

Verhalten des Globulins zu den Metallsalzen.

Metallsalziges Globulin.

*Synonyme: Albumin—Lassaigne, Berzelius u. a., Fibrat, Caseat, Albuminat u. dergl.—
Mulder, Simon u. a., metallsalziges Globulin—Morochowetz.*

Von Prof. L. Morochowetz.

Allgemeine historische Tatsachen. Recht viele Beispiele von Fällbarkeit des Blutserums durch Metallsalze finden wir bei Zetzell (1769. 75 p. 244); aber nur seit Anfang des vorigen Jahrhunderts hat sich die Meinung, dass die proteinhaltigen Flüssigkeiten durch Lösungen von Metallsalzen gefällt werden, allgemeine Geltung verschafft. Nach Bostock's Beobachtungen, der diese Beziehungen studirte (8 p. 247; 8-ap. 64) und Fällbarkeit des Filtrats durch Sublimat sogar nach der Fällung des Serums durch Kochen gewährte (9 p. 71), ist es interessant Thénard's Schlüsse (67 p. 106) zu verzeichnen, dass „fast alle Metallsalze das Protein fällen, wobei sowohl das Protein als auch die Säure sammt der Base in den Niederschlag übergehen“. Doch finden wir das erste mehr oder weniger vollständige Verzeichnis auf das Fällungsvermögen proteinhaltiger Flüssigkeiten untersuchter Salze ¹⁾ bei Thomson, wobei dieser Autor (68 p. 31) den Schluss zieht, dass alle genannten Metallsalze, ausser

¹⁾ La table, que je donne ici indique, d'après mes expériences, les effets des sels métalliques sur la même dissolution d'albumine.

<i>Sels métalliques.</i>	<i>Effets.</i>
1. Nitro-muriate d'or	Précipité floconneux, jaune et abondant, qui se redissout par l'ammoniaque.
2. Muriate de platine.	Précipité blanc jaunâtre.
3. Nitrate d'argent	Précipité abondant brun rougeâtre qui ne se redissout pas par l'ammoniaque.
4. Nitrate de mercure.....	Précipité blanc.
5. Oxymuriate de mercure.....	Précipité d'un blanc léger.
6. Sur-oxysulfate de mercure.....	Précipité blanc.
7. Prussiate de mercure.....	Aucun changement.
8. Oxynitrate de cuivre.....	Coagulum vert, qui se redissout en ajoutant davantage de cuivre: le mélange devient alors opaque.
9. Muriate de cuivre.....	Précipité blanc abondant.
10. Oxysulfate de cuivre.....	Précipité blanc verdâtre.
11. Cuprate d'ammoniaque	Aucun changement. L'acide muriatique rend le mélange sans couleur, mais il ne s'y produit aucun précipité
12. Sulfate de fer.....	Il se précipite des flocons bruns.
13. Oxysulfate de fer dans l'alcool	Précipité abondant d'un blanc sale.
14. Oxymuriate de fer.....	Aucun changement.
15. Oxynitrate de fer.....	Aucun précipité. Il se verdit.
16. Oxymuriate d'étain.	Devient lentement laiteux.
17. Sur-oxymuriate de plomb.....	Un précipité blanc abondant.
18. Acétate de plomb.....	Un précipité blanc abondant.
19. Nitrate de plomb	Un précipité blanc abondant.
20. Plombate de potasse.....	Aucun changement; mais l'acide muriatique y produit un précipité blanc abondant.

Kobalt, Niederschläge erzeugen, diese aber niemals ausfallen, wenn die Oxyde durch Alkalien oder Erdalkalien in Lösung erhalten werden ¹⁾ (68 p. 31). Hünefeld (30-a p. 249) findet, dass die proteinhaltigen Flüssigkeiten ausser durch die Chloride, Sulfate und Nitrate der Schwermetalle auch durch Alaun gefällt werden, worauf übrigens Zetzell (75 p. 244) schon früher hingewiesen hatte; es werden in Wasser unlösliche Verbindungen erhalten, die sich aber in einem Überschuss der proteinhaltigen Flüssigkeit auflösen. Dieser Umstand entspricht im allgemeinen den oben angeführten Beobachtungen Thomson's über die Fällbarkeit des Proteins durch alkoholische Lösungen von Metalloxyden.

Allein schon Hünefeld fand, dass diese aus Metallsalzen und Protein bestehenden Niederschläge unbeständige Verbindungen sind, und dass z. B. die von Orfila erhaltene Verbindung des Proteins mit Sublimat bei längerem Waschen sich zersetzt, wobei sie das Sublimat dem Wasser abgibt, während eine geringe Menge unveränderten Proteins als Rückstand zurückbleibt (30-a p. 249). Hünefeld fand unter anderem, dass Gold- oder Platinchlorid mit Protein gelbliche Niederschläge bilden (30-a p. 250).

Sehr interessante Beobachtungen stellte Berzelius (4 p. 44) an, indem er eine fast neutrale Fibrinlösung in Ätzkali mit Metallsalzen fällte; die erhaltenen Niederschläge hielt er für eine Verbindung des Proteins mit dem Oxyd, oder, im Fall das Salz im Überschuss vorhanden war, für eine doppelte Verbindung des Proteins mit dem Oxyd und dem Salze. Einige solche Niederschläge wären in Ätzkali löslich. Die Lösung des durch Sublimat in Ätzkali hervorgebrachten Niederschlags gebe nach der Behandlung mit Schwefelammonium einen aus Quecksilbersulfid bestehenden Niederschlag (4 p. 44). Seine Beobachtungen über die Fällbarkeit der proteinhaltigen Flüssigkeiten mit Metallsalzen verallgemeinernd, sagt Rose (58 p. 132), dass man Verbindungen des Proteins nicht nur mit Alkalien sondern auch mit Salzen in Gestalt von basischen Doppelsalzen wohl annehmen dürfe, direkte Versuche ihm jedoch gezeigt hätten, dass das Protein sich in dieser Beziehung wie indifferente vegetabilische Substanzen—Zucker, Gummi, Stärke u. dergl.—verhalte, die sich den Basen gegenüber wie Säuren verhalten (58 p. 132). So fand Rose, dass bei dem Einträufeln einer Proteinlösung in eine Metallsalzlösung Niederschläge erhalten wurden, welche in einem Überschuss sowohl der proteinhaltigen Flüssigkeit als auch derselben Salze löslich waren. Bei gewissen gegenseitigen Verhältnissen entstanden Niederschläge, die sich in Wasser nicht lösen und daher gewaschen werden können. Bei der Einwirkung von Kupfersulfat erhalte man einen aus Protein und Kupferoxyd bestehenden Niederschlag; mit Eisenchlorid—aus Protein und Eisenoxyd bestehende geléartige Massen, sowie mit Zinksulfat eine weisse Verbindung

21. Plombate de chaux	Aucun changement.
22. Muriate de zinc	Devient peu-à-peu très-laiteux.
23. Nitrate de bismuth.....	Un précipité blanc qui ne paraît pas sur-le-champ, à moins qu'il n'y ait excès d'acide:
	Un précipité blanc.
24. Nitrate d'antimoine.....	Devient peu-à-peu laiteux.
25. Muriate d'arsenic	Aucun changement.
26. Arseniate de potasse	Aucun changement.
27. Arseniate de cobalt	Aucun changement.
28. Prussiate de potasse	Un précipité léger blanc après une heure de repos (68 p. 31-3).
29. Oxalate d'ammoniaque.....	

¹⁾ Ainsi tous les métaux essayés produisaient, à l'exception du cobalt, un précipité; mais il ne s'en manifestait jamais lorsque l'oxyde était tenu en

dissolution par un alcali, ou par une terre (68 p. 33).

mit Zinkoxyd (58 p. 141). In der Verbindung von Protein mit Kupfer fand Rose 1,50—1.69 % CuO (58 p. 132).

Rose findet im allgemeinen, dass die Proteinniederschläge in Salzlösungen oder die Salzniederschläge in Proteinlösungen in einem Überschuss der Flüssigkeit, welche man zusetzt, löslich sind, mit Ausnahme der Sublimatniederschläge, die sich nur in einem Überschuss der proteinhaltigen Flüssigkeit lösen. Denis (1838. 15 p. 76) findet, dass Quecksilbernitrat, Sublimat, Bleiacetat auch mit ausgeschiedenem Protein unlösliche Verbindungen bilden, dass aber diese Salze auch Serum fallen (15 p. 80).

Lassaigne's (33 p. 594) Ansicht nach wird das Protein von Sublimat gefällt, wobei eine Verbindung jenes gerade mit dem Sublimat ohne Zersetzung dieses letzteren entstehe, und der Niederschlag sich in Lösungen von Alkalichloriden,-bromiden und -jodiden löse. Lassaigne findet, dass 6 Teile Protein sich mit 1 Teil Sublimat verbinden. In der Folge (1839) nahm er an, dass das Protein sich mit allen Salzen, doch ohne Zersetzung letzterer, im Verhältnis von mehreren Molekülen Protein auf 1 Mol. eines gegebenen Metallsalzes verbinden könne, und schlug vor, diese Verbindungen Albuminate zu nennen (34 p. 819; 36 p. 310 und 35 p. 496). Die Möglichkeit einer Spaltung der Metallsalze durch das „Albumin“ behufs Verbindung dieses mit den Oxyden spricht Lassaigne entschieden ab und nimmt eine direkte Verbindung des „Albumins (A)“ mit Salzen in folgenden Verhältnissen an: $A_6(PbO)_3C_4H_6O_3$; $A_8HOA_2O_3$; $A_5CuOC_4H_6O_3$; A_4CuOSO_3 ; $A_1AgOAzO_3$; A_6PtCl_4 (35 p. 496).

Das Zustandekommen einer direkten Verbindung von Oxyden mit „Albumin“ gibt Lassaigne nur unter der Mitwirkung von Alkalien zu. Eine solche Verbindung erhalte man bei der Auflösung des durch Kupfersulfat in Blutserum erzeugten Niederschlags in Ätzkali: „Albumin—88,90; Alkali—7,56 und Kupferoxyd—3,04“. Die Lösung dieser Verbindung sei bläulich violett, werde aber beim Erwärmen heller (37 p. 529—31).

In der Folge erhielten Vogel & Reischauer (69-a p. 529) ebensolche bläulich-violette Flüssigkeiten bei der Auflösung verschiedener Proteinkörper in Kupferoxydammoniak, der Schweitzer'schen Lösung.

Auch Mitscherlich (46 p. 302) findet, dass, wenn kleine Porzionen Bleiacetat in proteinhaltige Flüssigkeiten eingetragen werden, die Niederschläge beim Umschütteln verschwinden, bei einem gewissen Sättigungsgrade mit dem Salze sich nicht mehr auflösen, aber durch Essigsäurezusatz zum Schwinden gebracht werden können (46 p. 302). Bei der Fällung mit Bleizucker hinterliess das Filtrat nach der Entfernung des Niederschlags beim Abdampfen einen trocknen Rückstand, der sich, Mitscherlich's Ansicht nach, auf kosten der Essigsäure in Wasser löste. Beim Kochen des Niederschlags mit Schwefelsäure wurde der Geruch von Essigsäure deutlich gespürt (46 p. 303).

Wird die lösliche Verbindung von Protein und Bleiacetat mit Schwefelwasserstoff, Kalicarbonat oder Schwefelsäure behandelt, so würden Niederschläge entstehen, die aber kein Schwefelblei, Bleicarbonat oder Bleisulfat geben, sondern dreifache Verbindungen vorstellen, welche auch das Protein enthalten. Bei der Einwirkung z. B. von Schwefelwasserstoff entstehe nicht einfach eine Verbindung von Schwefel und Blei, sondern eine Verbindung von Schwefel, Blei und Protein, und nicht bloss eine unlösliche sondern auch eine mit bräunlicher Farbe in Wasser lösliche (ib. p. 304). Eben solche Verbindungen würden auch mit Eisenchlorid erhalten werden (ib. p. 305).

Im folgenden Jahre bestätigte Mitscherlich (47 p. 106) Rose's Angaben über die Beständigkeit der Verbindung von Kupfersulfat mit Protein; doch auch diese

Verbindung löse sich allmähig bei weiterem Salzzusatz und Umschütteln auf, bis der Kupfergehalt in der Flüssigkeit einen gewissen Grad erreicht hat, wonach die entstandenen Niederschläge schon entweder in Säuren—Essigsäure, Salzsäure,—oder in Alkalien—Kali, Ammonium—löslich seien (47 p. 113). Mitscherlich fand in dem Proteinniederschlag gegen 2,8—3,3% Kupferoxyd (25 p. 198).

