

Über Adsorptionsverbindungen einiger Eiweißkörper mit alkohollöslichen anorganischen Haloidsalzen.

Von

Friedrich Simon-Berlin.

(Aus der chemischen Abteilung des pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 1. April 1910.)

Während die Halogeneiweißverbindungen — besonders in neuerer Zeit — vielfach analytisch und synthetisch bearbeitet worden sind und den Gegenstand einer Reihe wichtiger Untersuchungen¹⁾ bilden, scheint das Verhalten der Eiweißkörper zu den Haloidsalzen der Alkalimetalle und alkalischen Erden bisher nicht allzu häufig die Beachtung der Forscher gefunden zu haben.

Aus der älteren Literatur sei hier zunächst auf die Untersuchungen von N. Lubavin²⁾ hingewiesen, der Casein als Ausgangsmaterial wählte und ca. 60 Stunden mit künstlichem Magensaft digerierte. Er behandelte dann das alkoholische Extrakt der Verdauungsprodukte mit Barytwasser und konnte durch wiederholte Alkoholfällung des eingengten Filtrates einen stark baryumhaltigen Eiweißkörper als feines gelbliches, nicht zerfließliches Pulver gewinnen. Da die Analyse des Produktes 18,2% Ba und 6,4% Cl, also ein Verhältnis von 1 Äquival. Cl auf 1 $\frac{1}{2}$ Äquival. Ba ergab, so rechnete Lubavin mit der

¹⁾ Im «Handbuche d. Biochemie d. Menschen und d. Tiere» (herausgegeben v. C. Oppenheimer), Bd. I, S. 444 ff., 1909, finden sich ausführliche Literaturnachweise über die Arbeiten von F. Blum, Blum und Vaubel, Gans, Habermann und Ehrenfeld, Hofmeister, Hopkins und Pinkus, Kurajeff, Liebrecht, A. Oswald, Panzer, C. H. L. Schmidt. Ferner: E. Salkowski, Diese Zeitschrift, 1908, Bd. LVII, S. 526.

²⁾ Lubavin, Über die künstl. Pepsinverdauung des Caseins usw. (Medizin.-chem. Unters., herausgeg. v. Hoppe-Seyler, Heft IV, 1871).

Möglichkeit, daß dieses Verhältnis kein bloß zufälliges wäre, daß er vielmehr eine bestimmte chemische Verbindung des Peptons mit Baryt vor sich habe. Eine Wiederholung des Versuches unter den gleichen Bedingungen der Digestion, jedoch etwas modifizierter präparativer Darstellung lieferte ihm ein Produkt mit 16,7% Ba und 2,9% Cl, Prozentzahlen, die wiederum mit der Relation der Elemente im $BaCl_2$ keineswegs übereinstimmten. An diese Ergebnisse knüpft A. Kossel¹⁾ mit seinen Untersuchungen an, die hier etwas ausführlicher wiedergegeben werden sollen, weil sie — besonders in der Methodik — viele Beziehungen zu der vorliegenden Arbeit bieten. Kossel digerierte Fibrin 2—8 Tage hindurch mit künstlicher Verdauungsflüssigkeit, die durch Extraktion von Schweinemagenschleimhaut mit verdünnter Salzsäure von 0,4% HCl gewonnen wurde. Nach Vorbehandlung der Verdauungslösung mit Baryt wurde die erhaltene «Barytpeptonverbindung» vom Baryt befreit, die «Peptonlösung» mit $CaCO_3$ digeriert, das Filtrat eingedampft und mit Alkohol gefällt. Der Niederschlag wurde in Wasser gelöst, die Lösung eingeengt und wiederum mit Alkohol gefällt. Diese Alkoholfällung wurde dreimal wiederholt. Da nun — trotz der theoretisch vorauszusetzenden völligen Entfernung des $CaCl_2$ — sich die gefällte Substanz immer noch chlor- und calciumhaltig erwies, nahm Kossel eine «Verbindung des Peptons mit Cl und Ca» als gegeben an. Er bestimmte das Cl als AgCl durch direkte Fällung der wässrigen Lösung seiner Substanz mit $AgNO_3 + HNO_3$; das Filtrat wurde durch HCl vom überschüssigen Silber befreit und verascht; die Asche wurde in HCl gelöst, die Lösung mit Ammoniak und Ammoniumoxalat gefällt und der Niederschlag nach dem Glühen als CaO gewogen. Es wurden 2,34% Cl und 5,68% Ca gefunden. Bei einem zweiten, in der gleichen Weise dargestellten und ebenso analysierten Eiweißkörper ermittelte Kossel 2,27% Cl und 6,5% Ca. Kossel glaubte, eine «chemische» Bindung der Aschenbestandteile (besonders von Ca und Cl) an das Pepton supponieren zu müssen und betonte auch den Einwendungen

¹⁾ Kossel, Ein Beitrag zur Kenntnis d. Peptone. Pflügers Archiv. Bd. XIII, S. 309, 1876.

Herths¹⁾ gegenüber in seiner späteren Arbeit²⁾ diesen Standpunkt. Zur Begründung führte er an, daß keine «Verunreinigung» seines Präparates mit CaCl_2 vorliegen könne, da er sonst hätte das CaCl_2 aus seiner wässerigen Lösung dreimal mit Alkohol gefällt haben müssen, daß ferner die Asche seiner Substanz Cl und Ca in einem Verhältnis enthielte, das auch nicht annähernd der Formel CaCl_2 entspräche. Kossel diskutierte sogar drei Möglichkeiten der «chemischen Verbindung» von Cl und Ca mit Pepton: 1. Verbindung von HCl mit Peptoncalcium, 2. Verbindung von CaCl_2 mit Peptoncalcium, 3. Ersatz des Wasserstoffs im Pepton sowohl durch Cl als Ca. Die Anschauung Kossels über eine chemische Bindung des Peptons mit seinen Aschebestandteilen teilt auch F. Hoppe-Seyler³⁾ und macht sich dessen Argumentation zu eigen, daß ein in Alkohol so leicht lösliches Salz wie CaCl_2 sich in «chemischer Verbindung» befinden müsse, wenn es durch Alkohol mit dem Pepton gefällt werde.

