

## Identität der natürlich vorkommenden proteinhaltigen Flüssigkeiten und der Globulinlösungen.

**Historisches.** Nachdem wir gezeigt haben, dass es einen besondern, vom den Autoren „Albumin“ genannten Körper weder im Serum oder im Hühnereiweiss noch auch in andern Flüssigkeiten gibt, tritt die Lehre der älteren Autoren wieder in kraft, und die Frage nach den Bedingnissen, die das Globulin in den natürlich vorkommenden Flüssigkeiten in Lösung erhalten, taucht wieder auf. Vom Standpunkte der Lehre von dem „Globulin“ aus drängt sich den Verfechtern der Existenz eines wasserlöslichen Proteins unerbittlich die Notwendigkeit auf, die Bedingungen, unter welchen das Globulin in den Flüssigkeiten sich in Lösung befindet aufzuhellen. Sowohl die Verfechter „des Albumins“ der neueren Geschichte als auch die älteren Autoren stimmen darin überein, dass das Globulin und, den letzteren nach, das sämtliche Protein—das historische Albumin—durch Alkalien und Salze oder bloss durch Alkalien in Lösung erhalten wird.

Ein jedes der vorhergehenden 18 Artikel (N.N. 48—100) enthält in seinem historischen Teil genug auf die Löslichkeit des Proteins in den natürlich vorkommenden Flüssigkeiten auf kosten von Basen oder Salzen Bezügliches. Wir wollen diese Hinweise hier nicht wiederholen und uns nur auf die Darlegung der Ansicht Fourcroy's beschränken, mit welcher die Geschichte der Proteinkörper ins XIX Jahrhundert hinüberschritt. Dieser Autor nimmt an, dass das Protein mit den Alkalien seifenähnliche Verbindungen bildet, aus denen es durch Säuren ausgeschieden wird <sup>1)</sup>.

Besonders heftig verfocht Denis die Unlöslichkeit des „Albumins“ in Wasser und—im Widerspruch zu andern Autoren—die Löslichkeit des durch Säure aus verdünntem Serum oder Eiweiss ausgefallten Proteins und auch des Fibrins, d. h. solcher Körper, welche damals für geronnenes „Albumin“ angesehen wurden, heutzutage aber für Globulin anerkannt werden, in Salzen, schwachen Alkalien u. dergl. Denis's Arbeit vom Jahre 1838 bietet ein doppeltes Interesse: dieselbe ruft nicht nur den Begriff „Globulin“, der unter dem unbestimmten, mehrdeutigen Namen „Albumin“ verloren gegangen war, wieder ins Leben, verteidigt nicht nur den Satz, dass dies die einzige Proteinsubstanz des Serums und des Eiweisses sei, sondern weist auch darauf hin, dass dieses Globulin (denn Denis hatte es als erster ausgeschieden—s. N.N. 48—60 p. 90—117) in den genannten Flüssigkeiten durch Alkalien

1) Tous les acides coagulent le sérum, en séparent l'albumine en flocons plus ou moins denses et d'un gris blanc d'autant plus solide que les acides sont plus concentrés. Tous, après avoir produit cette coagulation, restent dans la liqueur surnageante en partie saturés de soude qu'ils ont enlevée au serum; quelques chimistes ont cru, d'après cet effet, que la soude était combi-

née avec l'albumine comme dans une sorte de savon et que c'était elle qui la rendait dissoluble dans l'eau..... Il en citait pour preuve que le coagulum formé dans cette liqueur par des acides en grand excès, contenait encore du carbonate de soude après sa combustion et son incinération; ce fait mérite cependant confirmation (27 p. 143).

und Salze in Lösung erhalten wird. Überdies findet Denis, das Fibrin mit dem Globulin identifizierend, dass auch ersteres nach entsprechender Behandlung mit den natürlich vorkommenden Flüssigkeiten identische Lösungen bildet und beide in Mittelsalzen und auch in Alkalien löslich sind. Sowohl das Fibrin (18 p. 77) als auch das Globulin (18 p. 81) seien nach der Auflösung in Salzen und dem Zusatz einiger Tropfen Ätzkali oder Ätznatron, d. h. soviel, dass die Lauge etwa  $\frac{1}{13}$  Teil des Salzes ausmacht, mit dem Blutserum identisch <sup>1)</sup>. Denis nennt diese Lösung salz-alkalische Fibrin- und Globulin (Albumin-) lösungen und findet, im Gegensatz zu den älteren Autoren, dass es gerade solche salz-alkalische Lösungen sind, die mit dem Serum identifiziert werden können, da sowohl diese künstlichen Lösungen als auch das Serum bei der Neutralisation mit Essigsäure keine Niederschläge ausscheiden— was für eine charakteristische Eigentümlichkeit des sog. „Serumalbumins“ galt (A.N. 48—60 p. 83—117). Denis kann nicht zugeben, dass das Serum eine Salz-Globulinlösung vorstellt, da eine solche von geringen Säuremengen gefällt werde (18 p. 81), oder eine alkalische—, da eine solche in der Wärme nicht gerinne. Auch kohlen-saures Natron könne zu den genannten Zwecken nicht dienen (18 p. 166). Nur die gleichzeitige Gegenwart von Salzen und Alkalien genüge allen an das Serum gestellten Anforderungen, auf Grund dessen in 1000 Teilen mit 0,01 Teilen Kalium-nitrat und 0,001 Natron versetzten Wassers sich 0,07 Fibrin auflösten <sup>2)</sup> (18 p. 81). Diesen Angaben gemäss schlägt Denis vor, das Globulin oder Fibrin gleichfalls in einer schon im voraus bereiteten Lösung aus 12 Teilen eines neutralen Kali- oder Natronsalzes und 1 T. des einen oder andern Alkali aufzulösen. Die erhaltene Lösung sei mit dem Serum identisch <sup>3)</sup>. Endlich gibt sich Denis mit diesen Tatsachen noch nicht zufrieden: er löst, zu grösserer Beweiskraft, Fibrin in einer Lösung aus Serumasche auf, und erhält eine mit dem Blutserum identische Flüssigkeit <sup>4)</sup>. Denis findet, dass auch das Hühnereiweiss eine ähnliche salz-alkalische Globulinlösung vorstellt <sup>5)</sup>. Unter günstigen Verhältnissen, hauptsächlich bei entsprechendem Alkaligehalt hätten diese künstlichen Lösungen auch die dem normalen Serum und Eiweiss eigentümliche Gerinnungstemperatur (18 p. 82—3) Ausserdem scheidet sowohl das künstliche als auch das natürliche Serum bei Verdünnung mit Wasser und Einwirkung von Essigsäure identische, in Salzen und auch in einem Überschuss der zur Fällung benutzten Essigsäure lösliche Nieder-

1) Si l'on additionne la solution saline très chargée de fibrine de quelques gouttes d'eau de potasse ou de soude caustique de manière à équivaloir à peu près au treizième du sel employé, elle conserve la faculté de se coaguler par la chaleur, mais elle ne précipite plus par les alcalis ni par les acides, à moins d'employer de ces réactifs à fortes doses, et on peut l'étendre d'eau, comme je l'ai déjà dit, sans la troubler (18 p. 77)... Mais nous avons vu que les solutions salino-alcalines de fibrine ressemblaient tout à fait au sérum; or, le sérum renferme, lui aussi, des sels neutres et un alcali (18 p. 81).

2) ...et il en résulte un sérum artificiel qui jouit de toutes les propriétés de sérum naturel (18 p. 81).

3) Mais, au lieu d'alcaliser la solution, si l'on mélange douze parties d'un sel neutre à base de potasse ou de soude et une partie de ces alcalis, qu'on les dissolvé dans l'eau, on aura un

liquide qui attaquera rapidement la fibrine, en produisant une solution en tout semblable au sérum du sang (18 p. 77).

4) Pour rendre la formation du sérum artificiel plus frappante, j'ai extrait directement du sang ses sels solubles et son alcali, par sa carbonisation, puis par son incinération et une lixiviation convenable des résidus. Ici, la soude est en excès sans doute, car on a, outre celle qui doit aider avec les sels solubles à maintenir l'albumine liquide, la portion qui était unie aux acides gras. Malgré cette circonstance, l'eau chargée convenablement de ces matières salino-alcalines attaque bien la fibrine et la convertit en sérum artificiel (18 p. 82).

5) Le blanc de l'oeuf, examiné comparative-ment avec le sérum, se comporte de la même manière: il n'est ainsi qu'une solution salino-alcaline d'albumine (18 p. 86).

schläge <sup>1)</sup>. Im Jahre 1839 verteidigte Denis aufs neue energisch seinen Satz über die Unlöslichkeit des „Albumins“ in Wasser, sowie über die Identität einer salzalkalischen Globulin- oder Fibrinlösung mit dem Serum und dem Eiweiss (19 p. 19—31); dabei drückt er sich aber bestimmter in dem Sinne aus, dass das Serum und das Eiweiss Gemenge von Lösungen einer Alkaliverbindung und einer Salzverbindung des Globulins vorstellen <sup>2)</sup>. Denis zweifelte nicht, dass die genannten proteinhaltigen Flüssigkeiten gerade eine solche Structur besitzen, wie er sie beschreibt und schlägt zu grösserer Beweiskraft vor, durch Verdünnung mit Wasser und Einwirkung von Säure ausgeschiedenes Seroglobulin <sup>3)</sup> in einer salzalkalischen Lösung aufzulösen. Sich damit nicht begnügend, gibt Denis eine Vorschrift zur vollständigen Zusammensetzung künstlichen Serums, oder Verwandlung des Fibrins oder Globulins (Albumine solide insoluble) in Serum und Eiweiss oder lösliches Globulin (albumine soluble) <sup>4)</sup>. Um die Ausführung der Versuche zu vereinfachen, schlägt er folgende Verhältnisse vor: auf 90 Teile Wasser 8 T. Fibrin oder Globulin, 0,07 T. Aetzkali, 0,5 T. Natriumsulfat und 0,4 T. Chlornatrium <sup>5)</sup> End-

<sup>1)</sup> Maintenant, qu'on sature exactement l'alcali, tant du sérum naturel que du sérum artificiel, avec un acide quelconque, de l'acétique par exemple, puis qu'on étende d'eau la masse entière, ou qu'on commence à l'étendre d'eau avant de procéder à la saturation; il se précipite aussitôt des flocons très fins avec lenteur. Ils sont formés de fibrine, accompagnée à la vérité de corps gras. Qu'on verse alors un excès d'acide, ou mieux une solution de sel neutre, cette fibrine moléculaire est aussitôt redissoute (18 p. 83).

<sup>2)</sup> Le sérum et le blanc d'oeuf sont en conséquence un ensemble chimique d'albuminate de

<sup>3)</sup> Conversion, soit de la fibrine, soit de l'albumine soluble et liquide (serum ou blanc d'oeuf): expérience faite pour prouver l'identité des substances organiques de la fibrine et de l'albumine, ainsi que pour étudier l'état de la combinaison saline qui constitue l'albumine liquide.

Substances qui composent l'albumine liquide du serum du sang, d'après mon analyse.

	Sur mille parties.
Eau .....	900.000
Albumine.....	80.000
Soude.....	0.500
Chaux	} .....
Magnésie (traces)	
Sulfate de potasse.....	0.800
Sulfate de soude.....	0.800
Phosphate de soude .....	0.400
Chlorure de sodium .....	4.000
Sels gras acides de soude.....	3.000
Phosphate de chaux.....	0.300

(19 p. 33).

<sup>5)</sup> Pour faciliter cette expérience, vous pouvez simplement vous servir de la formule suivante et agir comme je viens de l'indiquer.

	Grammes.
Eau .....	90.00
Fibrine ou albumine.....	8.00

soude et d'une combinaison saline albumineuse, réagissant l'un sur l'autre (19 p. 31).

<sup>3)</sup> Il est tellement vrai que l'albumine liquide, le blanc d'oeuf ou le serum, ne consistent qu'en cet ensemble, que vous obtiendrez, à volonté, une matière complètement identique, en faisant réagir sur de l'albumine solide incoagulée, une solution aqueuse salino-alkaline, imitée, pour sa composition, de celle que l'analyse signale dans l'albumine liquide. En employant de l'albumine coagulée, je vous en avertis, l'expérience ne réussit pas. Il faut à peu près un centième de sels neutres, dont le treizième soit de l'alcali fixe, 8 cent. d'albumine et de 900 à 1000 part. d'eau (19 p. 31-32).

Substances à employer pour faire artificiellement du serum, du blanc d'oeuf ou de l'albumine liquide.

	Grammes.
Eau .....	9.000
Fibrine ou albumine solide insoluble.....	800
Soude caustique.....	005
Chaux vive	} .....
Magnésie calcinée (traces)	
Sulfate de potasse.....	008
Sulfate de soude.....	008
Phosphate de soude .....	004
Chlorure de sodium.....	040
Savon de soude fait avec la graisse humaine ou l'huile d'olive, à l'état de sur-sel ....	030
Le phosphate de chaux est inutile, l'alb. et la fibr. en contiennent toujours ....	000

	Grammes.
Potasse caustique (pierre à cautère des pharmacies).....	0.07
Sulfate de soude .....	0.50
Chlorure de sodium .....	0.40

(19 p. 34).

lich schlägt er vor, anstatt alles dessen eine Lösung von Serumasche zu benutzen. In den beschriebenen Fällen wurden mit Serum und Hühnereiweiss identische Lösungen erhalten <sup>1)</sup>).

Liebig erkennt Denis's Lehre nicht nur an, er verleiht ihr noch durch seine Beobachtungen und diejenigen seiner Schüler grössere Beweiskraft. Indem Liebig das „Albumin“ in Denis's Sinne für unlöslich in Wasser betrachtet, hält er es im Serum deshalb für gelöst, weil es mit einem Alkali und auch mit Salzen verbunden sei, in denen das ausgeschiedene Globulin löslich ist <sup>2)</sup>. Er gibt seinerseits (78 p. 875; p. n. *N.N.* 48—60 p. 97) eine Vorschrift zur Darstellung von Seroglobulinlösungen, die sich vom normalen Serum oder Eiweiss in nichts unterscheiden, nämlich: der aus verdünntem Serum und Eiweiss erhaltene Niederschlag wird in einem Alkali oder in einem Alkalicarbonat aufgelöst und der Überschuss des Lösungsmittels vorsichtig mit Essigsäure neutralisirt. Die so erhaltene Flüssigkeit zeige alle dem normalen Serum <sup>3)</sup> eigentümlichen Reaktionen der Fällung durch Wärme, Metallsalze u. s. w. Auch in sehr verdünnten Alkalien gelöstes Fibrin zeige nach der Neutralisation des Alkaliüberschusses dasselbe Verhalten: die alkalische Fibrinlösung, deren sämtliche Reaktionen mit denjenigen der proteinhaltigen Flüssigkeiten identisch sind, unterscheidet sich von letzteren nur dadurch, dass sie beim Kochen nicht gerinnt <sup>4)</sup>. Obgleich Berzelius und Simon sich Denis's Beobachtungen gegenüber ziemlich ablehnend verhielten, mussten auch sie anerkennen, dass das „Albumin“ in dem Serum mit einem Alkali verbunden ist, infolgedessen es gelöst bleibe (4 p. 34; 107 p. 60), aus der Lösung aber durch Verdünnung mit Wasser oder Neutralisation mit Schwefelsäure oder andren Säuren (4 p. 35) und auch durch Kohlensäure ausgeschieden werden könne (107 p. 60).

Liebig's Schüler Scherer tritt an die Lösung der Frage von einer andern Seite heran: bei Zimmertemperatur getrocknetes Serum löse sich in Wasser, wenn man das trockne Pulver längere Zeit darin liegen lässt, was auch Berzelius u. andr. beobachtet haben. Indem man den Trockenrest des Serums u. dergl. „Albumin“ nannte, fand man es zugleich in Wasser löslich, was vom Standpunkte von Denis's, Liebigs, Berzelius' u. andr. Lehre sehr begreiflich ist, da man in diesem Falle eine wasserlösliche Verbindung vor sich hatte. Scherer verstand es auch auf eine andre Art das Alkali zu entfernen und zwar durch dasselbe Mittel—nämlich durch Was-

1) Les réactions connues de l'albumine liquide, du serum, du blanc d'oeuf, vous les retrouverez dans cette préparation, si ce n'est qu'elle est incolore (19 p. 35).

2) Reines Albumin ist an und für sich unlöslich im Wasser, in dem Serum und im Eiweiss verdankt es seine Löslichkeit und Mischbarkeit mit Wasser, dem Natron, mit dem es vereinigt ist, so wie der Gegenwart von alkalischen Salzen mit alkalischer Basis, von denen es bei einiger Concentration ebenfalls in den löslichen Zustand versetzt wird (78 p. 875).

3) Ganz den nämlichen Körper erhält man, wenn Eiweiss mit 2-300 Thl. Wasser wohl vermischt, filtrirt und alsdann, bis zum Verschwinden der Alkalinität, sehr verdünnte Essigsäure zugesetzt wird, bis die Flüssigkeit trübe und milchähnlich geworden ist; in der Ruhe setzt sich, wie beim Serum, der Niederschlag ab, durch Abfiltriren und Waschen wird er rein erhalten.

