbe Flüssigkeit, welche bei der Behandlung der Hornspäne mit Wasser bei hoher Temperatur resultirt, enthält, wie Krukenberg gezeigt hat, eine Albumose, die sich von den bisher bekannten Albumosen dadurch unterscheidet, dass sie aus salzfreier Lösung durch verdünnte Säuren gefällt wird. Diese Eigenschaft besitzen nur das Neumeister'sche¹⁾ Atmidalbumin und die Atmidalbumose, zwei Körper, die Neumeister

¹⁾ Neumeister's Zeitschrift f. Biologie 1890.

aus Fibrin darstellte, indem er dasselbe mit destillirtem Wasser auf 160° im Autoclaven erhitze. Ich versuchte nun, aus der Hornspänelösung zwei ähnliche Körper zu isoliren.

Die zu diesen Versuchen nothwendigen Hornspänelösungen wurden nicht wie früher in Glasröhren, sondern im Autoclaven dargestellt. Es war auf diese Weise möglich, eine grössere Menge Keratin auf einmal zu verarbeiten. Zu der Darstellung des Merkaptans war aber der Autoclav nicht zu benutzen, da durch das Metall das Merkaptan zersetzt wurde. Ich folgte genau den Angaben Neumeister's: Die neutrale Flüssigkeit wurde auf dem Wasserbade auf das halbe Volumen concentrirt und sodann mit gepulvertem Steinsalz gesättigt. Es entsteht eine reichliche Fällung, die dem Neumeister'schen Atmidalbumin entspricht und daher als Atmidkeratin bezeichnet werden mag. Das Filtrat wird mit kochsalzgesättigter Salzsäure so lange versetzt, bis sich eine flockige Fällung zeigt; diese besteht nach Neumeister aus Atmidalbumin + Atmidalbumose, also in unserem Falle aus Atmidkeratin + Atmidkeratose. Das Filtrat hiervon wird nun solange mit kochsalzgesättigter Salzsäure versetzt, als überhaupt noch ein Niederschlag entsteht. Dieser entspricht der Neumeister'schen Atmidalbumose, also für unseren Fall der Atmidkeratose.

Atmidkeratin.

Zunächst wurde das aus neutraler Lösung durch Steinsalz gefällte Atmidkeratin zur Reinigung in destillirtem Wasser gelöst und wieder mit Steinsalz gefällt. Die Fällung ist jedoch eine unvollkommene; ein Theil bleibt in Lösung und lässt sich nur durch Zusatz von salzgesättigter Säure fällen. Dann ist die Fällung vollkommen, da sich im Filtrat weder durch Ammonsulfat, noch durch die Biuretprobe eine Albumose nachweisen lässt. Ich nahm an, dass der bei neutraler Reaction nicht fällbare Theil des Atmidkeratins eine Verunreinigung mit Keratose sei, die nur durch Säure fällbar ist. Aber durch wiederholte Versuche überzeugte ich mich, dass diese Annahme unrichtig sei; es ist vielmehr eine charakteristische Eigenschaft des Atmidkeratins, dass es sich aus neutraler

Lösung zwar reichlich, aber nie vollkommen fällen lässt: dazu bedarf es des Zusatzes einer Säure. Das Neumeister'sche Atmidalbumin verhält sich ebenso. Nach der Reinigung durch Auflösen und Ausfällen wurde das Atmidkeratin zur Entfernung des Salzes der Dialyse unterworfen. Dieselbe wurde zuerst in fließendem Quellwasser, dann in destillirtem Wasser vorgenommen und dauerte ungefähr 14 Tage. Die Lösung, nach Salkowski's¹⁾ Vorschrift mit Salpetersäure gekocht und mit Silbernitrat versetzt, zeigte dann keine Trübung, sie war also chloridfrei.

Die dialysirte Flüssigkeit wurde auf dem Wasserbade concentrirt und in absoluten Alkohol eingegossen: um die Ausfällung möglichst vollständig zu machen, empfiehlt es sich, dem Alkohol ein Drittel Volumen wasserfreien Aether zuzusetzen. Der Niederschlag wurde auf einem gehärteten Filter gesammelt und zuerst über Chlorcalcium und dann über Schwefelsäure getrocknet. Nach einiger Zeit lässt sich derselbe leicht abnehmen und bildet, fein zerrieben, ein leichtes, staubförmiges, hell gefärbtes, hygroskopisches Pulver.

