

# Über einen Proteinkörper des Liebigschen Fleischextraktes.

Von

Dr. Karl Mays.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Heidelberg.)

(Der Redaktion zugegangen am 16. März 1912.)

Nachdem durch das Studium der Spaltung der Proteine gezeigt worden ist, daß sich diese aus gewissen Bausteinen aufbauen, die dieselben in verschiedener, aber für jeden Körper charakteristischer Weise zusammensetzen, ist es geboten, möglichst viele Proteinkörper auf ihre Zersetzungsprodukte zu untersuchen.

Noch nicht untersucht sind z. B. die durch Kochen nicht koagulablen Proteinkörper des amerikanischen Fleischextraktes, deren Natur zu großen Kontroversen Veranlassung gegeben hat.

## Gewinnung.

Wenn man Fleischextrakt mit schwefelsaurem Ammoniak aussalzt, nachdem durch Kochen und Filtrieren die etwa vorhandenen koagulablen Proteine entfernt sind, erhält man eine vollkommen proteinfreie Lösung, und die nicht koagulablen Proteinkörper sind also in dem Niederschlage zu suchen.

An einem vorher zu anderen Zwecken mit Alkohol extrahierten Extrakte erhielt ich auch durch Aussalzen mit schwefelsaurer Magnesia eine Lösung von den gleichen Eigenschaften. In bezug auf die aussalzende Kraft bilden die Salze die Reihe: Kochsalz, Magnesiumsulfat, Ammoniumsulfat mit steigender Wirkung. Man wird also zur Gewinnung der Proteine aus Gemischen das niederste Glied der Reihe anwenden, um gegebenenfalls eine Trennung zu ermöglichen und etwa vorhandene schwerer aussalzbare Körper mit dem nächsten Salze zu gewinnen. Da Kochsalz aus dem Fleischextrakte keine Proteine

aussalzt, war hierfür die Verwendung des Magnesiumsulfates geboten, das übrigens in diesem Falle alle Proteine auszufällen schien. Da eine Magnesiumsulfatlösung durch Barythydrat ganz von dem Salz befreit wird, war seine Anwendung auch in dieser Hinsicht zu empfehlen.

Als Material diente mir das Liebig'sche Fleischextrakt, von dem mir das General-Depot der Liebig-Companie in Antwerpen zwei Kilo-Dosen unentgeltlich zur Verfügung stellte, wofür ich meinen besten Dank sage.

Ich erhielt dasselbe am 31. Januar 1910.<sup>1)</sup> Da die Schlachtperiode in Südamerika, wie mir die Gesellschaft mitteilte, von etwa Januar bis Juni geht, und da von der neuen Darstellung damals noch nichts zu haben war, stammte es aus der Schlachtperiode 1909; es machte aber einen sehr guten Eindruck und war — auch an der Oberfläche — hellgelbbraun.

Das Nettogewicht des Extraktes betrug 1814 g.

Das Extrakt wurde in warmes Wasser eingetragen und damit bis zum Kochen erwärmt. Dabei blieb etwas ungelöst, von dem abfiltriert wurde. Das Filtrat war von neutraler Reaktion. In einer Probe entstand auch nach Zusatz von wenig Essigsäure und nochmaligem Kochen keine Trübung. Die Biuretreaktion war deutlich. Millons Reagens gab beim Zusatz eine Fällung, die beim Kochen bestehen blieb und sich dabei, wie auch die Flüssigkeit, nur rosa färbte.

In das Filtrat wurde Magnesiumsulfat in Substanz eingetragen. Es ist zweckmäßig, dies allmählich zu tun, wobei sich, schon lange vor der Sättigung, der Proteinkörper als zusammenhängende Masse auszuschcheiden beginnt, während, wenn man gleich viel Salz zusetzt, der Niederschlag sich flockig ausscheidet, indem er die einzelnen Krystalle einhüllt, wodurch unnötig viel Salz in ihn hineinkommt.

Es stellte sich heraus, daß bei diesem Extrakt selbst Zerreiben mit dem Salz und längeres Stehen mit einem Überschuß davon den Körper nicht vollständig aussalzte, was erst beim Sättigen der Lösung beim Kochen geschah, dann aber so vollständig, daß eine filtrierte Probe keine Spur von Biuretreaktion mehr gab. Dieses nicht ganz vollständige

---

<sup>1)</sup> Da ich inzwischen krank war, hat sich die Verarbeitung so lange hingezogen.

sättigen war aber doch vorteilhaft, indem die beim Kochen sich ausscheidenden Anteile, die übrigens nicht bedeutend waren, sehr dunkel gefärbt erschienen, also offenbar mehr verunreinigt waren.

Die Hauptmenge wurde auf einer großen Metallnutsche gesammelt und mit konzentrierter Magnesiumsulfatlösung gewaschen. Die letzte Waschflüssigkeit war immer noch hellgelbbraun: es wurde aber von vollständigem Waschen abgesehen, da es den Eindruck machte, als ob die Masse dabei etwas anquellte und das Absaugen zuletzt sehr langsam ging.