Beide Niederschläge von reinem Albumin aus Blutserum oder Eiweiss lassen sich mit grosser Leichtigkeit in den löslichen Zustand zurückversetzen durch reines oder kohlen-saures Natron. Wird der Ueberschuss von Alkali mit Essigsäure hinweggenommen, so hat man eine Auflösung, die sich genau so verhält, wie das Serum selbst, welche in der Hitze gerinnt und, mit Alkohol, Quecksilbersublimat, Säuren vermischt, weisse Niederschläge bildet (78 p. 875).

4) In verdünnter kaustischer Kalilauge löst sich Fibrin leicht und vollkommen auf; man kann durch Zusatz von Essigsäure das freie Alkali hinwegnehmen, ohne dass eine Fällung entsteht. Diese alkalische Auflösung des Fibrins verhält sich gegen Säuren, Quecksilbersalze, Alkohol genau wie Blutserum, allein sie coagulirt nicht wie dieses beim Erhitzen (78 p. 881).

ser. Wird zu einem groben Pulver verriebenes trocknes Serum nicht in Wasser liegen gelassen, sondern rasch mit Wasser auf dem Filter gewaschen, so löse sich nur der kleinere Teil, während der grössere auf dem Filter zurückbleibe und beim Aufgiessen mit Wasser sich nicht mehr löse. Selbstverständlich hat man hier denselben Prozess vor sich wie bei der Dialyse der Alkaliverbindungen des Globulins. Alles, was Zeit gehabt hatte, sich aufzulösen, folglich durch das Filter gedrungen war, zeigte alle Reaktionen der Alkaliverbindungen des Proteins und hatte namentlich viel mit der Milch (Casein) Gemeinames, wie: Ungerinnbarkeit beim Kochen, und Bildung von Häuten beim Abdampfen. Nachdem das Filtrat eingedampft und der Trockenrest eingeäschert war, enthielt die Asche eine bedeutende Menge Alkali und auch viel Kochsalz. Dass das Wasser dem auf dem Filter gebliebenen Rückstand Alkali entzogen hatte, beweist Scherer dadurch, dass jener eine ganz neutral reagirende Asche zurückliess, welche unlösliche Salze enthielt (97 p. 19--20). Gleich dem obenerwähnten, in der Wärme nicht gerinnenden Filtrat identifiziert Scherer auch frisches, eine geringe Quantität Alkali enthaltendes Serum mit dem Casein oder, richtiger gesagt, mit der Milch. Wie letztere beim Kochen nicht gerinnt, so scheidet auch dieses, wenn auch nur bis zur neutralen Reaktion alkalisierte, Serum keine Niederschläge aus, wie das beim Serum der Fall war, ehe das Alkali zugesetzt wurde. Ausserdem bilde es auch wie die Milch bei längerem Kochen Häute (97 p. 22). Endlich findet Scherer auch hier, dass die Asche stark alkalisch reagirt (97 p. 24).

Nasse (89 p. 156) prüfte gleich vielen andren Autoren (Thomson, Mulder, Denis, Letelier u. s. w.) Lösungen von ausgeschiedenem Globulin in Alkalien oder sogar in Natriumcarbonat nach Letelier's Methode (6 T. Globulin, 7 T. Natriumcarbonat und 155 T. Wasser). Doch seien solche Lösungen dem Serum nicht ganz analog, da dieses beim Kochen gerinne, jene aber nicht, das Serum von organischen Säuren—Essigsäure und Milchsäure—und auch von schwefliger Säure gefällt werde, während die künstlichen Lösungen unter diesen Umständen sich nur trüben. Nasse findet, dass diese Reaktionen denjenigen des Serums nicht entsprechen und nimmt, die Löslichkeit des „Albumins“ in betracht ziehend, an, dass zwischen dem Serum und den Salzverbindungen des Globulins—Salzalbuminaten—eine grössere Ähnlichkeit vorhanden sei. Eine solche Lösung werde jedoch von einer geringen Menge Essigsäure gefällt, wobei der erhaltene Niederschlag, der eine Säureverbindung des Globulins vorstellen soll, in Salzen unlöslich sei. Kohlensäure fälle die salzhaltige Lösung nicht, infolgedessen Nasse gegen die gleichzeitige Mitwirkung des Salzes und des Alkali an der Auflösung des Globulins im Serum in Denis's Sinne nichts einwenden kann. Dabei sieht Nasse zwischen dem Globulin und dem „Albumin“ in dieser Hinsicht keinen Unterschied (89 p. 156—7).

Wenn man das Casein von dem „Albumin“ zu unterscheiden begann, so geschah es nur deshalb, weil die Milch beim Kochen keine Niederschläge ausscheidet, während Serum und Eiweiss unter diesen Umständen gefällt werden. Das oben Dargelegte erklärt jedoch, dass die Ungerinnbarkeit der Milch davon abhängt, dass das Casein in derselben durch Kali, Natron und Kalk in Lösung erhalten wird, worauf unter andern auch Scherer (98 p. 453) hinwies, der das Casein für unlöslich in Wasser hielt <sup>1)</sup>. So ist auch hier blosser Neutralisation ungenügend, da das Casein durch das sich bildende Salz gelöst bleibt, was dadurch bestätigt wird, dass in diesem Falle ein künstlich eingetragenes Salz das sich ausscheidende Casein in Lö-

<sup>1)</sup> Casein..... ist in der Milch an Alkalien im löslichen Zustande; für sich ist es in Wasser (Kali, Natron, Kalk) gebunden und durch diese unlöslich (98 p. 453).

sung erhält; Erwärmen solcher Lösungen bewirkte Fällung, wie auch in den Fällen, wenn es sich um Serum oder Eiweiss handelte. Diese Eigenschaft des Blutserums veranlasste einige Autoren, welche die Bedeutung dessen, dass das Serum bei der Neutralisation nicht gefällt wird, nicht erfassten, anzunehmen, dass das „lösliche Globulin (reines Serum) durch Essigsäure nicht gefällt werde, wie wir bei Lieberkühn (76 p. 292) sehen. Andererseits aber gewinne auch die Milch die Fähigkeit, zu gerinnen, wenn sie mit Salzen versetzt wird<sup>1)</sup>. Ausserdem findet Scherer, dass sowohl das durch Säuren ausgefällte als auch das beim Sauerwerden der Milch geronnene Casein eine ganz neutrale Asche liefert, was er dahin deutet, dass die Säure sich mit dem Alkali, welches das Casein früher gebunden hielt, verbindet (98 p. 453).

Schon seit dem XVIII Jahrhundert wiederholen alle Autoren nach einander, dass das Casein in der Milch auf Kosten der Basen gelöst sei (N.N. 68—74 p. 48); dasselbe wird auch in Bezug auf das Protein der tierischen Flüssigkeiten wiederholt, wobei der Satz in Joh. Müller's Arbeiten (87 p. 108) in folgender Weise ausgedrückt ist: „Das Albumin“ ist in den natürlich vorkommenden Flüssigkeiten mit dem Alkali zu dem sog. „Natronalbuminat“ verbunden.

Ausser dem, was wir schon in den einzelnen, ein für die vorliegende Frage reichhaltiges Material enthaltenden Kapiteln ausgeführt haben, wird auch schon das in diesem Kapitel Dargelegte genügen, um zu dem Ausspruche zu berechtigen, dass der Unterschied in den Reaktionen der verschiedenen proteinhaltigen Flüssigkeiten sich nicht auf die in denselben enthaltenen Proteine selbst, sondern auf die der Auflösung des Globulins in diesen Flüssigkeiten vorstehenden Bedingungen bezieht. In den meisten Fällen verwechselten die Autoren die Eigenschaften dieser Flüssigkeiten mit denjenigen der in denselben enthaltenen Proteinkörper, so dass eine Reaktion, die nur bei der Integrität der Flüssigkeit eine Bedeutung hatte, jeglichen Sinn verlor, sobald sie auf deren Niederschläge oder auf das Protein selbst bezogen wurde. Dadurch erklärt es sich, dass Lieberkühn einschneidend erklärt, dass Berzelius' Behauptung in Bezug auf die „Ungerinnbarkeit des Serumalbumins“ durch Essigsäure „falsch sei“, aber seinerseits behauptet, dass Essigsäure das „Albumin“ sogar in den geronnenen Zustand versetzt<sup>2)</sup>. Wer mit Berzelius' Arbeiten bekannt ist, wird das natürlich befremdlich finden, da Berzelius auch die von Denis aus salzhaltigem Serum (Globulin) erhaltenen Niederschläge für „geronnenes Albumin“ hielt (N.N. 48—60 p. 94—5). Dieses Misverständniss erklärt sich sehr einfach: Berzelius, der in dem erwähnten Falle Serum vor sich hatte, es aber im Einklang mit andern Autoren „Albumin“ nannte, fand, dass es bei der Neutralisation mit Essigsäure nicht gefällt werde, und hielt es für eine besondere Eigentümlichkeit des Albumins, durch Essigsäure nicht gefällt zu werden; Lieberkühn aber, der geléeartige Massen aus einem solchen Serum erhielt, fand, dass dieselben nach dem Waschen mit Wasser in Wasser unlöslich, in der Wärme gleichsam geronnen waren. In solchen Fällen meinte auch Berzelius, das Protein gehe in geronnenes Albumin über (4 p. 37—9). Somit erklärte sich die Unfällbarkeit des Proteins aus unverdünntem Serum durch Essigsäure, in Übereinstimmung mit vielen Autoren, durch die Leichtlös-

<sup>1)</sup> ...wird frische Milch mit einem Ueberschusse von Chlornatrium oder Salpeterlösung versetzt; kocht man aber jetzt dieselbe, so gerinnt die Flüssigkeit dickflockig, wie eine concentrirte neutrale Albuminlösung (98 p. 453).

<sup>2)</sup> Es pflegt als Eigenschaft des löslichen Eiweisses angegeben zu werden, dass Essigsäure

es nicht koagulirt. Wenn der Begriff, den Berzelius vom koagulirten Eiweiss aufstellt, festgehalten werden soll, so ist dies offenbar falsch: denn die Essigsäure macht das im Wasser lösliche Eiweiss ohne Anwendung jeder Wärme so unlöslich oder schwerlöslich, wie das Kochen (76 p. 292).

lichkeit des Neutralisationsniederschlags entweder in dem neugebildeten Salze oder in einem Überschuss der zum Neutralisieren benutzten, meist organischen Säure, da Salzzusatz das Serum auch in dieser Beziehung den andern Flüssigkeiten gleichstellte. Es wurde auch angenommen, dass, gleich den organischen Säuren, auch Phosphorsäure das Serum nicht fällt; Melsens fand jedoch, dass durch Zusatz von Salzen dasselbe auch von solchen Säuren ausgeschieden werden könne, welche es gewöhnlich nicht fallen (81 p. 247). Auch Panum findet, dass das Serum durch Salzzusatz nicht nur von Essigsäure <sup>1)</sup> gefällt werden könne, sondern dass bei einem gewissen Salzgehalt sämtliches Protein sich niederschlage (91 p. 425, 428). Andererseits war es seit Hewson's Zeit bekannt, dass, wenn Verdünnung mit Wasser einen Teil des Proteins im Serum der Gerinnungsfähigkeit beraubt und dasselbe somit der Milch—dem Casein—gleichstellt, derselbe Wasserzusatz den Prozentgehalt sowohl der schon vorhandenen Salze als auch der sich neubildenden des andern Teils des Proteins verringert, infolgedessen das Globulin schon nicht mehr in Lösung bleiben kann und sich ausscheidet. Wenn Denis, bei seinen Versuchen, diesen Niederschlag für Albumin ansah, so glaubte Panum, der das obenbeschriebene Verhalten der Essigsäure gegen das Serum als ein für das Albumin charakteristisches in Gestalt der Formel: „das Albumin ist in Essigsäure löslich“ <sup>2)</sup> ansah, dass bei der Einwirkung von Essigsäure auf das verdünnte Serum sich nicht das Albumin sondern ein andrer, besonderer Körper (90 p. 255) ausgeschieden hatte. Somit gab das mit Wasser versetzte Serum, welches einerseits, wie schon Hewson bemerkte hatte, der Milch ähnlich ist, wobei er als Eigentümlichkeit derselben deren Ungerinnbarkeit in der Wärme ansah (p. n. N.N: 68—74 p. 49), Panum, der die Fähigkeit derselben, von Essigsäure gefällt zu werden in betracht zog, die Veranlassung seinerseits auch dem aus dem Serum durch Essigsäure ausgeschiedenen Niederschlage die Eigenschaften des Caseins (N.N: 48—60 p. 107—9) zuzuerkennen. Um den löslichen Zustand seiner Niederschläge im Serum zu erklären, blieb Panum nichts andres übrig, als dieselben Agentien anzuwenden, die schon vor ihm von andern Autoren als die Löslichkeit des „Albumins“ in den natürlich vorkommenden Flüssigkeiten bedingenden anerkannt worden waren, nämlich Kali, Natron und Kalk <sup>3)</sup>. „Ein eben solches Verhalten des Albumins wird auch nach der Einwirkung von Alkalien beobachtet“, sagt, sich auf Lehmann berufend Panum; aber nur deshalb, weil es ihm schien, dass es auch noch eine wasserlösliche Modifikation gibt, unterscheidet er das Casein vom „Albumin“ „da ein solcher wasserlöslicher Zustand für ersteres unbekannt ist“ (91 p. 20). Das Seroglobulin mit dem Neutralisationsniederschlag aus mit einem Alkali behandeltem Serum vergleichend, findet Panum einen Unterschied hauptsächlich darin, dass das Seroglobulin in Essigsäure sich leichter löse als der Neutralisationsniederschlag der Alkaliverbindung der Proteine des Serums, nachdem das Serumcasein daraus entfernt ist (91 p. 26). Doch findet Panum, dass der Neutralisationsniederschlag auch von phosphorsaurem und kohlen-saurem Natron gelöst werde (ib. p. 165). Wenn der Autor das Seroglobulin dem Casein

1) Wurde Serum oder verdünnte und filtrirte Hühnerweisslösungen mit einer hinreichenden Menge Kochsalz oder irgend einem der anderen Mittelsalze versetzt, so war die salzreiche Eiweisslösung durch Essigsäure, Phosphorsäure, Weinsäure, Oxalsäure, Milchsäure u. s. w. fällbar geworden (90 p. 428).

2) Vom Albumin unterscheidet die besprochene Proteinverbindung sich schon wesentlich dadurch, dass Wasser und Essigsäure, Reagentien, die das

Albumin nicht zu coaguliren vermögen, dieselbe aus ihrer Auflösung fallen (90 p. 259).

3) Es ist jetzt, wie ich in meiner vorigen Abhandlung anführte eine ausgemachte Sache, dass das sogenannte Casein (Seroglobulin — p. n. 78) nur als coagulirte, in Wasser für sich unlösliche Proteinverbindung existirt, und dass das sogenannte lösliche Casein nichts anderes ist als eine lösliche Verbindung dieser (für sich unlöslichen) Stoffe mit Kali, Natron oder Kalk (91 p. 20).

auch gleichstellt, so darf nicht vergessen werden, dass er dies auf die ausgeschiedenen Körper bezieht (ib. p. 28 u. p. 156). Indem wir zu der anfänglichen Frage in bezug auf die Unfällbarkeit mit Wasser unverdünnten Serums durch Essigsäure wiederkehren, halten wir es für nötig zu sagen, dass Panum dieselbe Erklärung gab, welche Denis in Bezug auf die Lösungsbedingungen des „Albumins“ gegeben hatte. Panum's Erklärung besteht darin, dass das bei der Neutralisation sich neubildende Salz das Seroglobulin in Lösung erhalten, die Verminderung des Prozentgehalts des Salzes durch die Verdünnung mit Wasser aber die Ausscheidung des Seroglobulins bedingen soll; andererseits verhindere das Eintragen eines Salzes in einem gewissen Maasse die Fällung des Globulins bei der Neutralisation des unverdünnten Serums mit Essigsäure (91 p. 431). Dieselbe Erklärung finden wir auch bei Lehmann (72 p. 313).

Ferner entschuldigt sich Panum gleichsam im Namen der älteren Autoren für die Angriffe auf die Aussage Denis's, der eine Salz- (Salpeter) Fibrinlösung mit dem Blutserum für identisch erklärte. Dieselbe stellten eine Salpeter-Fibrinlösung dem Blutserum hauptsächlich deshalb nicht gleich, weil diese Lösung von Essigsäure gefällt werde, das Serum aber nicht. Doch falle, erklärt Panum noch, dieser Einwurf von selbst weg<sup>1)</sup>.

Lehmann hegt keinen Zweifel, dass das Protein in den tierischen Flüssigkeiten mit Alkalien verbunden ist, wobei er bei seinen Versuchen mit Hühnereiweiss in einigen Fällen 1,58 T. Natron auf 100 T. des trocknen äschenfreien Proteins fand; dabei unterscheidet sich ein solches Albumin von dem gewöhnlichen (Serum) nur dadurch, dass die natürlich vorkommende Flüssigkeit in Flocken niederfällt, während hier sich eine mehr oder weniger geléeartige Masse bildet (72 p. 313).—Morin erklärt die Ausscheidung des Caseins aus der Milch durch die Neutralisation des Alkali, welches mit dem Casein verbunden war (86 p. 425).