Dasselbe löst sich leicht in destillirtem Wasser zu einer braunen opalisirenden Flüssigkeit von neutraler Reaction. Beim Erwärmen verschwindet die Opalescenz nicht, wohl aber bei Zusatz einer Spur Alkali.

Die Lösung coagulirt nicht beim Erhitzen.

Salpetersäure erzeugt bei langsamem Zusatz Trübung, die schliesslich flockig wird. Ein Ueberschuss der Säure vermag die einmal bewirkte Fällung nicht zu lösen.

Dagegen löst sich der Niederschlag sofort beim Erwärmen, um beim Erkalten wieder auszufallen. Setzt man die Säure von Anfang an im Ueberschuss zu, so entsteht überhaupt kein Niederschlag.

Verdünnte Essigsäure, Salzsäure, Schwefelsäure erzeugen, allmählich zugesetzt, flockige Fällung, die sich im Ueberschuss der Säure zum Theil, beim Erwärmen ganz löst. Setzt man die Säure gleich im Ueberschuss zu, so kommt es zu keiner Fällung.

¹⁾ E. Salkowski, Zeitschrift f. Biologie 1896.

Kochsalz, bis zur Sättigung zugesetzt, bewirkt reichliche Fällung, die aber erst auf Zusatz von Säure vollständig wird.

Sublimat, Bleizucker, Kupfersulfat bewirken reichliche Fällung. Gerbsäure, Pikrinsäure, Phosphorwolframsäure erzeugen reichliche Niederschläge.

Essigsäure und Ferrocyankalium fallen noch sehr verdünnte Lösungen.

Millon's Reaction positiv. Biuretprobe positiv. Kochprobe mit rauchender Salzsäure ergab keine Violettfärbung. Beim Erhitzen mit alkalischer Bleilösung färbt sich die Flüssigkeit ein wenig dunkler, gibt aber keinen Niederschlag von Schwefelblei.

Das Atmidkeratin hat also die Eigenschaft der Fällbarkeit durch Salpetersäure aus salzfreier Lösung und die Fällbarkeit durch Kochsalz aus neutraler Lösung mit den Protalbumosen gemein, unterscheidet sich aber von denselben durch seine Fällbarkeit durch verdünnte Säuren.

Mit Neumeister's Atmidalbumin stimmt das Atmidkeratin beinahe völlig überein. Nur das wechselvolle Verhalten gegen Salpetersäure, das Neumeister besonders hervorhebt, konnte ich nicht beobachten.

Elementaranalysen.

Die Kohlenstoff-Wasserstoff-Bestimmungen wurden im Schiffchen mit vorgelegtem chromsauren Blei und Kupfer, die Stickstoffbestimmungen nach Dumas-Ludwig, die Schwefelbestimmungen nach Carius ausgeführt. Die Substanz wurde zuerst über Schwefelsäure, dann 24 Stunden bei 110° getrocknet.

Die Analysen ergaben folgende Werthe:

0,6656 g Substanz gaben 0,034 g Asche = 5,02%
 0,9692 „ „ „ 0,0464 „ „ = 4,78%

Im Mittel 4,9% Asche

Die Asche enthält Ca, Mg, Fe in Spuren, Schwefelsäure.

0,1862 g Substanz gaben 0,345 g CO₂ = 53,13% C
 = (0,1771 „ aschefrei) 0,0964 g H₂O = 6,05% H

0,2363 „ Substanz gaben 0,4378 g CO₂ = 53,13% C
 = 0,2247 „ aschefrei 0,12 g H₂O = 5,93% H

0,207 „ Substanz gaben 27,8 ccm. N t = 11,4° B. = 740 mm.
 = (0,197 „ aschefrei) = 16,35% N

- 0.2055 g Substanz gaben 28 ccm. N t = 12,8° B. = 739 mm.
 = 0.1954 g aschefrei = 16.50% N
 0.524 g Substanz gaben 0.0575 g BaSO₄ = 1.59% S
 = 0.498 g aschefrei
 0.498 g Substanz gaben 0.052 g BaSO₄ = 1.52% S
 = 0.4736 g aschefrei.