Auch Denis (16 p. 29) nimmt an, dass das Globulin (sein Albumin) nicht nur mit Alkalisalzen sondern auch mit Metallsalzen in Verbindung trete. Mulder (64 p. 35) erhielt nach der Auflösung des Fibrins in Ätzkali und partieller Neutralisation eine neutrale Verbindung, die er mit Metallsalzen fällte. Auf diese Art wurden die Verbindungen: subfibras plumbicus aus 30,63 Teilen Bleioxyd und 69,37 Protein, fibras cupricus aus 7,209 Oxyd und 92,791 Protein, quadrifibras argenticus aus 5,43 Silberoxyd und 94,57 Protein, endlich sesquifibras argenticus aus 13,12 Silberoxyd und 86,88 Protein erhalten (64 p. 35). Ähnliche Verbindungen stellte Mulder auch aus „Albumin“ dar und nannte dieselben „albuminas plumbicus“ u. s. w. Ein anderes Mal fand Mulder in einer Proteinverbindung (25 p. 198) 4,44% Kupfer.

Doch hat es auch nicht an Meinungen gefehlt, dass die Metallsalze sich mit dem Protein nicht verbinden, sondern letzteres einfach fällen, wie z. B. maitre de Rabodanges (55 p. 781) dachte.

Etwas anders stellte Berzelius (5 p. 34) die Verbindungen von Metalloxyden mit Alkalien dar; es wurden nämlich frischbereitete Hydroxyde in eine verdünnte Lösung von Serum oder Eiweiss eingetragen, wobei sie unter Bildung eines Doppelsalzes in Lösung übergangen. Berzelius nimmt an, dass das Protein in den genannten Flüssigkeiten mit dem Alkali schon verbunden ist. Beim Kochen der genannten Verbindungen finde Ausscheidung von Niederschlägen statt, welche, Berzelius' Ansicht nach, aus dem Oxyd und geronnenem Protein bestehen. Unlösliche Verbindungen würden auch direkt bei der Behandlung einer Proteidlösung mit Kali- und Ammoniaklösung erhalten; dieselben lösen sich aber in Ätzalkalien, indem sie Doppelverbindungen bilden (5 p. 41).

Neutrales Bleiacetat fälle das Protein nicht vollständig aus, während basisches Bleiacetat (Bleieisig) vollständige Fällung bedinge. Auch Liebig spricht (41 p. 878) von vollständiger Fällung des Serums durch Bleieisig. Unstreitig schlossen sowohl Berzelius als Liebig auf vollständige Fällbarkeit aus der Abwesenheit eines Niederschlags beim Kochen des Filtrats, was aber, wie wir weiter unten sehen werden, ein ungenügender Grund ist, da eine bedeutende Proteinmenge ungefällt bleibt.

Es ist interessant, dass zur Darstellung eines löslichen Caseins Berzelius vorschlägt, anstatt Baryum- oder Calciumcarbonat, Bleicarbonat zu nehmen und das beim Übergang des Caseins in die Lösung mitgerissene Blei mit Schwefelwasserstoff zu fällen ¹⁾! Diese Beobachtungen bestärkten, wie es scheint, Berzelius in der Meinung, dass das Casein an und für sich in Wasser löslich sei. Spätere Autoren, Gegner der von Denis, Dumas & Cahours, Liebig u. a. verfochtenen Lehre von der Lös-

¹⁾ Um das Casein darzustellen, vermischt man abgerahmte Milch mit verdünnter Schwefelsäure, welche sich mit dem Casein verbindet und es in Gestalt eines weissen Coagulums niederschlägt. Man bringt es auf ein Filtrum, zerrührt es und befreit es durch Waschen mit Wasser von den Molken, worauf man es mit Wasser und kohlen-saurem Kalk oder Baryt anrührt und digerirt. Die Säure verbindet sich hierbei mit der Erde, und das freierdende Casein löst sich in Wasser

auf, und wird durch Filtriren von dem Erdsalze und dem darin zurückgebliebenen Butterfett ab-gesondert. Aber diese Lösung kann ein wenig mit dem Casein verbundene Kalkerde oder Ba-ryterde enthalten, die sie von dem zur Abschei-dung der Säure angewandten kohlen-sauren Erd-salze aufgenommen hat. Um diese Einmischung zu vermeiden, kann man kohlen-saures Bleioxyd anwenden, und darauf das aufgelöste Bleioxyd mit Schwefelwasserstoff abscheiden (5 p. 677).

lichkeit des Proteins in den natürlich vorkommenden Flüssigkeiten auf Kosten der Salze, führten zum Beweis der Löslichkeit des Proteins (des historischen Albumins) in Wasser ähnliche Versuche aus. Zu Gunsten dieser Meinung sollte sich, Nasse's Worten nach (1842. 50-c p. 156), Simon ausgesprochen haben. Letzterer fällte Eiweiss mit Bleiessig, wusch den Niederschlag mit Wasser und zersetzte ihn mittels Schwefelwasserstoff. Die abfiltrirte Flüssigkeit wurde bei mässig hoher Temperatur abgedampft, und aus dem Rückstand wurde von löslichen Salzen freie Asche erhalten. In der beschriebenen Flüssigkeit war Protein enthalten, welches, Simon's Meinung nach, sich nicht auf Kosten der Essigsäure aufgelöst hatte, da die Flüssigkeit durch Ätzkali nicht gefällt wurde; doch findet Nasse keinen Grund, eine Verbindung des Proteins mit der Essigsäure in diesem Falle in Abrede zu stellen ¹⁾.

Wurtz aber, dem die Arbeiten, auf welche wir hingewiesen, unbekannt waren, und den man fälschlich für den ersten Forscher gehalten hat, der lösliches Protein durch Fällen mit Blei darstellte, sah nichtsdestoweniger das Protein unter den genannten Umständen für löslich an.

Im Jahre 1844 kündigte Wurtz (72 p. 700 und 73 p. 217) seine Arbeiten an, die er unternommen hatte, um die Löslichkeit des historischen Albumins „in Wasser ausser dem Bereiche des Einflusses von Salzen“ zu beweisen. Zweifach mit Wasser verdünntes und durch Leinwand geschlagenes Hühnerweiweiss wurde mit Bleiessig gefällt und dabei ein voluminöser Niederschlag erhalten. Nach dem Auswaschen mit Wasser zersetzte man den in Wasser suspendirten Niederschlag mit einem Kohlensäurestrom, wobei sich, Wurtz's Beschreibung nach, Bleicarbonat bildete, welches zu Boden fiel, während in der Flüssigkeit das in Wasser gelöste Protein zurückblieb ²⁾.

Nach dem Filtriren glaubte Wurtz in der Flüssigkeit nur Albumin und Spuren von Bleioxyd ³⁾ zu haben; um letzteres zu entfernen, leitete er eine gewisse Quantität Schwefelwasserstoff ein, welches die Flüssigkeit aber nur braun färbte; Erhitzen bis auf 60° bedingte Ausscheidung eines unbedeutenden Niederschlags, der auch diese Bleispuren mitriss ⁴⁾. Das klare Filtrat wurde bei 50° zur Trockne eingedampft, wobei der Trockenrest seine Löslichkeit in schwachsaurem reagirendem Wasser bewahrt und Acidität genug besessen habe, um die Kohlensäure nicht nur aus doppeltkohlensaurem, sondern auch aus kohlensaurem Natron zu verdrängen! Die Lösung trübte sich bei 59,5°, schied Flocken bei 61—63° aus und ging bei noch höherer Temperatur in ein sich über das Ganze erstreckendes Coagulum über (72 p. 701).

¹⁾ Gegen diese hauptsächlich von Denis und Dumas verteidigte Ansicht hat sich Simon erklärt. Er stellte reines, nicht salzhaltiges Eiweiss dadurch dar, dass er das Eiweiss mit Bleiessig fällte, auswusch und aus der Verbindung mit Blei durch Schwefelwasserstoffgas befreite. Das Eiweiss ward bei gelindem Erwärmen aufgelöst, filtrirt und eingedampft. Die Asche lieferte keine löslichen Salze. Das gelöste Eiweiss war keineswegs durch Essigsäure gelöst, weil Kali keinen Niederschlag bildete. Weshalb sich aber die bei der Bildung des Schwefelbleis aus dem essigsauren Blei frei werdende Essigsäure nicht mit dem Eiweiss, zu dem sie eine grosse Verwandtschaft hat, verbunden haben soll, ist nicht recht einzusehen (50-a p. 156—7).

²⁾ Dem früher Dargelagten gemäss darf Wurtz in keinem Falle für den Erfinder dieses Präpa-

rats gehalten werden, wenigstens habe ich mir nicht klar machen können, ob Wurtz früher, vor der obenerwähnten Arbeit Nasse's, (p. n. 283) in welcher von Simon die Rede ist, geschrieben hat. Wer letztgenannter Autor gewesen ist, und wo er geschrieben hat, habe ich auch nicht herausfinden können. Bei Franz Simon habe ich nichts Ähnliches gefunden.

³⁾ L'albuninate de plomb (!) est décomposé par l'acide carbonique; il se forme du carbonate de plomb qui reste en suspension, et l'albumine devenue libre, se dissout dans l'eau (72 p. 701).

⁴⁾ L'albumine qui a passé à travers le filtre n'est pas encore pure; elle contient des traces d'oxyde de plomb; on y verse quelques gouttes d'hydrogène sulfuré: la liqueur brunit, mais reste transparente (72 p. 701).

Wurtz scheint geglaubt zu haben, dass bei der Fällung mit Blei eine Verbindung nur des „Albumins“ mit Bleioxyd (*albuminate de plomb*) statthabe; von dem Gedanken, dass der Niederschlag auch Essigsäure in sich schloss, war er weit entfernt, wie aus der Beschreibung seiner Beobachtungen erhellt. Ausserdem gab das Serum ein so unvollkommenes Präparat und in so geringer Menge, dass Wurtz davon abstand, auf diesem Wege lösliches „Albumin“ aus Serum darzustellen (73 p. 223).

Wenn man erwägt, dass Wurtz nicht angibt, ob er durch den Bleiessig vollständige Fällung des Hühnereiweisses erzielt hatte, so sind wir vollkommen berechtigt zu behaupten, dass der bleihaltige Niederschlag des Hühnereiweisses wenn nicht ausschliesslich, so doch grösstenteils aus „Globulin“ bestand, welches aus dem Eiweiss schon durch einfache Verdünnung mit Wasser ausfällt. Aus diesem Grunde beweisen Wurtz's Versuche die Wasserlöslichkeit nicht des „Albumins“, sondern diejenige des Globulins. Indem Wurtz, ziemlich naiv, den durch Bleiessig erzeugten Niederschlag ausschliesslich für eine Verbindung des Proteins mit Bleioxyd ansieht, gibt er die Wasserlöslichkeit der Niederschläge nur aus diesem Grunde zu, ohne die Flüssigkeit genauer auf die Gegenwart anderer Körper, ausser Wasser und Protein, zu untersuchen; dies wäre aber um so notwendiger gewesen, als alles auf die Gegenwart von freier Essigsäure hinwies.

Was Wurtz unterliess, führte Scherer aus, der zu derselben Zeit arbeitete und seine Beobachtungen niederschrieb. Diese sind in der Hinsicht interessant, dass sie die unmittelbar nächste Stufe in der Entwicklung der Frage von der Löslichkeit des Proteins sowohl im allgemeinen als im besonderen, auf Grund der näheren Untersuchung der durch Blei hervorgerufenen Niederschläge bilden, derselben Frage, die von Mitscherlich aufgeworfen, von Berzelius am Casein, von Simon am Albumin weitergeführt worden war. Scherer's Arbeit ist die unmittelbare Fortsetzung der Untersuchung des Proteins in dieser Beziehung. Indem er (1844) das Casein mit neutralem Bleiacetat fällte, bemerkte er, dass dieses Präparat auf „Albumin (Serum und Hühnereiweiss) eine unbedeutende Wirkung ausübte“; damit scheint er sagen zu wollen, dass der Niederschlag ausschliesslich aus in Wasser unlöslichem Casein bestand; trotzdem aber wurde nach der Zersetzung des Niederschlags durch Kohlensäure in der Lösung *essigsäures Casein* erhalten¹⁾! Scherer sagt ganz bestimmt aus, dass die erhaltene Caseinlösung Essigsäure und Bleioxydcarbonat enthielt²⁾. Indem Scherer die Gegenwart von Essigsäure dartut, scheint er die von ihm angeführte Ansicht Lehmann's zu teilen, nach welcher bei der Fällung mit Bleiessig sowohl eine Verbindung von Bleioxyd und Protein als von Protein und Essigsäure entsteht (59 p. 454).