Im Jahre 1856 tritt Denis wieder als Verfechter der Lehre von der Identität der salz-alkalischen Lösungen mit dem Serum und dem Hühnereiweiss hervor. Eine salz-alkalische Ovoglobulinlösung (N. V. 48—60 p. 90) gebe die Reaktionen des Eiweisses, von der Gerinnungstemperatur, 70°—74°, desselben an beginnend<sup>2)</sup>. Ebenso verhalte sich auch eine alkalische Seroglobulinlösung sogar bei Zusatz von kohlen-sauren Alkalisalzen<sup>3)</sup>, wobei die erhaltene Lösung sich vom Serum nicht unterscheidet (20 p. 86—7); in erster Linie sei natürlich die Unfällbarkeit auch dieser Lösung wie des mit Essigsäure oder Phosphorsäure verdünnten Serums hervorzuheben (20 p. 87). Auch in Salzen aufgelöstes Casein schien nach dem Zusatz von etwas Ätzalkali oder Alkalicarbonat dasselbe Verhalten zu zeigen, obgleich Denis's Zweck war, eine Caseinlösung zu erhalten, welche zugleich ein Alkali und ein Salz enthielte und dabei einem in dieser Beziehung milchähnlichen Charakter besässe; zu diesem Zwecke musste Denis

<sup>1)</sup> Es ist bekannt, dass durch Salpeter oder ein anderes neutrales Alkalisalz gelöstes Fibrin durch Essigsäure gefällt wird, und dass dieses Verhalten als wesentlicher Unterschied der Lösung des Fibrins in Salzen von gewöhnlichem Eiweiss angeführt wird. Dieser Einwand gegen die von Denis aufgestellte Meinung, das Fibrin werde durch die Salze wieder in Eiweiss verhandelt, fällt allerdings jetzt weg (91 p. 429).

<sup>2)</sup> Comme j'ai pu, par une étude comparative, m'assurer que l'albumine soluble alcaline artificielle était identique avec le blanc d'oeuf, il suf-

fira d'exposer les réactions les plus importantes qu'il présente pour faire connaître cette albumine (20 p. 74).

<sup>3)</sup> Cette dissolution, avons-nous déjà vu, est de la sérine soluble neutre. Dès qu'on y ajoute un carbonate alcalin, elle devient de la sérine soluble alcaline. Celle-ci reproduit tellement le sérum du sang, que la même description convient à l'un et à l'autre de ces composés; je ferai donc seulement l'étude du sérum pour l'appliquer à tous deux (20 p. 85).

unzweifelhaft mehr Alkali zugeben, wenn auch nicht so viel, dass Fällung erfolgt wäre, wie in dem Falle, wenn salzhaltige Globulinlösungen mit konzentrierten Alkalien gefällt werden (20 p. 100). Gleichermassen gab auch das Fibrin nach der Auflösung in sehr verdünnten Alkalien oder Alkalicarbonaten nach dem Zusatz eines Salzes—oder auch umgekehrt nach der Versetzung einer salzhaltigen Lösung mit einem Alkali—mit dem Serum identische Flüssigkeiten (20 p. 108, 110, 111). Eine solche Lösung schied gleich dem Serum bei Wasserzusatz und Neutralisation mit Säuren einen Niederschlag aus, der dieselben Eigenschaften wie das in Salzen lösliche Globulin besass. Die Fibrinlösung wurde zudem beim Kochen nur zum Teil gefällt: der grössere Teil blieb im Serum gelöst zurück<sup>1)</sup>. Auch mit der Stromatasubstanz der roten Blutkörperchen erhielt Denis salz-alkalische Lösungen, die im allgemeinen den Charakter der natürlich vorkommenden proteinhaltigen Flüssigkeiten besaßen (20 p. 125). Andererseits ist auch mehr als einmal die Ansicht ausgesprochen worden, dass das „Albumin“ in den Flüssigkeiten nicht nur nicht gelöst ist, sondern sich daselbst in gequollenem Zustande befindet, wie z. B. das Gummi-Tragacanth in Wasser, wie Hoppe-Seyler sich ausdrückt (54 p. 265). Trotzdem gibt dieser Autor (ib. p. 245) zwischen dem Alkali und dem „Albumin“ in den natürlichen vorkommenden Flüssigkeiten das Vorhandensein eines so festen Bandes zu, dass durch Dialyse das Alkali nicht abgetrennt werden könne.

Gerhardt (34 p. 477) tritt dieser Ansicht, die durch Denis's Arbeiten eine feste Grundlage gewann, bei. Gerhardt hält die proteinhaltigen Flüssigkeiten (Serum und Eiweiss) für Lösungen einer Natriumverbindung des Globulins („Albumins“), mit Kochsalz und Calciumphosphat vermengt, infolgedessen diese Flüssigkeiten alkalisch reagiren und nach dem Trocknen bei niedriger Temperatur wieder löslich sind (34 p. 477—8). Dabei nimmt er an, dass einen wesentlichen Teil der tierischen Flüssigkeiten ein und dasselbe Protein bildet, wobei der Unterschied in den Reaktionen sich durch die mineralischen Bestandteile, die mit dem Protein verbunden sind, erklären lasse<sup>2)</sup>.

Die Lehre von der Identität der Alkaliverbindungen des Proteins mit dem Casein der Milch nimmt in der Geschichte des Entwicklungsganges der künstlichen Darstellung proteinhaltiger Flüssigkeiten aus dem Globulin eine gesonderte Stellung ein. Hoppe-Seyler glaubt einen Unterschied zwischen denselben darin sehen zu dürfen, dass die Milch häufig, wenn auch nur schwachsaure, doch sauer reagiert, wobei das Alkalialbuminat nicht in Lösung bleiben könnte<sup>3)</sup> (55 p. 417—18; 56 p. 3; u. N. N. 68—74 p. 73).

Indessen hatte Lehmann schon im Jahre 1850 die Meinung ausgesagt, dass in solchen Fällen die saure Reaktion der Milch von den Phosphaten und am mei-

1) Mais la fibrine soluble alcaline ne précipite pas par l'eau, et son degré de coagulation est plus élevé. Au lieu de 65°, il atteint 72° ou 74°. Étendue d'eau et additionnée d'un acide affaibli, elle fournit un précipité de fibrine non altérée. Chauffée, elle abandonne à l'eau bouillante beaucoup de sa substance qui y reste en dissolution, partie en fibrine altérée, partie en combinaison alcaline (20 p. 114).

2) ...tous ces faits autorisent à penser que les matières albuminoïdes possèdent non-seulement la même constitution chimique, et qu'elles ne diffèrent que par leur état physique ou par la nature des substances minérales avec lesquel-

les elles sont combinées dans les parties organisées (33 p. 433).

3) Es ist kein seltener Fall, wie Schlossberger's Untersuchungen gezeigt haben, dass die ganz frisch von gesunden Kühen gemolkene Milch schwach, aber doch deutlich sauer reagiert, und bei der von mir untersuchten Milch war dies fast ohne Ausnahme der Fall; unmöglich konnte nun in einer solchen sauren Milch, deren freie Säure keine Kohlensäure ist, Alkalialbuminat existiren, und es müsste für diese Fälle angenommen werden, dass die freie Säure selbst das Albumin in Lösung erhalte, aber auch dies ist nicht möglich (35—4 p. 417-8).

sten vom Calciumphosphat abhängen konnte<sup>1)</sup> Dabei ist diese Erklärung keine zufällige sondern stimmt mit seiner Ansicht über das Casein vollkommen überein. Lehmann fand, dass das ausgeschiedene Casein die Fähigkeit besitzt, sich in Phosphaten zu lösen, wobei die Lösung garnicht alkalisch reagirt und überdies in der Wärme nicht gerinnt<sup>2)</sup>. Diesen letzteren Umstand übersahen alle Autoren, welche die saure Reaktion der Milch auf Grund der Lehre vom Casein als einem Alkalialbuminat der Milch zu erklären suchten. So scheint z. B. Hoppe-Seyler (55 p. 417—8) weder mit dieser noch mit jener Ansicht Lehmann's bekannt gewesen zu sein. Zusammen genommen, vervollständigen diese beiden von Lehmann aufgestellten Sätze einander und erklären einerseits zur genüge das Verhalten des Caseins in einer sauren Lösung. Rollett richtete seine Aufmerksamkeit auf einen Punkt von Lehmann's Ansicht, nämlich auf die Erklärung der sauren Reaktion durch die Gegenwart von Phosphaten und legte damit den Grund zu einer Reihe von Arbeiten, welche die Erklärung des löslichen Zustands des Caseins oder einer Alkaliverbindung in einer sauren Flüssigkeit zum Gegenstand hatten. Rollett bereitete (95 p. 547) eine alkalische Verbindung—ein Kalialbuminat—nach Lieberkühn und setzte zu der Lösung derselben eine mehr oder weniger grosse Menge gewöhnlichen phosphorsäuren Kali, oder Natrons ( $\text{PO}_3\text{2KO,HO}$ , oder  $\text{PO}_3\text{2NaO,HO}$ ) hinzu. Diese Gemenge zeigten folgende Reaktionen: Essigsäure, Milchsäure, Phosphorsäure, verdünnte Salzäure und Salpetersäure erzeugten Niederschläge, die in einem Überschuss der zur Fällung benutzten Säure löslich waren; ganz anders verhielt sich die Sache, wenn die Säure vorsichtig zugesetzt wurde: noch ehe die geringste Trübung entstand, war die Reaktion der Flüssigkeit schon längst eine saure<sup>3)</sup>. Bei weiterem, aber noch immer vorsichtigem Zusetzen von Säure trat die saure Reaktion auf Lakmuspapier stärker hervor; darauf zeigte sich schwache Opalescenz, zuletzt fiel das Protein aus, welches sich in einem Überschuss der Säure leicht auflöste. Noch mehr: wenn die Flüssigkeit schon angefangen hatte sauer zu reagiren, so erzeugte gelbes Blutlaugensalz keine Fällung, wurde dieses aber erst dann eingetragen, wenn der durch Säure hervorgebrachte Niederschlag sich wieder aufgelöst hatte, so erfolgte Fällung (95 p. 548). Bei der Ansäuerung bis zum Erscheinen von Opalescenz bleibt das Gemenge bei Zimmertemperatur unverändert; aber schon bei gelindem Erwärmen, bis  $35^\circ$ — $40^\circ$  trübte es sich, und die Trübung wurde mit der Temperaturerhöhung immer stärker,

1) Es bleibt aber noch zu ermitteln übrig, ob in solchen Fällen die saure Reaction immer von Milchsäure oder vielleicht auch von sauren phosphorsäuren Salzen oder wohl gar von Buttersäure herrühre..... die saure Reaction rührt hier höchst wahrscheinlicher Weise von sauren phosphorsäuren Salzen und insbesondere von saurem phosphorsäurem Kalk her (71 p. 332). Dasselbe wiederholt sich auch 1853 r. (73 p. 294), während Soxhlet's Berufung (108 p. 1) auf Lehmann's Lehrbuch vom J. 1853 (74 p. 60 und 242 verspätet erscheint).

2) ..... es löst sich nämlich nur sehr wenig in reinem Wasser, etwas besser in heissem, nicht in Alkohol; es färbt blaues Lackmus roth, ohne diese Eigenschaft dem Wasser zu ertheilen, bildet aber mit kohlen-säuren und phosphorsäurem Natron Auflösungen, welche durchaus keine alkalische Reaction mehr zeigen; es löst sich in Auf-

lösungen von Salmiak, Salpeter und anderen neutralen Alkalisalzen sehr leicht auf, gerinnt aber nicht beim Kochen, wie Eiweiss, sondern bildet beim Abdampfen die oben erwähnte Käsestoffhaut (70 p. 383; auch 1853 r. 72 p. 348).

3) Prüft man, während man von Zeit zu Zeit einen Tropfen verdünnter Säure mit dem Glassstabe zufließen lässt, die Reaction jenes Gemenges mit gut vorbereitetem blauem Lackmuspapier, so sieht man, dass lange, bevor auch nur die Spur einer bleibenden Trübung eingetreten ist, die Reaction eine saure wird, dass diese bei erneuertem Säurezusatz fortwährend zunimmt, bis endlich zuerst ein schwaches Opalesiren erscheint, welches bei weiterer Ansäuerung allmählich stärker wird und zuletzt zu einer bleibenden Trübung und zur Ausfällung der in der Flüssigkeit enthaltenen Eiweisskörper führt (95 p. 548).

obgleich auch bei 100° noch keine vollständige Fällung erfolgte <sup>1)</sup>. Weitere Fällung trat erst bei erneuertem Säurezusatz ein (ib. p. 549). Bei den verschiedenen Kombinationen in dem Gemenge bleibt eins beständig: die Gegenwart von Alkaliphosphaten in der Alkalialbuminatlösung (nach Lieberkühn) tritt der Fällung des Proteins durch Säuren bis zu einem gewissen Grade hinderlich entgegen, infolgedessen eine Lösung erhalten wurde, die auf Lakmus sauer reagirte u. s. w. <sup>2)</sup> Rollett findet in seinen aus Alkalialbuminat- und Natriumphosphatlösungen bestehenden Gemengen im allgemeinen alle von Lieberkühn und Hoppe-Seyler <sup>3)</sup> beschriebenen Eigenschaften der Milch. Letztgenanntem Autor blieb natürlich nichts anderes übrig, als Rollett's Angaben beizustimmen, was er auch tat, indem er den Neutralisationsniederschlag der Alkaliverbindung und das Casein in dieser Beziehung für identisch erklärte und dabei das Verhältniss der Lösungen der Alkaliverbindungen zu den Phosphaten folgendermaassen ausdrückte: bei Abwesenheit von Alkaliphosphaten ruft die Neutralisation der alkalischen Lösungen der genannten Proteine Fällung hervor, welche bei Gegenwart von Alkaliphosphaten nicht stattfindet; in diesem Falle bedarf es zur Fällung eines Säureüberschusses (1864. 57 p. 427; 1865. 58, p. 193 u. a. analoge Schriften des Autors); dabei fügt Hoppe-Seyler hinzu, dass bei Gegenwart von Phosphaten das Casein auch durch Kohlensäure nicht gefällt werde <sup>4)</sup>. Rollett's Deutung stimmt auch Kühne (69 p. 565—6) bei. Eine weitere Entwicklung erhielt Rollett's Idee in den Arbeiten Soxhlet's (108 p. 1), welcher nicht nur das Verhalten der Alkaliverbindungen des Proteins bei Gegenwart saurer Salze bestätigte, sondern die darauf bezügliche Lehre allseitig noch weiter ausführte. Soxhlet stellte quantitative Bestimmungen mit gewöhnlichem Natriumsulfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) saurem phosphorsaurem Kali ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) und neutralem schwefelsaurem Natron ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) in  $\frac{1}{4}$  Normallösung an. Mit eben demselben Prozentgehalt wurden Schwefelsäure, Essigsäure und Phosphorsäure bereitet. Soxhlet fand bei seinen Versuchen, dass Lieberkühn's Alkalialbuminat nur in dem Falle von Säuren gefällt wird, wenn das neutrale Phosphat durch Säurezusatz zu einem sauren geworden ist (108 p. 4). Er fand ferner, dass das saure Phosphat das Alkalialbuminat fällt, die Fällung aber nicht von der Menge des sauren, sondern von derjenigen des neutralen Phosphates abhängt (ib. p. 6). Im Einklang damit beobachtete Soxhlet, dass verhältnissmässig geringe Mengen sauren Natriumphosphats auch allein, Alkalialbumi-

1) .....so wie man sie erwärmt, erfolgt bei verhältnissmässig niedriger Temperatur, 35 oder 40 Grad. C., eine bedeutende Zunahme der Trübung, und diese steigert sich bei weiterem Erwärmen fortwährend, ohne dass es auch, wenn man bis auf 100° C. erhitzt, zu einer vollständigen Auflösung der Eiweisskörper käme (ib. p. 549).

2) Eine wesentliche Erscheinung bleibt immer dieselbe, die Anwesenheit der phosphorsauren Alkalien in einer Kalialbuminatlösung verhindert bis zu einem gewissen Grade die Fällung der in dem Albuminat vorhandenen Eiweisskörper durch Säuren und man erhält Lackmus röthende Kalialbuminatlösung, welche erst auf weiteren Säurezusatz den bekannten im Säureüberschuss wieder löslichen Niederschlag absetzen (95 p. 550).

3) An einer mit phosphorsauren Alkalien gemengten Kalialbuminatlösung lässt sich fast alles wahrnehmen, was Lieberkühn mit F. Hoppe als dem Casein in der Milch eigenthümliches, beschrieben (95 p. 552).

4) Das neutrale Lieberkühn'sche Alkalialbuminat wird daher durch Kohlensäure vollständig gefällt, bei Gegenwart von viel Alkali aber unvollständig oder gar nicht. Bei Gegenwart von phosphorsauren Alkali wird das Albuminat und Casein durch Kohlensäure nicht gefällt und mit Essigsäure kann man die Lösung derselben gut ansäuern, ohne dass selbst beim Kochen ein Niederschlag entsteht, fügt man jedoch ein wenig mehr Essigsäure hinzu, so erfolgt Fällung zunächst beim Kochen allein, nach noch etwas gesteigertem Zusatz der Säure Fällung beim Einleiten von Kohlensäure bei gewöhnlicher Temperatur und nun ist der geringste weitere Zusatz von Essigsäure hinreichend, um völlige Ausfällung des Caseins oder Albuminats zu bewirken. Milchsäure und Phosphorsäure verhalten sich wie Essigsäure, und es erklärt sich hieraus das Verhalten der Milch im Beginne des Sauerwerdens derselben, ehe sie spontan geronnen ist (58 p. 190).

natlösungen ohne Beimengungen fällen; zur Fällung bei Gegenwart von neutralem Natriumphosphat seien grössere Mengen sauren Natriumphosphats erforderlich (ib. p. 7); dennoch wirke eine relativ unbedeutende Menge des neutralen Salzes der Fällung durch das saure entgegen. Das basische Phosphat verhalte sich ebenso wie das neutrale (108 p. 13—4). Soxhlet findet in der Fällbarkeit der Milch und eines Alkalialbuminats keinen Unterschied (108 p. 40).