Auf aschefreie Substanz berechnet:

% C	% H	% N	% S	% O
53.13	6.05	16.35	1.59	22.88
53.13	5.93	16.5	1.52	22.92

Atmidkeratose.

Der durch Chlornatrium und Salzsäure gefällte Antheil, der der Neumeister'schen Atmidalbumose entspricht, wurde abfiltrirt und einer wiederholten Reinigung unterzogen. Derselbe ist nicht wie das Atmidkeratin in destillirtem Wasser leicht löslich, da die an der Fällung betheiligte Säure dem Niederschlag anhaftet. Es bedarf des Zusatzes von Ammoniak, um die Säure zu neutralisiren, worauf Lösung erfolgt. Die neutrale Lösung wurde mit Chlornatrium gesättigt: die Flüssigkeit blieb ganz klar, ein Beweis, dass kein Atmidkeratin darin enthalten war. Setzt man jetzt chlornatriumgesättigte Salzsäure zu, so wird die Atmidkeratose beinahe vollständig ausgefällt. Der Niederschlag wurde abfiltrirt, wieder unter Zusatz von wenig Ammoniak in Wasser gelöst, mit Chlornatrium und Salzsäure gefällt und neuerdings gelöst. Die ammoniakalische Lösung wurde nun mit Salzsäure neutralisirt und dialysirt. Im Weiteren wurde ebenso wie bei der Darstellung des Atmidkeratins verfahren. Die Atmidkeratose stellt ein leichtes hygroskopisches, hellgefärbtes Pulver dar, das sich in Wasser von jeder Temperatur zu einer klaren, braunen, neutralen Flüssigkeit löst.

Die Lösung coagulirt nicht beim Erhitzen.

Salpetersäure bewirkt bei allmählichem Zusatz Fällung, die sich im Ueberschuss der Säure theilweise und in der Wärme völlig löst. Verdünnte Salzsäure, Essigsäure, Schwefel-

säure erzeugen Niederschläge, die im Ueberschuss der Säure und in der Wärme löslich sind.

Chlornatrium erzeugt, zu der neutralen Lösung bis zur Sättigung zugesetzt, keine Fällung. Erst auf Zusatz von salzgesättigter Säure entsteht reichliche, aber unvollständige Fällung. Das Filtrat gibt mit Ammonsulfat deutliche Trübung wie auch die Biuretprobe.

Sublimat, Kupfersulfat, Bleizucker geben voluminöse Niederschläge. Gerbsäure, Metaphosphorsäure, Pikrinsäure dergleichen. Millon's Reaction positiv. Biuretprobe positiv. Bei der Kochprobe mit Salzsäure tritt Violettfärbung nicht ein. Mit alkalischer Bleilösung gekocht wird die Lösung eine Spur dunkler, ohne einen Niederschlag von Schwefelblei zu geben.

Die Atmidkeratose gleicht also den Deuteroalbumosen in Bezug auf die Fällbarkeit durch Chlornatrium und Salzsäure, unterscheidet sich aber von ihnen durch das Verhalten gegen Salpetersäure und verdünnte Säuren.

Der Neumeister'schen Atmidalbumose gleicht die Keratose beinahe vollkommen. Nur in einem Punkte habe ich einen Unterschied gefunden, den auch Salkowski, der Neumeister's Versuche wiederholte, erwähnt.

Neumeister bemerkt nämlich, dass die Atmidalbumose sich durch Chlornatrium und Salzsäure so vollkommen ausfällen lasse, dass man sie auf diese Weise vom Pepton trennen könne. Die Atmidkeratose dagegen lässt sich durch Chlornatrium und Salzsäure nicht völlig fällen, das Filtrat gibt stets noch Biuretprobe und eine Trübung mit Ammonsulfat. Um also Atmidkeratose vom Pepton zu scheiden, muss man sich des Ammonsulfats bedienen. Salkowski,¹⁾ der eine aus Fibrin dargestellte Atmidalbumose untersuchte, machte dieselbe Beobachtung wie ich.

Elementaranalysen.

Die Analysen wurden nach denselben Methoden ausgeführt wie beim Atmidkeratin.

¹⁾ E. Salkowski, Zeitschrift f. Biologie, 1896.