Von den Arbeiten aus neuerer Zeit, die sich mit dem Verhalten der Erdalkalien zu den Eiweißkörpern beschäftigen, seien hier zunächst die Studien von Hammarsten⁴⁾ über die Rolle der Kalksalze bei der Fibrinbildung genannt. Hammarsten konnte die schon oft beobachtete Fähigkeit des Fibrins, bei seiner Entstehung Kalkverbindungen aus einer Lösung mit niederzureißen, bestätigen und zwar fand er im Fibrin als Minimum 0,007% CaO — 0,005% Ca — einen Kalkgehalt, der nicht dem Fibrinmoleküle selbst angehören könne, da man sonst das Molekulargewicht des Fibrins höher als 800 000, also reichlich 50 mal so groß wie das des Oxyhämoglobins annehmen müsse. Hammarsten glaubt deshalb alle Theorien, die mit dem Fibrin als einer Kalkverbindung des Fibrinogens rechnen, zurückweisen

¹⁾ Herth, Über d. chem. Natur d. Peptons usw. Diese Zeitschrift. Bd. I, S. 277. 1877/78.

²⁾ A. Kossel, Über d. chem. Zusammensetzung d. Peptone. Diese Zeitschrift, Bd. III, S. 58 ff., 1879.

³⁾ F. Hoppe-Seyler, Physiolog. Chemie, Berlin 1878, Bd. II, S. 225 und 226.

⁴⁾ O. Hammarsten, Weitere Beiträge zur Kenntnis d. Fibrinbildung. Diese Zeitschrift, Bd. XXVIII. S. 98 ff., 1899.

zu müssen. Sehr ausgedehnte Untersuchungen über das Verhalten der Erdalkalisalze zum Eiereiweiß hat dann neuerdings W. Pauli¹⁾ angestellt. Behandelte er klare, frisch bereitete Lösungen von Eiereiweiß mit CaCl_2 -Lösungen bestimmter Konzentration, so zeigte sich sofort eine zarte bläuliche Trübung, die nach 24 Stunden dickmilchig wurde. In einer «nicht weit von der Fällungsgrenze gelegenen Konzentration» wirkte CaCl_2 bei Anwesenheit von NaBr und NaJ zunehmend eiweißfällend. Bei einem der Fällungsgrenze noch mehr genäherten CaCl_2 -Gehalt zeigten sich auch Chloride und Nitrate als «Fällungserreger», und zwar Natriumsalze in stärkerem Grade als Ammoniumsalze. Im Gegensatz zum CaCl_2 fällte SrCl_2 selbst in achtfacher Normalkonzentration Eiweißlösungen, nicht, doch zeigte sich bei gleichzeitiger Anwesenheit von NaBr , NaJ und NaCNS ein dem CaCl_2 ähnliches Verhalten. Bei Zusatz von SrBr_2 war eine Fällungswirkung nur bei Anwendung hoher Konzentrationen angedeutet, während BaCl_2 auch in vierfacher Normallösung die Eiweißlösungen nicht veränderte. Von den übrigen Baryumsalzen wirkten nur das Jodid und Rhodanid deutlich eiweißfällend. Im allgemeinen konnte Pauli feststellen, daß die von den Erdalkalisalzen in den Eiweißlösungen erzeugten Fällungen (ähnlich dem Verhalten der Schwermetalle) irreversible waren, wenn auch die Wirkungsweise der Erdalkalien sonst nicht unwesentlich von dem Verhalten der Salze des Zn , Fe , Cu , Ag , Hg , Pb u. a. m. zu Eiweißkörpern abwich. Bei den Schwermetallsalzen entscheiden nämlich hauptsächlich die Kationen über die eiweißfällende Wirkung, während bei den Erdalkaliverbindungen auch die Art des betreffenden Anion von großem Einfluß auf das Fällungsvermögen ist. Ferner machte Pauli die interessante, später von Fraenckel²⁾ bestätigte und näher erklärte Beobachtung, daß Zusatz eines Erdalkalisalzes zu eiweißhaltigen Flüssigkeiten eine Säuerung der Mischung erzeugt. Im Gegensatz zu den Erdalkaliverbindungen rufen die

¹⁾ Pauli, Irreversible Eiweißfällungen durch Elektrolyte. Hofmeisters Beiträge, Bd. V, S. 27 ff., 1904.

²⁾ P. Fraenckel, Über d. Einfluß d. Erdalkalien auf d. Reaktion tierischer Säfte. Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Ther., Bd. I, S. 439 ff., 1905.

Neutralsalze der Leichtmedalle in Eiweißlösungen keine irreversiblen Fällungen hervor, wie Pauli¹⁾ durch ausführliche Untersuchungen feststellen konnte. Die wesentlichen Ergebnisse der Paulischen Versuche lassen sich dahin zusammenfassen, daß das Fällungsvermögen in der Reihenfolge der Anionen: Fluorid, Chlorid, Bromid, Jodid abnimmt, dagegen in der Reihenfolge der Kationen: Mg, NH₄, K, Na, Li wächst. Eine wichtige Ergänzung dieser Resultate bilden die Beobachtungen Höbers,²⁾ daß die Neutralsalzwirkungen in homogenen und kolloidalen Systemen von der Reaktion der Systeme durchaus abhängig sind. Während nämlich bei saurer Reaktion der Wirkungsgrad der einzelnen Kationen und Anionen sich in der Reihenfolge: Cs < Rb < K < Na < Li bzw. SO₄ < Cl < Br < J abstuft, herrscht bei alkalischer Reaktion die umgekehrte Rangordnung für die eiweißfällenden Eigenschaften: Li < Na < K < Rb < Cs und J < Br < Cl < SO₄.

Diese kurze Literaturübersicht möge genügen, die wichtigsten der uns bekannten Tatsachen über das Verhalten der Haloidsalze der alkalischen Erden und der Alkalimetalle zu den Eiweißkörpern zu rekapitulieren. Wie man sieht, sind unsere Kenntnisse dieser Fragen keineswegs lückenlose, und besonders die Untersuchungen Kossels scheinen interessant und wichtig genug, den Ausgangspunkt einer neuen experimentellen Arbeit zu bilden. Vornehmlich verlohnt es sich, diese Beobachtungen — besonders auch nach der quantitativ-analytischen Seite hin — zu bestätigen und zu erweitern, sowie ferner Kossels Versuche, die sich ja nur mit den Beziehungen von CaCl₂ zu den Verdauungsprodukten des Fibrins beschäftigen, auch auf andere Albumosen, Peptone und Eiweißkörper auszudehnen und schließlich noch das Verhalten anderer alkohollöslicher Haloidsalze zu berücksichtigen.