Ausser den erwähnten Angaben über das Verhalten der Phosphate gibt es auch noch sehr interessante über die Wirkung der Kohlensäure auf alkalische Proteidlösungen. So beobachtete Schmidt (101 p. 454), obgleich er bemerkt hatte, dass die Alkalicarbonate sich ebenso wie die Alkalien verhalten, und Wasser keine Ausscheidung von Niederschlägen aus derartigen Seroglobulinlösungen bewirkt, partielle Ausfällung des Globulins beim Einleiten von Kohlensäuregas in dessen kohlen-saure Alkalilösungen. Im Hinblick darauf, dass das Globulin sich auch in den doppeltkohlen-sauren Alkalien auflösen kann, wenn auch in geringerem Maasse als in den kohlen-sauren, nimmt Schmidt an, dass ein Teil desselben bei dem Einleiten der Kohlensäure und der Bildung der sauren Salzes sich ausscheidet, und dass es zur weiteren Ausscheidung durch Kohlensäure einer neuen Verdünnung mit Wasser bedürfe, um das Lösungsvermögen der früheren konzentrierteren und folglich energischer auflösenden Natriumcarbonatlösung herabzusetzen (101 p. 456 und 439). Essigsäure scheidet jedoch das Globulin auch aus unverdünnten Lösungen in Neutralsalzlösungen aus (101 p. 439). In der Annahme, dass das Globulin in den natürlich vorkommenden Flüssigkeiten in Form von Alkalialbuminaten vorhanden ist, findet Schmidt, dass die Ausscheidung des Globulins durch Kohlensäure sich leicht durch die Bildung einer Verbindung des Alkali mit der eingeleiteten Kohlensäure erklären lasse <sup>1)</sup>. Doch hält Schmidt selbst, die Erklärung für ungenügend, da das Globulin auch aus Lösungen in Neutralsalzen sowohl von Kohlensäure als von sehr verdünnter Essigsäure gefällt wird. In diesen Fällen lasse sich die Fällung nicht mehr durch die Entziehung des Alkali erklären, und Schmidt sieht hier als Ursache derselben die Unlöslichkeit der sich bildenden Verbindung des Globulins mit der Säure an <sup>2)</sup>. Doch hält auch diese Erklärung nicht stand, wie Schmidt selbst gesteht: man beobachtet Erscheinungen, die schon ausser dem Bereiche der chemischen Reaktion liegen und den physikalischen Erscheinungen angehören. So z. B. scheidet eine alkalische Globulinlösung, wenn sie mit einem Glasstäbchen leicht geklopft wird, Niederschläge aus, deren Bildung sich hier nicht mehr durch den Einfluss der atmosphärischen Kohlensäure erklären lässt! Wenn hier auch rein mechanische Einflüsse, deren wir schon sowohl in der Ge-

<sup>1)</sup> Wenn man sich das Globulin in seinen natürlichen Lösungen, wofür allerdings viele Gründe sprechen, als ein Alkalialbuminat denkt, so liesse sich die Fällung desselben durch verdünnte Säuren und durch Kohlensäure einfach auf eine Alkalientziehung beziehen (101 p. 456).

<sup>2)</sup> Aber es fragt sich dann, wie es zu erklären sei, dass dieselbe auch aus ihrer Lösung in doppeltkohlen-sauren Alkalien und in Mittelsalzen durch Kohlensäure und verdünnte Essigsäure gefällt wird; auch die geringen Mengen derselben, die sich in Wasser lösen, werden auf diese Weise ausgeschieden. In diesen Fällen kann man sich nicht auf eine Alkalientziehung berufen und man muss an die Möglichkeit denken, dass eine Ver-

bindung der Säuren mit dem Globulin zu einem in der Mutterflüssigkeit unlöslichen Körper stattfindet. Dafür spricht auch der Umstand, dass das Globulin aus der Lösung in doppeltkohlen-sauren Alkalien und in Mittelsalzen um so leichter und vollständiger ausgeschieden wird, je mehr man dieselbe verdünnt. Dieses gilt namentlich von der Kohlensäure. Wasserzusatz zum Blutserum hat nun zunächst den Effect, dass die Menge der unabhängig von den Alkalien absorbirten Kohlensäure vermehrt wird, und auf diesen Theil des von der Flüssigkeit aufgenommenen Gases scheint es bei der Fällung des Globuline anzukommen (101 p. 456).

schichte des Albumins als auch bei den Fällungserscheinungen durch Salze, wenn die Flüssigkeiten mit letzteren unter Umschütteln gesättigt wurden (AN 48—60 p. 147), zugegeben werden kann, so darf auch eine chemische Verbindung des Globulins mit dem Alkali in den natürlich vorkommenden Flüssigkeiten in Gestalt eines Alkalialbuminats nicht abgeleugnet werden. Zu gunsten eines solchen Zustands des Globulins in diesen Flüssigkeiten zeugen Schmidt's Beobachtungen, nach denen dieselben das Globulin nicht nur an ein Alkali gebunden enthalten, sondern auch dafür, dass dieses keineswegs so rasch abgetreten wird, wie man im Hinblick auf die energische Wirkung der anorganischen Säuren erwarten sollte, namentlich wenn man diese mit einem so inerten Körper, wie es das Protein ist, vergleicht. So setzte z. B. Schmidt zu einem Gemenge aus Hydroceleflüssigkeit und sehr wenig Blut verdünnte Essigsäure zu. Nach einiger Zeit reagirte die Flüssigkeit wieder alkalisch. Dasselbe beobachtete er an Ochsenblutplasma (101 p. 546). Pferdeblutplasma mit  $\frac{1}{10}$  Normalschwefelsäure neutralisirend, musste Schmidt in einem Fall 0,136 gm.  $\text{SO}_3$  bis zu schwachsaurer Reaktion zugeben, nach 3 Tagen war die Reaktion wieder eine schwachalkalische geworden und waren wieder 0,00028 gm.  $\text{SO}_3$  erforderlich (101 p. 547), wobei die Neutralisation von Ausscheidung von Niederschlägen aus den Versuchsflüssigkeiten begleitet wurde. In Übereinstimmung mit diesen Beobachtungen scheidet bei längerer Durchleitung von Kohlensäure auch unverdünntes Serum einen Niederschlag nicht sogleich aus, sondern es erfordere 24—36 Stunden, bis die Fällung erfolgt (ib. p. 460), was sich wiederum durch die Hartnäckigkeit erklären lässt, mit welcher das Globulin die Alkalien festhält. Weitere Beobachtungen desselben Autors berechtigen uns zu der Aussage, dass Wärme die Substitution des Proteins in dessen Verbindungen mit den Alkalien durch Kohlensäure befördert. So fand Schmidt, dass die Fällungstemperatur eines wässrigen Extrakts aus einer zerriebenen Linse in drei Fällen =  $79^\circ$ ,  $85^\circ$  und  $90^\circ$  war. Obgleich der Unterschied in der Gerinnungstemperatur sich durch die Verdünnung mit Wasser erklären dürfte, findet Schmidt dennoch, dass dieser Unterschied auch einen andern Grund haben könnte und zwar folgenden: bei der Behandlung der zwei letzten Lösungen mit einem Kohlensäurestrom entstand in denselben Trübung bei  $35^\circ$  und  $33^\circ$ , und beide gerannen anstatt bei der obigen Temperatur schon bei  $55^\circ$ , während Blutserum, welches mittels der Luftpumpe von den Gasen befreit worden war, erst bei  $78^\circ$  und auch dann nur eine geléeartige Masse ausschied; beim Einleiten von Kohlensäure erfolgte Fällung schon bei  $66^\circ$ ! Es erwies sich dabei, dass Kohlensäure hier ebenso wie sehr geringe Quantitäten Essig- oder Salzsäure beim Kochen sowohl auf ein wässriges Linsenextrakt, auf Serum als auch auf Eiweiss wirkte. Zugleich trat Fällung beim Erwärmen um so rascher und in um so kompakterer Form ein, je stärker die Flüssigkeit vor dem Einleiten der Kohlensäure verdünnt worden war (101 p. 442) <sup>1)</sup>.

1) In drei Versuchen mit Linsensubstanzlösungen trat die Gerinnung das eine Mal bei  $90^\circ$  ein, das zweite Mal, nachdem bei  $70^\circ$  sich die erste Trübung eingestellt hatte, bei  $85^\circ$ , das dritte Mal begann die Trübung schon bei  $53^\circ$ , während die Gerinnung bei  $79^\circ$  vollkommen beendet war. Diese Unterschiede hingen wohl nur vom verschiedenen Konzentrationsgrade der mit beliebigen Mengen Wasser bereiteten Lösungen ab, wenigstens steigt die Gerinnungstemperatur des Blutserums mit dem Grade der Verdünnung; bei Zusatz von 5 Volum Wasser gerann Rinderblutserum beim Sieden gar

nicht mehr. Indess bedarf durchschnittlich eine Linsenlösung doch immer einer stärkeren Hitze, um zu coaguliren, als Blutserum; ich vermuthe, dass diese Differenz auf dem Kohlensäuregehalt des letzteren beruht. Ich behandelte die zu den zwei letzten der so eben angeführte Versuche benutzten Linsenlösungen mit Kohlensäure, filtrirte das gefällte Globulin ab und erhitze die Filtrate; jetzt trübten sie sich schon bei  $35^\circ$  resp.  $33^\circ$  und gerannen beide bei ca.  $55^\circ$  und zwar flockig; dagegen gerann evacuirtes Blutserum erst bei  $78^\circ$  gallertartig, nach der Sättigung mit Kohlen-

Andererseits tritt aber, Schmidt's Beobachtungen nach, sehr starke Verdünnung als ungünstiges Moment für die Fällung des Globulins auf: dieses wird durch die Kohlensäure nicht mehr ausgeschieden, sondern anscheinlich in Lösung erhalten, da Schmidt beobachtete, dass nach lange andauernder Einwirkung von Kohlensäure das Filtrat einen Niederschlag ausschied. Im verein mit dem oben Dargelegten zeugt eben dieser Umstand dafür, dass es längerer Zeit bedarf, ehe die Wirkung der Kohlensäure sich geltend machen kann, infolgedessen der Niederschlag sich später als gewöhnlich ausscheidet. Wir stossen hier gleichsam auf einen Widerspruch in bezug auf das, was schon über die Fällung des Globulins bekannt war, nämlich beobachten eine starke Verdünnung als günstiges Moment für die Erhaltung des Globulins in Lösung. Man fragt sich unwillkürlich, ob dieses sich hier nicht in einem dem wasserlöslichen nahen Zustande befindet (N. 93—100 p. 349—50), da die Bedingungen, dasselbe in Form von Hydroglobin zu erhalten, am günstigsten wären, wenn man nur mit Gewissheit sagen könnte, dass der Einfluss des mit dem Globulin verbundenen Alkali hier ausgeschlossen ist, um so mehr, als der aus der oben erwähnten Flüssigkeit, obgleich mit Schwierigkeit ausgeschiedene Niederschlag, Schmidt's Aussage nach, in Wasser, welches Spuren eines Alkali enthält<sup>1)</sup>, löslich ist; dies ist vollkommen begreiflich, da derselbe vor der Ausscheidung durch eine sehr unbedeutende Menge eines starken oder durch eine grosse Quantität eines schwachen Lösungsmittels in Lösung erhalten werden musste. Bei äusserst starker Verdünnung der proteinhaltigen Flüssigkeiten mit Wasser ist es nur dieses, nebst den Spuren von Alkalien, welches bei dem heutigen Stande unsrer Kenntnisse unter den gegebenen Umständen als Lösungsmittel des Globulins angesehen werden kann. In der Tat müssen die Globulinniederschläge sich im allgemeinen unter denselben Bedingungen auflösen, unter denen das Globulin sich vor der Ausscheidung befand. Dadurch erklärt es sich, dass zur Auflösung desselben unter den oben beschriebenen Umständen, wenn es sich so zu sagen dem Hydroglobin nähert, selbstverständlich Wasser, welches bloss Spuren eines Alkali enthält, genügt. Unser Satz scheint auch von einer andern Seite her in Schmidt's Arbeiten eine Bestätigung zu finden, darin nämlich, dass frischgefälltes Globulin in Wasser, wenn auch nur unbedeutend, löslich ist<sup>2)</sup>. Dass wir es hier nicht mit einer Erscheinung von Auflösung des Globulins in Wasser und nicht mit Hydroglobin zu tun haben, beweist die sehr unbedeutende Löslichkeit des Niederschlags in Wasser hauptsächlich aber folgende Beobachtung von Schmidt. Eine Lösung von Seroglobin in einer sehr schwachen Alkalilösung wird von Kohlensäure gefällt; doch löst sich der Niederschlag beim Einleiten von Sauer-

säure bei 66° klumpig. Dabei stellte sich heraus, dass die Kohlensäure ganz wie kleine Mengen Essig- oder Salzsäure in der Hitze eine flockige Gerinnung bedingt, sowohl in verdünntem Blutserum als in dünner Linsensubstanz—und Hühner-eiweisslösungen; die Gerinnungstemperatur liegt um so niedriger, und die Flocken sind um so besser abfiltrieren, je mehr man die Flüssigkeiten vor dem Zuleiten der Kohlensäure und vor dem Erhitzen verdünnt hat (101 p. 442-443).

<sup>1)</sup> Die trübende Substanz der fibrinösen Flüssigkeiten löste sich in Wasser, dem eine Spur Alkali zugesetzt worden. . . . (101 p. 540).

<sup>2)</sup> Wasser löst nur Spuren derselben auf. Bei wiederholtem Auswaschen der aus ihrer sauren oder alkalischen Lösung durch Neutralisieren derselben gefällten und auf einem Filtrum gesammelten Sub-

stanz findet man, dass die durch mitfortgerisene Substanztheilchen stets trüb erscheinenden Waschflüssigkeiten sich beim Durchleiten von Kohlensäure noch stärker trüben, somit einen Theil der Substanz in Lösung besitzen. Besser noch kann man sich davon überzeugen, wenn man die trüben Filtrate vor der Behandlung mit Kohlensäure erst möglichst klärt, indem man sie noch einmal durch mehrfaches Papier filtrirt.—Aus einer solchen neutralen wässrigen Lösung scheidet sich die Substanz nach einigen Stunden spontan wieder aus, und zwar gleichfalls in feinkörniger Gestalt, während diese Ausscheidung in der schwach sauren oder alkalischen Lösung bei gewöhnlicher Temperatur meist erst nach 5—10 Tagen eintritt, in einer Temperatur von 25—28° aber schon nach 2—4 Tagen (101 p. 438).

stoff oder atmosphärischer Luft in derselben Mutterlauge auf <sup>1)</sup>. Vergleicht man diese Angabe mit den von Schmidt früher gegebenen Tatsachen über den Einfluss der Kohlensäure auf die Gerinnungstemperatur der proteinhaltigen Flüssigkeiten, so erkennt man klar, dass im erwähnten Falle das Globulin von der Kohlensäure ausgeschieden wird; wird aber diese ausgepumpt oder, wie im letzten Falle, durch Gase oder selbst durch Äther verdrängt, so löst sich das Globulin auf, da durch die Entfernung der Kohlensäure das Lösungsvermögen der Mutterlauge wieder zu der Kraft anwächst, welche das Globulin vor dem Zuleiten der Kohlensäure in Lösung erhalten hatte. Bei sorgfältigem Auswaschen des „Paraglobulinniederschlags“ kann auch Sauerstoff, wie Brücke gezeigt (10 p. 882), den Niederschlag nicht mehr auflösen helfen. Unter denselben Bedingungen fand Heynsius (50 p. 15) einen Alkalialbuminatniederschlag nicht löslich. Die zahlreichen Tatsachen über den Einfluss der Kohlensäure, die wir in dem historischen Teil darlegten, stimmen mit dem beschriebenen Verhalten derselben vollständig überein (N.N. 93—100 p. 356).