Die Hauptmasse wurde nun mit konzentrierter Magnesiumsulfatlösung ausgekocht: dabei zog sie sich zusammen und wurde zähflüssig. Beim Abkühlen zeigte sie die Neigung, an der Wand des Gefäßes zu kleben, woran sie durch Rühren verhindert wurde. Nach völligem Abkühlen konnte sie leicht vollständig herausgenommen und zwischen Filtrierpapier gepreßt werden.

Die ausgepreßte Masse wurde in heißem Wasser gelöst. Dabei blieb etwas pulverige Substanz ungelöst, die sich als Magnesiumphosphat erwies aus den Phosphaten des Fleischextraktes, deren Hauptmasse sich aber in der Mutterlauge befinden mußte.

Die filtrierte Lösung wurde mit heißgesättigtem Barytwasser versetzt bis zu geringem Überschuß und der Baryt durch Kohlensäure entfernt. Vom Barytniederschlag wurde abfiltriert, dieser einigemal ausgekocht, die Auskochung mit dem Filtrate vereinigt und das Ganze erst auf freiem Feuer, schließlich auf dem Wasserbade eingedampft.

Es blieben 132 g des festen Körpers, lufttrocken gewogen. Die beim Eindampfen der salzgesättigten Mutterlauge entstehenden weiteren Ausscheidungen wurden in gleicher Weise behandelt wie der Hauptkörper und ergaben noch 8,8 g (die allerletzten, geringen Ausscheidungen wurden vernachlässigt). Es wurden also etwas über 140 g gewonnen, d. h. ca. 7,8% des Fleischextraktes, welche Zahl einer früher von mir für durch Ammonsulfat Aussalzbares gefundenen, nämlich 8,2%<sup>1)</sup> nahe kommt.

<sup>1)</sup> Siehe Zeitschrift für Biologie, Bd. 34, S. 279.

## Eigenschaften des Körpers.

Der Körper stellt eine bräunlichgelbe, spröde, nicht hygroskopische Masse dar. Er ist klar löslich in Wasser. Die Reaktion der Lösung ist so schwach alkalisch, daß sie nur in konzentrierten Lösungen als solche erkannt wird. Der Körper diffundiert durch Pergamentpapier, wenigstens teilweise, gegen Wasser; beide Teile wurden eingedampft; die alkalische Reaktion findet sich an dem Diffundierten, während das Nichtdiffundierte neutral reagiert. Beide Teile hinterlassen wenig, nicht schmelzende Asche, die an Wasser nichts Alkalisches abgibt, und die noch Magnesium enthält, das also durch die Barytbehandlung nicht vollständig entfernt wurde: Schwefelsäure enthielt der Körper nicht mehr.

Die Asche des Körpers enthält, auch wenn mit Soda und Salpeter verascht wurde, nur Spuren von Phosphorsäure (Molybdänreaktion).

Der Körper ist auch in verdünntem Alkohol (96% Alkohol, 6 : 4 Wasser) beim Kochen löslich; beim Erkalten scheidet sich ein Teil wenigstens wieder ab.

## Reaktionen des Körpers.

**Biuretreaktion.** In konzentrierter Lösung fällt dieselbe gut aus; die Farbe ist ein schöner Purpur; schon in 1%iger Lösung schlägt sie bei Mehrzusatz von Kupfersulfat leicht zu Violett um; sie ist aber auch in recht verdünnten Lösungen noch zweifellos zu erkennen, wenn man mit dem Zusatz der Kupferlösung vorsichtig ist.

**Millons Reaktion.** Auch diese Reaktion gibt nur in konzentrierten Lösungen eine gute rote Farbe; 1%ige Lösungen werden beim Kochen rosa; im Schaum finden sich geringe, bräunliche Partikel.

**Xanthoproteinreaktion.** 1%ige Lösungen werden beim Kochen mit Salpetersäure schwach gelb; bei Zusatz von Ammoniak etwas gelber, nicht orange.

**Salpetersäure.** Bei Zusatz von Salpetersäure bleibt die Lösung klar. Wird aber zuerst mit Kochsalz gesättigt, so

entsteht eine Fällung, die sich beim Kochen bis auf eine geringe Trübung löst und beim Erkalten wiederkehrt.

Ferrocyankalium erzeugt in essigsaurer Lösung keine Fällung.

Schwefelbleireaktion. Bei Kochen mit Natronlauge und Bleiacetat bildet sich kein Schwefelblei.

Eisenchlorid erzeugt in der wässrigen Lösung keine Fällung, auch beim Kochen nicht; wird aber Kochsalzlösung zugesetzt, so erzeugt das Eisensalz beim Kochen einen starken, harzigen Niederschlag, der nach Waschen mit kaltem Wasser leicht in Ammoniak löslich ist und sich auch beim Kochen in Wasser auflöst.

Neutrales Bleiacetat erzeugt keine Fällung.

Basisches Bleiacetat erzeugt erst bei Mehrzusatz geringe Trübung.

Tannin: Starker Niederschlag, der sich bei Kochen zusammenzieht und an der Wand klebt.