Herrn Geheimrat Salkowski möchte ich für die Anregung zu diesen Untersuchungen und das der vorliegenden Arbeit freundlichst gewidmete Interesse bestens danken.

¹⁾ W. Pauli, Unters. über physikal. Zustandsänderungen d. Kolloide. II. Hofmeisters Beitr., Bd. III, S. 225, 1903).

²⁾ R. Höber, Zur Kenntnis d. Neutralsalzwirkungen. Hofmeisters Beitr., Bd. XI, S. 35 ff., 1908).

I. Versuchsreihe. bei der Fibrin als Ausgangsmaterial zur Verwendung kam.

Benutzt wurde ein gekochtes und seit kurzer Zeit unter Chloroformwasser aufbewahrtes Fibrin. Eine Aschenbestimmung, zu der 3,9950 feuchten = 1,0582 trockenen Fibrins genommen wurde, ergab einen Aschengehalt von 1,01% der trockenen Substanz.

Ca. 65 g Fibrin wurden zunächst mit salzsäurehaltigem Wasser bis zur Quellung gekocht und dann mit 1 l künstlicher Verdauungsflüssigkeit, die aus ca. 1 g Pepsin (Grübler), 10 ccm Acid. hydrochlor. pur. und 1 l Wasser bereitet wurde, bei 40° etwa 72 Stunden hindurch digeriert. Das Verdauungsgemisch wurde dann (nach dem Kolieren durch Leinwand) in der Siedehitze mit reinstem Calciumcarbonat neutralisiert und vom Neutralisationsniederschlage abfiltriert. Das Filtrat wurde bis auf ein Volumen von etwa 50 ccm auf dem Wasserbade eingengt und mit dem etwa zehnfachen Volumen Alkohol absolut. gefällt. Nach 24 stündigem Stehen unter Alkohol wurde der Niederschlag (nach dem Dekantieren des ersten Alkohols) wiederholt mit siedendem Alkohol ausgewaschen. Abfiltrierte Proben des Waschalkohols ergaben zunächst starke Chlorreaktion. Das Auswaschen des Niederschlages wurde nun so lange fortgesetzt, bis die durch $\text{AgNO}_3 + \text{HNO}_3$ in abfiltrierten Proben des Waschalkohols erzeugten Niederschläge bzw. Trübungen annähernd konstant blieben. Der Niederschlag wurde schließlich einige Male mit Äther nachgewaschen und durch andauerndes Verreiben mit dem Pistill vom anhängenden Äther befreit. Es resultierte ein staubfeines, gelblich-weißes, sich leicht klebrig anführendes Pulver, das sich schon in kaltem Wasser schnell und völlig klar löste. Die wässrige Lösung zeigte deutliche Biuretreaktion, sowie erhebliche Trübungen auf Zusatz von $\text{HNO}_3 + \text{AgNO}_3$ und $\text{NH}_3 + \text{C}_2\text{O}_4(\text{NH}_4)_2$. Zur Cl-Bestimmung wurden etwa 0,5 g des Präparates mit dem etwa 25fachen ihres Gewichtes an Salpetermischung (bestehend aus 2—3 Teilen KNO_3 und 1 Teil Na_2CO_3) in der Platinschale geschmolzen, die Schmelze gelöst, die Lösung mit HNO_3 an-

gesäuert, filtriert und das Filtrat mit AgNO_3 gefällt. 0,4792 g der trockenen Substanz ergaben 0,1908 $\text{AgCl} = 0,0472 \text{ Cl} = 9,85\%$ Cl. Zur Ca-Bestimmung wurden etwa 0,5 g der (bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Substanz) in der Platinschale verascht, die Asche in verdünnter HCl gelöst, die Lösung filtriert und das Filtrat mit $\text{NH}_3 + \text{C}_2\text{O}_4(\text{NH}_4)_2$ gefällt. 0,4574 g des Präparates ergaben 0,03345 $\text{CaO} = 0,0239 \text{ Ca} = 5,22\%$ Ca. Die für Cl und Ca ermittelten Prozentzahlen entsprechen in der Relation $\text{Cl}_2 : \text{Ca}$ nicht genau dem für Chlorcalcium berechneten Quotienten. Für Chlorcalcium wird berechnet:

$\frac{\text{Cl}_2}{\text{Ca}} = 1,775$, während bei der vorliegenden Analyse gefunden

wurde: $\frac{\text{Cl}_2}{\text{Ca}} = 1,89$. Der gefundene geringe Überschuß an Chloriden

ist wohl durch den Umstand zu erklären, daß die Asche des Fibrins nicht frei von Chloralkalien war, daß aber auch die Verdauungssalzsäure außer an das zur Neutralisation zugesetzte CaCO_3 noch an andere (ursprünglich in der Asche des Fibrins enthaltene) basische Bestandteile gebunden wurde. Der (nach dem gefundenen Ca-Wert berechnete) Gehalt des Präparates an Chlorcalcium beträgt 14,48%.

Präparat II.

Ein zweites Präparat wurde genau nach der gleichen Methode durch Neutralisation des Verdauungsgemisches mit SrCO_3 gewonnen als ein hellbraunes, staubfeines, sich leicht klebrig anführendes Pulver, dessen wässrige Lösung deutliche Biuretreaktion sowie Niederschläge auf Zusatz von $\text{HNO}_3 + \text{AgNO}_3$ und $\text{NH}_3 + \text{C}_2\text{O}_4(\text{NH}_4)_2$ zeigte. 0,476 g der trockenen Substanz ergaben (nach der schon beschriebenen Methode bestimmt) 0,1825 $\text{AgCl} = 0,0451 \text{ Cl} = 9,47\%$ Cl. Das Sr wurde als Carbonat (nach vorhergehender Veraschung in der Platinschale) bestimmt, und zwar ergaben 0,464 g der trockenen Substanz 0,0747 $\text{SrCO}_3 = 0,0442 \text{ Sr} = 9,53\%$ Sr. Relation $\text{Cl}_2 : \text{Sr}$ für Strontiumchlorid berechnet = 0,816, gefunden = 0,99. Der geringe Überschuß an Chloriden läßt sich hier (wie auch bei allen folgenden Analysen) in der gleichen Weise wie bei dem ersten Präparat erklären. Gehalt der Substanz an $\text{SrCl}_2 = 17,28\%$.