Auch Schmidt scheint die Auflösung des durch Kohlensäure ausgeschiedenen Globulins durch die Entfernung dieser aus der Mutterlauge erklären zu wollen <sup>2)</sup>. Eine nähere Untersuchung dieser Bedingnisse zeigt, dass in konzentrierteren Globulinlösungen die Auflösung nach der Entfernung der Kohlensäure leichter von statten geht, wobei die Lösung ihre frühere Eigenschaft, in der Wärme nicht zu gerinnen, wiedergewinnt <sup>3)</sup>. Dies konnte Schmidt in bezug auf die durch Essigsäure erhaltenen Niederschläge nicht sagen; doch auch hier beobachtete er, wenn auch nur in Ausnahmefällen, Auflösung des Globulins in der Mutterlauge beim Zuleiten von Sauerstoff (101 p. 457). In der Folge fand Schmidt jedoch (102 p. 432) dass der durch Kohlensäure frisch ausgeschiedene schneeweiße „Paraglobulinniederschlag“, sogleich abfiltrirt und zur Verhütung des Austrocknens auf dem Filter durch einen Deckel geschützt, nach 2 Tagen ein durchsichtiges, syrupähnliches Aussehen bekommt, wonach er sich in destillirtem Wasser vollständig löst. Diese wässrige Lösung gerinnt beim Kochen nicht, wird aber sowohl durch Kohlensäure als durch Essigsäure ausgeschieden. Bei der Fällung mit Kohlensäure entsteht aufs neue ein Niederschlag von demselben Charakter <sup>4)</sup>. Es unterliegt kaum einen Zweifel,

<sup>1)</sup> Aus einer solchen wässrigen, schwach alkalischen Lösung wird die fibrinoplastische Substanz durch Kohlensäure gefällt, beim Zuleiten von Sauerstoff oder von atmosphärischer Luft löst sie sich wieder auf; sie scheidet sich ferner aus beim Neutralisiren dieser Lösung durch höchst verdünnte Säuren (101 p. 437).

<sup>2)</sup> Wenn die durch Kohlensäure in Globulinlösungen bewirkte Trübung beim Durchleiten von Sauerstoff wieder schwindet, so kann das aus einer Verdrängung eines Theils der Säure aus dem Bicarbonat erklärt werden (101 p. 457).

<sup>3)</sup> Der Sauerstoff verhält sich also hierin der Kohlensäure gerade entgegengesetzt, die ihre Wirkung um so leichter ausübt, je dünner die Flüssigkeit ist. Aus einer solchen Sauerstofflösung wurde die Substanz durch Erhitzen nicht gefällt, obgleich sich essigsäures Natron in der Flüssigkeit befand, durch dessen Gegenwart in alkalischen Lösungen des Globulins immer eine Fällung in der Hitze bedingt wird (101 p. 457).

<sup>4)</sup> Lässt man die frisch gefällte und abfiltrirte fibrinoplastische Substanz, welche ein schneeweißes breiiges Ansehen hat, ein Paar Tage lose

bedeckt (um das Eintrocknen zu verhüten) auf dem Filtrum liegen, so macht sie eine eigenthümliche Umwandlung durch. Sie verwandelt sich in eine durchscheinende, schwachgelbliche, klebrige, syrupöse Masse, welche in destillirtem Wasser ohne jeden Zusatz leicht löslich ist. Bei dieser Umwandlung büsst sie, soweit ich gesehen, keine einzige ihrer früheren Eigenschaften ein: die Lösung in destillirtem Wasser wirkt ungeschwächt fibrinoplastisch, durch Kohlensäure und verdünnte Essigsäure wird die Substanz gefällt, der Niederschlag ist in verdünnten Alkalien, im Ueberschuss der Säure und in Kochsalz löslich; die rein wässrige Lösung dieser umgewandelten Substanz bleibt beim Sieden klar, die durch Kohlensäure oder Essigsäure aus der gekochten Lösung gefällte Substanz ist unlöslich in neutralen Alkalien. Sammelt man die aus der Lösung in destillirtem Wasser durch Säure gefällte Substanz auf einem Filtrum, so erscheint sie wieder schneeweiß und breiig, ist wieder unlöslich in Wasser und verändert sich bei längerem Stehen nochmals in der angegebenen Weise u. s. f. (102 p. 432).

dass das Globulin in diesem Falle sich mit einem Teil des Alkali, welches es in Lösung gehalten hatte, oder mit welchem es verbunden gewesen war, ausgeschieden hatte. Wie unsere eigenen Untersuchungen gezeigt, hat die Asche in diesem Fall eine stark-alkalische Reaktion, infolgedessen dieses Präparat nach dem Abtreiben der Kohlensäure, welches durch Auspumpen beschleunigt werden kann, wasserlöslich ist. Dies soll jedoch Schmidt's Beobachtungen über die schwache Wasserlöslichkeit des Globulins nicht erklären (101 p. 536): beim Auswaschen mit kohlen-säurehaltigem Wasser löst sich das Präparat nicht; enthält aber das Waschwasser ein andres neutrales Gas, oder ist es durch Kochen ganz von Gasen befreit, namentlich wenn das Waschen, wie in Scherer's Fall, nicht sehr rasch vor sich geht (N.N. 93—100 p. 359), so findet auch in diesem Falle, wenn nicht vollständige, so doch teilweise Auflösung des Globulins auf kosten des in demselben enthaltenen Alkali statt. In dieser Beziehung sind sowohl von Schmidt selbst (N.N. 48—60 p. 122) als auch von andern Forschern, z. B. Kühne (N.N. 48—60 p. 121—126), angestellte Beobachtungen vorhanden; letzterer zeigte, dass gerade durch Kohlensäure frischgefälltes Globulin in sauerstoffhaltigem Wasser löslich ist! Bei der Fällung mit Essigsäure kann auch der entgegengesetzte Fall eintreten: auch hier kann Auflösung des Niederschlags in Wasser beobachtet werden, aber nun schon auf kosten der Essigsäure. Besonders leicht lösen sich frischgefällte, feine oder feinkörnige Flocken auf. So beobachtete Schmidt, dass bei der Darstellung des Globulins aus Hämoglobin, wobei ziemlich wenig von der Substanz erhalten wird, verdünnte Essigsäure zur Fällung derselben nicht benutzt werden kann, da es unmöglich ist, sich streng innerhalb der Grenzen der Neutralisationsmengen zu halten, und schon der unbedeutendste Überschuss derselben den Niederschlag auflöst. Demgemäss zieht Schmidt Kohlensäure vor (101 p. 444), welche diesen Übelstand nicht besitzt. Daraus kann man schliessen, dass die Löslichkeit des Globulins in Kohlensäure eine sehr zweifelhafte ist, sogar wenn es sich um aschen-freies Globulin handelt (p. n. N.N. 86—92 p. 199). Diese fast verschwindend kleinen Mengen Essigsäure genügen jedoch, das Globulin in Lösung zu erhalten. Graham (36 p. 41) dialysirte in Essigsäure aufgelöstes Hühnereiweiss in seinem Dialysor; nach 4 Tagen fand er in der Flüssigkeit keine Asche und glaubte, dass auch die Essigsäure sich entfernt hatte. Wir sagen „glaubte“, da seine Flüssigkeit von Milch gefällt wurde, was bei Hydroglobin, welches Graham bei fortgesetzter Dialyse der sauren Lösung hatte erhalten müssen nicht der Fall sein sollte. Den Ausschlag hätte in diesem Falle eine Probe auf die Gerinnung durch Wärme geben können, doch erwähnt Graham einer solchen nicht. Unstreitig ging der Bildung des Hydroglobins diejenige einer Säureverbindung mit äusserst geringem Säuregehalt voran, weshalb dieselbe in der Wärme nicht gerann (N.N. 86—92 p. 252). Bestimmtere Angaben finden wir in dieser Beziehung bei Schützenberger, welcher gerade das Stadium der Zersetzung der essigsäuren Globulinverbindung beobachtete (103 p. 86), wenn das Globulin in Hydroglobin übergeht, infolgedessen bei völliger Abwesenheit einer sauren Reaktion sowohl innerhalb als ausserhalb des Dialysors die Flüssigkeit in der Hitze einen Niederschlag ausschied; dennoch kann angenommen werden, dass die Flüssigkeit nur zum teil Hydroglobin enthielt, da die Lösung von Alkalien gefällt wurde. Wäre die Dialyse längere Zeit fortgesetzt worden, so würde das Dialysat alle für das Hydroglobin bekannten Reaktionen—Fällbarkeit in der Hitze, Unfällbarkeit durch Alkalien, Säuren und auch Salzen, endlich allmälige Ausscheidung, namentlich durch mechanische Manipulationen, an den Tag gelegt haben (N.N. 93—100 p. 354).

In der Tat war es Kühne (69 p. 179) bei der Dialyse von Hühnereiweiss, welches durch Einwirkung von Kohlensäure und Essigsäure vom Globulin befreit worden war, trotz vierwöchentlicher Dialyse nicht gelungen, das Dialysat von der Essigsäure zu befreien, da man auch noch danach mit einem Alkali neutralisiren und

Proteinniederschläge erhalten konnte <sup>1)</sup>. Es ist somit sehr schwer, das Globulin von der Säure zu befreien, infolgedessen wir in Schützenberger's und Graham's Fällen das Vorhandensein eines wenigstens aus Acidalbumin und Hydroglobin bestehenden Gemenges annehmen müssen; dennoch enthielt die Flüssigkeit bis 1% Asche. Dagegen gelang es Graham (36 p. 62) unzweifelhaft eine Alkaliverbindung des Globulins mittels Dialyse in deren Bestandteile zu zerlegen und Hydrosol (N<sup>o</sup> 93.—100 p. 249—50) zu erhalten, wobei die Lösung, wie quantitative Analysen zeigten, alles in derselben enthaltene Alkali in das äussere Wasser ausschied.

Was das ausgeschiedene Globulin anbetrifft, so spricht sich Schmidt ziemlich bestimmt dahin aus, dass das Paraglobulin, z. B. nach der Auflösung in schwachen Alkalilösungen beim Kochen nicht ausfalle, dass aber durch Eintragen eines Neutralsalzes beim Kochen Fällung entstehe, wobei der Niederschlag sich von dem „geronnenen Albumin“ durch nichts unterscheide <sup>2)</sup>.

Sehr interessant für die historische Entwicklung der von uns berührten Frage, sind Kühne's Beobachtungen und Schlüsse über die gegenseitigen Verhältnisse der Bestandteile des Serums. Nach 10-facher Verdünnung des Serums mit Wasser und Durchleitung von Kohlensäure fiel das Globulin aus. Ansäuern des Filtrats mit Essigsäure erzeugte einen neuen Niederschlag, welchen Kühne für eine Natriumverbindung hielt (69 p. 177). Nach Entfernung dieser Niederschläge schied das Filtrat nach Hinzufügung einer unbedeutenden Säuremenge einen neuen Niederschlag aus; doch erfolgte die Ausscheidung der letzten Proteinmenge erst bei gleichzeitigem Ansäuern mit Kohlensäure und Erwärmen (ib. p. 177). Nimmt man, nach Denis's, Liebig's u. and. Lehre an, dass das sämtliche Protein mit einem Alkali verbunden ist, so erklären sich diese drei konsekutiven Fällungen, welche bei der allmähigen Steigerung der Energie, so zu sagen der Bedingungen, die auf die Alkaliverbindungen im allgemeinen fällend wirken, erfolgen, leicht. So fällt z. B. Kohlensäure das Globulin aus verhältnissmässig konzentrirten Lösungen einer Alkaliverbindung nicht; um schwächere Lösungen zu erhalten, muss man dieselben verdünnen, und ist nun die Kohlensäure im stande einen Niederschlag zu erzeugen; allein die sich bildenden Salze halten einen Teil des Globulins in Lösung zurück; der Zusatz von Essigsäure ruft noch stärkere Fällung hervor; damit aber vollständige Zersetzung erfolge, muss mit Essigsäure bei erhöhter Temperatur eingewirkt werden.

Wenn Kühne zwischen den durch Essigsäure und Kohlensäure hervorgebrachten Niederschlägen, dem vermeintlich, „Paraglobulin“ und dem „Natronalbuminat“ einen Unterschied auch zugab, so geschah es nur deshalb, weil er die Alkaliverbindung durch Kohlensäure für nicht fällbar hielt. Wie wir aber zeigten (N<sup>o</sup> 81—5 p. 86), liess Kühne hier einen Fehler zu, da ein Vergleich von Ss. 175 und 565 seiner Arbeit (69 p. 175 u. 565) zeigt, dass auch Kühne unter gewissen Bedingungen Fällbarkeit zugab (69 p. 175 u. 565). Vollständige Fällung der proteinhaltigen Flüssigkeiten durch blosses Kochen gibt Kühne im allgemeinen nicht zu, sondern erklärt dieselbe durch die Mitwirkung von Alkalien, d. h. durch die Gegenwart der Natriumverbindung, welche bei Gegenwart einer grossen Menge eines Salzes durch Kochen gefällt wird (69 p. 178);

<sup>1)</sup> Das flüssig gebliebene Eiweiss hinterliess nach dem Verdunsten eine noch lösliche Substanz, die beinahe 1 p. Ct. Asche enthielt. Dieser flüssige Theil gab beim Neutralisiren eine schwache Fällung, es hatte sich also unter der langen Einwirkung der geringen Menge von Essigsäure, die hartnäckig trotz der Diffusion vom Eiweiss zurückgehalten wurde, etwas Syntonin gebildet, der grössere Theil war dagegen Serumweiß ge-

blieben, und dieser coagulirte natürlich beim Erhitzen (69 p. 179).

<sup>2)</sup> Setzt man zur schwach sauren oder schwach alkalischen Lösung dieser Substanz ein neutrales Alkalisalz und erhitzt, so entsteht eine starke weisse Fällung, die sich weder in verdünnten noch in concentrirten Säuren oder Alkalien wieder auflöst (101 p. 438).

dabei nimmt er an, dass das sog. „Albumin“ auf Kosten der Salze im Serum löslich ist (69 p. 178). Nicht weniger bestimmt spricht sich Eichwald in dem Sinne aus, dass das „Albumin“ in Wasser unlöslich ist und seine Löslichkeit in den natürlich vorkommenden Flüssigkeiten den Salzen und Alkalien verdankt <sup>1)</sup>. Zwar wurde auch in der Zeitperiode, welche wir im Auge haben, die Meinung laut, dass das Albumin selbständige Löslichkeit in Wasser besitze; sobald man aber den Worten der Autoren ihre wahre Bedeutung gab, dieselbe in die Sprache der Tatsachen übersetzte, erwies es sich, dass nicht das „Albumin“, sondern das bei niedriger Temperatur erhaltene „trockne Serum oder trockne Eiweiss“ in Wasser löslich war (p. n. N. 48—60 p. 84—7), wie wir es bei Gautier sehen (28 p. 30).

Um dieselbe Zeit unternahm auch Brücke (10 p. 883) Untersuchungen, um die Beziehung einer Globulinlösung zum Serum aufzuhellen; obgleich er von „Albumin“ spricht, führt er seine Vergleiche faktisch mit gewöhnlichem Serum aus. Brücke stellte das Globulin aus Pferdeblutserum dar (10 p. 883). Die alkalischen „Paraglobulinlösungen“ verhielten sich ganz so wie alkalisirte Serumlösungen, wie es bei Scherer's Versuchen der Fall gewesen war. Damit das Serum in der Wärme nicht gerinne, muss der Alkaligehalt vergrößert werden. Salze enthält dasselbe schon, da die alkalische Seroglobulinlösung ihrerseits durch Wärme gefällt wird, wenn ein Salz in dieselbe eingetragen wird (10 p. 884). Ausserdem bereitete Brücke Paraglobulinlösungen in Kalilauge und Ammoniakflüssigkeit, entweder indem er erstere mit einem Glasstäbchen in suspendirtes Globulin enthaltendes Wasser eintrug, oder indem er frischgefälltes Seroglobulin in ammoniakhaltiges Wasser brachte. Die zweite Lösung besass eine stärkere alkalische Reaktion (10 p. 885). Starken Säuren und Alkalien gegenüber verhielt sich das „Paraglobulin“ ebenso wie das Hühnereiweiss (10 p. 886; u. N. 81—85 p. 66 u. N. 86—92 p. 168); in den Beziehungen der Metallsalze besteht zwischen diesen Körpern auch kein Unterschied. Brücke findet im allgemeinen, dass der Unterschied zwischen den alkalischen Seroglobulinlösungen, dem Serum und dem Eiweiss nur ein scheinbarer ist <sup>2)</sup>. Dabei wurde das Seroglobulin aus seinen Lösungen, wie auch das Eiweiss, durch Sättigung mit Natriumsulfat oder Chlornatrium u. s. w. ausgeschieden; Zusatz von Säure löste den Niederschlag, der aus der Lösung auf neue durch Salze ausgeschieden wurde (10 p. 886) auf. Die Fällbarkeit alkalischer Seroglobulinlösungen durch Phosphorsäure, Essigsäure, Weinsäure u. a. Säuren, welche dem Serum abgeht, erklärt Brücke, wie auch frühere Autoren (N. 93—100 p. 357) durch das Nichtvorhandensein von Salzen in den alkalischen Seroglobulinlösungen, da im Serum, welchem sogar das Seroglobulin entzogen wurde, infolge des Salzgehalts ein solcher Niederschlag nicht beobachtet wird; demgemäss löse sich der durch Säure in einer alkalischen Globulinlösung erzeugte Niederschlag durch Salzzusatz auf. Um eine künstliche Eiweisslösung darzustellen, empfiehlt Brücke zu einer Kochsalzlösung Ätznatron, Ätzkali oder Ammoniak bis zu deutlich alkalischer Reaktion zuzusetzen und dieses Gemenge tropfenweise in Wasser, welches „Paraglobulin“ suspendirt enthält, solange einzutragen, bis das Globulin sich auflöst. Die erhaltene schwach-alkalische Lösung werde durch Ansäuern mit Essigsäure nicht gefällt (10 p. 887). Schon im Hinblick auf diese Angaben muss man gestehen, dass die von Denis mitgeteilten viel reichhaltiger waren und grössere Beweiskraft besaßen.—Dennoch

<sup>1)</sup> . . . . ., dass wir mit allen in dieser Angelegenheit kompetenten Richtern das reine Albumin für einen in Wasser unlöslichen Stoff halten. Wir glauben daher, dass der Zustand, in welchem das Albumin in thierischen Flüssigkeiten zurückgehalten wird, und welcher vielleicht nicht einmal

eine wirkliche Lösung ist, lediglich von der Gegenwart von Alkalisalz und freiem Alkali abhängig ist (23 p. 319).