Reaktion von Hopkins und Cole. Eine 5%ige Lösung des Körpers zeigt mit Glyoxylsäure und konzentrierter Schwefelsäure erst nach einiger Zeit eine Spur von Purpurring an der Berührungsstelle: die Reaktion ist also äußerst schwach.

Diazoreaktion. Diazobenzolsulfonsäure erzeugt in sodaalkalischer Lösung eine Rotfärbung, die aber nicht von Histidin herzurühren braucht, sondern, da die Millonsche Reaktion, wenn auch nicht stark, so doch positiv ist, auch dem Tyrosin zugeschrieben werden kann.

Reaktion von Molisch:  $\alpha$ -Naphthol und konzentrierte Schwefelsäure geben eine starke Violett-färbung.

### Spaltungsprodukte.

Es wurden 50 g des Körpers nach der von Kossel und seinen Schülern, zuletzt ausführlich von F. Weiß<sup>1)</sup> beschriebenen Methode mit Schwefelsäure gekocht. Mein Zweck war dabei zunächst eine qualitative Untersuchung, hauptsächlich der basischen Bestandteile. Ich glaube, Einzelheiten übergangen zu dürfen, und führe hier nur die Hauptresultate an.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift. Bd. 52, S. 107.

Histidin. Der betreffende Silberniederschlag lieferte nach der Entsilberung eine Flüssigkeit, die eine sehr gute, schön purpurrote Diazoreaktion gab. Um einigermaßen über die Menge des Körpers orientiert zu sein, wurde zu einer Probe der ziemlich eingeeengten Flüssigkeit etwas salpetersaures Silber und wenig Ammoniak gesetzt. Dabei entstand ein mäßiger, flockiger Niederschlag, der im Überschuß von Ammoniak löslich war. Nach der Menge dieses Niederschlages zu urteilen, kann die Menge des vorhandenen Histidins keine bedeutende sein. Die Lösung gab auch keine Biuretreaktion, die von Herzog<sup>1)</sup> für den Körper angegeben ist. Vielleicht ist dafür stärkere Konzentration erforderlich.

Arginin und Lysin. Der Silberniederschlag in baryt-alkalischer Lösung und die Phosphorwolframsäurefällung lieferten diese beiden Körper, die durch die Krystallisation ihrer Pikrate noch charakterisiert werden konnten. Die Menge war schätzungsweise die bei der Spaltung von Proteinen zu erwartende.

### Wesen des Körpers.

Ich glaube, nach der Kenntnis dieser Reaktionen und Spaltungsprodukte schon hier auf das Wesen dieses Körpers eingehen zu sollen.

Es ist eine auffallende Tatsache, daß sich in dem amerikanischen Fleischextrakte unkoagulable Proteine finden. Neumeister<sup>2)</sup> faßt die Ergebnisse der bis 1893 ausgeführten Untersuchungen dahin zusammen: «Zunächst lassen sich niemals auch nur Spuren von Albumosen oder Peptonen im Blute, im Chylus, oder in irgend einem Organe nachweisen, auch dann nicht, wenn man diese Verdauungsprodukte sehr reichlich in den Darmkanal oder in abgebundene Darmschlingen von Tieren einführt.» Die letztere Tatsache steht allerdings in Widerspruch mit einer Angabe von Borchardt,<sup>3)</sup> welcher nach Fütterung von Elastin oder Elastinpepton eine Albumose in der Leber vorfand und

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 37, S. 248.

<sup>2)</sup> Lehrbuch der physiol. Chemie, 1893, S. 248.

<sup>3)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 51, S. 506; Bd. 57, S. 305.

von Nolf,<sup>1)</sup> welcher nach Einführung einer sehr großen Menge von Albumose diese in den Geweben nachweisen konnte, während Szumowski<sup>2)</sup> bei ähnlichen Versuchen zu ganz negativen Resultaten gekommen ist. Für normale Verhältnisse scheint seitdem der Lehre von dem Fehlen der Albumosen und Peptone in den Geweben des tierischen Körpers im allgemeinen nicht widersprochen worden zu sein. Allerdings sagt Folin,<sup>3)</sup> daß im Fleischextrakt, wie in den wässerigen Extrakten tierischer Organe überhaupt, Albumosen sich vorfinden; ich weiß jedoch nicht, auf welche Untersuchungen sich diese Ansicht stützt. Es gibt allerdings Ausnahmen, die aber nur auf gewisse Tiergattungen beschränkt zu sein scheinen. Ich habe selbst im Kaninchenfleisch einen unkoagulablen Körper beschrieben,<sup>4)</sup> der sich aber ganz anders verhält wie die im amerikanischen Fleischextrakt gefundenen, da er mit einer nicht zu geringen Menge von Essigsäure gefällt wird. Ich habe damals übersehen, daß schon v. Fürth<sup>5)</sup> einen offenbar ähnlichen Körper im Fischfleisch beschrieben hat, den er Myoproteid nannte. Ich habe damals darauf hingewiesen, daß es sich hier vielleicht um den von Kühne<sup>6)</sup> als Aeroalbumose bezeichneten Körper handelt. Eine Albumose im gewöhnlichen Sinne konnte auch v. Fürth<sup>7)</sup> im Muskelplasma nie nachweisen.