Schließlich wurde noch ein drittes Präparat aus Fibrin durch Neutralisation des Verdauungsgemisches mit Li_2CO_3 dargestellt. Es resultierte ein weißes, staubfeines, sich leicht klebrig anführendes Pulver, das sich in kaltem Wasser etwas langsamer als die beiden ersten Präparate löste. Die wässrige Lösung zeigte neben deutlicher Biurettreaktion die charakteristische rote Flammenfärbung, sowie Trübungen bezw. Fällungen auf Zusatz von $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + \text{NH}_3$, $\text{NH}_3 + (\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ und $\text{HNO}_3 + \text{AgNO}_3$. 0,4523 g der trockenen Substanz ergaben 0,0984 AgCl = 0,0243 Cl = 5,37% Cl. Das Li würde als Sulfat (nach vorhergehender Zerstörung der organischen Substanzen durch Erhitzen mit konzentrierter H_2SO_4 im Kjeldahl-Oxydationskolben) bestimmt. 0,4698 g der trockenen Substanz lieferten 0,033 Li_2SO_4 = 0,0042 Li = 0,92% Li. Cl : Li für Chlorlithium berechnet = 5,071, gefunden = 5,84. Der gefundene, etwas größere Überschuß an Chloriden konnte durch wiederholte Bestimmungen und Analyse des benutzten Li_2CO_3 nicht aufgeklärt werden. Gehalt des Präparates an Chlorlithium berechnet zu 5,58%.

Präparat III.

II. Versuchsreihe, bei der Eiereiweiß als Ausgangsmaterial zur Verwendung kam.

Zunächst wurden etwa 70 g feuchten, auskoagulierten und gründlich ausgewaschenen Eiereiweißes mit 1 l künstlichen Magensaftes zur Verdauung angesetzt. Nach 30 Stunden war das Eiweiß bis auf einige Häutchen völlig gelöst. Das Verdauungsgemisch wurde durch Leinwand koliert und in der Hitze mit CaCO_3 neutralisiert. Nach dem Abfiltrieren vom Neutralisationsniederschlag wurde die klare Flüssigkeit — unter wiederholtem Abfiltrieren von noch weiterhin ausgeschiedenem Eiweiß — bis auf ein Volumen von etwa 50 ccm eingedampft und mit dem etwa zehnfachen Volumen Alkohol absolut. gefällt. Nach 24 stündigem Stehen unter Alkohol wurde der Niederschlag in genau dergleichen Weise, wie vorhin bei den Fibrinverdauungsprodukten beschrieben wurde, weiter verarbeitet. So wurde ein hellbräunliches, staubfeines Pulver gewonnen, das sich schon in kaltem Wasser fast völlig, bei

Präparat IV.

leichtem Erwärmen jedoch vollkommen klar ohne Rest löste. Die wässrige Lösung gab positive Biuretreaktion, sowie Niederschläge auf Zusatz von $\text{HNO}_3 + \text{AgNO}_3$ und $\text{NH}_3 + \text{C}_2\text{O}_4(\text{NH}_4)_2$. Eine (nach der angegebenen Methode) ausgeführte Chlorbestimmung lieferte aus 0,4291 g trockener Substanz 0,1838 $\text{AgCl} = 0,0454 \text{ Cl} = 10,58\%$ Cl. Ferner ergaben 0,4385 g trockener Substanz 0,0367 $\text{CaO} = 0,0262 \text{ Ca} = 5,97\%$ Ca. Relation $\text{Cl}_2:\text{Ca}$ für Chlorcalcium berechnet = 1,775, gefunden = 1,77, also befriedigende Übereinstimmung. Gehalt des Präparates an $\text{CaCl}_2 = 16,57\%$. Um nun zu prüfen, ob eine gleichmäßige Durchführung der präparativen Methode auch annähernd konstante Resultate liefern würde, habe ich etwa 70 g eines anderen auskoagulierten Eiereiweißes als Ausgangsmaterial gewählt und in dem genau gleichen Modo procedendi verarbeitet. Bei der Analyse des so gewonnenen Präparates ergaben sich folgende Werte:

Cl_2	=	10,59 %	(bei dem ersten Präparat: 10,58 %)
Ca	=	5,91 %	(" " " " " 5,97 %)
Cl_2	=	1,79	(" " " " " 1,77)
Ca			
(Cl_2 Ca	berechnet für Chlorcalcium	=	1,775).

Gehalt des Präparates an $\text{CaCl}_2 = 16,4\%$ (gegenüber 16,57% bei dem ersten Präparat). Man sieht also, daß bei einer möglichst gleichmäßigen Ausführung der Methode auch bei einem Ausgangsmaterial von gleicher Zusammensetzung, aber verschiedener Provenienz annähernd konstante Produkte gewonnen werden können.