<sup>2)</sup> Der Unterschied zwischen Paraglobulin und gewöhnlichem Eiweiss war also wieder nur ein scheinbarer (10 p. 886).

kann nicht abgeleugnet werden, dass auch Brücke's Beobachtungen für die Identität der salzalkalischen Seroglobulinlösungen und dem, was „Albumin“ genannt wurde, nämlich dem Serum, dem Hühnereiweiss und dem mit Wasser und Kohlensäure behandelte Serum, zeugen. Möglicherweise hat auch Brücke wie Denis selbst, dann recht, wenn es wirklich ein besonderes Albumin in Schmidt-Aronstein's Sinne gäbe, da ja eigentlich alles, was wir über das sog. historische Albumin wissen, an Flüssigkeiten—Serum und Eiweiss—erforscht wurde, in denen der Charakter der Reaktionen gerade durch das in denselben enthaltene Globulin bestimmt wurde; mit andern Worten, es sind hauptsächlich die Reaktionen des Globulins, nach denen geforscht wurde und noch heutzutage geforscht wird!

Dubrunfaut's (22 p. 84) und Gscheidlen's (37 p. 3) Ansicht nach wird auch das Protein der Milch durch Alkalien in Lösung erhalten. Andererseits fehlt es auch nicht an Belegen für die Identität der Lösung mit den Alkaliverbindungen des Proteins im allgemeinen. Nachdem Heynsius ein Alkalialbuminat nach Lieberkühn dargestellt und dasselbe in Wasser bei 45° (50 p. 12) aufgelöst hatte, fand er, dass diese Lösung zur Kohlensäure und Essigsäure sowie auch zum Kochsalz sowohl in bezug auf die Reihenfolge der Wirkungen und auf das Resultat (Bildung eines Niederschlags) als auch quantitativ sich ganz ebenso verhalte wie das Serum: gleich diesem, scheidet auch eine Alkalialbuminatlösung z. B. nach der Einwirkung von Kohlensäure und Kochsalz einen reichlicheren Niederschlag aus als nach der Einwirkung eines jeden dieser Agentien im einzelnen; sowohl dieses wie jenes müsse, um von Kohlensäure und Essigsäure gefällt zu werden, mit Wasser verdünnt werden. Ein eben solches Verhalten gegen diese Säuren zeige auch eine Fibrin- und Myosinlösung in Salzen: dieselben würden auch durch Kohlensäure und ebenfalls nicht vollständig gefällt. Endlich könne eine Alkalialbuminatlösung auch die Rolle der Milch spielen; man brauche nur eine geringe, aber durch die Umstände bestimmte, Menge phosphorsauren Natrons einzutragen, damit die Kohlensäure keine Fällung oder, wenn der Gehalt an den genannten Salzen kein entsprechender, ein geringerer ist, blosser Trübung verursache.

Je grösser der Phosphatgehalt ist, desto besser gehe die Fällung durch Kohlensäure vor sich; vollständige Fällung werde aber niemals erhalten, da die nachfolgende Sättigung der Flüssigkeit mit Kochsalz nochmalige Fällung hervorrufe (50 p. 13). Ausserdem findet Heynsius auch zwischen dem aus dem Serum ausgeschiedenen Globulin und dem Neutralisationsniederschlag einer Alkaliverbindung des Proteins, sowie auch zwischen diesen Körpern und den andern Globulinen, dem Fibrinogen, dem Fibrin und dem Myosin, keinen Unterschied. Alle diese Körper werden aus ihren Salzlösungen durch Kohlensäure ausgefällt, wobei die Niederschläge sich nicht nur in der Mutterlauge sondern auch teilweise in Wasser nach Durchleitung sowohl von Sauerstoff als auch von Wasserstoff (50 p. 15) auflösen. Es unterliegt natürlich keinem Zweifel, dass in diesem Fall bei der Durchleitung des Sauerstoffs oder des Wasserstoffs die Flüssigkeit, in welcher die Proteinflocken suspendirt waren, von der Kohlensäure befreit wurde, und die Flocken auf Kosten des von ihnen zurückgehaltenen Salzes und dergl. sich auflösten<sup>1)</sup>. Überdies zeigen alle diese Körper, wie auch der Neutralisationsniederschlag der Alkaliverbindungen (Alkalialbuminate), dieselben Reaktionen, z. B. Löslichkeit in verdünnten Lösungen von Mittelsalzen. Im ganzen hänge die Fällung

<sup>1)</sup> Eine genaue Untersuchung hat mir gezeigt, dass nicht nur Paraglobulin und fibrinogene Substanz, sondern auch Alkalialbuminat, Myosin und Fibrin, nach ihrer Fällung durch Kohlensäure,

in Wasser zum Theil gelöst werden, wenn geraume Zeit ein Strom reinen Sauerstoffs oder Wasserstoffs durchgeleitet wird (50 p. 15).

durch Kohlensäure von der in der gegebenen Lösung enthaltenen Salzmenge ab: sowohl eine Paraglobulinlösung als auch eine Lösung anderer Globuline—des Myosins, Fibrins und sogar des Neutralisationsniederschlags einer Alkaliverbindung—werde nach der Verdünnung mit Wasser weit schneller gefällt und scheidet voluminösere Niederschläge ans (ib. p. 15).

Nach allem Gesagten besitzt die Kohlensäure unstreitig eine nicht geringe Bedeutung für die Reaktionen der proteinhaltigen Flüssigkeiten, so dass unabhängig von den Eigenschaften des Globulins selbst, unser Urteil über dieselben je nach der Menge der in denselben enthaltenen Kohlensäure sich bedeutend ändern kann. So legte Monnier (84 p. 471) mit seinen Beobachtungen den Anfang zu einer langen Reihe von Untersuchungen, von denen wir schon im ersten Teile dieses Werkes (N.N. 48—60 p. 72—3) sprachen. Die Betrachtung des Dargelegten lässt keinen Zweifel darüber übrig, dass die Gerinnungstemperatur des Serums, des Hühnereiweisses u. dergl. sich in unmittelbarer Abhängigkeit von der Menge der Kohlensäure befindet: nachdem das Serum mittels der Luftpumpe von der Kohlensäure befreit, an der Luft getrocknet, aufs neue aufgelöst oder mit Äther behandelt worden ist, erhält man eine Lösung, die in der Wärme nicht mehr gerinnt (N.N. 48—60 p. 71—77).

Nach der Entfernung der Kohlensäure stellen die proteinhaltigen Flüssigkeiten, besonders das Blutserum, eine Lösung vor, welche von der Lösung einer Alkaliverbindung des Globulins, eines Alkalialbuminats, z. B. des Lieberkühn'schen, mit einem geringen Alkaliüberschuss, nicht unterschieden werden kann. Wir wollen sogar vorläufig über diese Tatsache keine näheren Betrachtungen anstellen und nur bemerken, dass der erwähnte Zustand der proteinhaltigen Flüssigkeiten, namentlich des Serums, vollkommen mit den Eigenschaften der Milch oder, wie man sich in diesem Falle unrichtig ausdrückt, des Caseins übereinstimmt.

Durch das Auspumpen der Kohlensäure werden die proteinhaltigen Flüssigkeiten einerseits einander (es verschwindet der Unterschied in dieser Beziehung zwischen dem Eiweiss verschiedener Vögel—N.N. 48—60 p. 71—2), wie z. B. die Milch dem Serum, andererseits den Alkalialbuminaten näher gebracht.

Immer wieder begegnen wir mannigfachen Tatsachen, welche zu gunsten der zuerst von Denis in mehr oder weniger bestimmter Form aufgestellten Lehre zeugen; doch sind diese Tatsachen zerstreut, in kein System gebracht und infolge der Schwierigkeit, welche die Analyse derselben wegen dem Mangel an Angaben bietet, nicht in betracht gezogen worden...

Wiederum weist Schmidt (102 p. 422) darauf hin, dass eine alkalische Seroglobulinlösung (Paraglobulin) bei der Neutralisation mit Essigsäure gefällt wird, dass aber bei gleichzeitiger Gegenwart eines Neutralsalzes in der Lösung entweder gar keine oder eine nur unbedeutende Fällung beobachtet wird. In solchen Fällen sei zur Fällung ein um so stärkeres Ansäuern erforderlich, je mehr Neutralsalz die neutrale Flüssigkeit enthält. Dasselbe beobachtet man auch ohne den besonderen Zusatz eines andren Salzes, wenn die Lösung einen Kali- oder Natronüberschuss enthält. Das in diesem Falle bei der Neutralisation entstehende Salz spiele dieselbe Rolle wie ein von aussen eingetragenes. Ein eben solches Verhalten zeige auch eine Salzseroglobulinlösung <sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> Enthält die Lösung jedoch zugleich ein neutrales Alkalisalz, so findet entweder nur eine partielle oder bei grösserem Salzgehalte selbst gar keine Ausscheidung beim Neutralisiren Statt. Die Flüssigkeit muss zum Zwecke einer voll-

kommenen Fällung angesäuert werden, um so stärker, je grösser ihr Salzgehalt ist. Stets gelingt es, diese Fällung im Ueberschuss der Essigsäure wieder aufzulösen, aber die dazu nöthige Säuremenge, bei gleichem Gehalt an fibrinoplastischer

Diese Tatsachen stellen endgiltig die Möglichkeit fest, eine Lösung zu erhalten, welche den allgemeinen Eigenschaften des Serums—d. h. der Flüssigkeit, welche der Lehre von dem unerfasslichen „Albumin“ zu grunde gelegt worden ist—entspricht. Schmidt's Beobachtungen erklären auch die übrigen Beziehungen des Serums, welche die Möglichkeit der Existenz auch anderer Proteinkörper neben dem Globulin bedingen.

Zwar wurde auch vor Schmidt von vielen Autoren die Ansicht ausgesprochen, dass das Protein aus seinen natürlich vorkommenden Lösungen durch diese oder jene Agentien nicht vollständig ausgefällt werde; Schmidt spricht jedoch ziemlich einschneidend einen Gedanken aus, der für den uns interessirenden Moment in der Geschichte dieser Frage von Bedeutung ist. Auf grund des Dargelegten musste Schmidt zugeben, dass blosse Neutralisation und Verdünnung mit Wasser zur vollständigen Fällung des Seroglobins aus dem Blutserum <sup>1)</sup> noch nicht hinreichen, wie man sich auch auf einfache Neutralisation zur Fällung des Fibrinogens (101 p. 441) nicht beschränken kann. Eichwald geht noch weiter, indem er findet (24 p. 31), dass neutrale alkalische Seroglobulinlösungen beim Erwärmen nicht gerinnen, und dies gleich den früher erwähnten Autoren durch die Abwesenheit von Salzen erklärt; dabei bemerkte aber Eichwald, dass Chlornatrium- und Natriumsulfat- oder Magnesiumsulfatlösungen die trübe Lösung einer Alkaliverbindung bei gewöhnlicher Temperatur zuerst klären, beim Erwärmen aber zum Gerinnen bringen. Beim Eintragen einer geringen Salzmenge sei die Gerinnung eine sehr unbedeutende und trete erst nach verhältnissmässig langem Kochen ein <sup>2)</sup>. Je mehr Salze vorhanden sind, desto niedriger sei die Gerinnungstemperatur; dennoch bleibe ein Teil der Substanz in Lösung und könne durch Essigsäure und gelbes Blutlaugensalz nachgewiesen werden <sup>3)</sup>. Grosse Mengen von Neutralsalzen würden jedoch die erwähnte Lösung schon bei gewöhnlicher Zimmertemperatur fällen, obgleich auch hier keine vollständige Fällung erfolge. Eine solche fand erst beim Kochen mit einem Überschuss von krystallinischem Kochsalz statt: das Filtrat schied mit Essigsäure und gelbem Blutlaugensalz schon keinen Niederschlag aus <sup>4)</sup>. In der Wirkung sowohl

Substanz, wächst in geradem Verhältnisse mit dem Salzgehalte der Lösung; sie ist also um so grösser, je weiter der Fällungspunkt vom Neutralisationspunkte nach der Seite der Säure hin fortgerückt war. Ganz dasselbe tritt ohne besonderen Salzzusatz ein, wenn die angewendete Lösung der fibrinoplastischen Substanz überschüssiges Kali oder Natron enthält, und zwar wegen des bei der Neutralisation gebildeten essigsauren Salzes, ebenso beim Neutralisiren von Lösungen, welche nicht mit kaustischen, sondern mit kohlen-sauren Alkalien hergestellt sind, von welchen immer beträchtlich grössere Mengen zur Auflösung der fibrinoplastischen Substanz erforderlich sind, als von kaustischen (102 p. 422).

<sup>1)</sup> Es ergiebt sich hieraus, dass zur vollständigen Fällung der fibrinoplastischen Substanz aus gewässertem Blutserum, das Neutralisiren nicht hinreicht, sondern dass dazu wegen der im Serum enthaltenen Salze ein geringer Grad von Ansäuerung nöthig ist; man braucht dabei mit dem Ansäuern nicht gar zu ängstlich zu sein, da eine Wiederauflösung der gefällten Substanz viel grösserer Quantitäten der Säure bedarf, als ihre Fällung (102 p. 422).

<sup>2)</sup> Hat man nur sehr wenig Salz zugesetzt

(z. B. einen Tropfen gesättigter NaCl—Lösung auf eine 2—4 C.C. betragende Probe), so ist die Gerinnung höchst unvollständig, sie tritt oft nur ein, wenn das Kochen eine oder einige Sekunden lang fortgesetzt wird, ja die Veränderung wird zuweilen erst nach dem Erkalten deutlich..... (24 p. 31).

<sup>3)</sup> War hingegen eine bedeutendere Quantität Salz zugesetzt (einige Tropfen NaCl—Lösung auf die Probe), so füllt sich die Lösung beim Erhitzen sehr schnell, oft noch unter dem Siedepunkt, mit scharf contourirten bräunlichen Flocken, die bald niederfallen und die Flüssigkeit wasserhell zurücklassen; doch bleibt stets ein gewisser Theil der Substanz gelöst und lässt sich im Filtrat der Probe durch Zusatz von  $C_2H_4O_2$  und  $K_4FeCy_6$  nachweisen (24 p. 32).

<sup>4)</sup> Nur auf eine Weise lässt sich der Stoff aus seiner alkalischen Lösung durch Neutralsalze vollständig entfernen, nämlich indem man die Lösung mit einem Ueberschusse des gepulverten Salzes kocht; im Filtrate solcher Proben konnte ich keine Spuren des Stoffes nachweisen (24 p. 33).

der Kohlensäure als auch der anderen Säuren auf das Serum findet Eichwald im allgemeinen keinen Unterschied (24 p. 34-5). Ein eben solches Verhalten wie zu dem Serum zeigten die Metallsalze auch zu der beschriebenen Seroglobulinlösung (24 p. 36). Ähnliche Beobachtungen veranlassten Eichwald, nach dem Beispiel anderer Autoren, zu der Aussage, dass kein Grund vorhanden sei, das Seroglobin von dem „Albumin“ zu unterscheiden, dabei stellt Verf. einerseits dessen Löslichkeit in Wasser in Abrede und behauptet andererseits, dass das Paraglobin durch die Alkalien und Salze des Serums in Lösung erhalten wird (24 p. 44-5). Auf Grund seiner Schlüsse erklärt Eichwald die Löslichkeit des „Albumin“, d. h. alles dessen, was nach der Behandlung des Serums mit Kohlensäure und Essigsäure zurückbleibt, für nicht bewiesen (24 p. 88; *N.N.* 48-60 p. 132). Nach der Ausscheidung der Niederschläge aus dem verdünnten Serum durch Kohlensäure („Paraglobin“) und durch Essigsäure (Kühne's Seruncasein) sowie des Niederschlags, der sich nach der Verdünnung des Serums, aus welchem sich die genannten Körper ausgeschieden haben, durch neue Verdünnung mit Wasser (Eichwald's Syntonin) ausscheidet, wurde das Serum behufs Entfernung auch noch des Proteinrests, den man „Albumin“ nannte, mit einer noch grösseren Wassermenge verdünnt. Bei der Verdünnung dieses Filtrats um das 500-fache zeigten sich schon nach 24 Stunden schwer niederfallende Flocken (24 p. 89-90). Im ganzen operirt Eichwald sowohl zur möglichst vollständigen Entfernung des Globulins als auch zur Entfernung des „Albumins“ aus der Flüssigkeit ganz ebenso wie in bezug auf das Globulin, durch stärkere Verdünnung und neues Ansäuern. Auf diese Weise gelang es ihm, das Protein bis auf einen unbedeutenden Rest auszuschleiden. Er glaubte, dass auf diese Art alles das „Albumin“ ausgeschieden werde, welches sich gewöhnlich auch durch einfaches Kochen ausscheidet <sup>1)</sup>. Indem er mit 40-50 Vol. Wasser verdünnte Essigsäure in verschiedenen Quantitäten zusetzte, konnte Eichwald die Überzeugung gewinnen, dass, wenn unter diesen Umständen Proteinstanz im Filtrat auch zurückbleibt, die Menge derselben derjenigen, die für „Albumin“ gehalten wird, bei weitem nicht gleichkommt. Das Quantum des Rests ist ein so unbedeutendes, dass Eichwald zwei Möglichkeiten annimmt: entweder ist das „Albumin“ durch passende Verdünnung und Ansäuerung bis auf die in der Flüssigkeit zurückgebliebenen Spuren ausgefällt, oder es ist im Serum neben dem „Albumin“ eine geringe Menge eines wirklich wasserlöslichen Körpers vorhanden. Eichwald neigt mehr der ersten Meinung zu, da in dem gegebenen Falle das Lösungsvermögen der Salze des Serums durch die Verdünnung mit Wasser nicht aufgehoben, sondern nur bedeutend herabgesetzt ist <sup>2)</sup>.