In der Tat hatte Lehmann schon im Jahre 1842 die Meinung ausgesprochen, ohne dieselbe jedoch experimentell zu stützen, dass sowohl das „Albumin“ (38 p. 170) als das „Casein“ (ib. p. 205) durch Metallsalze gefällt werde, wobei sich zweierlei Verbindungen der Proteinsubstanz, einerseits mit der Säure, andererseits mit der Base des Metallsalzes, bilden würden.

Auf diese Art wurde die Gegenwart von Essigsäure in Wurtz's Präparat durch eine Reihe von Beobachtungen, deren wir erwähnt haben, bewiesen. Was Wurtz's eigne Schlüsse anbetrifft, so wurden dieselben bald nach ihrem Erscheinen durch

¹⁾ Wird der erhaltene, sorgfältig ausgewaschene Niederschlag durch Kohlensäure zerlegt, so erhält man in der Flüssigkeit *essigsäures Casein* (59 p. 454).

²⁾ Ich fand wenigstens, wie oben schon ange-

geben wurde, in dem durch Kohlensäure zerlegten sorgfältigst ausgewaschenen Bleicaseate Essigsäure und im Rückstande verblieb *kohlensaures Bleioxyd*. (59 p. 455).

die Arbeiten Lehmann's widerlegt, der in Wurtz's Präparaten jedenfalls das Vorhandensein von Essigsäure annahm (39 p. 345).

Noch überzeugender erscheinen die Argumente, welche Denis zum Beweise der Löslichkeit des Proteins in Wurtz's Versuchen auf Kosten der Essigsäure vorbrachte. Denis findet, dass es Wurtz's Angaben an Beweiskraft fehlte, und dass die von diesem Autor mitgeteilten Reaktionen auf die Löslichkeit seines Proteins sich vollkommen gut durch die Auflösung des Proteins in einer sehr geringen Quantität (*quantité très minime*) Essigsäure erklären lassen. Andererseits werde mit Essigsäure angesäuertes Eiweiss durch Bleiessig nicht gefällt (17 p. 26). Auch Scherer findet (20 p. 319—nach einer persönlichen Mitteilung an Eichwald), dass Wurtz's Präparat essigsäures Protein sei, weshalb beim Destillieren mit verdünnter Schwefelsäure das Destillat sauer reagiert (*ib. p. 319*). Dessenungeachtet empfiehlt Hoppe-Seyler (30 p. 184) dieses Verfahren, welches schon, obgleich unverdient, das „Wurtz'sche Verfahren“ benannt worden war, zur Gewinnung einer mehr oder weniger reinen (!) Albuminlösung sogar aus Serum (?). Hoppe-Seyler (*ib. p. 184*) rät Serum oder Hydroceleflüssigkeit mit Bleiessig zu fällen, den Niederschlag gut auszuwaschen, in Wasser zu verteilen und durch einen Kohlensäurestrom zu zersetzen. Nach dem Abfiltrieren habe man eine „ziemlich reine“ (!) aber sehr trübe (?) Serumalbuminlösung ¹⁾ gewonnen, nichts anderes! Alles, was wir über Wurtz's Beobachtungen gesagt haben, ist auch hier vollkommen anwendbar. Als Hoppe-Seyler, diese Methode in sein Lehrbuch aufnahm, war er offenbar sowohl mit der Technik als auch mit der Geschichte derselben nicht genügend bekannt (30 p. 184). Kühne war vorsichtiger; denn als er in seinem Lehrbuche (1866. 32 p. 179) die Gewinnung des Proteinpräparats nach Wurtz's Vorschrift beschrieb, gab er zugleich die Resultate der Untersuchungen einiger seiner Vorgänger sowie seiner eignen an.

Kühne findet, dass die nach der Zersetzung des Bleiniederschlags im Eiweiss durch Kohlensäure erhaltene Flüssigkeit Protein in einer sauren Lösung enthält, die nach der Neutralisation mit Ammoniakflüssigkeit das Protein ausscheidet; wird die Flüssigkeit mit Weinsäure destilliert, so könne die Essigsäure abgetrieben werden (32 p. 178—9). Dobrosslawin (19 p. 204), der Wurtz's Versuche wiederholte und Hühnereiweiss mit basischem Bleiacetat fällte, wusch den Niederschlag eine Woche lang mittels Decantieren, bis die Flüssigkeit mit Schwefelwasserstoff nicht mehr auf Blei reagierte. Im Übrigen folgte Dobrosslawin Wurtz's Vorschrift. Um sich von der Gegenwart von Essigsäure in Wurtz's Präparat zu überzeugen, löste der Autor 2,674 gm. davon in Wasser auf und destillierte es mit 2,6 gm. Weinsäure; ein anderes Mal destillierte er eine wässrige Lösung aus 3,479 gm. des Präparats mit 2,354 gm. glasiger Phosphorsäure.

Wurde die Flüssigkeit langsam 7—8 Stunden destilliert, um das Hinüberschleudern derselben nach dem Abtreiben $\frac{2}{3}$ der genommenen Menge zu vermeiden, so zeigte „das Destillat keine Spuren von saurer Reaktion auf blaues Lakmuspapier“. Nach dem Abdampfen der Flüssigkeit (des Destillats) mit kohlensaurem Natron bis zur Trockne wurde weder bei der Kakodyl- noch bei der Schwefelsäureprobe eine Reaktion auf Essigsäure erhalten (19 p. 204).

Auch Eichwald (20-a p. 36) hält Wurtz's Versuche in bezug auf die Wasserlöslichkeit des „Albumins“ für wenig überzeugend.

¹⁾ Zur Darstellung eines ziemlich reinen Serumalbumins kann man auch, nach Wurtz, Blutserum oder Hydroceleflüssigkeit mit Bleiessig fällen, den Niederschlag mit Wasser gut auswaschen, dann in Wasser zerteilen, durch einen

anhaltenden Kohlensäurestrom die Bleiverbindung zerlegen und durch Filtration eine ziemlich reine (aber sehr trübe) Serumalbuminlösung gewinnen (30 p. 184).

Wurtz scheint weit davon entfernt gewesen zu sein, sein Präparat oder wenigstens die Arbeiten derjenigen Autoren, die für seine Beobachtungen Interesse an den Tag legten, näher zu untersuchen, da er im Jahre 1885 (74 p. 77) sehr hartnäckig das, was er 40 Jahre früher gesagt hatte, wiederholte und darauf bestand, dass bei der Fällung mit Bleiessig das Protein einen Niederschlag bilde, der nur aus Protein und Bleioxyd bestehe ¹⁾.

Was die mehr oder weniger vollständige Fällbarkeit der proteinhaltigen Flüssigkeiten durch die Metallsalze anbetrifft, so gibt es ausser dem, was darüber schon gesagt wurde, Angaben genug, nach welchen die Fällung der natürlich vorkommenden proteinhaltigen Flüssigkeiten durch genannte Agentien von mannigfachen Umständen abhängt. So findet Panum (52 p. 449), dass die Konzentration sowohl dieser Flüssigkeiten als auch der Metallsalzlösungen, sowie die Beimengungen, die Temperatur u. dergl. die Fällbarkeit des Proteins beeinflussen, woraufhin er der Ansicht ist, dass Angaben über die Fällbarkeit oder Unfällbarkeit des Proteins, ohne dass die Versuchsbedingungen angegeben sind, keinen Wert haben.

Panum unterwarf 18 verschiedene Proteinlösungen mittels einer grossen Anzahl Metallsalzlösungen unter mannigfachen äusseren Bedingungen der Probe, und fand nicht die geringste Beständigkeit in den Resultaten. Als Beispiel führt er das Verhalten genannter Flüssigkeiten zu Eisenchlorid an. In verdünntem und filtrirtem Hühnereiweiss erzeuge Eisenchlorid einen Niederschlag, der beim Zusatz eines Überschusses von Eisen voluminöser und dichter werde; dasselbe beobachte man auch beim Erwärmen. Bei schwächerer Konzentration sei jedoch der erhaltene Niederschlag in einem geringen Überschuss der sauer reagirenden Eisenchloridlösung löslich. In verdünnten Säuren dagegen oder in neutralen Lösungen bewirke Eisenchlorid keine Fällung, nicht einmal beim Kochen; neutrale Alkali- oder Erdalkalisalze erzeugen aber bei dessen Gegenwart unter denselben Umständen einen Niederschlag. Dagegen scheiden alkalihaltige Proteinlösungen reichliche Niederschläge aus, wobei dieselben in konzentrirteren Lösungen ein dichteres, lederartiges Aussehen gewinnen und sich weder in einem Überschuss des Eisenchlorids noch in Wasser lösen. Ebenso verhalte sich Eisen- oder Kupfersulfat (ib. p. 450—1).

Auch eine Lösung von Seroglobulin in verdünnter Phosphorsäure werde durch Sublimat nicht gefällt, sogar beim Kochen; es genüge aber, die Flüssigkeit mit Ammoniaklösung zu behandeln, um sogleich einen Niederschlag zu erhalten. Die übrigen Proteinstoffe wurden durch Sublimat in sauren, auch phosphorsauren, neutralen und alkalischen Lösungen gefällt. Neutrales und basisches Bleiacetat fällte eine Lösung von Globulin in Phosphorsäure. Wurde Seroglobulin in soviel Essigsäure aufgelöst, dass beim Kochen keine Fällung erfolgte, so bewirkten auch die genannten Bleisalze nicht nur in der Kälte sondern auch in der Siedhitze schon keine Fällung (52 p. 451—2). Die alkalischen Globulinverbindungen werden durch Metallsalze gefällt; auch

1) 1° Préparation de l'albumine soluble. On délaye un certain nombre de blancs d'oeufs dans l'eau, on passe à travers un linge, et l'on précipite la solution par le sous-acétate de plomb, en évitant d'employer un excès de ce sel. On recueille le précipité sur un filtre, on le lave avec soin, puis on le délaye dans l'eau et on y fait passer un courant de gaz carbonique. L'albuminate de plomb est décomposé; il se forme du carbonate de plomb, et l'albumine entre de nouveau en solution, en même temps qu'une petite quantité de plomb. Pour précipiter ce der-

nier, on dirige dans la liqueur quelques bulles d'hydrogène sulfuré, puis on chauffe le tout doucement au bain-marie. Les premiers flocons d'albumine coagulée emprisonnent le sulfure de plomb formé. On filtre alors rapidement et l'on évapore la liqueur incolore à l'étuve, sur des assiettes plates, à une température qui ne doit pas dépasser 40 à 50 degrés. Il reste une masse transparente, légèrement colorée en jaune et qui se détache en plaques après la dessiccation (74 p. 77).

bediente sich Lieberkühn dieser Reaktion, um das Verhältnis des Proteins zu einem Metall zu bestimmen. Er fällt eine nach seinem Verfahren (N.N. 81—5 p. 72) bereitete neutrale Alkaliverbindung des Globulins mit Metallsalzen. Der Niederschlag wurde mit Wasser, dann mit Alkohol gewaschen, getrocknet und gewogen, worauf man die Aschenmenge bestimmte; Lieberkühn glaubt, dass die Niederschläge ausschliesslich aus einer Verbindung des Proteins mit dem Metalloxyd bestanden. Lieberkühn's Bestimmungen nach wurde bei der Fällung mit Kupfersulfat eine Verbindung erhalten, welche auf 100 Teile 4,605 Kupferoxyd enthielt (40 p. 121). Eine mit Zinksulfat erhaltene Verbindung enthielt 466 Zinkoxyd auf 100 (ib. p. 122). Das Silbersalz erhielt man durch Fällung mit Silbernitrat, wobei auf 100 Teile 6,57 Teile Silberoxyd gefunden wurden. Die Bleiverbindungen gaben weniger bestimmte Zahlen; auch hält Lieberkühn die dabei entstehenden Niederschläge für Gemenge. Aus seinen Bestimmungen folgt, dass die Mengenverhältnisse in dem Gemenge von der Natur des Salzes abhängen: basisches Bleiacetat gab 17, 86, Bleioxyd und Bleinitrat—12,78 auf 100 (ib. p. 125). Bielitzky (6 p. 199) dagegen fand in einer ähnlichen Verbindung 4,72 bis 5,19% Kupferoxyd.