Es war nun weiter von Interesse — besonders auch für die Auffassung der Bindungsweise des Ca und Cl an die Eiweißkörper —, festzustellen, ob den aus den Verdauungsprodukten des Eiereiweißes dargestellten « Verbindungen » das Chlor und Calcium durch entsprechende Behandlung mit Alkohol ganz oder teilweise entzogen werden können. Zu diesem Behufe wurde das erste der beiden (oben beschriebenen) Präparate in Wasser gelöst. Die Lösung wurde auf dem Wasserbade bis auf etwa 50 ccm eingeeengt und mit dem etwa zehnfachen Volumen Alkohol absolut. gefällt. Nach 48stündigem

Stehen unter Alkohol wurde der abfiltrierte Niederschlag mit heißem Alkohol so lange ausgewaschen, bis die durch HNO_3 + AgNO_3 in Proben des Waschalkohols erzeugten Trübungen anscheinend konstant blieben. Der (mit Äther nachgewaschene) Niederschlag stellte nach dem Trocknen ein weißliches, staubfeines Pulver dar, das in bezug auf Wasserlöslichkeit und sein Verhalten zu den Reagenzien vollkommen den beiden (schon beschriebenen) aus Eiereiweiß gewonnenen Präparaten glich. 0,3701 g der trockenen Substanz ergaben 0,13035 AgCl = 0,0322 Cl = 8,7% Cl . 0,379 g der trockenen Substanz lieferten 0,0242 CaO = 0,0172 Ca = 4,54% Ca . Relation Cl_2 : Ca für Chlorcalcium berechnet: 1,775, gefunden: 1,91. Gehalt des Präparates an CaCl_2 = 12,59%. Der CaCl_2 -Gehalt des ersten Eiereiweißpräparates war also durch nochmalige Fällung seiner wässerigen Lösung mit Alkohol von 16,57% bis auf 12,59% herabgesetzt worden. Um nun diese Möglichkeit, den dargestellten « CaCl_2 -Verbindungen» das CaCl_2 entziehen zu können, weiterhin zu studieren, wurde das zweite (CaCl_2 -ärmere) Präparat abermals in Wasser gelöst. Die fast bis zur Trockene eingeeengte Lösung wurde dann auf dem Wasserbade mit 90%igem Alkohol mehrere Male ausgekocht. Wurden die abfiltrierten alkoholischen Auszüge eingedampft, so zeigten die Lösungen der Rückstände in Wasser starke Trübungen auf Zusatz von HNO_3 + AgNO_3 und NH_3 + $\text{C}_2\text{O}_4(\text{NH}_4)_2$. Die mit Alkohol wiederholt ausgekochte Substanz wurde, nach 24 stündigem Stehen unter Alkohol, von diesem abfiltriert und so lange mit Alkohol absolut. nachgewaschen, bis Proben des Waschalkohols auf Zusatz von HNO_3 + AgNO_3 nur noch ganz leichte, hauchartige Trübungen zeigten. Die auf dem Filter bleibende Substanz präsentierte sich nach dem Nachwaschen mit Äther und Trocknen als staubfeines, hellbräunliches Pulver, dessen wässrige Lösung noch deutliche Biuretreaktion, jedoch nur geringe Trübungen auf Zusatz von HNO_3 + AgNO_3 und NH_3 + $\text{C}_2\text{O}_4(\text{NH}_4)_2$ zeigte. Die Analyse dieses Präparates ergab einen Chlorgehalt von 5,93% und einen Calciumgehalt von 3,06%. Relation Cl_2 : Ca für Chlorcalcium berechnet = 1,775, gefunden: 1,93. Chlorcalciumgehalt des Präparates = 8,49%.

Es war also möglich gewesen, den Chlorcalciumgehalt des zweiten Präparates durch entsprechende Behandlung mit Alkohol noch weiter um 4,1% zu vermindern.

Um nun das Verhalten des SrCl_2 zu den Verdauungsprodukten des Eiereiweißes mit seinem (schon beschriebenen) Verhalten zu den Albumosen und Peptonen des Fibrins vergleichen zu können, wurde — genau nach Analogie des vorhin für das CaCl_2 -Präparat erörterten Verfahrens — durch peptische Verdauung von auskoagulierte Eiereiweiß und nachfolgender Neutralisation mit SrCO_3 sowie anschließender Behandlung mit Alkohol als Endprodukt ein staubfeines, weißes Pulver mit den gleichen, schon bei dem Fibrinpräparat besprochenen Eigenschaften und Reaktionen gewonnen. 0,4319 g der trockenen Substanz ergaben 0,17895 AgCl = 0,0443 Cl = 10,26 % Cl. 0,4246 g der trockenen Substanz lieferten 0,07645 SrCO_3 = 0,0452 Sr = 10,64 % Sr. Relation Cl_2 : Sr für Chlorstrontium berechnet: 0,816, gefunden: 0,96. Gehalt des Präparates an SrCl_2 = 19,29%.

Hatte es sich bei den bisher untersuchten Eiweißkörpern entsprechend der kurzen (36- bis höchstens 72stündigen) Digestionsdauer wohl meist um der Gruppe der Albumosen angehörende Verdauungsprodukte gehandelt, so lag doch die Möglichkeit vor, daß die Produkte eines weitergehenden peptischen Eiweißabbaus in ihrem Verhalten zu den Haloidsalzen der Alkalien und Erdalkalimetalle nicht unwesentliche Verschiedenheiten aufweisen könnten. Um diese Frage zu beantworten, wurde auskoagulierte Eiereiweiß mit künstlichem Magensaft 14 Tage hindurch bei 40° digeriert. Es sei ausdrücklich hervorgehoben, daß während und am Schlusse der Digestionsperiode keinerlei Zeichen der Fäulnis oder Schimmelbildung beobachtet wurden, obwohl von dem Zusatz konservierender Mittel abgesehen worden war. Am Ende der 14tägigen Digestionszeit zeigte die Verdauungslösung starke Biuretreaktion und auf Zusatz von $\text{NaCl} + \text{CH}_3\text{COOH}$ nur eine ganz leichte diffuse Trübung. Die filtrierte Lösung wurde mit CaCO_3 und (nach dem Filtrieren und Eindampfen) nach dem schon mehrfach erörterten Verfahren mit Alkohol behandelt. Es re-

sultierte schließlich ein trockenes, feines, weißes Pulver, das sich leicht und völlig klar in kaltem Wasser löste. Die Lösung zeigte Biuretreaktion sowie Niederschläge auf Zusatz von $\text{HNO}_3 + \text{AgNO}_3$ und $\text{NH}_3 + \text{C}_2\text{O}_4(\text{NH}_4)_2$. 0,4384 g der trockenen Substanz lieferten $0,19865 \text{ AgCl} = 0,0491 \text{ Cl} = 11,19\% \text{ Cl}$. 0,4368 g der trockenen Substanz ergaben $0,03785 \text{ CaO} = 0,02702 \text{ Ca} = 6,18\% \text{ Ca}$. Relation $\text{Cl}_2 : \text{Ca}$ für CaCl_2 berechnet = 1,775, gefunden = 1,81. Gehalt des Präparates an Chlorcalcium = 17,15%.