Weiter muß hier nochmals auf die Arbeiten Siegfrieds<sup>8)</sup> eingegangen werden. Dieser glaubte bekanntlich im käuflichen Fleischextrakt einen Körper gefunden zu haben, den er Phosphorleischsäure nannte, und der beim Kochen mit Eisenchlorid eine Verbindung lieferte, die er als Caraferrin bezeichnete. Er hielt die Phosphorleischsäure für einen chemisch einheitlichen Körper und für nucleinähnlich; da sich jedoch in ihrem Molekül kein Eiweiß finde, sondern «Fleischsäure», die er mit Kühne's Antipepton identifizierte, so bezeichnete er sie als ein «Nucleon».

<sup>1)</sup> Nolf, Bullet. de l'Académie royal de Belgique (classe des sciences) 1903. S. 1149.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 36, S. 198.

<sup>3)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 25, S. 152.

<sup>4)</sup> Zeitschrift f. Biologie, N. F., Bd. 16, S. 296.

<sup>5)</sup> Archiv f. exp. Pathologie u. Pharmakologie, Bd. 36, S. 259.

<sup>6)</sup> Zeitschrift f. Biol., N. F., Bd. 12, S. 231.

<sup>7)</sup> l. c.

<sup>8)</sup> Die Literatur s. in meiner Arbeit: «Über unkoagulierbare Eiweißkörper der Muskeln», Zeitschrift f. Biol., N. F., Bd. 16, S. 268.

Siegfried meinte zuerst,<sup>1)</sup> die Phosphorfleischsäure werde durch Ammonsulfat als solche ausgesalzen, zersetze sich aber bei der Dialyse, da der nicht dialysierende Anteil nur Spuren von Phosphor enthalte; später sagte er,<sup>2)</sup> sie werde schon beim Aussalzen zersetzt, dabei werde aber keine Fleischsäure gefällt, sondern ein phosphorfrees Zwischenprodukt. Dieses, meint er, hätte auch ich bei Zersetzung des Carniferrins mit Barythydrat erhalten, während er dabei das Pepton bekommen habe.<sup>3)</sup> Dann müßte es Siegfried doch auch einmal gelingen, bei der Spaltung des Carniferrins nur dieses Zwischenprodukt zu erhalten; er findet aber dabei immer, wenigstens zum Teil, die «Fleischsäure», d. h. Pepton, wovon ich mich aber nicht habe überzeugen können. Ich kann hier nur nochmals betonen, daß das von den Farbwerken Höchst nach Siegfrieds Angaben als «Fleischsäure» hergestellte Präparat keine Spur von Pepton enthielt.<sup>4)</sup> Ich habe Siegfried die Konzession zu machen versucht, daß ich bei der Spaltung des Carniferrins nur Phosphorfleischsäure<sup>5)</sup> erhalten hätte, konnte diese Ansicht aber doch nicht mit Siegfrieds Angaben in Einklang bringen, und Siegfried hat sie auch nicht angenommen, da er meint, ich habe das phosphorfrees Zwischenprodukt erhalten.

Kutscher und Steudel<sup>6)</sup> haben die Möglichkeit in Betracht gezogen, daß Siegfrieds Körper sich nicht in jedem Fleischextrakt finde, weil er nach dessen Ansicht bei der Arbeit des Muskels verbraucht werde. Diese Möglichkeit mag zugegeben werden, namentlich da Kutscher gezeigt hat, daß die Zusammensetzung des Fleischextraktes überhaupt, auch in anderer Beziehung, nämlich im Gehalt der von ihm gefundenen Basen schwankend ist.<sup>7)</sup>

Es wäre also möglich, daß die von mir untersuchten Fleischextrakte einen anderen Körper und keine Fleischsäure enthalten hätten. Es scheint mir aber noch eine andere Möglichkeit vorzuliegen, wenigstens für das vorliegende Extrakt. Wenn man den von mir dargestellten Körper, der an und für sich durch Eisenchlorid auch beim Kochen nicht gefällt wird, wohl aber bei Salzgegenwart, in einem eiweißfreien Fleischextrakt (s. später) löst, so fällt Eisenchlorid beim Kochen ebenfalls einen rostfarbenen, mehr pulverigen Niederschlag (während der bei Salzzusatz mehr harzig ist), der auch in Ammoniak leicht löslich ist und dem Carniferrin sehr ähnlich sieht. Ich habe diesen Niederschlag noch nicht genauer untersucht. Es liegt zwar nahe, anzunehmen, daß Siegfried den von mir gefundenen

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 21, S. 367.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 39, S. 131.

<sup>3)</sup> Siehe auch l. c., Bd. 39, S. 132.

<sup>4)</sup> Siehe meine Arbeit l. c., S. 293.

<sup>5)</sup> Ebenda, S. 294.

<sup>6)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 39, S. 375.

<sup>7)</sup> Zentralbl. f. Physiol., 1905, S. 507.