Ungeachtet solcher Bestimmungen nahm die Meinung immer mehr und mehr überhand, dass es keine bestimmten Verbindungen des Proteins mit Metallsalzen gebe. So sprachen Robin & Verdeil (57 p. 303—5) sich dahin aus, dass ein jeder, der in einem Laboratorium gearbeitet hat, sich mehr als einmal davon überzeugt hat, dass die Verhältnisse zwischen den proteinhaltigen Flüssigkeiten und den Salzen, in Abhängigkeit von der Konzentration u. dergl., unendlich verschieden sind (ib. p. 305).

Schmidt findet (60 p. 440), dass das Seroglobulin sich den Metallsalzen gegenüber ebenso wie das „Albumin“, wie die proteinhaltigen Flüssigkeiten sagen wir, verhält. Einen Unterschied sieht er nur in der Wirkung des Kupfersulfats: eine Lösung von Seroglobulin in einer unbedeutenden Alkalimenge wurde durch Kupfersulfat gefällt, und der Niederschlag löste sich nicht in einem Überschuss des Salzes, während vom Seroglobulin durch Verdünnung mit Wasser und Einwirkung von Kohlensäure befreites Serum einen in dem Überschusse des Salzes löslichen Niederschlag ausschied. Wittich (71 p. 306) findet keinen Unterschied zwischen einem wässrigen Eidotterextrakt (Vitellin N.N. 61—7 p. 55) und dialysirtem Hühnereiweiss in ihrem Verhalten zu Kupfersulfat und basischem Bleiacetat.

Es wurde somit weder in den qualitativen noch in den quantitativen Reaktionen Beständigkeit beobachtet. Zwar erschienen von Zeit zu Zeit Arbeiten solcher Autoren, die die Beständigkeit der Verhältnisse zwischen den Proteinen und den Metalloxyden verfochten, aber ihre Schlüsse wurden durch die Angaben anderer Autoren widerlegt. So fällt z. B. Schwarzenbach (62 p. 185) proteinhaltige Flüssigkeiten mit Kaliumplatincyanid unter Ansäuern mit Essigsäure, wobei er beim Zusetzen des Reagenten Vorsicht gebrauchte, da der Niederschlag sich in einem Überschuss desselben löste; in alkalischen Lösungen erfolgte keine Fällung. Schwarzenbach erhielt Niederschläge sowohl in Eiweiss als auch in Casein und fand in ersterem 11,2%, in letzterem 5,6% Platin.

In der Folge kehrt Schwarzenbach zu demselben Gegenstande zurück und bestätigt diese Zahlen (63 p. 62), indem er findet, dass die saure Lösung eines durch Wasser in Eidotter hervorgebrachten Niederschlags 10,98—11,17—11,18% Platin enthaltende Niederschläge ausscheidet, während ein angesäuertes wässriges Linsenextrakt einen Niederschlag mit 5,73 und 5,53% Pt. gibt. Endlich schieden saure Muskelfleischlösungen 5,54% Pt.-haltige Niederschläge aus.

Millon & Commaille (44 p. 121) weisen darauf hin, dass es doppelte Caseinverbindungen mit Salzsäure und Platinchlorid, andererseits doppelte Verbindungen

von Protein mit Kupferoxyd, Baryt, oder Kalk, oder Magnesia (45 p. 221) gibt. Obgleich jedoch Commaille (1866. 13 p. 112) einen vermittelnden Anteil der Säuren an der Verbindung des Proteins mit dem Quecksilberoxyd nicht zugibt, stellt er die Beständigkeit des Verhältnisses zwischen dem Protein und dem Quecksilber dennoch in Abrede, da er Gelegenheit hatte, verschiedene Verbindungen des Proteins mit diesem Metall, nämlich 4,99; 5,84; 6,46; 13,72 und 14,74 gm. Quecksilber auf 100 gm. der Verbindung zu beobachten.

Noch mehr: durch rauchende Salzsäure gefälltes Protein werde durch Sublimat schon nicht mehr gefällt, weder bei gewöhnlicher Temperatur noch in der Siedhitze (13 p. 112). Auch mit 12 Vol. Wasser verdünntes Hühnereiweiss werde durch Sublimat nicht gefällt, wohl aber erzeuge Ammoniaklösung in diesem Falle einen Niederschlag. Ausserdem beobachtete Commaille, dass auch der Zeitpunkt auf die Mengenverhältnisse in den Metallverbindungen einen Einfluss ausübte. So gaben frische Eier eine Verbindung mit 9% Platin, Verbindungen aus längere Zeit gelegenen enthielten 10,30 (ib. p. 113); 9,05; 9,33; 9,55; 9,83; 10,09; 10,32%; in einer schwach-sauren Lösung in Chlorwasserstoffsäure erzeugte Platinchlorid 9,66 und 10,83% Pt. enthaltende Niederschläge, während eine alkalische Lösung eine Verbindung mit 9,30% Platin gab. Ein wässriges Eidotterextrakt schied eine Verbindung mit 10,32% aus. Der nach der Einwirkung von Wasser auf das Vitellin erhaltene Niederschlag gab nach der Auflösung in Chlorwasserstoffsäure mit Platinchlorid eine Verbindung, welche 7,85% und 7,96% Pt. enthielt. Geronnenes Protein wurde in einem Alkali aufgelöst, die Lösung mit Salzsäure gefällt, auf deren Kosten der Niederschlag sich auflöste und dann schon mit Platinchlorid gefällt wurde. Die erhaltene Verbindung enthielt 7,80% Pt. Ein wässriges Extrakt aus Rindfleisch schied einen Niederschlag mit 11,44%, aus Schafffleisch mit 10,25%,—aus dem Muskelfleisch von Gründlingen mit 10,57%,—von Weisslingen mit 9,88% Pt. aus. Ein salzsaures Extrakt aus Rindfleisch gab im Niederschlage 11,17%,—aus Schafffleisch—10,59% und aus dem Muskelfleische eines Fisches—10,78% Platin (13 p. 121)..

Im Jahre 1874 vervollständigte Commaille diese Angaben durch einige Zahlenwerte und zwar: das „Albumin“ der Bauchwassersuchtflüssigkeit gab eine Verbindung mit 8,5% Platin, das „Albumin“ des Urins 10,5—11% und vegetabilisches „Casein“ 6,5% (14 p. 1360).

Eine eben solche Unbeständigkeit der Verhältnisse beobachtete Brücke auch in den qualitativen Reaktionen des Seroglobins. Er findet (10 p. 886), dass eine alkalische Seroglobulinlösung in der Tat, wie auch Schmidt beobachtet hatte, durch Kupfersulfat gefällt wird, wobei der Niederschlag in einem Überschuss des Kupfersalzes sich nicht löst, während ein eben solcher Niederschlag aus einer Seroglobulinlösung in einem Überschuss des zur Fällung benutzten Kupfersulfats löslich ist. Übrigens beobachtete Brücke Auflösung des durch Kupfersulfat erzeugten Niederschlags in einer reinalkalischen Globulinlösung, doch ohne Überschuss des Alkali, in einem Überschusse von Kupfersulfat. Ist ein auch nur geringer Alkaliüberschuss vorhanden, so entsteht eine Trübung, die durch den Zusatz einer ganz unbedeutenden Menge Kalilauge verschwindet. Ganz dasselbe Verhalten beobachtete Brücke auch an Serum, welches durch Verdünnung mit Wasser und Einwirkung von Kohlensäure vom Seroglobin befreit worden war (10 p. 886).

Schwarzenbach's Schlüsse werden ebenfalls durch die quantitativen Bestimmungen des Platins in den Proteinniederschlägen von Diakonoff (18 p. 228) widerlegt, welcher auf demselben Wege Verbindungen des Proteins mit Platin erhalten hatte. Eine saure Lösung von Rindfleisch (Syntonin) gab einen 3,91—4,56% Pt. enthaltenden Niederschlag; ein solcher aus mit Essigsäure angesäuertem Hühnereiweiss enthielt 3,13—3,224% Pt., während, mit Salzsäure angesäuert, dasselbe Eiweiss einen

Niederschlag mit 6,316—6,367% Pt. ausschied; bei sehr starker Ansäuerung war der Prozentgehalt des Platins 1,466—1,487. Noch mehr: bei längerem Waschen des Niederschlags stieg derselbe bis 4,39—4,66%, fiel aber bei noch länger fortgesetztem— bis 0,83—0,863% Pt. Nach der Fällung und Auflösung des Lactoglobins in Essigsäure enthielt der durch Kaliplatincyamid erzeugte Niederschlag 4,731—4,819% Pt. (18 p. 231).

Wenn Diakonoff eine Beständigkeit der Verhältnisse auch nicht beobachtet hat, so hält er dennoch das Kaliplatincyamid für ein mächtiges Fällungsmittel der Proteinkörper bei Gegenwart einer Säure und erklärt, dass das „Eiweiss“ anfänglich in eine Säureverbindung übergeht, welche alsdann von dem Metall gefällt wird. Eine besondere Bedeutung gewinne dieses Reagens durch den Umstand, dass es in sauren Lösungen Thyrosin, Leucin, Kreatin, Cystin, Taurin, Glycin, Alanin und salzsaures Cholin nicht fällt. Auf Grund dieser Eigenschaft empfiehlt Diakonoff die Anwendung des Kaliplatincyamids für die quantitative Fällung des Proteins (18 p. 233).—Sowohl die gewöhnlichen proteinhaltigen Flüssigkeiten als auch die neutralen alkalischen Seroglobulinlösungen wurden. Eichwald's Beobachtungen nach, durch Silbernitrat, neutralem und basischem Bleiacetat, Kupfersulfat gefällt (20-a p. 36).—Gautier (23 p. 227) findet, dass auch eine dialysirte kochsalzhaltige Fibrinlösung durch Metallsalze gefällt wird.—Ritthausen & Pott (56 p. 238) nehmen an, dass die Proteinkörper sich mit Kupfersalzen verbinden, geben aber eine Substitutionsreaktion mit Wasser oder mit Basen nicht zu. Alkalische Proteidlösungen würden durch Kupfersalze um so besser gefällt, je genauer sie neutralisirt sind. Ferner nehmen genannte Autoren Beständigkeit der Verhältnisse für das Protein einer und derselben Herkunft an, meinen aber, dass mit dem Wechsel des Präparats auch das Verhältnis des in Verbindung tretenden Kupfersalzes zu demselben ein anderes wird. Stutzer (66 p. 258) und Fassbender (21 p. 1821) bestätigen die Brauchbarkeit der beschriebenen Methode zur vollständigen Fällung der Proteinkörper, wobei Fassbender auch noch seine eigne Vorschrift, Kupferoxydhydrat darzustellen und aufzubewahren, vorschlägt. 100 grm. des Oxyds werden in 5 Liter Wasser, welches 2,5 cc. Glycerin enthält, aufgelöst; behufs Fällung wird die Lösung mit einem Alkali bis zu deutlich alkalischer Reaktion versetzt; der Niederschlag wird auf dem Filter gesammelt und aufs neue unter Verreiben im Mörser mit Wasser, welches 5 cc. Glycerin auf 1 Liter enthält, behandelt. Den auf dem Filter aufs neue gesammelten Niederschlag wäscht man mit 10 cc. Glycerin auf 1 Liter enthaltendem Wasser, in welchem er bis zum Gebrauch auch gelassen wird.—Biro (7 p. 1503) hielt die successiven durch Bleizuckerlösung und dann durch eine Ammoniaklösung desselben Salzes erhaltenen Niederschläge für besondere Körper. Derselben Ansicht waren Béchamp & Baltus (3 p. 514). Auch Béchamp (2 p. 20) und Meissl (42 p. 1259) wenden Fällung mittels Bleiessig an.

Recht interessant sind auch Mörner's Beobachtungen (48 p. 8; 49 p. 537). Obgleich er seine Versuche nicht mit den gewöhnlichen Präparaten von Alkaliverbindungen (N. 81—5 p. 97—8) anstellte, zeigte er nichtsdestoweniger, dass zugleich mit der Veränderung der Bedingungen, unter denen die Auflösung stattfand, der Metallgehalt in den Niederschlägen sich veränderte; so gaben seine Präparate im Niederschlage 1,69—2,36% Kupferoxyd (48 p. 8). Im weiteren findet Mörner, dass in sauren Lösungen das Protein durch Kupfersulfat, Zinksulfat, Alaun und Eisenchlorid nicht gefällt werde, namentlich wenn soviel Säure zugesetzt wird, dass die proteinhaltigen Flüssigkeiten keinen Niederschlag ausscheiden. In einigen Fällen beobachtete Mörner Fällung bei Gegenwart von Kochsalz dort, wo Sublimat allein keinen Niederschlag erzeugte, nämlich wenn der Salzsäuregehalt weniger als 0,1% betrug (49 p. 537). Schützenberger (61 p. 172) führte fraktionirte Fällungen angesäuerten Ei-

weisses aus und fand, dass nach der Zersetzung des Niederschlags durch Kohlensäure ein Teil des Proteins sich ausschied, ein anderer in Lösung blieb.