Präparat VIII.

III. Versuchsreihe, bei der Wittepepton als Ausgangsmaterial zur Verwendung kam.

Benutzt wurde für die folgenden Versuche ein von Kahlbaum bezogenes Pepton «Witte». Eine an diesem Material ausgeführte Aschenbestimmung ergab 2,45% (berechnet auf die trockene Substanz).

Etwa 10 g Pepton «Witte» wurden (unter Erwärmen auf dem Dampfbade) in Wasser gelöst. Nachdem zu der Lösung etwa 2 g reinsten Chlorcalciums gegeben worden waren; wurde die noch trübe Flüssigkeit filtriert und dann bis auf ein kleines Volumen eingengt. Die klare, sirupöse Flüssigkeit wurde mit dem etwa zehnfachen Volumen Alkohol absolut. gefällt. Der Niederschlag wurde (nach 24-stündigem Stehen unter Alkohol) mit heißem Alkohol so lange ausgewaschen, bis die durch $\text{HNO}_3 + \text{AgNO}_3$ in abfiltrierten Proben des Waschkohols erzeugten Trübungen konstant blieben. Der (mehrere Male mit Äther nachgewaschene und getrocknete) Niederschlag stellte ein staubfeines, weißes, sich leicht klebrig anführendes Pulver dar, das sich schnell und völlig klar in kaltem Wasser löste. Die Lösung zeigte starke Biuretreaktion sowie Niederschläge auf Zusatz von $\text{HNO}_3 + \text{AgNO}_3$ und $\text{NH}_3 + \text{C}_2\text{O}_4(\text{NH}_4)_2$.

Präparat IX.

0,4286 g des trockenen Präparates ergaben $0,15775 \text{ AgCl} = 0,039 \text{ Cl} = 9,09\% \text{ Cl}$. 0,4282 g des trockenen Präparates lieferten $0,02955 \text{ CaO} = 0,02109 \text{ Ca} = 4,93\% \text{ Ca}$.

Relation $\text{Cl}_2 : \text{Ca}$ für Chlorcalcium berechnet = 1,775, gefunden = 1,84. Gehalt des Präparates an Chlorcalcium = 13,68%.

Genau nach der gleichen Methode wurden ferner unter

Benutzung von Wittepepton als Ausgangsmaterial, jedoch mit Verwendung von Calciumbromid und Calciumjodid zwei Präparate dargestellt, die sich in bezug auf äußere Beschaffenheit, Wasserlöslichkeit und Reaktionen ganz analog dem Wittepepton = Chlorcalciumpräparat verhielten.

Eine bei Präparat X (durch Schmelzen mit Salpetermischung) ausgeführte Br-Bestimmung ergab 15,08% Br. 0,4376 g der trockenen Substanz lieferten 0,1552 AgBr = 0,066 Br = 15,08%. Die an demselben Präparat ausgeführte Ca-Bestimmung ergab 3,75% Ca. 0,4341 g der trockenen Substanz lieferten 0,0229 CaO = 0,0163 Ca = 3,75%. Relation Br₂ : Ca für Calciumbromid berechnet = 4,0, gefunden = 4,02. Gehalt des Präparates an CaBr₂ = 18,75%.

Mehrere bei Präparat XI vorgenommene Ca-Bestimmungen ergaben einen Mittelwert von 2,9% Ca. Die an dem gleichen Präparat ausgeführten Jodbestimmungen lieferten jedoch insofern keine befriedigenden Resultate, als die (nach verschiedenen Methoden, u. a. auch nach der «Kalkmethode» und nach der Cariusschen Methode) gefundenen Zahlen stets hinter den (für CaJ₂) berechneten Jodwerten beträchtlich, in einzelnen Analysen sogar um mehrere Prozente zurückblieben. Eine Erklärung für dieses, von allen anderen hier ausgeführten Bestimmungen abweichende Verhalten dürfte vielleicht darin gefunden werden, daß schon bei der Darstellung des Präparates eine Zersetzung unter Dissoziation des CaJ₂ und Abspaltung freien Jods eintrat. Der (auf Grund der Ca-Bestimmungen berechnete) Gehalt des Präparates würde 21,3% CaJ₂ betragen.

IV. Versuch, bei dem Gelatine als Ausgangsmaterial zur Verwendung kam.

50 g Gelatine «Golddruck» (Kahlbaum) wurden in 1 l kalten Wassers eingeweicht und dann auf dem Dampfbade gelöst. Die Lösung wurde allmählich mit einer Auflösung von 10 g Chlorcalcium in 100 ccm Wasser versetzt, bis auf ein Volumen von etwa 250 ccm eingengt und dann in dünnem Strahl in 1 l Alkohol absolut. eingossen. Die Fällung wurde, nachdem der überstehende wässrige Alkohol nach 24 Stunden de-

kantiert worden war, nochmals mit Alkohol absolut. verrieben und (nach 24 stündigem Stehen unter Alkohol) auf dem Wasserbade getrocknet, gepulvert und schließlich mit heißem Alkohol so lange ausgewaschen, bis die in abfiltrierten Proben des Waschalkohols durch $\text{HNO}_3 + \text{AgNO}_3$ erzeugten Trübungen konstant blieben. Nach dem Nachwaschen mit Äther und Trocknen präsentiert sich der Niederschlag als ein feines, trockenes, weißes Pulver, das in kaltem Wasser keine Lösung, jedoch Quellung zur Gallerte zeigte und sich beim Erwärmen sofort klar löste. Die Lösung wurde durch Gerbsäurelösung gefällt und zeigte Niederschläge auf Zusatz von $\text{HNO}_3 + \text{AgNO}_3$ und $\text{NH}_3 + \text{C}_2\text{O}_4(\text{NH}_4)_2$.

Präparat
XII.