Körper in seinem Eisenniederschlage erhalten haben müsse; es wäre aber auch möglich, daß der von mir dargestellte Körper ein Gemisch wäre, aus dem Eisenchlorid nur einen Teil fällte, nämlich Siegfrieds Carniferrin. Es gibt einige Punkte, die tatsächlich dafür sprechen. Einmal ist die Ausbeute Siegfrieds an Fleischsäure eine viel geringere als die von mir erhaltene, und dann weicht wenigstens das Höchster Präparat in einigen Reaktionen entschieden von dem meinigen ab. Die Biuretreaktion fällt an ersterem entschieden röter aus als an meinem; ich möchte darauf aber nicht zu viel Gewicht legen, da die Lösung an sich rötlich gelb ist, während meine fast farblos ist; außerdem geht auch bei jenem Präparate die Farbe bei Mehrzusatz von Kupferlösung sehr bald zu mehr bläulichen Tönen über; dagegen wird meine Substanz in kochsalzgesättigter Lösung von Salpetersäure gefällt, das Höchster Präparat dagegen nicht. Es ist also möglich, daß die Fleischsäure ein anderer Körper ist als der von mir dargestellte, beziehungsweise darin steckt; aber ich kann sie doch nicht als Pepton auffassen; denn obwohl die oben genannten Reaktionen eher auf ein solches deuten könnten, ist mir doch bisher keine «Fleischsäure» in die Hände gekommen, die durch Ammonsulfat nicht vollständig ausfällbar gewesen wäre. Das geschilderte Verhalten des Höchster Präparates berührt auch nicht die Frage nach der Präformation der Fleischsäure, beziehungsweise der Phosphorfleischsäure im Fleischextrakte; denn es liegt doch die Annahme näher, die auch Folin<sup>1)</sup> und Kutscher<sup>2)</sup> gemacht haben, daß sie kein einheitlicher Körper sei und Siegfried den für albumoseähnlich gehaltenen Körper mit anderen gemischt ausfällt, als die unwahrscheinlichere, daß es ein chemisches Individuum wäre, das in so leichter Weise, nämlich durch Dialyse oder durch Aussalzen zersetzt würde.

Siegfried<sup>3)</sup> selbst betont die Konstanz des Vorkommens des Körpers, der Carniferrin liefert, indem er sagt: «Ich habe die käuflichen Fleischextrakte sowohl, als auch selbstbereitete Lösungen der Extraktivstoffe der Muskeln zur Darstellung des Carniferrins während anderthalb Jahren fortgesetzt verwendet und jedesmal Carniferrin erhalten.»

Wenn er es also auch bei selbstbereiteten Extrakten gefunden haben will, so steht er damit in unerklärlichem Widerspruch mit der oben erwähnten Erfahrung der Autoren, wie nicht minder mit meinen eigenen. Ich habe in meiner früheren Arbeit erwähnt,<sup>4)</sup> daß ich ein Fleischextrakt erhalten habe.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 25, S. 163.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 26, S. 120 und Bd. 38, S. 108, Fußnote.

<sup>3)</sup> Arch. f. Anat. u. Physiol., physiol. Abt., 1904, S. 405.

<sup>4)</sup> l. c., S. 295.

das nur Spuren von Protein enthielt. Ich bin damals von der Idee ausgegangen, daß sich etwa beim Liegen des Fleisches unkoagulable Körper bilden könnten, und deshalb betont, daß ich Fleisch genommen habe, wie man es eben vom Schlächter erhält: es könnte aber auch sein, daß im ganz frischen Fleische sich ein solcher Körper befände, der im Gegenteil beim Liegen zerstört würde. Ich habe deshalb auf dem Schlachthofe Fleisch von einem eben getöteten Ochsen entnommen, möglichst rasch ins Laboratorium gebracht und dort verarbeitet, aber auch so ein Extrakt erhalten (das ich oben S. 44 erwähnt habe), das keine Spur von Biuretreaktion gab, die auch bei der Anwesenheit geringer Mengen meines dargestellten Körpers bei vorsichtigem Anstellen der Reaktion, wenn auch schwach, so doch zweifellos zu konstatieren ist.

Ich komme nun zu der Frage, was der von mir aus Liebigs Fleischextrakt dargestellte Körper eigentlich ist. Nach seiner Darstellung und seinen Reaktionen sind einerseits genuines Protein, andererseits Pepton ausgeschlossen, und es bleiben nur die in der Mitte stehenden Albumosen übrig: das Fehlen oder sehr geringe Vorhandensein der Tyrosin- und Tryptophangruppe würde auf einen Antikörper weisen, und von diesen wäre wieder die Heteroalbumose wegen der leichten Löslichkeit des Körpers in Wasser ausgeschlossen.