Behufs vollständiger Ausscheidung der Proteinkörper empfiehlt Hofmeister (28 p. 288) zuerst die Hauptmasse derselben durch irgend eine der gebräuchlichsten Methoden zu fällen, dann das Filtrat einige Minuten lang mit Bleioxyd zu kochen und schliesslich das Blei mittels Schwefelwasserstoff zu entfernen. Dem Autor nach ist die übriggebliebene Flüssigkeit ganz frei von Proteinkörpern. Kowalewski schlägt seinerseits zur vollständigen Fällung des Proteins vor, Uranacetat anzuwenden (31 p. 13), durch welches noch 0,019% Protein nachweisbar seien.

Im Jahre 1881 unternahm sich Harnack (25 p. 198) der Mühe die Mengenverhältnisse in den aus proteinhaltigen Flüssigkeiten durch Kupfersulfat erzeugten Niederschlägen noch einmal zu bestimmen. Er beschränkte seine Beobachtungen auf zweifach mit Wasser verdünntes Eiweiss, welches mit Essigsäure so lange behandelt wurde, als sich Niederschläge zeigten; die abfiltrirte Flüssigkeit neutralisirte er mit Natriumcarbonat, filtrirte aufs neue und empfahl nun das erhaltene, schon klare Filtrat mit einem einfachen Kupfersalz zu fällen, indem man davon so lange zusetzt, bis sämtliche Proteinkörper sich aus der Flüssigkeit ausgeschieden haben. Um die überschüssige Säure zu entfernen, rät der Autor das Gemenge mit Natriumcarbonat zu neutralisiren. Das Waschen des Niederschlags mit Wasser wird bis zum Verschwinden der Blutlaugensalzreaktion auf Kupfer fortgesetzt. Bei weiterem Waschen lasse sich die Gegenwart auch der mit dem Kupfersalz verbundenen Säure nicht mehr nachweisen, woraus Harnack schliesst, dass der erhaltene Niederschlag bloss aus Protein und Kupfer besteht ¹⁾. Bei noch weiter fortgesetztem Waschen erfolge endlich Zersetzung auch dieses Rückstands (25 p. 201). Die von Harnack erhaltenen Präparate enthielten ausser Kupfer auch noch eine ganz bedeutende Menge Asche, infolgedessen er Kontrollbestimmungen dieser vornahm, indem er die Asche in Salpetersäure auflöste, das Kupfer mit einem Alkali fällte und nach dem Waschen und Glühen wog. Der Unterschied zwischen der ersten einfachen Bestimmung des Kupfers und der letzten betrug ungefähr 1%.

Um eine aschenfreie Kupferverbindung des Proteins, welche Harnack Kupferalbuminat nannte, zu erhalten, löste er das mit Wasser gewaschene „Albuminat“ in Natriumcarbonat auf und fällte die Lösung durch vorsichtigen Zusatz einer Säure. Im Notfalle wurde die Auflösung und Fällung wiederholt. Auf diese Art stellte Harnack „ganz reine Proteinverbindungen“ mit Kupfer dar, in denen der Unterschied in den Bestimmungen der Asche und des Kupfers höchstens 0,1—0,2 mgr. betrug, und nannte solche Präparate „aschenfrei“.

Die Bestimmung des Kupfers in einer grösseren Anzahl erwähnter Präparate und zwar in 15, wobei 18 Bestimmungen vorgenommen wurden, gab entweder gegen 1,35% oder gegen 2,64% Cu, wobei die erste Zahl dem Falle entsprach, wenn die Fällung in einem Proteinüberschuss, erfolgte, die zweite, wenn ein Überschuss von Kupfer vorhanden war. Dabei bemerkte Harnack, dass die Fällung niemals in vorher zu bestimmenden Verhältnissen vor sich ging, dass aber, wie er sagt, stets eine der beiden Verbindungen erhalten wurde ²⁾.

¹⁾ Wäscht man dann weiter aus, so lässt sich auch die Säure des angewendeten Kupfersalzes nicht mehr im Filtrat nachweisen, woraus geschlossen werden darf, dass die Säure des Kupfersalzes auch anfänglich nicht in die Verbindung eingeht, dass die letztere von vornherein nur aus Kupfer und Eiweiss besteht. Durch wochen-

langes Behandeln mit Wasser scheint das Albuminat allmählich dissociirt zu werden, was übrigens nichts Auffallendes ist: jedenfalls lässt es sich leicht vollständig auswaschen, ohne Zersetzung zu erleiden (25 p. 201).

²⁾ Ueber die Bedingungen des Entstehens der einen oder der anderen Verbindung lässt sich

Da die erhaltenen Zahlengrößen sich wie 1:2 verhalten, so glaubt Harnack, dass die Verbindung des Proteins mit dem Kupfer nach einem gewissen Typus vor sich gehe, in welchem das Verhältniss des Kupfers wie 1:2 sein kann (25 p. 208). Wie sorgfältig dieser Autor seine Untersuchungen auch ausführte, so zeugen dieselben nur zugunsten dessen, dass die Beständigkeit der Verhältnisse der Bestandteile in den Flüssigkeiten zu einander beim Hineintragen von Kupfersalz im Überschuss die Bildung von Niederschlägen bedingt, welche 2,48—2,74% Kupfer enthalten; wird jedoch in dieselbe proteinhaltige Flüssigkeit eine geringere Salzmenge eingetragen, so ist auch der Kupfergehalt ein geringerer=1,34—1,37%.

Auch die historischen Tatsachen in Betracht ziehend, können wir im allgemeinen nicht nur in bezug auf die Kupfersalze sondern auch auf die Salze anderer Metalle sagen, dass, wenn eine gewisse Beständigkeit der Verhältnisse auch beobachtet wird, dieselbe nicht durch die Beständigkeit des chemischen Bandes zwischen dem Metall und dem Protein, sondern durch die Beständigkeit der Bedingungen, unter welchen die Fällung mit einem und demselben Salze, stattfindet, charakterisirt wird.

Interessant ist der Charakter der Kupferverbindung. Der frischgefällte Niederschlag löste sich schwer in einem Überschuss sowohl der proteinhaltigen Flüssigkeit als auch der Kupfersalzlösung; im Moment der Entstehung löste er sich jedoch unter denselben Bedingungen ganz leicht. Neutralsalze lösten den Niederschlag nicht, wohl aber Ätzalkalien und Alkalicarbonate sowie verdünnte Säuren. Durch vorsichtiges Neutralisiren sowohl der sauren als auch der alkalischen Lösungen wurden Niederschläge dieser Verbindung erhalten. Wurde dagegen mit konzentriertem Alkali eingewirkt, so erfolgte Zersetzung, wobei das Protein in weissen Flocken ausfiel; die darüberstehende Flüssigkeit schied bei der Neutralisation mit Säure keine Niederschläge aus. Nach dem Trocknen löste sich das Präparat schon sehr schwer (25 p. 201).

Harnack beobachtete ferner, dass bei der Einwirkung von Schwefelwasserstoff auf die in Wasser suspendirte Kupferverbindung Zersetzung erfolgte, wobei jedoch kein Protein in das Filtrat überging. Wird aber das Gemenge bei der Einwirkung des Schwefelwasserstoffs vorher mit Natriumcarbonat behandelt, so enthalte das Filtrat eine klare, kupferfreie Proteinlösung, welche durch Neutralisation gefällt werde (25 p. 210).

Chittenden & Whitehouse (12 p. 11), die in derselben Richtung wie Harnack arbeiteten, fanden, dass Kupferacetat und Kupfersulfat in dialysirtem Hühnereiweiss Verbindungen erzeugen, welche 0,71—1,21%, durchschnittlich 0,94% Kupfer, nebst 0,23 Asche enthalten. Wenn das nach Harnack's Vorschrift bereitete Präparat in Natriumcarbonat aufgelöst und dann mit Salzsäure gefällt wurde, so gab es 1,71 und 1,19% und nach 2-fachem Auflösen und Fällern resp, 2,19 und 1,34 Kupfer. Ihren Beobachtungen gemäss glauben die Autoren, dass entweder eine grössere Anzahl von Kupferverbindungen oder leichte Zersetzbarkeit der Metallverbindungen angenommen werden müsse. Ausser diesen Tatsachen finden wir bei genannten Autoren Bestimmungen auch anderer Salze und zwar: bei der Fällung desselben Präparats mit neutralem Bleiacetat wurde eine Verbindung mit 2,25—2,85% Blei erhalten, mit basischem—5,45—32,11% (!). Die Fällung mit Eisenchlorid gab ein Präparat mit 0,90—1,08%, im Durchschnitt 0,95% Eisen; mit Zink-

freilich nur angeben, dass im Allgemeinen die erste gewonnen wurde, wenn im Eiweiss—, die letztere, wenn im Kupfersalzüberschuss ausgefällt wurde. Niemals geschah bei der Herstellung dieser

Präparate die Ausfällung nach vorher bestimmten Mengenverhältnissen, und dennoch wurde in allen diesen Fällen immer eine der beiden Verbindungen erhalten (25 p. 203).

sulfat—0,91% Zink; Urannitrat gab 5,17—5,78% Asche mit 4,06% Uran; Sublimat—22,89 Quecksilber; Silbernitrat—4,02—5,072% Silber. Die Bestimmungen mit Myosin führen wir nicht an, da die Autoren dasselbe mit Metallsalzen aus einer 5%-gen Chlorammoniumlösung fällten und natürlich andere Zahlen, als die obenerwähnten, erhielten.—Halliburton's Beobachtungen (24 p. 186) zeigten, dass Sättigung des Serums mit Ammoniumalaun keinen Niederschlag in demselben erzeugte und der Flüssigkeit nur ein etwas getrübtes Aussehen verlieh. Ganz anders verhielt sich die Sache, wenn das Serum vorher mit Magnesiumsulfat und dann das Filtrat mit Ammoniumalaun gesättigt wurde: es erfolgte vollständige Fällung. Ein frischgefällter Niederschlag sei in Wasser noch löslich; ist er aber längere Zeit in der Mutterlauge verblieben, so habe er diese Fähigkeit schon eingebüsst. Bei der Dialyse einer alaunhaltigen wässerigen Lösung des Niederschlags wurde schon nach 24 Stunden vollständige Fällung des Proteins erhalten, welches Halliburton nicht mehr für „Globulin“ ansehen konnte, da er dieses seiner Ansicht nach aus dem Serum (N. 48—60 p. 155—8) schon mit dem Magnesiumsulfat ausgeschieden hatte, infolge dessen der Niederschlag aus „Albumin“¹⁾ bestehen musste. Der erhaltene Niederschlag löste sich nicht in Wasser, schwacher Essigsäure, gesättigter Alaunlösung, wohl aber in Salpetersäure; beim Erwärmen färbte sich diese gelb, wobei diese Färbung durch Einwirkung von Ammoniak in eine orange gelbe überging (24 p. 188). Kontrollproben zeigten, dass dieser Niederschlag wohl nichts anderes als das sog. Serumalbumin war, welches unter den erwähnten Bedingungen in den unlöslichen Zustand übergeht. Bei weiteren Versuchen erwies es sich, dass das „Albumin“,—nämlich der nach der Entfernung des sog. Globulins durch Sättigung mit Magnesiumsulfat zurückgebliebene Teil des Proteins—beim allmäligen Zusatz von Alaun zuerst opalescirt, dann einen Niederschlag ausscheidet, welcher beim weiteren Zusatz der Alaunlösung löslich wird, endlich bei der Sättigung der Flüssigkeit mit Alaun²⁾ vollständig ausfällt.