0,5167 g der trockenen Substanz ergaben 0,1728 AgCl = 0,0428 Cl = 8,28% Cl. 0,615 g der trockenen Substanz lieferten 0,0421 CaO = 0,03006 Ca = 4,89% Ca. Relation $\text{Cl}_2 : \text{Ca}$ für CaCl_2 berechnet = 1,775, gefunden = 1,69. Im Gegensatz zu allen bisher beschriebenen Präparaten, bei denen die Relation $\text{Cl}_2 : \text{Ca}$ den für Chlorcalcium berechneten Quotienten übertraf, wurde hier für den Ca-Gehalt ein größerer Wert, als dem für CaCl_2 berechneten entsprechen würde, gefunden — ein Verhalten, das vielleicht durch die z. T. aus Calciumsalzen bestehenden Aschenbestandteile der verwendeten Gelatine erklärt werden könnte. Gehalt des Präparates an Chlorcalcium = 13,57%. (Hier folgt die Tabelle der nächsten Seite.)

Will man nun die hier gewonnenen experimentellen Daten kurz zusammenfassen, so lassen sich als wesentliche Punkte die folgenden hervorheben:

1. Gewisse alkohollösliche anorganische Haloidsalze (wie CaCl_2 , CaBr_2 , CaJ_2 , SrCl_2 , LiCl), die sich zugleich mit gewissen Eiweißkörpern (wie den Verdauungsprodukten des Fibrins und Eiereiweißes, dem Wittepepton, der Gelatine) in wässriger Lösung befinden, werden durch Alkohol zusammen mit den betreffenden Eiweißkörpern in einem bestimmten Verhältnis ihrer Menge gefällt.

2. Aus diesen Niederschlägen lassen sich die Haloidsalze durch Auswaschen mit Alkohol nur sehr schwer und wohl kaum vollständig entfernen, auch nicht durch erneute Lösung der

Tabellarische Übersicht der dargestellten Präparate.

Num- mer des Präpa- rates	Halogen- gehalt %	Gehalt an Erdalkali usw. %	Relation Halogen: Erdkali bzw. Alkali- metall		Gehalt an Haloid- salz %
			berechnet	gefunden	
I	9,85 Cl	5,22 Ca	$\text{Cl}_2 : \text{Ca} = 1,775$	$\text{Cl}_2 : \text{Ca} = 1,89$	14,48
II	9,47 >	9,53 Sr	$\text{Cl}_2 : \text{Sr} = 0,816$	$\text{Cl}_2 : \text{Sr} = 0,99$	17,28
III	5,37 >	0,92 Li	$\text{Cl} : \text{Li} = 5,071$	$\text{Cl} : \text{Li} = 5,84$	5,58
IV	10,58 >	5,97 Ca	$\text{Cl}_2 : \text{Ca} = 1,775$	$\text{Cl}_2 : \text{Ca} = 1,77$	16,57
IV a	10,59 >	5,91 >	> = 1,775	> = 1,79	16,40
V	8,7 >	4,54 >	> = 1,775	> = 1,91	12,59
VI	5,93 >	3,06 >	> = 1,775	> = 1,93	8,49
VII	10,26 >	10,64 Sr	$\text{Cl}_2 : \text{Sr} = 0,816$	$\text{Cl}_2 : \text{Sr} = 0,96$	19,29
VIII	11,19 >	6,18 Ca	$\text{Cl}_2 : \text{Ca} = 1,775$	$\text{Cl}_2 : \text{Ca} = 1,81$	17,15
IX	9,09 >	4,93 >	> = 1,775	> = 1,84	13,68
X	15,08 Br	3,75 >	$\text{Br}_2 : \text{Ca} = 4,0$	$\text{Br}_2 : \text{Ca} = 4,02$	18,75
XI	—	2,90 >	$\text{J}_2 : \text{Ca} = 6,35$	—	21,31
XII	8,28 Cl	4,89 >	$\text{Cl}_2 : \text{Ca} = 1,775$	$\text{Cl}_2 : \text{Ca} = 1,69$	13,57

Niederschläge in Wasser und wiederholte Fällung dieser Lösungen.

3. Die Niederschläge stellen (nach gründlichem Auswaschen mit Alkohol und Trocknen) weiße bzw. hellbräunliche, staubfeine, leicht klebrig anzufühlende Pulver dar, die sich (mit Ausnahme des aus Gelatine dargestellten Präparates) in kaltem bzw. leicht erwärmtem Wasser schnell und vollkommen klar lösen. In diesen Lösungen lassen sich die betreffenden Haloidsalze direkt durch die typischen Reaktionen ihrer Anionen und Kationen nachweisen.

4. Die Niederschläge¹⁾ enthalten die Anionen und Kationen der einzelnen Haloidsalze in Mengenverhältnissen, wie sie der gegenseitigen Relation der betreffenden Elemente in der ursprünglich verwendeten Verbindung annähernd entsprechen, also z. B. Cl und Ca in dem annähernd gleichen Verhältnis wie im Chlorcalcium.

¹⁾ Hier besteht vielleicht eine Ausnahme für das Präparat XI hinsichtlich des Gehaltes an Ca und J.

5. Den absoluten Zahlen, die den Prozentgehalt der Niederschläge an Haloidsalz wiedergeben, ist schon deshalb kein bestimmender Wert beizulegen, weil einerseits der schließlich ermittelte Gehalt an alkohollöslichen anorganischen Verbindungen ganz von der Dauer und Intensität der Auswaschprozedur abhängen muß, anderseits der Endpunkt des Auswaschens mehr oder weniger willkürlich angenommen werden mußte. Immerhin hat sich gezeigt, daß bei möglichst gleichmäßiger Durchführung der Präparationsmethode die aus dem gleichen Material gewonnenen Endprodukte in bezug auf den Prozentgehalt an Haloidverbindung nur geringe Differenzen (von $0,17^{0/9}$) aufweisen. Wenn man nun diese ziemlich befriedigende Übereinstimmung als keine ganz zufällige betrachten will, so läßt sich über den Prozentgehalt der Niederschläge an entsprechender Haloidverbindung (unter Berücksichtigung der Molekulargewichte der betreffenden Salze) aussagen, daß alle untersuchten Eiweißkörper von Chlorcalcium größere Mengen zu «binden» vermögen als von CaBr_2 , CaI_2 oder SrCl_2 , daß ferner die aus Eiereiweißverdauung gewonnenen Präparate *ceteris paribus* einen etwas höheren Gehalt an CaCl_2 und SrCl_2 aufweisen als die entsprechenden durch Fibrinverdauung dargestellten Körper, daß schließlich die unter Verwendung von Wittepepton und Gelatine hergestellten Präparate den niedrigsten Chlorcalciumgehalt zeigen.