Aber es fehlen dem Körper einige Reaktionen, die alle bis jetzt untersuchten Albumosen geben. Schon die Biuretreaktion stimmt nicht für Albumosen; denn, wenn diese hier auch nicht so rot wie bei den Peptonen ausfällt, schlägt sie doch nicht so leicht ins Bläuliche um. Alle Albumosen werden durch Essigsäure und Ferrocyankalium, Sublimat, neutrales und basisches essigsaures Blei gefällt (alle Niederschläge werden im Überschusse mehr oder weniger gelöst). Ferner geben alle Albumosen die Xanthoproteinreaktion.<sup>1)</sup> Diese Reaktionen fehlen bei dem von mir dargestellten Körper ganz oder nahezu, mit Ausnahme der Sublimatfällung, ebenso bei der Fleischsäure (von Höchst), bei der aber auch die Sublimatfällung negativ

<sup>1)</sup> Wegen dieser Reaktionen vgl. Cohnheim, Chem. d. Eiweißkörper. II. Aufl. 1904, S. 84.

ausfällt. Es gibt aber eine Substanz, die in diesen Reaktionen sich sehr ähnlich verhält. Dies ist das Glutin. Schon das physikalische Aussehen der erkalteten, schon ziemlich konzentrierten Lösung meiner Substanz, die in diesem Zustande eine rissige feste Gallerte darstellte, erinnerte an erkalteten Leim, jedoch gelatiniert schon eine 10%ige Lösung des Körpers nicht: es müßte sich also um die nicht oder vielleicht nur in sehr konzentrierter Lösung gelatinierbare Modifikation handeln.

Sehr charakteristisch für Glutin sind die bei seiner Spaltung in großen Mengen auftretenden Produkte, das Glykokoll und die Glutaminsäure, und es war deshalb geboten, auch die bei der Spaltung erhaltenen Monoamidosäuren zu untersuchen, wobei ich neben den genannten Substanzen auch noch auf die Pyrrolidincarbonsäure Rücksicht genommen habe.

Die Menge der aus dem Körper bei der Schwefelsäurespaltung gewonnenen Amidosäuren war eine beträchtliche. Lufttrocken (bis auf einen geringen Rest von etwa 1 g) gewogen = 12,36 g. Diese wurden nach der Fischerschen Methode verestert und dabei 3,22 g Glykokollesterchlorhydrat erhalten. Negativ fiel dagegen die Untersuchung auf Glutaminsäure aus. Ich habe 20 g des Körpers mit konzentrierter Salzsäure gekocht, die Lösung eingeengt und unter Abkühlen mit gasförmiger Salzsäure gesättigt. Bei längerem Stehen im Freien war aber neben einigen Kochsalzkrystallen kaum etwas Krystallinisches zu entdecken.

Pyrrolidincarbonsäure konnte konstatiert werden. Die sauren Anteile der Schwefelsäurespaltung des Körpers wurden mit Alkohol ausgekocht, dieser eingedampft und der Rückstand mit kaltem Alkohol aufgenommen: dabei blieb eine weiße pulverige Masse ungelöst, während bei mehrmaligem Wiederholen der Operation ein nur noch sehr wenig dieser weißen Substanz enthaltender sirupöser Rückstand blieb. Dieser wurde in 50 ccm Wasser zu einer sauren Lösung gelöst und damit einmal eine Kjeldahlsche und dann eine van Slykesche Stickstoffbestimmung gemacht. Die Kjeldahlsche Bestimmung ergab für diese Lösung 0,131 g N, die van Slykesche 0,038 g N. Es wären also in den 50 ccm 0,093 g N in Pyrrolidincarbonsäure

enthalten, so daß ungefähr 1 g dieser Säure vorhanden gewesen wäre. Da 50 g der Substanz zur Schwefelsäurespaltung genommen waren, enthielten diese ca. 2% Pyrrolidincarbonensäure.

Obwohl diese Versuche (mit Ausnahme der N-Bestimmungen) nicht quantitativ angestellt wurden, so sind doch die Zahlen für Glykokoll und Pyrrolidincarbonensäure auf Glutin bezogen zu klein und das negative Resultat bei der Glutaminsäure nicht dafür sprechend. Indessen können hier Mängel der Darstellung vorliegen. Bemerkenswert scheint mir doch schon die gefundene Menge des Glykokolls zu sein. Die Albumosen sind in dieser Beziehung noch nicht untersucht, wenigstens nicht quantitativ. Wenn man aber die Proteine betrachtet, aus denen sie hervorgehen,<sup>1)</sup> so findet man, daß einige frei von Glykokoll sind, wie Globin aus Blut, Serumalbumin, ein anderes, das Syntonin aus Fleisch, wenn auch nicht viel, doch so viel Tyrosin liefert, daß es nicht mit dem von mir dargestellten Körper verglichen werden kann. Dagegen würde das Serumglobulin in bezug auf Glykokoll und Pyrrolidincarbonensäure mit den von mir gefundenen Zahlen übereinstimmen, aber dieses liefert Cystin, während der Körper des Fleischextraktes schwefelfrei ist. Wenn man also hier nicht einen neuen, bis jetzt ganz unbekanntem Körper annehmen will, muß man eben wieder auf denjenigen zurückkommen, der die größte Ähnlichkeit damit hat, auf das Glutin oder dessen Derivate, die sich in ihrer Zusammensetzung bekanntlich wenig von der Muttersubstanz unterscheiden.