Palr: (51 p. 35) empfiehlt als besonders empfindliche Reaktion auf Proteinkörper die Fällung mit folgenden Metallsalzen, von denen überdies die Alkaloide nicht gefällt werden: 1—Eisenacetat, welches vorher mit frischgefälltem Oxydhydrat durchgekocht wurde, fälle in alkoholischer Lösung proteinhaltige Flüssigkeiten vollständig; 2—eine alkoholische Lösung von Bleiessig oder Bleichlorid; 3—frischgefälltes Bleioxydhydrat, welches nach der Auflösung in sehr viel reinem Wasser bei Gegenwart von Alkohol mit einer unbedeutenden Proteinmenge Niederschläge gebe. Dieses Reagens weise die Gegenwart von 1 Teil Protein in 500000 T. Wasser nach (ib. p. 35). Auriol et Monnier (1 p. 152) bedienten sich der Fällung mit Kupfersulfat zur quantitativen Bestimmung des Caseins.

In seiner Arbeit vom Jahre 1889 stellte Harnack (26 p. 3046) sich schon die Aufgabe, durch Verbindung mit Kupfer einen aschenfreien Proteinkörper zu erhalten. Indem Harnack dialysirtes Hühnereiweiss ebenso wie früher (p. n. 290) darstellte, fällte er das filtrirte Dialysat mit einer Kupfersalzlösung und verwandelte den erhaltenen Nieder-

¹⁾ The solution of precipitate produced by alum was dialysed in this way for twenty-four hours, at the end of which time an abundant precipitate was produced. This was filtered off: the filtrate was still slightly acid, and contained only a trace of proteid. The precipitate was found to be proteid; it could not be globulin, since that had all been previously removed by magnesium sulphate; therefore it must have consisted of serum albumin (24 p. 187).

²⁾ The result of this experimente is, that the addition of a minute quantity of alum to serums already saturated with magnesium sulphate produces an abundant precipitate or the serumalbumin; this is redissolved by excess of alum, but again completely precipitated by saturation with the salt (24 p. 188).

schlag, den er hier „Metallalbuminat“ nannte, durch wiederholte Fällungen und Auflösungen in ein „aschenfreies Präparat“! Darauf folgt die Beschreibung eines einfacheren Verfahrens zur Darstellung von Kupferpräparaten. „Eine bedeutende Quantität fein verschmittenen Eiweisses wurde mit viel Wasser verdünnt, das Filtrat genau neutralisirt, aufs neue filtrirt und die Eiweisslösung mit Kupfersulfat gefällt“ (26 p. 3046)! Die erhaltenen feinen blaugrünen Flöckchen wurden gut mit Wasser newaschen in Wasser verteilt, in einigen Tropfen Ätznatron aufgelöst (dem Autor nach lösten sich dieselben in Alkalien und in Säuren gleich gut), und die Verbindung durch Neutralisiren mit Essigsäure aus der erhaltenen Lösung aufs neue ausgefällt. Diese Operation wiederholte man mehrere Mal, wonach der Niederschlag schon in einer grösseren Ätznatronmenge aufgelöst wurde; in der Folge empfahl der Autor denselben in konzentrierter Ätzkalilösung aufzulösen, wobei die Flüssigkeit nach der Neutralisation, diesmal schon mit Salzsäure, nach 24 Stunden einen „farblosen flockigen, in einem Säureüberschuss schon unlöslichen Proteinniederschlag ausschied“. Beim Waschen des Niederschlags wurde Aufquellen desselben beobachtet. Harnack rät nach dem Auswaschen ihn im Platintiegel bis 100° und höher zu erhitzen, wobei anstatt „Gerinnung“, „Schmelzen der Substanz“ (!) beobachtet werde; erst dann trockne sie zu einer durchsichtigen, leimähnlichen Masse aus, welche in dickeren Schichten gelbrot (?) gefärbt erscheint ¹⁾! Beim Verbrennen habe diese Masse einen mit dem blossen Auge kaum wahrnehmbaren Anflug hinterlassen. Und eine solche Substanz nennt Harnack, ohne lange zu überlegen, „aschenfreies Albumin“ (ib. p. 3048)! Unter den Eigenschaften dieses „Albumins“ hebt Harnack das Aufquellen und die Löslichkeit in Wasser, besonders beim Erwärmen hervor, infolgedessen ein solches „Albumin“ durch Wärme nicht in „geronnenes Albumin“ umgewandelt werde! Die Lösung werde durch Säuren und sogar durch geringe Salzmengen gefällt, nicht aber durch Alkohol, Äther, Tannin u. dergl. Alle diese Eigenschaften reden Harnack nach zugunsten eines aschenfreien oder „unverbundenen Albumins“.

Nach allem, was wir über die Säureverbindungen des Globulins gesagt haben, wird wohl kaum noch jemand zweifeln, dass Harnack's „aschenfreies Albumin“ eine Säureverbindung des Globulins war. In der That: um die Kupferverbindung zu zersetzen, behandelte Harnack das Präparat mit einem „starken Alkali“, neutralisirte die alkalische Lösung mit Salzsäure und wusch den erhaltenen Niederschlag, doch nicht besonders sorgfältig, da zum Waschen grosse Massen genommen waren, denn der Niederschlag quoll in kleinen Mengen auf und löste sich ²⁾. Harnack hatte offenbar eine Säureverbindung vor sich, die er nicht

¹⁾ man kann dies getrost in einem Trockenschranke bei 100° C. und darüber vornehmen; denn anstatt dabei zu gerinnen schmilzt die Eiweisssubstanz anfangs und trocknet schliesslich zu einer leimartigen, durchsichtigen, überaus harten und spröden, in dickeren Schichten gelbroth gefärbten Masse ein (26 p. 3048).

²⁾ Der entstandene blaugrüne feinflockige Niederschlag wurde nun sorgfältigst ausgewaschen, sodann in etwas Wasser vertheilt, durch einige Tropfen Natronlauge gelöst, aus der Lösung aber durch Neutralisiren mit Essigsäure sofort wieder gefällt. Dieselbe Procedur wurde nochmals wiederholt, der Niederschlag wieder aufs Sorgfältigste ausgewaschen, sodann in einer reichlichen Menge Natronlauge gelöst und die dunkelviolettblaue, beinahe gallertige Flüssigkeit 24 Stunden lang ruhig stehen gelassen. Hierbei tritt nun die

Zerlegung der Kupfer—Eiweissverbindung durch die Einwirkung des starken Alkalis ein, und fällt man am folgenden Tage durch Neutralisiren der Lösung mit Salzsäure, so erhält man einen farblosen, flockigen, im Ueberschuss der Säure nicht mehr löslichen Eiweissniederschlag, der sich gut absetzt, während das alles Kupfer in Lösung enthaltende hellgrüne Filtrat leicht auf dem Filter abfließt. Man wäscht den Niederschlag nun auf dem Filter sorgfältig aus, bemerkt aber dabei bald, dass allmählich eine Quellung und Lösung des Eiweisses im Waschwasser stattfindet. Man muss daher von vornherein mit ziemlich grossen Quantitäten arbeiten, um einen Verlust ertragen und dabei doch die grössere Menge des Eiweisses auf dem Filter möglichst vollkommen auswaschen zu können (26 p. 3047-8).

sorgfältig genug von der Säure befreit hatte, wodurch sich auch alle Reaktionen erklären lassen, die Harnack für sein Präparat angiebt. Hauptsächlich aber hatte er dasselbe mit einer starken Ätzkalilösung behandelt und dabei eine dunkelviolette (!) Gelée erhalten, welche von selbst zerfloss¹⁾. Harnack behauptet hartnäckig, es bedürfe einer starken Alkalilösung, damit die Kupferlösung sich zersetze. Offenbar traten in Harnack's Präparat Erscheinungen ein, die solche tiefere Veränderungen des Globulins bekunden, welche wir uns zu vermeiden bestrebten (N^o 81—5 p. 110—12). Endlich gesteht der Autor ein, dass es ihm nicht immer gelungen sei, ein mit den obenbeschriebenen Eigenschaften ausgerüstetes Präparat zu erhalten!

Werigo (70 p. 128) bestätigt in seinen Arbeiten unsern Gedanken vollkommen sowie die Beobachtung, dass es gerade die Säure war, der in Harnack's Präparat die Hauptrolle gehörte, da Werigo bei vorsichtiger Behandlung ohne Säureüberschuss Harnack's Präparat nicht erhielt²⁾. Bei näherer Bekanntschaft mit einer Lösung von Harnack's Präparat fand Werigo, dass dieselbe stark sauer reagierte, und dass die Reaktion gerade durch die Salzsäure bedingt wurde, da die erwähnte Lösung nach der Fällung mit Salpetersäure mit Silbersulfat Chlorsilber gab. Auch die Neutralisation des Harnack'schen Präparats mit verdünnter Natronlauge erzeugte einen voluminösen in Wasser unlöslichen Niederschlag, der aber in verdünnten Säuren und Alkalien sich leicht löste. Somit, bemerkt Werigo, unterliegt keinem Zweifel, dass das von Harnack „aschenfreies Albumin“ genannte Präparat „nur ein Derivat der Proteinsubstanzen, nämlich Acidalbumin war“³⁾. Indem Werigo im weiteren auch die übrigen Reaktionen dieser Substanz untersuchte, überzeugte er sich von den Eigenschaften des „genuinen Albumins“, von denen wir im vorigen Kapitel sprachen.

Stohmann & Langbein (65 p. 371) finden, Werigo folgend, dass das genau nach Harnack dargestellte Präparat völlig frei von Asche war, aber deutliche Mengen von Chlorwasserstoff, nahezu 1 Mol. ClH auf je 1 Atom des in der Verbindung enthaltenen Schwefels enthielt.

Da man bei anhaltendem Auswaschen des aschenfreien Eiweisses von Harnack grosse Verluste erleidet, versuchte Bülow (11 p. 207) die letzten Mengen von Kupfer und Salzsäure aus dem Eiweiss durch Dialyse zu entfernen. Das Aussenwasser wurde einmal täglich erneut. Dasselbe enthielt zunächst deutlich nachweisbar Kupfer und Salzsäure, dann blieb die Reaktion auf Kupfer aus, und endlich war auch keine Salzsäure mehr nachzuweisen. Von diesem Zeitpunkt an wurde die vorher klare Eiweisslösung im Dialysat opalescirend; es traten einzelne Flocken auf, die sich vermehrten, und bei fortgesetzter Dialyse schied sich endlich das ganze Eiweiss in Form von Flocken ab (ib. p. 208), was wir schon in Jahre 1892 (50 p. 213

¹⁾ Nunmehr bringt man den feuchten Niederschlag in eine Schale, verreibt ihn gleichmässig mit etwas Wasser und fügt starke Kalilauge in nicht zu geringer Menge hinzu. Das Ganze wird dadurch in eine dunkelviolette Gallerte und sodann in eine ebenso gefärbte Lösung verwandelt, welche dickflüssig, aber meist völlig klar ist (27 p. 3747).

²⁾ Als ich aus der alkalischen Lösung der Kupfereiweissverbindung die Harnack'sche Substanz durch Neutralisation mit Salzsäure auszufällen suchte, konnte ich diese Substanz nur dann erhalten, wenn ich einen (obgleich kleinen) Ueberschuss von Säure hinzufügte. Bei genauer Neutralisation dagegen bekam ich immer dieselbe

Kupferverbindung, von welcher ich ausging. Dabei erwies es sich als ganz gleichgültig, ob wir die alkalische Lösung der Kupfereiweissverbindung sofort oder nach Verlauf von 24 Stunden (wie es Harnack fordert) neutralisirten. Auf Grund dessen glaube ich, dass auch Harnack einen Ueberschuss von Säure angewandt hat, ohne dabei bemerkt zu haben, dass diesem Ueberschusse eine grosse Bedeutung zukommt (70 p. 128—9).

³⁾ Dadurch wird also unzweifelhaft bewiesen, dass die Substanz, welche Harnack als aschenfreies Albumin betrachtete, nur ein Derivat desselben darstellt, das seinen Eigenschaften zufolge den sogenannten Acid- resp. Alkalialbuminaten nahe gestellt werden muss (70 p. 129—30).

u. 712 u. *N.N.* 48—60 p. 171) beobachteten und jetzt fast in jedem Kapitel diese Werkes bestätigen, vor allem bei der Gewinnung des Globulins aus diesem oder jenem Fundorte desselben.