<sup>1)</sup> Hatte ich das Eindampfen soweit fortgesetzt, dass der Rückstand seinem Volum nach nur noch einen Bruchtheil der zum Versuche genommenen Quantität Zehntelserums ausmachte, so konnte ich mich leicht davon überzeugen, dass die Menge coagulabler Substanz, welche nicht durch die Verdünnung ausgefällt war, wirklich minimal war im Vergleiche zu der Menge Albumin, welche in einem entsprechenden Volumen Zehntelserums enthalten ist. Es fällt also bei solchen Versuchen derjenige Theil des Albumins, welcher durch directes Aufkochen gerinnbar ist, vollständig nieder, und die ganz unbedeutende Menge, welche gelöst bleibt, wird nur durch das im Laufe des Versuches entstandene Alkali zurückgehalten (24 p. 91).

<sup>2)</sup> Das Quantum albuminöser Substanz, welches in einem solchen Evaporate nachweisbar ist, steht

in gar keinem Verhältnisse zu denjenigen Albuminmengen, welche man im Serum nachweisen könnte, wenn man auch nur den 1000-sten Theil der hier verarbeiteten Quantität desselben direct analogen Reactionen unterwerfen wollte. Der Antheil coagulabler Substanz, welche hier nicht durch die Verdünnung ausgefällt worden ist, ist so minimal, dass nur 2 Annahmen möglich sind. Entweder man hat anzunehmen, dass das Albumin mit passender Ansäuerung und Verdünnung mit Wasser bis auf rückständige Spuren ausgefällt worden ist, oder, dass das Serum neben grossen Quantitäten durch Hitze coagulablen und durch Wasser fällbaren Albumin's minimale Mengen eines andern gleichfalls coagulablen, aber wirklich in Wasser löslichen Eiweisskörpers enthält. Offenbar ist die erste Annahme

Es unterliegt keinem Zweifel, dass Eichwald alles im Serum enthaltene Protein, wie in den einzelnen Fällen die Niederschläge auch heissen mochten, bis auf geringe Spuren durch ein Verfahren ausgeschieden hatte, welches historisch nur für das Globulin bekannt war, nämlich durch Verdünnung mit Wasser und Ansäuern—ein Verfahren, welches mit den Alkaliverbindungen des Globulins eng verknüpft ist (N. N. 48—60 p. 132). Nach diesen von Eichwald angegebenen Tatsachen, nämlich, dass bei der Methode, das Globulin in grossen Quantitäten zu fällen, im Serum so viel Substanz zurückbleibt wie nach dem Kochen desselben, wurde es notwendig diesen Proteinrest näher zu erforschen. Die Untersuchung dieses nach dem Kochen zurückgebliebenen Teils des Proteins hat auch wirklich in Übereinstimmung mit den Eigenschaften und der Gerinnungstemperatur der Alkaliverbindungen, bei Gegenwart oder bei Abwesenheit von Salzen, gezeigt, dass derselbe alle Eigenschaften gerade der Alkaliverbindungen besitzt und bei passender Behandlung eben solche Neutralisationsniederschläge ausscheidet wie das aus Globulin auf gewöhnliche Weise erhaltene Produkt, d. h. bei passender Behandlung zeigt es die Reaktionen des Globulins (N. N. 81—5 p. 107—116).

Zur besseren Veranschaulichung unseres Gedankens und grösseren Beweiskraft kann auf Gautier hingewiesen (30 p. 227) werden, der das schwerlöslichste Globulinpräparat—Fibrin—in „Albumin“ verwandelte, oder, richtiger gesagt, nach der Auflösung des Fibrins eine mit dem Serum identische Flüssigkeit erhielt. Gautier löste frisches Fibrin in 10% Kochsalzlösung auf; obgleich eine solche Lösung Eigenschaften besitzt, die dieselbe sowohl dem Serum (l'albumine) als der Milch (la caseine) nahe stellen, gelang es Gautier dennoch, dieser Lösung durch Dialyse alle Eigenschaften des „Albumins“ (Serum) zu verleihen. Nachdem Gautier beinahe bis zur vollständigen Entfernung des Kochsalzes dialysirt hatte, konzentrierte er die Flüssigkeit im Vacuum bei 45° und beobachtete an derselben die Eigenschaften des „gewöhnlichen Albumins“ (?): so gerann die Flüssigkeit in der Wärme, unter der Einwirkung von Mineralsäuren, nicht aber von verdünnter Essigsäure; wurde von Metallsalzen gefällt<sup>1)</sup>. Dieselbe gerann bei 63°; dabei wurde jedoch durch die Wärme nicht alles Protein ausgefällt; ein bedeutender Teil blieb in der Lösung und konnte durch molybdänsaures Ammonium ausgefällt werden! Die in der Lösung zurückgebliebene Substanz enthielt ziemlich viel Kalk und Magnesia<sup>2)</sup>. Wenn einerseits eines der schwerlöslichen Globulinpräparat—das Fibrin—nach der Entfernung des Salzüberschusses aus seiner Salzlösung in eine Substanz verwandelt wird, deren Lösung an das Serum erinnert, so hält andererseits das Serum, welchem auf gewöhnliche Art durch Kohlensäure, Essigsäure, oder mittels Dialyse das Globulin entzogen worden ist, noch ein Protein zurück, welches in Aronstein und Schmidt's Arbeiten sogar die Benennung „aschenfreies Albumin“ (N. N. 48—60 p. 133) erhalten hat; ein

natürlicher, und das Gelöstbleiben von Albuminspuren leicht durch den Umstand zu erklären, dass durch die Verdünnung die lösende Kraft der Serumsalze nicht eigentlich aufgehoben, sondern nur ausserordentlich abgeschwächt werden kann (24 p. 93).

<sup>1)</sup> On la concentre alors rapidement en séparant l'eau par la distillation dans le vide, à une température de 45 degrés environ, et l'on obtient une solution neutre qui jouit de la plupart des propriétés de l'albumine ordinaire. Elle se coagule par la chaleur et les acides minéraux; elle est incoagulable par l'acide acétique étendu, elle

se coagule par le sublimé corrosif comme l'albumine (30 p., 228).

<sup>2)</sup> La substance précédente n'est pas la seule qui se forme par l'action du chlorure de sodium sur la fibrine. Si l'on élimine, en effet par la chaleur la substance précédente, il reste dans la liqueur une notable quantité d'une matière incoagulable par la chaleur et l'acide acétique précipitable par le molybdate acide d'ammoniaque, et que l'on peut extraire en évaporant la liqueur à siccité dans le vide. Cette substance donne des cendres riches en phosphate de chaux et de magnésie..... (30 p. 228).

solches in der Wärme nicht gerinnendes Serum oder „aschenfreies Albumin“ scheidet bei längerem Dialysiren das in demselben enthaltene Protein, welches unzweideutig den Charakter des Globulins besitzt, als Niederschlag aus.

Kaum hatten Aronstein und Schmidt von dem dialysirtem Eiweiss und Serum Kenntnis genommen, als sie zu der Überzeugung gelangten, dass bei fernerer Dialyse des „salzfreien Albumins“ die Reaktionen der Fällung durch Wärme und Alkohol wiederkehrten! Umsonst bestrebte sich Aronstein diese Erscheinung, trotz der nur kurze Zeit dauernden Dialyse, durch Fäulnisprozesse <sup>1)</sup> zu erklären, indem er die Fällbarkeit in der Wärme mit der vermutlichen Bildung von Ammoniumcarbonat verknüpfte, da bei direkten Versuchen mit dem „von den Salzen befreiten Albumin“ das Eintragen von Ammoniumcarbonat in die Flüssigkeit gleich Kochsalz beim Erwärmen Gerinnung bewirkte <sup>2)</sup>. Ausser der offenbaren Irrtümlichkeit einer solchen Deutung sind auch noch Zeugnisse anderer Autoren vorhanden, welche dieselbe widerlegen. So bemerkte Heynsius, (51 p. 527), welcher Serum und Eiweiss längere Zeit ohne Fäulnisserscheinungen dialysirte, zu seinem Erstaunen, dass diese Flüssigkeiten nicht nur die Fähigkeit, in der Wärme zu gerinnen, nicht eingebüsst hatten, sondern schon anfangen zu opalesciren, wenn das Probirgläschen in der Hand gehalten wurde, und eine Ausscheidung von Flocken schon bei 35° begann. Nach der Abkühlung lösten sich die Niederschläge wieder auf (51 p. 527). Man sättigte mit Wasser verdünntes Eiweiss mit Kochsalz und dialysirte es dann längere Zeit gegen eine grosse Wassermenge; nach dem Abfiltriren des Niederschlags schied die Flüssigkeit beim Abdampfen bei 45° einen Niederschlag aus. Deshalb wurde dieselbe aufs neue filtrirt und dialysirt, gab aber trotzdem bei 45° wiederum eine Fällung. Nach dem Auswaschen dieses Niederschlags mit Wasser bis letzteres keine Reaktion auf Protein mehr zeigte, war derselbe in Salzen unlöslich (ib. p. 528) geworden. Nach der Abtrennung dieses Niederschlags wurde auch das letzte Filtrat dialysirt und schied aufs neue einen Niederschlag aus; nach einiger Zeit wurde die Flüssigkeit schon bei 28° gefällt, und der erhaltene Niederschlag löste sich in Kochsalz auf, büsste aber beim Erhitzen über 40° seine Löslichkeit in Salzen allmähig ein (ib. p. 529). Ochsenblutserum wurde nach der Abtrennung des Globulins durch Verdünnung mit 10 Vol. Wasser und Einwirkung von Kohlensäure und Essigsäure nach dem Eindampfen bis zum anfänglichen Volum und nach der Sättigung mit Kochsalz 9 Tage lang der Dialyse unterworfen. Nach der Entfernung des ausgeschiedenen Globulins trübte sich das Filtrat schon bei 40°! Unmittelbar mit Salz gesättigtes Ochsenblutserum trübte sich nach 11-tägiger Dialyse bei 41° und Pferdeblutserum unter denselben Umständen schon bei 38° (ib. p. 532).

Indem Heynsius diese Tatsachen mit den bei der Dialyse gegen destillirtes Wasser erhaltenen vergleicht, gelangt er zu dem Schluss, dass er mit dem destillirtem Wasser vielleicht deshalb kein bei niedriger Temperatur ausfallendes Protein erhalten hatte, weil es ihm, nach seinem eigenen Geständnisse, an einer genügen-

<sup>1)</sup> Liess ich die Eiweisslösung, nachdem sie im Laufe von circa drei Tagen vollkommen salzfrei geworden, noch einige Tage länger im Dialysator stehen, so wurde sie mit dem Eintritt der Zersetzung wieder fällbar durch Alkohol und Siedhitze; zuerst erhielt ich blosse Opalescenzen, dann Trübungen, weiter an Masse wachsende Fällungen, welche endlich, wenn die Albuminlösung sehr deutlich in Zersetzung übergegangen war, nicht geringer erschienen, als die in der

ursprünglichen Eiweisslösung, mit gewöhnlichem Salzgehalte, erzeugten Niederschläge (1 p. 90).

<sup>2)</sup> Diese Wiederkehr der Fällbarkeit des Albumins durch Alkohol und Siedhitze erklärt sich einfach aus dem durch die Zersetzung bedingten Auftreten von Salzen, namentlich von Ammoniumsalzen, unter welchen ich das kohlen-saure Ammoniak besonders geprüft und ebenso wirksam wie das Kochsalz gefunden habe (1 p. 91).

den Menge destillirten Wassers gefehlt hatte (ib. p. 533). Bei der Benutzung von Regenwasser fiel es Heynsius auf, dass die alkalische Reaction der dialysirten Flüssigkeit rasch verschwand, während bei der Dialyse gegen destillirtes Wasser dieselbe beständig blieb, woraufhin er die Unfällbarkeit durch Wärme im zweiten Falle dem Alkali zuschrieb; dasselbe werde auch bei der direkten Vermischung dieses oder jenes Wassers z. B. mit Blutserum beobachtet: in dem einen Falle, bleibe die alkalische Reaction bestehen, in dem andern verschwinde sie sogleich <sup>1)</sup>, was sich durch die Gegenwart von Kohlensäure im Regenwasser erklären lasse (ib. p. 534). Indem Heynsius danach Versuche in Aronstein-Schmidt's Sinne machte, gelangte er zu der Überzeugung, dass die genannten Autoren eine alkalische Proteinlösung (N.N. 48—60 p. 140; 51 p. 538), welche mit einer alkalischen Globulinlösung vollkommen identisch ist, vor sich gehabt hatten, da beide Lösungen nach dem Kochen durch Kohlensäure gefällt wurden. Ausserdem konnten auch durch unmittelbare Neutralisation mit  $\frac{1}{10}$  oder  $\frac{1}{100}$  Normaleessigsäure, anstatt der gewöhnlichen Essigsäure, mit welcher Aronstein sein salzfreies Albumin zu neutralisiren gedachte, leicht Niederschläge erhalten werden <sup>2)</sup>. Ferner bemerkte Heynsius, dass, wenn in je 20 Cc. dialysirten, aber bei einer verhältnissmässig niedrigen Temperatur (40°—58°) sich trübenden Eiweisses, eine Ätzkalilösung, welche in 1 cc. 0,00047 Kali enthielt, eingetragen wurde, die Flüssigkeit beim Kochen nicht nur nicht gerann, sondern sich sogar klärte, obgleich sie sich schon bei einem Gehalt von 4 cc. bei 60—75° getrübt hatte. Ausserdem wurde diese Flüssigkeit durch 10 Vol. Alkohol gefällt; betrug aber der Alkaligehalt 4 cc. oder mehr, so entstand schon keine Fällung. Somit würden die Flüssigkeiten weder beim Kochen, noch beim Einleiten von Kohlensäure gerinnen, wenn dieselben 0,0015—0,0040 grm. Kali enthalten. Kohlensäure bedinge Fällung bei grösserem Alkaligehalt, wobei der Niederschlag in Kochsalz löslich sei (ib. p. 539). Auf Grund seiner Beobachtungen zieht Heynsius den Schluss, dass Aronstein, sehr geringe Quantitäten Hühnereiweiss dialysirend, dasselbe sehr rasch von den Salzen befreite, dass aber der Alkaligehalt gross genug war, um das Protein beim Kochen in Lösung zu erhalten. Die Trübung, die im weiteren Verlaufe der Dialyse sich zeigte und von Aronstein der Fäulniss zugeschrieben wurde, hält Heynsius für eine natürliche Folge der allmäligen Verminderung des Alkaligehalts <sup>3)</sup>. Was Aronstein's Aussage anbetrifft, dass er beim Kochen auch nach einem Säurezusatz keine Gerinnung beobachtete, so erklärt Heynsius diesen Umstand durch einen Überschuss der Säure, welche auch in sehr geringer Menge das Protein in Lösung erhalten kann (ib. p. 541).

<sup>1)</sup> Beim Gebrauch von Regenwasser hatte ich schon sofort bemerkt, dass die alkalische Reaction der Flüssigkeit bei der Dialyse immer mehr abnimmt und zuletzt verschwindet. Beim Gebrauch von destillirtem Wasser sah ich hingegen, dass die alkalische Reaction bestehen bleibt, und ich leitete natürlich die höhere Gerinnungstemperatur der mit destillirtem Wasser dialysirten Eiweisslösung von der Gegenwart des Alkalis ab. In Uebereinstimmung damit sah ich, dass Vermischen von Blutserum (Rind) mit 20 Vol. destillirten Wassers die alkalische Reaction der Flüssigkeit nicht aufhebt, während beim Gebrauch von Regenwasser unter denselben Umständen alkalische Reaction sich kaum nachweisen lässt. Im ersten Falle wird, wie erwähnt, nur wenig Eiweiss ausgeschieden, im letzteren Fall entstand hingegen ein enormes Präcipitat (51 p. 533).

<sup>2)</sup> Wenn Aronstein und Schmidt nicht die gewöhnliche käufliche Essigsäure, sondern  $\frac{1}{10}$  oder  $\frac{1}{100}$  Normaleessigsäure gehabt und damit ihre durch Dialyse dargestellten Eiweisslösungen neutralisirt hätten, so würden sie nicht in den Wahn gerathen sein, dass Serum und Eieralbumin eine in Wasser lösliche Eiweissform sei, die beim Sieden nicht gerinnt (51 p. 538).