Ich gebe hier eine Tabelle, die namentlich die weitgehende Übereinstimmung der Reaktionen des Körpers aus dem Fleischextrakt mit dem Glutin erläutert; daneben habe ich die Fleischsäure und die Albumosen gestellt. Die Reaktionen sind nicht alle übereinstimmend, andererseits habe ich an bester käuflicher Gelatine solche gefunden, die mit den gewöhnlichen Angaben nicht übereinstimmen, sich dagegen meinen Befunden nähern. Besonders zu erwähnen sind 1. die Tanninreaktion, die als nur bei Salzgegenwart eintretend angegeben wird, während der von mir

<sup>1)</sup> Siehe die Tabellen in Cohnheims Chemie der Eiweißkörper. II. Aufl., S. 42 ff.

Tabelle der Reaktionen von Glutin, dem Körper aus Fleischextrakt, der Fleischsäure Höchst und der Albumosen.

Die Reaktionen von Leim und Albumosen nach Cohnheim, Chemie der Eiweißkörper. Das Einklammerte bei «Leim» bezieht sich auf von mir angestellte Reaktionen, die teils ergänzen, teils etwas abweichen; ferner auf Angaben von Klug (Pflügers Archiv, Bd. 48, S. 101). Das Einklammerte bei «Fleischsäure Höchst» bezieht sich auf Siegfrieds Angaben über «Fleischsäure».

	Glutin	Körper aus Fleischextrakt	Fleischsäure Höchst	Albumosen
Salpetersäure	o (in Kochsalzgesättigter Lösung: Fällung, in Überschuß und bei Kochen fast ganz löslich)	o; mit Kochsalz gesättigt: Fällung, bis auf eine Trübung bei Kochen gelöst. Kalt: wiederkehrend	Auch in Kochsalzgesättigter Lösung: o	Teils direkt gefällt, teils nach Salzzusatz.
Tannin	Fällung bei Gegenwart von Salz. Bei Kochen: gelöst; erkaltet: wiederkehrend	Direkt gefällt ohne Salz. Kochen: Niederschlag zieht sich zusammen, klebt an der Wand	(Fällung)	Fällung.
Sublimat	Fällung bei Gegenwart von Salz oder Salzsäure (o, selbst bei Salzzusatz, Fällung bei Salzsäure)	Fällung ohne Salz. Der Niederschlag geht beim Kochen in den Schaum und an die Wand	(o) o, auch bei Kochsalzzusatz nicht	Fällung.
Millon	Angedeutet rosa (Klug: flockiger Niederschlag, bei Kochen gelöst. Flüssigkeit: rot)	In konzentrierter Lösung: zieml. gut. In 1%iger Lösung: rosa, dunkle Partikel im Schaum	(o) Trübung, die sich bei Kochen rötlich färbt und dann sich löst zu vorübergehend roter Lösung: im Schaum: braune Partikel	verschieden.
Neutr. essigsaures Blei	o	o	—	Fällung.
Bas. essigsaures Blei	Fällung (bei wenig: o; mehr: geringe Trübung. Bei Kochen: vermehrt. Klug: Fällung)	Bei wenig: o; bei mehr: Trübung; bei Kochen: etwas vermehrt	—	Fällung.
Eisenchlorid	o (+ Kochsalz bei Kochen: zähe Fällung; nach Auswaschen: löslich in Ammoniak und bei Kochen)	o; + Kochsalz bei Kochen: zäher Niederschlag; nach Waschen: löslich in Ammoniak und bei Kochen. Gelöst in proteinfreiem Fleischextrakt: Niederschlag bei Kochen, löslich in Ammoniak	(Fleischsäure: gallertiger Niederschlag)	Fällung.
Ferrocyankal. und Essigsäure	o bis Spur	o	o	Fällung.
Buret	Violett (Klug: blauviolett)	purpur, bald zu violett	(sehr rot) rot, aber Farbe der Lösung rötlich-gelb	Rot. ins Violette spielend.
Kochsalz	o	o	—	verschieden.
Kochsalz Essigsäure	trüb	trüb	—	verschieden.
Ammonsulfat	gefällt	gefällt	gefällt	gefällt.

Die Fällungen sind mehr oder weniger beim Kochen löslich.

dargestellte Körper direkt gefällt und beim Kochen nicht gelöst wird. Ich muß hier erwähnen, daß Klug<sup>1)</sup> für seine Gelatosen und Glutininpepton auch direkte Fällung angegeben hat und bei letzterem erwähnt, daß der Niederschlag beim Kochen sich zusammenziehe, dann allerdings mehr oder weniger gelöst werde.

2. Die Sublimatreaktion, für die Klug<sup>1)</sup> und Chittenden,<sup>2)</sup> letzterer für Proto- und Deutero-Gelatose, Fällungen angeben, die sich aber beim Kochen lösen: dagegen habe ich bei Gelatine auch bei Salzzusatz keine Fällung erhalten, was wieder mit dem Siegfriedschen Körper übereinstimmt.