Am interessantesten ist das Verhalten der Eiweisslösungen gegen 1⁰/₀₀ Natrolauge. Man braucht bei fortschreitender Dialyse stets weniger Alkali, um das Eiweiss auszufällen, und kann so verfolgen, wie die Salzsäure sich allmählig vom Eiweiss trennt (ib. p. 208). Das so durch Dialyse abgeschiedene Eiweiss, dessen Aschengehalt sich von 0,070 bis 0,088⁰/₀ ergab, unterscheidet sich nun wesentlich von dem von Harnack (20 p. 3046 u. 27 p. 3745) zuerst beschriebenen Präparat durch seine Unlöslichkeit in Wasser. Weder die im Dialysor abgeschiedenen, noch nicht getrockneten, Flocken noch das lufttrockene Eiweiss lösen sich in heissem Wasser (11 p. 210). Die Löslichkeit des Harnack'schen Eiweiss schreibt Bülow dem geringen Gehalt desselben an Salzsäure zu (11 p. 210). Aus diesen Versuchen geht also hervor, dass das vollständig aschenfreie Eiweiss, d. h. solches, welches völlig frei von anderen Elementen ist, in Wasser unlöslich ist (11 p. 211) was unsre im Jahre 1892 (50-a p. 213 u. p. n. 127 u. *N.N.* 48—60 p. 171) gegebenen Tatsachen bestätigt.

Übrigens gesteht Harnack nach Werigo's und Stohmann's Arbeiten selbst ein (27-a p. 224), dass sein aschenfreies Albumin bis 2⁰/₀ Salzsäure ¹⁾ enthalten konnte, und dass das Albumin sich aller Wahrscheinlichkeit nach mit der Salzsäure in verschiedenen Proportionen zu verbinden vermag. Indem Harnack eine Lösung seines Albumins dialysirte, fand er sogleich, dass die wässrige Lösung aschenfreien Albumins auf dem Dialysor eine allmählig eintretende Scheidung des Eiweisses vom Wasser zeigt, je vollständiger ersteres die Salzsäure verliert. Nach dem Verluste der Salzsäure bildet das Eiweiss eine durchsichtige Gallerte, „die aber kein Bestreben hat (!), sich mit Wasser zu einer filtrirbaren Lösung zu vereinigen“ (ib. p. 208). Der Niederschlag löst sich auch durch eine Spur freien Alkali (ib. p. 209).

Varenne (1886, 69 p. 427) erhielt, indem er eine Lösung des nach Wurtz bereiteten Präparats mit verschiedenen Mengen von Schwermetallsalzlösungen—Cadmium—, Kupfersulfat, Uranacetat, Quecksilberbijodid—bei Gegenwart von Essigsäure 0,07⁰/₀₀ versetzte, die erste Gerinnung bei 50°, die zweite bei 75°. Die Gerinnungstemperatur steigt überhaupt mit dem Salzgehalt, allein mit 0,01⁰/₀₀ Kupfersulfat fand Gerinnung gar nicht statt.

Paal (54 p. 1084) findet, dass der Niederschlag, welcher durch Versetzen von Eiweisslösung mit FeCl₂-Lösung und NaCl erzeugt wird, in seinem Eisengehalt je nach der Menge des angewandten FeCl₂ schwankt. Zinksalze und Alaun erzeugen in Lösungen von frischem Hühnereiweiss Fällungen, in Lösungen von Handelseiweiss dagegen nicht. Die Ursache davon ist, meint Paal, dass im Handelseiweiss, da es immer mehr oder weniger in Zersetzung übergegangen ist, Ammoniaksalze enthalten sind, welche die Fällung verhindern. Die mit Quecksilber-, Kupfer- oder Uransalzen in Handelseiweiss- und frischen Eiweisslösungen gebildeten Niederschläge zeigen verschiedenen, und zwar bei frischem Eiweiss höheren Metallgehalt.

Obwohl Galeotti (22-a p. 492) die durch Kupfersulfat und Silbernitrat hervorgebrachten Niederschläge in ziemlich unbestimmten Proteinpräparaten: Serumalbumin (ib. p. 529) und Eieralbumin (p. 519), untersuchte, so kam er auch zu der schon festgestellten Meinung, dass es zwischen dem Protein und den Metallsalzen gar keine konstanten Verhältnisse gibt (ib. p. 492; 547). Führt findet so-

¹⁾ „Vorläufig scheint es mir noch richtiger, dass aschenfreies Eiweiss, wie ich es bisher beschrieben habe, als eine Verbindung des von

Aschenbestandtheilen (anorg. Basen u. s. w.) befreiten Albumins mit 1 bis 2 p. Ct. Salzsäure....“ (27-a p. 208) anzusehen ist.

gar, dass die Schwermetalle in neutralsalzhaltigen Lösungen von Albumin augenblicklich eine sehr voluminöse Fällung bewirken, während eine salzfreie derselben Präparate durch Schwermetalle nicht gefällt, höchstens getrübt wird (22 p. 250).

Mellamby (43 p. 338) stellte Beobachtungen an Globulinlösungen in 0,6%- u. 2,7%-igen NaCl-Lösungen nach Eintragung verschiedener Mengen Kupfer- oder Zinksulfatlösung an, wobei er fand, dass die Menge des ausfallenden Globulins mit dem Steigen der Menge sowohl des Metallsalzes als des Lösungsmittels steigt.

Zum Schluss sei noch erwähnt, dass Kowalewski (31 p. 553) beim Fällern von Hühnereiweiss mit Uranacetat in einigen Niederschlägen gegen 12% Asche, die aus Uranoxyd bestand, erhielt.

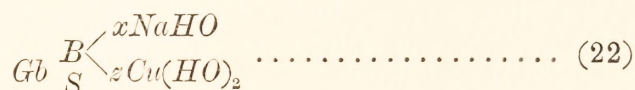
Verbindung des Globulins mit Metallbasen. Die Geschichte des Verhaltens des Globulins zu den Metallsalzen stellt ein Bild sehr verschiedenartiger Ansichten und Schlüsse vor. Das ist auch ganz begreiflich. Die Präparate, an denen die Beobachtungen über die Metallsalze angestellt wurden, waren an sich selbst mehr oder weniger komplexe Verbindungen; ausserdem wurden sie fast immer vorher mit Säuren, Alkalien oder Salzen behandelt und erst dann der Einwirkung von Metallsalzen unterworfen. Der Autor war gewöhnlich zufrieden, wenn in solchen Gemengen ein Niederschlag erhalten wurde, der nun gewöhnlich für eine mehr oder weniger enge Verbindung des Proteinkörpers und des zur Reaktion benutzten Salzes oder dessen Metallbase gehalten wurde. Es ist wohl kaum nötig zu erwähnen, dass solche Niederschläge eine sehr mannigfache Struktur besaßen, dass auch die Mutterlaugen einen nicht weniger komplexen Charakter von Gemengen und Verbindungen darboten! Wie verschiedenartig die Globulinverbindungen in diesem Falle sein können, soll Folgendes zeigen.

1) **Verbindung des Globulins mit Schwermetalloxyden.** Sowohl das Globulin als auch die im Laboratorium gebräuchlichen Schwermetalloxyde geben ein jedes für sich keine Lösungen; ebenso wenig ist das mit deren mechanischen Gemengen der Fall. Bei der Betrachtung des Verhaltens der Alkalien und Erdalkalien frappierte der hohe Löslichkeitsgrad von deren Verbindungen in Abhängigkeit von der Leichtlöslichkeit der genannten Basen. Hier dagegen konnte man im voraus sagen, dass auch auf Umwegen in Lösungen in Berührung gebrachtes Globulin und irgend eine Schwermetallbase keine löslichen Verbindungen bilden würden. Reine lösliche Verbindungen mit Schwermetalloxyden, so zu sagen globulinsäure Metalle, wird es wohl kaum möglich sein zu erhalten. Frisches Globulin, unmittelbar mit frischen Metalloxydhydraten vermengt, bildete keine Lösungen. Ganz anders verhält sich die Sache, wenn die Schwermetalloxyde in Gestalt von Lösungen genommen werden können, oder wenn den Gemengen aus Globulin und Metalloxydhydraten Alkalien, alkalische Erden, endlich Säuren zugesetzt werden.

Auch hier ist es notwendig zu erklären, dass zu den Untersuchungen über das Verhalten der Proteinkörper zu den Metallsalzen ungereinigte natürlich vorkommende proteinhaltige Flüssigkeiten benutzt wurden und dass die Autoren weder die Aschenbestandteile noch auch sogar die organischen und anorganischen Bestandteile solcher Flüssigkeiten in Betracht zogen. Wie gross aber die Bedeutung der anorganischen Bestandteile ist, ersieht man aus Pauli's Arbeit (53 p. 233), welche die Untersuchung der durch Zinksulfat in mit 10 Vol. Wasser verdünntem Eiweiss („Eiklarlösung 1:10“) erzeugten Niederschläge zum Gegenstand hat. Abgesehen davon, dass das „Eiklar“ an sich selbst ein komplexes Gemenge ist, übten die vom Autor eingetragenen Alkali- und Erdalkalisalze sogar in sehr geringen Mengen einen Einfluss auf die Fällung der proteinhaltigen Flüssigkeiten aus. „Alle von Pauli untersuchten Kali-, Natron-, Ammonium- und Magnesiumsalze wirkten hemmend“ (53 p. 235—45).

A.—Metallische Verbindungen des Globulins unter Mitwirkung von Alkalien und Erdalkalien oder globulinsäure Metallalkalien u. dergl. werden mehr oder weniger rein in grosser Mannigfaltigkeit und in löslichem Zustande erhalten, wenn zu einem Gemenge von reinem aschenfreiem Globulin und möglichst sorgfältig vorbereitetem frischem Metalloxydhydrat verschiedene Mengen wässriger Alkali- oder Erdalkalilösungen zugesetzt werden.

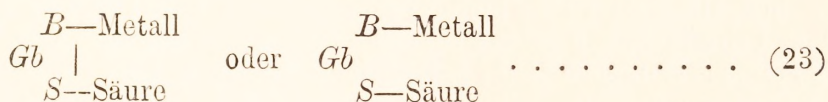
Diese Verbindungen werden durch ihre Löslichkeit, ihre Fällungstemperatur der alkalischen und erdalkalischen Globulinverbindungen nahe Dissoziationstemperatur, hauptsächlich aber durch ihre besonderen Farben charakterisirt. Die Farbe der Lösung eines Oxyds in Alkalien ist z. B. eine ganz andere als diejenige einer Verbindung derselben Base mit Globulin! So z. B. färben sich die Lösungen durch Kupferoxyd violett, durch Kobalt violettrot, durch Nickeloxyd hellgrün u. s. w. (S. folg. Kap. die Farbenreaktionen mit Metalloxyden (N.N. 93—100). Im allgemeinen können diese Verbindungen durch ein Schema ausgedrückt werden, in welchem der basische Pol des Globulins zugleich mit einer löslichen Base—einem Alkali oder Erdalkali—und mit einer unlöslichen—einem Schwermetalloxyd verbunden ist, wie z. B.



Offenbar waltet hier dasselbe Gesetz, nach welchem der basische Pol nur gewisse Mengen, bis zu einer gewissen Grenze, in Verbindung erhalten kann (N.N. 81—5 p. 110), nach deren Überschreitung die Vergrösserung der Quantität dieses oder jenes Oxyds Zersetzung der Verbindung und Ausscheidung von Niederschlägen zur Folge hat.

B. Metallische Globulinverbindungen unter Mitwirkung von Säuren oder metallische Basacidglobine werden rein durch vorsichtige Auflösung eines Gemenges von frischbereitetem Globulin und frischgefälltem Metalloxyd in sehr verdünnten Säuren erhalten.

Ähnliche Verbindungen erhält man auch, wenn frischgefälltes Oxydhydrat in einer wässrigen Acidoglobulinlösung aufgelöst wird. Diese Verbindungen unterscheiden sich von den Verbindungen mit Schwermetallsalzen sowohl durch ihre Farbe als auch durch die Fähigkeit, bei vorsichtigem Einäschern freie Metalloxyde zu geben. Im allgemeinen darf angenommen werden, dass solche Metallverbindungen nach demselben Typus wie die Basacidglobine (N.N. 86—92 p. 255) aufgebaut sind, nämlich:

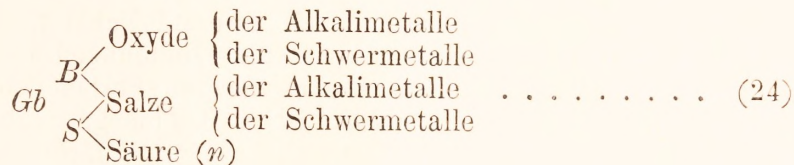


Diese Verbindungen unterscheiden sich sowohl durch ihre Fällungstemperatur als durch ihre Mengenverhältnisse.