Es ergaben sich folgende Werthe:

0,196	g Substanz gaben	0,3634 g CO ₂	=	53,34 % C
0,1858	» aschefrei	0,0893 g H ₂ O		5,23 % H
0,2208	» Substanz gaben	0,4107 g CO ₂		53,51 % C
0,2093	» aschefrei	0,099 g H ₂ O		5,25 % H
0,1935	» Substanz gaben	25,5 ccm. N B. = 756 mm.		
0,1834	» aschefrei	16,59 % N t = 9,5°		
0,192	» Substanz gaben	26,5 ccm. N B. = 739 mm.		
0,182	» aschefrei	16,72 % N t = 13°		
0,5158	» Substanz gaben	0,0553 g BaSO ₄	=	1,56 % S
0,489	» aschefrei			
0,4486	» Substanz gaben	0,0472 g BaSO ₄	=	1,53 % S
0,4253	» aschefrei			
0,99	» Substanz gaben	0,053 g Asche	5,35 %	} 5,2 % Asche im Mittel.
0,5815	»	0,029	5,05 %	

Auf aschefreie Substanz berechnet:

% C	% H	% N	% S	% O
53,34	5,23	16,59	1,56	23,28
53,51	5,25	16,72	1,53	22,99

Verdauungsversuche mit Pepsinsalzsäure.

Zu diesen Versuchen wurde eine durch Auflösen von $\frac{1}{2}$ Gramm Merk'schen Pepsin in einem $\frac{1}{4}$ Liter 0,25%iger Salzsäure bereitete Lösung verwendet. 1 Gramm eines Gemenges von Atmidkeratin und Keratose wurde in 30 ccm. 0,25%iger Salzsäure gelöst, mit 10 ccm. dieser Pepsinlösung versetzt und mit 0,25%iger Salzsäure auf 100 ccm. aufgefüllt. Zur Prüfung der Wirksamkeit der Pepsinsalzsäure wurde ein Kontrollversuch mit einigen Flocken von geronnenem Eiereiweiss angestellt. Eine dritte Probe enthielt 10 ccm. Pepsinsalzsäure, ebenfalls mit 0,25%iger Salzsäure auf 100 ccm. verdünnt.

Diese drei Proben wurden durch 3mal 24 Stunden bei Körpertemperatur im Brutofen gehalten.

Zur Verhinderung der Fäulniss waren jeder Probe einige Tropfen Toluol zugesetzt worden.

Nach Ablauf dieser Zeit wurde zunächst die Keratoseverdaunungslösung mit verdünnter Salzsäure versetzt, um zu sehen, ob noch unverdaute Keratose darin enthalten sei. Es fiel ein reichlicher Niederschlag aus, der aus unverdauter Keratose bestand. Der Rest der Keratose wurde nach Kühne in der Siedehitze mit Ammonsulfat zuerst bei neutraler, dann bei alkalischer und saurer Reaction ausgefällt. Das Ammonsulfat wurde mit 50%iger Kalilauge zersetzt; der dabei entstehende Niederschlag von Kaliumsulfat abfiltrirt und das freigewordene Ammoniak auf dem Wasserbade vertrieben.

In der gleichen Weise wurden die Albumosen aus der Verdauungslösung des Ovalbumins und der der Selbstverdauung überlassenen Pepsinsalzsäure ausgefällt.

Schliesslich wurden die drei Proben auf dem Wasserbade auf das gleiche Volumen gebracht und mit einigen Tropfen einer sehr verdünnten Kupfersulfatlösung versetzt.

Die Keratoseverdaunungslösung gab deutliche Rothfärbung, wie sie einer Peptonlösung zukommt. Die Ovalbuminlösung gab ebenfalls deutliche Rothfärbung.

Die Pepsinsalzsäure zeigte nur einen schwachen Stich ins Röthliche. Da die der Selbstverdauung überlassene Pepsinsalzsäure nur eine undeutliche Biuretreaction zeigte, so kann die deutliche Rothfärbung, die ich mit der Keratoselösung erhielt, nicht von dem zugesetzten Pepsin, sondern nur von dem aus der Keratose entstandenen Pepton herrühren. Ich komme daher zu dem Schlusse, dass die Atmidkeratosen von der Pepsinsalzsäure zwar nur äusserst langsam angegriffen werden, dass sie jedoch nicht als unverdaulich zu betrachten sind.