Es fragt sich nun noch, wie die Anwesenheit des Körpers im amerikanischen Fleischextrakte zu erklären ist, da er sich doch in selbstbereiteten Extrakten nicht findet. Schon Kemmerich<sup>3)</sup> hat davon gesprochen, daß sich im Fleischextrakte Leim finde. Ich<sup>4)</sup> konnte seine Gründe dafür nicht anerkennen. Aber ebenso blieb damals die Frage ungelöst, wie Albumosen ins Fleischextrakt kommen sollten. Wenn wir in unseren Laboratorien die Extraktivstoffe des Fleisches untersuchen wollen, besteht, um den Leim auszuschließen, die Vorschrift, das zerkleinerte Fleisch mit Wasser zunächst nicht über 60° C zu erwärmen. Dabei koaguliert ein beträchtlicher Teil der Muskelproteine und preßt in sehr vollkommener Weise die Extraktivstoffe aus. Erst nachdem die Masse kühlt und ausgepreßt ist, soll die Koagulation der noch in Lösung befindlichen Proteine ausgeführt werden. Ich habe bei der Herstellung der oben erwähnten eiweißfreien Extrakte diese Vorschrift befolgt und dachte, daß die Bereitung des amerikanischen Fleischextraktes in der gleichen Weise geschähe und deshalb auch in ihm der Leim auszuschließen sei.

Es fragt sich nun, wie das Fleischextrakt in Südamerika hergestellt wird?

Wir besitzen darüber einen authentischen Bericht. Im Jahre 1908 schickte die englische Zeitschrift *The Lancet*

1) l. c.

2) Chittenden and Solley, Journ. of physiology, Bd. 12, S. 23.

3) Diese Zeitschrift, Bd. 18, S. 409.

4) l. c. S. 271.

einen Vertreter nach Südamerika, um die Zubereitung des Extraktes zu studieren, und dieser hat seine Erfahrungen in dieser Zeitschrift veröffentlicht.<sup>1)</sup> Danach wird das zerkleinerte Fleisch frisch getöteter Tiere mit der gleichen Menge Wasser durch Dampf erhitzt auf 80—94° C. Der Berichterstatter sagt, daß die letztere Temperatur nie überschritten werden dürfe, da sonst das Extrakt Leim enthalten würde. Ferner sagt er: «Man muß bedenken, daß die Fleischsubstanz eine Zeitlang in Berührung ist mit heißem Wasser in Gegenwart der normalen Säuren des Muskelgewebes. Daraus folgt, daß eine teilweise Hydrolyse der Albumine stattfindet und deshalb ein gewisser Anteil des Fleisches in das Extrakt gelangt, hauptsächlich in der Form von Albumose und Pepton». Gegen diese Auffassung möchte ich einwenden, daß bei der angegebenen Temperatur eine Bildung von Leim durchaus nicht ausgeschlossen ist. Die Bindegewebsfibrille schrumpft bekanntlich bei 70° C. plötzlich zusammen, was gewiß als Vorstufe der Leimbildung aufzufassen ist. Nun ist der Körper, den ich aus dem Fleischextrakte dargestellt habe, sicher kein genuines Glutin; denn eine 10%ige Lösung gelatiniert nicht. Über den Übergang des Glutins in die nicht gelatinierende Form gibt es verschiedene Ansichten. Während Hofmeister<sup>2)</sup> sagt, daß Gelatine, die mit viel Wasser gekocht wird, nach 25 Stunden in der eingedampften Lösung noch gelatiniere, gibt Kühne<sup>3)</sup> gerade für verdünnte Lösungen an, daß sie bei etwa 50° C. schon in 12 Stunden das Gelatinierungsvermögen einbüßen. Als sehr verdünnte Lösung ist allerdings das Fleischextrakt bei der angeführten Bereitungsweise nicht anzusehen; aber hier können Reaktion, Anwesenheit von Salzen oder anderen Körpern die Denaturierung des Glutins und vielleicht auch seine Überführung in Glucosen begünstigen. Ich möchte eher glauben, daß Glutin sich bilde und diese Veränderung erleide, als daß beim bloßen Kochen des Fleischextraktes so große Mengen von Albumosen aus Eiweißkörpern entstehen, wie sie

<sup>1)</sup> The Lancet, 1908, Vol. 2, p. 1233.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 2, S. 299.

<sup>3)</sup> Lehrbuch der physiol. Chem., Leipzig 1866, S. 257.

als darin vorhanden angenommen werden, wenn auch eine geringe Bildung nicht ausgeschlossen ist.

Für den Wert des Fleischextraktes, der ihm nicht nur als Genuß- sondern auch als Reizmittel zukommt, ist der Gehalt an proteinartigen Körpern von keinem Belang. Das Extrakt wird nur in so kleinen Quantitäten verwendet, daß sein Nährwert nicht in Betracht kommt. Dagegen glaube ich, daß diese Substanzen aus einem anderen Grunde nicht entbehrt werden können, nämlich weil sie dem Extrakte eine zweckmäßige Konsistenz verleihen.