C. Eine reine Verbindung von Globulin mit Metallsalzen in gelöstem Zustande zu erhalten, ist mir bis jetzt nicht gelungen; die verhältnismässig geringe Anzahl von Beobachtungen, die ich Gelegenheit gehabt habe, anzustellen, scheinen das Vorhandensein einer grossen Anzahl solcher Verbindungen, aber in unlöslichem Zustande, zu beweisen (s. fog. Kap. Globulin im freien (festen) Zustande N.N. 93—100). Dieser Umstand redet noch überzeugender für das Vorhandensein der oben erwähnten Basacidglobine.

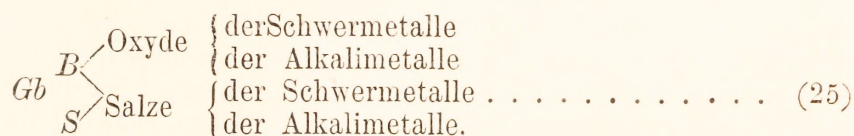
D. Was die metallischen basisch-sauren Acidoglobine anbetrifft, so unterliegt das Vorhandensein solcher keinem Zweifel; es gelingt sogar mit Schwefelwasserstoff leicht, eine lösliche Verbindung zu erhalten. Dem von

uns gegebenen allgemeinen Schema (N.N. 86—92 p. 257—8) entsprechend, geben diese Verbindungen trotz der scharfsauren Reaktion bei vorsichtigem Einäschern ein freies Metalloxyd. Wird eine derartige Verbindung aus einer alkalischen Globulinverbindung erhalten, so kann aller Wahrscheinlichkeit nach in der Lösung eine dem folgenden Schema entsprechende Verbindung entstehen:



Solche Verbindungen haben ihre eigene Dissoziationstemperatur, eine saure Reaktion und geben bei vorsichtigem Einäschern freie Metalloxyde und Alkalien sowie deren Salze. Besonders gut geht das Einäschern von Niederschlägen vor sich, welche bei der fraktionirten Fällung von Lösungen genannter Verbindungen durch Alkohol erhalten werden. Für die Beobachtung noch geeigneterer Präparate liefern die Niederschläge von säurefreien Verbindungen, welche folglich Alkalien, Metalle und deren Salze enthalten.

E. Verbindungen des Globulins mit einem Alkali, einem Schwermetall und mit deren Salzen waren es hauptsächlich, welche, wie aus dem historischen Überblick ersichtlich ist, von den Autoren beobachtet wurden, (s. folg. Kap, Ueber Identität des Globulins (N.N. 93—100). Werden mässig konzentrierte basische Globulinverbindungen mit einem verhältnissmässig geringen Alkali- oder Erdalkaligehalt mit Schwermetallsalzlösungen behandelt, so entstehen gerade die Verbindungen, welche das allgemeine Schema,



genüge tun.

Grösserer Beweiskraft halber und auch um unsre eignen Beobachtungen mit dem historischen Material zu verbinden, geben wir Tafel VIII (p. n. 299), welche auf Grund derselben Prinzipien, wie die bei der Untersuchung der Salze (N.N. 75—80 p. 256—62) dargelegten, zusammengestellt ist. Hier bedeutet *k* ebenfalls den Sättigungskoeffizienten; doch wurde zu der Darstellung der Verbindungen frisches Hühnereiweiss genommen, welches die auf S. (N.N. 48—60 p. 165) angegebene mechanische Behandlung erfahren hatte, d. h. zerschnitten und filtrirt worden war.

T a f e l VIII.

Fällungstemperatur der Metallsalzverbindungen des Globulins.

	0,001k	—0,05k	—0,1k	—0,5k	—0,9k	— k	
	20	20	20	20	20	20	Sublimatlös.
	—	—	—	—	—	—	Aluminiumnitrat
	—	—	—	—	—	—	Bleiessig
	—	—	—	55	—	—	Aluminiumsulfat
				70	40	—	Kupferniträt
				75	72	—	Kalialaun
				60	80	>20	Bleizucker
	—	—	50	—55	—60	—	Liqu. ferri sesquichl.

Mit 4-fach verd. Eiweiss.

70	—	60	—	50	—	20	—	20	—	20	Sublimat.
60	—	80	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	Bleiessig.
50	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Bleizucker.

Wenn für die ersten 3 Salze als Fällungstemperatur 20° angegeben ist, so will das noch nicht heissen, dass diese Salze das Globulin vollständig fällten: die erwähnten Gemenge schieden sekundäre u. s. w. Niederschläge aus. Die Fällbarkeit des Globulins durch Metallsalze hängt offenbar von dessen Menge ab. Bei der Abnahme des Globulingehalts steigt, in der Tat, die Fällungstemperatur, wie für die 3 letzten Fälle angegeben ist, in denen für die Bleiverbindungen die Temperatur auch über 100° sein kann.

Die Zersetzung der Metallsalzverbindungen wird am besten mit schwachen Säurelösungen ausgeführt, indem man sie in Säureverbindungen überführt und dann dialysirt. Wiederholte Auflösung des Niederschlags und abermalige Dialyse ermöglichen es, das Globulin vollends von den Basen zu befreien. Als Resultat wird reines mit allen seinen Unterscheidungsmerkmalen ausgestattetes Globulin erhalten.

L I T E R A T U R.

- 1) **Auriol & Monnier.**—Jahrber. Maly's. 1889. Bd. 19. 2) **Bechamp.**—Nouvelles recherches sur les albumines normales et pathologiques. Paris, Baillière. 1887. 3) **id. & Baltus.**—Annales de chimie et de physique. 1878. t. 14. 4) **Berzelius.**—Lehrbuch der Thier-Chemie. Dresden. 1831. 5) **id.**—Ib. Leipzig. 1840. Bd. 9. 6) **Bielitzki.**—Zeitschr. f. physiol. Chem. 1881. Bd. 5. 7) **Birot.** Comp. rend. 1874. t. 79. 8) **Bostock.**—Journ. of Natur. Philosophy, Chemistry and the Arts. London. 1805. v. 11. 8-a) **id.** Ann. de chimie ou Recueil 1808, t. 67. 9) **id.**—Medico chir. Transaction. 1812. v. 1. 10) **Brücke.**—Sitzung Ber. Wien. 1867. Abh. II. Bd. 55. 11) **Bülow.**—Arch. Pflüger's. 1894. Bd. 58. 12) **Chittenden & Whitehouse.**—Jahrber. Maly's. 1887. Bd. 17. 13) **Commaille.**—Journ. de pharm. & de chim. 1866. t. 4. 14) **id.**—Compt. rend. 1874. t. 78. 15) **Denis.**—Essai sur l'application de la chimie etc. Paris. 1838. 16) **id.**—Démonstration expérimentale sur l'albumine Commerc. 1839. 17) **id.**—Nouvelles études chimiques. Paris. 1856. 18) **Diakonow.**—Medicin-chem. Unters. Hoppe-Seyler's. 1867. Heft 2. 19) **Dobrowslawin (Доброславинъ).**—Медицин. Вѣстникъ. 1868. 20) **Eichwald.**—Würzburg. medic. Zeitschrift. 1864. Bd. 5. 20-a) **id.**—Beiträge zur Chemie der gewebebild. Subst. etc. Berlin. 1873. Hf. 1. 21) **Fassbender.**—Ber. d. d. chem. Ges. 1880. Jahrg. 13. 22) **Führt.**—Arch. f. exp. Path. 1885. Bd. 36. 22-a) **Galeotti.**—Zeitschr. f. Physiol. Chemie. 1903—4. Bd. 40. 23) **Gautier.**—Compt. rend. 1874. t. 79. 24) **Halliburton.**—Journ. of Physiol. 1884. Vol. 5. 25) **Harnack.**—Zeitschr. f. physiol. Chem. 1881. Bd. 5. 26) **id.**—Bericht. d. d. Chem. Ges. 1889. Jahrg. 22. 27) **id.**—Berichte d. d. chem. Ges. 1890. Jahrg. 23. 27-a) **id.**—Ib. 1892. Jahrg. 25. 28) **Hofmeister.**—Zeitschr. f. physiol. Chem. 1877. Bd. 2. 30) **Hoppe-Seyler.**—Handb. der physiol. Chemie. Aufl. 2. 1865. 30-a) **Hünefeld.**—Physiolog. Chemie. 1826. Theil. 1. 31) **Kowalewsky.**—Zeitschr. f. physiol. Chem. 1885. Bd. 24. 32) **Kühne.**—Lehrbuch. d. physiol. Chemie. 1866—8. 33) **Lassaigne.**—Compt. rend. 1822. t. 2. 34) **id.**—Ib. 1839. t. 9. 35) **id.**—Ib. 1840. t. 10. 36) **id.**—Journ. de chimie médic. 1840 t. 6. 37) **id.**—Compt. rend. 1842. t. 14. 38) **Lehmann.**—Lehrbuch der physiol. Chem. 1842. Bd. 1. 39) **id.**—Ib. 1850. Bd. 2. 40) **Lieberkühn.**—Ann. Pogg. 1852. Bd. 86. 41) **Liebig.**—Handwörterbuch der rein. und angewandt. Chemie. 1838—41. Bd. 1 (A—B). 42) **Meissl.**—Ber. d. d. Chem. Ges. 1882. Jahrg. 15. 43) **Mellamby.**—Journ. of physiol. 1905. Vol. 33. 44) **Millon & Commaille.**—Compt. rend. 1865. t. 60. 45) **id.**—Ib. 1865. t. 61. 46) **Mitscherlich.**—Arch. Müller's. 1836. 47) **id.**—Annal. Pogg. 1837. Bd. 40. 48) **Mörner.**—Jahrber. Maly's. 1877. Bd. 7. 49) **id.**—Arch. Pflüger's. 1878. Bd. 17. 50) **Morochowetz.**—Einheit der Eiweisskörper. (Единство протеиновыхъ тѣлъ). Moskau. 1892. 50-a) **id.**—Die Verdauungsgesetze (Законы пищеварения). Спб. 1881. 50-b) **Mulder.**—Versuch einer allg. physiol. Chemie. Braunschweig. 1844. 50-c) **Nasse.**—Wagner's Handwörterb. 1842. Bd. 1. 51) **Palm.**—Zeitschr. f. anal. Chem. 1887. Bd. 26. 52) **Panum.**—Arch. Virchow's. 1852. Bd. 4. 53) **Pauli.**—Beiträge z. physiol. Chem. 1905. Bd. 6. 54) **Paal.**—Chem. Centrbl. 1896. Bd. 1. 55) **Rabodanges.**—Comp. rend. 1841. t. 13. 56) **Ritthausen & Pott.**—Zeitschr. f. anal. chem. 1874. t. 13. 57) **Robin & Verdeil.**—Traité de chim. anatom. 1853. Bd. 3. 58) **Rose.**—Annal. Pogg. 1833. Bd. 28. 59) **Scherer.**—Wagner's Handwörterb. 1844. Bd. 2. 60) **Schmidt.**—Arch. du Bois Reymond's. 1862. 61) **Schützenberger.**—Bullet. mensuel. de la Société Chim. de Paris. 1875. t. 23. 62) **Schwarzenbach.**—Ann. Liebig's. 1865. Bd. 133. 63) **id.**—Ib. 1867. Bd. 144. 64) **Simon.**—Handbuch der angew. Chemie. 1840. Bd. 1. 65) **Stohman & Langbein.**—Journ. f. prakt. Chem. 1891. Bd. 44. 66) **Stutzer.**—Berich. d. d. Chem. Gesell. 1880. Jahrg. 13. 67) **Thenard.**—Nouveau bullet. des sciences par la Société philomat. de Paris. Paris. 1807. t. 1. 68) **Thomson.**—Système de chimie. 1809. t. 9. 69) **Varrene.**—Bull. de Soc. de Chimie. 1886. t. 45. 69-a) **Vogel & Reichschauer.**—Neues Repertorium f. Pharmacie. 1859. Bd. 8. 70) **Werigo.**—Arch. Pflüger's. 1890. Bd. 48. 71) **Wittich.**—Centrbl. f. med. W. 1864. Jahrg. 2. 72) **Wurtz.**—Compt. rend. 1844. t. 18. 73) **id.**—Ann. de Chimie et de phys. 1844. t. 12. 74) **id.**—Traité de chim. biolog. 1885. 75) **Zelzell.**—Abhandl. der königl Schwed. Akademie. 1769. Bd. 32.