Verdaunungsversuche mit Trypsin.

Zur Trypsinverdauung wurde der Glycerinextract einer Pankreasdrüse verwendet. 1 g eines Gemenges von Atmidkeratin und Atmidkeratose wurde in 30 ccm. 0,3%iger Sodalösung gelöst, mit 10 ccm. Trypsinextract versetzt und mit 0,3%iger Sodalösung auf 100 ccm. aufgefüllt. Zur Prüfung, ob das Trypsin wirksam sei, wurde ein Kontrollversuch mit einigen Flocken von geronnenem Ovalbumin angestellt.

Eine dritte Probe enthielt nur 10 cem. Trypsinlösung mit 0.3% iger Sodalösung auf 100 cem. verdünnt. Diese drei Proben wurden mit einigen Tropfen Toluol versetzt und 7 Tage im Brutofen bei Körpertemperatur gehalten. Auch diesmal liess sich, wie nach der Pepsinverdauung, ein grosser Theil der unverdaut gebliebenen Keratose durch Ansäuern ausscheiden.

Zur Prüfung auf Pepton wurden die Proben auf die gleiche Weise wie bei der Pepsinverdauung mit Ammonsulfat ausgefällt und schliesslich auf die Biuretreaction geprüft.

Die Keratoseverdaunungslösung gab deutliche Rothfärbung.

Die Lösung des Ovalbumins gab ebenfalls Rothfärbung, doch nicht so intensiv. Die Trypsinlösung zeigte nur einen schwach röthlichen Stich. Die Keratosen werden also von Trypsin ebenso schwer angegriffen wie von Pepsin, doch zeigte der deutliche Ausfall der Biuretreaction in der Keratoselösung, dass ein Theil der Keratose peptonisirt worden war.

Neumeister bemerkt, dass die Amidalbumosen durch Kochen mit 3% iger Schwefelsäure in Deuteroalbumosen übergeführt werden. Sie geben dann weder mit verdünnten Säuren noch mit Salpetersäure in salzfreier Lösung einen Niederschlag, noch lassen sie sich durch Chlornatrium aus neutraler Lösung fällen. Ich habe dies mit einem Gemenge von Amidkeratin und Amidkeratose wiederholt. Es wurde 2 Stunden im Kölbchen mit Rückflusskühler erhitzt, nach dem Abkühlen neutralisirt und mit Ammonsulfat ausgefällt. Der Niederschlag wurde in destillirtem Wasser gelöst und die Lösung dialysirt. Die ausdialysirte Lösung gab sowohl mit verdünnten Säuren als mit concentrirter Salpetersäure reichliche Fällung; auch durch Chlornatrium entstand nach längerer Zeit ein reichlicher Niederschlag. Die Keratosen waren also nicht in Deuteroalbumosen verwandelt worden, wie dies bei den Neumeister'schen Amidalbumosen der Fall war.

Zum Schluss wurde die Hornspänelösung, aus der das Amidkeratin und die Amidkeratose durch Kochsalz entfernt worden waren, darauf geprüft, ob auch Pepton und tieferstehende Zersetzungsprodukte, wie Tyrosin und Leucin, in ihr enthalten seien.

Zur Prüfung auf Pepton wurde der durch Chlornatrium und Salzsäure nicht gefällte Antheil der Keratose durch Ammonsulfat beseitigt und hierauf die Biuretprobe angestellt. Der völlig negative Ausfall derselben bewies, dass Kühne'sches Pepton nicht entstanden war.

Tyrosin und Leucin liessen sich in der Flüssigkeit wegen der reichlich zugesetzten Salze nicht nachweisen.

Es wurde daher eine neue Portion Hornspänelösung mit Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure ausgefällt. Das Filtrat wurde zur Entfernung der Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure mit Aetzbaryt versetzt und von dem schwefelsauren und phosphorwolframsauren Baryt abfiltrirt. Der überschüssige Baryt wurde durch Kohlensäure entfernt. Das klare, beinahe farblose Filtrat gab trotz der grossen Verdünnung eine sehr deutliche Millon'sche Reaction, während die Biuretprobe negativ ausfiel. Doch gelang es nicht, aus der concentrirten Flüssigkeit Tyrosin oder Leucin zum Krystallisiren zu bringen.

21. April 1902.