Suchen wir nun die naheliegende Frage nach der Art der «Bindung» der einzelnen Haloidsalze an die betreffenden Eiweißkörper zu beantworten, so müssen wir uns zunächst vergegenwärtigen, daß Kossel (und auch F. Hoppe-Seyler) für die Annahme einer «chemischen» Bindung folgende Argumente anführen konnten: Einmal müsse ein in Alkohol so leicht lösliches Salz wie Chlorcalcium sich in «chemischer Verbindung» befinden, wenn es durch Alkohol mit den Eiweißkörpern gefällt werde: dann aber enthielten die Aschen der betreffenden Präparate Cl und Ca in einem Verhältnis, das auch nicht annähernd der Formel CaCl_2 entspräche. Dem letzten Argumente kann nun hier keine Beweiskraft zugesprochen werden, da es wenigstens für die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Präparate nicht zutrifft; denn diese enthalten die Anionen und

Kationen der einzelnen Haloidsalze in Mengenverhältnissen, die mit der gegenseitigen Relation der Elemente in der entsprechenden Verbindung annähernd übereinstimmen. Daß aber auch die (hier immer bestätigte) Beobachtung der gleichzeitigen Fällung der Haloidsalze mit den Eiweißkörpern jedenfalls kaum für die Annahme einer festen intramolekularen «chemischen» Bindung verwertet werden kann, dafür spricht schon das Verhalten der wässerigen Lösungen aller Präparate. Konnten doch in diesen Lösungen die entsprechenden Salze durch die charakteristischen Reaktionen ihrer Anionen und Kationen stets direkt und ohne vorhergehende Veraschung nachgewiesen werden.

Wenn also die Annahme einer «chemischen Bindung» hier wohl zurücktreten muß, so wird man zur Erklärung der vorliegenden Beobachtung gewisse Adsorptionsphänomene heranziehen können. Daß alle Kolloide und im allgemeinen alle amorphen Substanzen ein größeres oder geringeres Adsorptionsvermögen für krystalloide Stoffe besitzen, ist ja eine längst bekannte Tatsache. Nach van Bemmelen¹⁾ ist nun die Adsorption von krystalloiden Substanzen abhängig: 1. von der Art und dem Bau des Kolloids, 2. von der Art des Lösungsmittels, 3. von der Art des gelösten Stoffes, 4. von dem Zustand der Moleküle (Ionisation) des gelösten Stoffes, 5. von der Temperatur. Zum Verständnis der Adsorptionsphänomene, die bei den hier vorliegenden Beobachtungen in Betracht kommen können, sei noch auf die Untersuchungen Spiros²⁾ hingewiesen. Spiro verwendete Lösungen von kolloidalem Eisenoxyd, das wohl in Wasser, jedoch nicht in Methylalkohol löslich ist. Als Fällungsmittel für das kolloidale Eisenoxyd benutzte er Chlorcalcium in wässriger Lösung. Spiro glaubt nun, die in diesem System auftretenden Fällungen durch die Annahme von Lösungsvorgängen erklären zu können und zwar derart, daß das CaCl_2 sich in Methylalkohol ebenso gut wie in Wasser, das Eisenoxyd dagegen nur in Wasser, jedoch nicht im Alkohol verteile.

¹⁾ van Bemmelen, Die Absorption von Stoffen aus Lösungen. Zeitschrift f. anorg. Chem., Bd. XXIII, S. 321, 1900.

²⁾ K. Spiro, Die Fällung von Kolloiden. Hofmeisters Beiträge, Bd. IV, S. 300 ff., 1904.

Allerdings dürfen die für die Adsorption durch anorganische Kolloide geltenden Bedingungen nicht ohne weitere Einschränkung auf die bei organischen Kolloiden (Eiweißkörpern) sich abspielenden Adsorptionsvorgänge übertragen werden. Denn, wie H. Freundlich¹⁾ durch umfangreiche Untersuchungen feststellen konnte, werden durch Kohle (Meroks «Blutkohle») anorganische Salze und Säuren in wässriger Lösung sehr schwach adsorbiert,²⁾ wobei organische Lösungsmittel wie Alkohol usw. die Adsorptionsvorgänge überhaupt nicht zu begünstigen scheinen, ganz im Gegensatz zu den hier vorliegenden Versuchen, die zu Adsorptionsverbindungen mit einem Gehalt bis zu 17% CaCl_2 , 18% CaBr_2 usw. führten. Freundlich³⁾ betont denn auch selbst die erheblichen Verschiedenheiten zwischen den Adsorptionswirkungen der Kohle und der kolloidal aufgeschwemmten Eiweißkörper, die besonders ihrer großen Oberfläche ihre stärkere Adsorptionskraft verdanken. Freundlich sucht die Adsorptionserscheinungen auf eine Änderung der Oberflächenspannung «festflüssig» zurückzuführen und zieht zur Erklärung den Satz heran, daß Stoffe, welche die Oberflächenspannung erniedrigen, adsorbiert werden müssen. Ähnliche theoretische Anschauungen vertritt auch Wolfgang Ostwald,⁴⁾ der das «Festhalten» bei der Adsorption dadurch zu erklären versucht, daß eine «innige Berührung der gelösten Phase mit der adsorbierenden vor sich geht», daß «eine Verkleinerung der Oberfläche: gelöste Phase — Dispersionsmittel und die Entstehung einer neuen Berührungsfläche: adsorbierende Phase — disperse Phase» stattfindet.

¹⁾ H. Freundlich, Über d. Adsorption in Lösungen. Zeitschrift f. physikal. Chem., Bd. LVII, H. 4, 1906.

²⁾ Vgl. auch die neuesten Untersuchungen von Hägglund, Diese Zeitschrift, Bd. LXIV, 1910.

³⁾ Freundlich, l. c.

⁴⁾ Wlfg. Ostwald in Oppenheimers Handb. d. Biochemie, Bd. I, S. 910 ff.