<sup>3)</sup> Aronstein und Schmidt haben sehr kleine Eiweissmengen mit destillirtem Wasser dialysirt, und sie entzogen den Flüssigkeiten ihre Salze also sehr rasch. Der Alkaligehalt war noch gross genug, um das Eiweiss beim Sieden in Lösung zu erhalten. Später sahen sie beim Sieden Trübung auftreten. Sie schrieben dies der Bildung von Ammoniaksalzen zu; der Grund möchte wohl eher in dem allmäligen Abnehmen des vorhandenen Alkalis zu suchen sein (51 p. 540).

In der Folge kehrt Heynsius nochmals zu dieser Frage zurück (52 p. 554—5). Nachdem er die Dialyse mit Hilfe von Huizigna's (N.N. 75—80 p. 243) Apparaten energischer bewerkstelligt hat, behauptet er aufs neue, dass Aronstein-Schmidt's Präparat bloß eine „salzarme“ Lösung einer Alkaliverbindung des Globulins sei, trotzdem sie neutral reagiert (52 p. 554). Nachdem Heynsius gefunden hatte, dass zur Neutralisation des Alkali in 100 cc. Ochsenblutserum ungefähr 40 cc.  $\frac{1}{10}$  Normaleessigsäure und bei zweifach verdünntem Hühnereiweiß für dasselbe Quantum circa 22 cc. derselben Säure nötig sind, versetzte er 100 cc. des ersteren mit circa 32 und ebenso viel des letzteren mit 16—18 cc.  $\frac{1}{10}$  Normalsäure, um die Alkaleszenz derselben herabzusetzen, und unterwarf sie danach der Dialyse unter öfterem Wasserwechsel, und zwar den ersten Tag stündlich 1 Liter, die übrigen Tage 12—18 Liter in 24 Stunden. Bei diesen Versuchen bemerkte Heynsius, dass in dem Maasse, wie der Aschengehalt sich verminderte, die Gerinnungstemperatur nicht stieg, sondern, umgekehrt, fiel: die Proteinlösung, welche anfänglich beim Kochen nicht geronnen war, wurde beim Erhitzen immer trüber <sup>1)</sup> (N.N. 93—100 p. 350). Dies veranlasste Heynsius zu der Aussage, dass das Alkali das sog. „salzfreie Albumin“ wirklich in Lösung erhält, sogar beim Erwärmen. Im allgemeinen erklärt Heynsius, dass in Aronstein-Schmidt's Versuchen sich zuerst die Salze entfernen, dann das Alkali anfangs auszutreten, und dass schliesslich eine unbedeutende Menge dieses letzteren zurückbleibe, welche nicht im Stande sei, das Protein, namentlich in der Wärme, in Lösung zu erhalten <sup>2)</sup>. Je länger die Dialyse gewährt hat, desto niedriger sei die Gerinnungstemperatur! Ebenso leicht würden diese Beobachtungen auch den Umstand erklären, dass die Menge des sich bei der Dialyse ausscheidenden Globulins, immer grösser wird (ib. p. 557). Indem Heynsius auf die Unvollkommenheit von Schmidt's Aschenanalysen hiweist, erklärt er zugleich, dass angesichts der unbedeutenden Menge der Substanz, welche Aronstein und Schmidt für ihre Aschenanalysen besaßen, es leicht war, das Alkali aus dem Auge zu lassen (N.N. 48—60 p. 140—3). Heynsius ging auf einem andern Wege der schliesslichen Lösung der Frage entgegen, nämlich: die obengenannten dialysirten Serum- und Eiweisspräparate, die beim Kochen sich trübten, hörten auf, sich zu trüben, wenn beim Kochen ein unbedeutende Menge eines Alkali zugesetzt wurde. So gerannen sowohl das Serum als auch das Eiweiss nach dem Zusatz von 0,4 cc.  $\frac{1}{1000}$  Normalätznatronlösung, d. h. circa 0,0000124 gm. Ätznatron auf je 1 cc., in der Hitze nicht, obgleich diese Quantität auf 25 cc. Asche bezogen als  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ —0,00052, als  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ —0,00068 betragen würde. „Im Hinblick darauf darf es nicht wundern, wenn in der Asche auch keine wasserlöslichen Aschenbestandteile gefunden werden“, ruft Heynsius aus (52 p. 565)! Ein ähnliches Verhalten zeigten auch Säuren: so verhinderten 0,5—0,6 cc.  $\frac{1}{100}$  Normal-salzsäure auf 1 cc. der Versuchsflüssigkeit die Fällung in der Siedhitze (ib. p. 565)! Diese Beobachtungen leiteten Heynsius zu dem Schluss, dass, wenn eine proteinhaltige Flüssigkeit wirklich neutral, d. h. weder an Alkalien noch an Säuren gebunden ist, das Protein beim Kochen sich ausscheidet; auf Grund dessen meint er, dass

<sup>1)</sup> Zu gleicher Zeit bemerkte ich jedoch, dass je mehr der Gehalt an Asche sank, die Löslichkeit des Albumins bei Erwärmung nicht zu-, sondern abnahm. Die Eiweisslösung, die anfangs beim Sieden vollkommen klar bleibt, fängt an beim Erwärmen immer mehr opalescent zu werden und endlich wird die Flüssigkeit beim Sieden so trübe, dass Aronstein und Schmidt nie an die Löslichkeit des Albumins bei der Siedhitze gedacht haben würden, wenn sie bei ihrer

ersten Dialyse solche Lösungen erhalten hätten (52 p. 556).

<sup>2)</sup> Sind die löslichen, neutralen Salze entfernt,—welcher Punkt schon bald erreicht wird,—so wird bei fortdauernder Dialyse immer mehr von dem langsamer dialysirenden Alkali entzogen werden, und zum Schluss so wenig Alkali übrig bleiben, dass es nicht mehr ausreicht, um bei der Siedhitze sämtliches Albumin in Lösung zu halten (52 p. 556).

es nicht möglich sei, ein durch Dialyse wirklich salzfreies Protein<sup>1)</sup> darzustellen; deshalb glaubt er auch nicht, dass das „Albumin“ für eine wasserlösliche Protein- substanz gehalten werden dürfe (52 p. 566)!

Zur Bestätigung von Heynsius' Ansicht könnten wir alles das anführen, was wir bei dieser Gelegenheit gesagt haben (N.N. 48—60 p. 133—43), und auch unsere eignen Beob- achtungen, die für das beständige Vorhandensein eines Alkali in dem sog. „salzfreien Al- bumin“ zeugen, auf welche Weise wir dieses auch erhalten hätten, (N.N. 48—60 p. 167—9).

Allgemeiner Charakter der natürlich vorkommenden Flüssigkeiten. 1. Die Globulate derselben. Die soeben dargelegten historischen Tatsachen im Verein mit den in den vorhergehenden Kapiteln analysirten Eigenschaften des Globulins sowie unsre eignen Beobachtungen berechtigen uns zu der Behauptung, dass die meisten Eigenschaften, die wir an den natürlich vorkom- menden Flüssigkeiten kennen, durch das Vorhandensein der schon von Denis in denselben angenommenen salz-alkalischen Globulinverbindung sich erklären lassen. Im wesentlichen stellen Schmidt-Aronstein dieselben Forderungen auf, damit ihr „salzfreies Albumin“ die Eigenschaften der gewöhnlichen proteinhaltigen Flüssig- keiten aufweise: sie tragen nur Salze hinein, da ihr „Albumin“ schon ein Alkali enthält. Von Rouelle, Fourcroy, Macquer u. and. beginnend, stimmen alle Autoren darin überein, dass es hauptsächlich die Alkalien sind, welche wenigstens einen Teil der Proteinkörper der tierischen Flüssigkeiten in Lösung erhalten. Folglich erscheint unser Schluss als eine Folgerung einer langen Reihe historischer Tatsachen.

Es versteht sich von selbst, dass wir uns gegenwärtig nicht die Aufgabe stel- len, alle Umstände, welche den flüssigen Zustand des Globulins in seinen verschie- denen natürlich vorkommenden Vehikeln, den sog. natürlich vorkommenden Flüssig- keiten, bedingen, aufzuhellen. Wir wenden unsre Aufmerksamkeit vornehmlich den in dem vorliegenden Teile unsrer Arbeit aufgeworfenen Fragen zu. Sowohl die in diesen Kapiteln mitgetheilten historischen Thatsachen als auch die geschichtlichen Angaben über die in den zehn ersten Aufsätzen beschriebenen Körper, sowie auch unsre eignen Beobachtungen geben uns das Recht, zu behaupten, dass alle von den verschiedenen Autoren aus irgend welchen Flüssigkeiten auf irgend eine Wei- se ausgeschiedenen Proteinniederschläge, welche Namen den erhaltenen Präpa- raten auch gegeben worden wären, ohne Ausnahme mineralische Basen enthalten, die nach dem Verbrennen der Präparate in der Asche dieser zurückbleiben. Wenn man für Globulin die reinen, aschenfreien Präparate ansieht, so stellen alle Niederschläge, alle Produkte der proteinhaltigen Flüs- sigkeiten, die bis jetzt den allgemeinen Namen „Globuline“ trugen, nämlich: das Pa- raglobulin, die fibrinoplastische Substanz, das Myosin, Casein u. s. w. (N.N. 41—7 p. 70, N.N. 48—60 p. 50 u. N.N. 61—67 p. 15, 42, 53; N.N. 68—74 p. 48; N.N. 75—80 p. 171, 231; N.N. 81—85 1. 68; N.N. 86—92 p. 168 u. N.N. 93—100 p. 279, 301, 314, 323, 334, 356), Verbindungen des reinen Globulins mit Basen und zwar Natrium-, Kalium-, Calcium- oder Magnesiumglobulate vor. Und je nach dem Agenten, welches die Ausscheidung des Präparats aus der natürlich vorkommenden Flüssigkeit bewirkt hat, kann das Globulin mannigfache Verbindungen bilden, welche den von uns für die complexen Globulinverbindungen vorgeschla- genen Schemata entsprechen (N.N. 86—92 p. 258 n. N.N. 93—100 p. 352). Der Vorzug

<sup>1)</sup> Ist also noch ein anderer Schluss möglich als dieser: dass dialysirte Eiweisslösungen, wenn sie wirklich neutral sind, beim Sieden gerinnen, und dass das Ausbleiben der Gerinnung bei dia- lysirten Eiweisslösungen von der nicht vollstän- digen Entfernung des Alkali's abhängt? Ich

glaube nicht und halte die Frage für erledigt...

.....  
Dass es also unmöglich ist, durch Dialyse salzfreies Albumin darzustellen, und dass man somit kein Recht hat, das Albumin eine in Wasser lösliche Eiweissart zu nennen (52 p. 566)

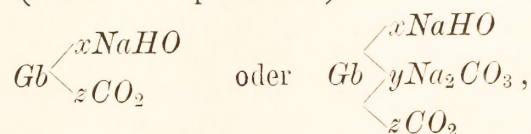
muss den genannten Basen gegeben werden, welche die Verbindungen auch charakterisieren; aus diesem Grunde stellen die Präparate der proteinhaltigen Flüssigkeiten im allgemeinen Globulate der genannten Basen mit dem von der Base bedingten Charakter (N.N. 81—85 p. 107—116) vor, von welcher vor allem die grössere oder geringere Löslichkeit der Verbindung abhängt.

Daraus erhellt, dass alles das, was von den Autoren Globuline, und das, was Albumine genannt wurde, seinem allgemeinen Charakter nach dieselben Verbindungen des Globulins mit Basen—Globulate—vorstellt! Der einzige Unterschied dieser Körper voneinander besteht erstens in der in die Verbindung getretenen Base, hängt zweitens, drittens u. s. w. von den verschiedenen chemischen Agentien ab, welche mit den schon vorhandenen Globulinverbindungen in chemische Verbindung mit einer Base treten. Für die Identität der ausgeschiedenen, jedoch durch keine starken chemischen Agentien veränderten Niederschläge, sei es auch nur mit dem, was jetzt „salzfreies Albumin“ genannt wird, oder—was die Sachlage besser erklärt—mit dem „dialysirten Serum oder desgl. Eiweiss“, zeugen die Reaktionen der genannten, unter gleiche Bedingungen gebrachten Körper. Ausser der Tatsache, deren wir schon öfters erwähnten, dass die aus ihren natürlichen Lösungen durch Salze ausgeschiedenen „Globuline“ der Autoren nach abermaligem Auflösen und Dialysiren Dialysate geben, welche allen an das „salzfreie Albumin“ (N.N. 48—60 p. 125—127 in Anmerkung, N.N. 48—60 p. 144, 167—9) gestellten Forderungen genügen, nehmen wir noch ein schneidendes und charakteristisches Beispiel, in welchem das „typische Globulin“ der Autoren dem neueren „typischen Albumin“ einander gegenübergestellt sind, wobei, bemerken wir, beide aus einer und derselben Flüssigkeit ausgeschieden wurden! 10-fach mit Wasser verdünntes Blutserum scheidet nach genügend langer Durchleitung von Kohlensäure „Serumglobulin, Paraglobulin, fibrinoplastische Substanz“, mit einem Worte „typisches Globulin“ aus. Andererseits gebe das Filtrat nach mehr oder weniger langer Dialyse nach vorangegangenen Ansäuern mit Essigsäure oder auch ohne Ansäuern „salzfreies typisches Albumin“. Man bringe diese beiden typischen Vertreter der zwei zugelassenen Gruppen Proteinkörper in gleiche Bedingungen, und die vollständige Identität derselben wird keinen Zweifel aufkommen lassen. So war Schmidt der erste, welcher beobachtete, dass das durch Kohlensäure aus 10-fach mit Wasser verdünntem Blutserum ausgeschiedene „typische Paraglobulin“ nach der Abtrennung von der Mutterlauge und zweitägigem Liegen an der Luft im feuchten Zustande sich in Wasser löste, wobei die Lösung alle Eigenschaften des Globulins aufwies, aber beim Kochen nicht gerann<sup>1)</sup>! Direkte Erklärungen dieser Erscheinung finden wir in den unmittelbaren Beobachtungen mancher Autoren. Heynsius behauptet, dass das Paraglobin eine alkalisch reagirende Asche hinterlasse, namentlich wenn es durch Kohlensäure ausgeschieden

<sup>1)</sup> Lässt man die frisch gefällte und abfiltrirte fibrinoplastische Substanz, welche ein schneeweisses breiges Ansehen hat, ein Paar Tage lose bedeckt (um das Eintrocknen zu verhüten) auf dem Filtrum liegen, so macht sie eine eigenthümliche Umwandlung durch. Sie verwandelt sich in eine durchscheinende, schwachgelbliche, klebrige, syrupöse Masse, welche in destillirtem Wasser ohne jeden Zusatz leicht löslich ist. Bei dieser Umwandlung büsst sie, soweit ich gesehen, keine einzige ihrer früheren Eigenschaften ein; die Lösung in destillirtem Wasser wirkt ungeschwächt fibrinoplastisch, durch Kohlensäure und verdünnte Essigsäure wird die Substanz gefällt, der Nie-

derschlag ist in verdünnten Alkalien, im Ueberschuss der Säure und in Kochsalz löslich; die rein wässrige Lösung dieser umgewandelten Substanz bleibt beim Sieden klar, die durch Kohlensäure oder Essigsäure aus der gekochten Lösung gefällte Substanz ist unlöslich in neutralen Alkalisalzen. Sammelt man die aus der Lösung in destillirtem Wasser durch Säure gefällte Substanz auf einem Filtrum, so erscheint sie wieder schneeweiss und breiig, ist wieder unlöslich in Wasser und verändert sich bei längerem Stehen nochmals in der angegebenen Weise... (102 p. 432).

wurde, während es bei der Ausscheidung durch Essigsäure eine weniger starkalkalisch-reagierende Asche liefert (51 p. 545). Bei Ssetschenoff finden wir unter anderm einen Hinweis darauf, dass das Paraglobulin „beim Ausfallen aus dem Serum stets eine gewisse, wenn auch unbedeutende Menge Alkali enthält“ (106 p. 85). Auch unsre eignen Beobachtungen haben uns mehr als einmal die Gegenwart eines Alkali in der Asche des „Paraglobins“ oder eines ihm ähnlichen Präparats gezeigt—wie wir auch schon erwähnten (N.N. 48—60 p. 167). Nicht weniger leicht ist es, sowohl aus normalen als aus pathologischen Flüssigkeiten „Paraglobulinpräparate“ darzustellen, die dieselben Reaktionen geben wie Schmidt's Präparat. Bei passender Verdünnung mit Wasser wird aus Hühnereiweiss, Blutserum, Bauchwassersucht- und Hydroceleflüssigkeit, sowie auch aus der Herzbeutelflüssigkeit u. dergl. nach mehr oder weniger langer Einwirkung von Kohlensäure ein Niederschlag erhalten, der wieder wasserlöslich wird, sobald wir ihn abtrennen und unter der Glocke der Luftpumpe über einem Ätzalkali von der Kohlensäure befreien. Beim Liegen an der Luft im feuchten Zustande wird ein gleiches beobachtet, doch geht der Prozess weit langsamer vor sich. Sowohl dort wie hier rötet der Niederschlag, der durch Kohlensäure frisch ausgeschieden wurde, den blauen Lakmus und entfärbt das rote Phenol-Phtalein, während nach der Entfernung der Kohlensäure der Niederschlag entweder eine neutrale oder eine alkalische Reaktion besitzt. Die Asche solcher Niederschläge reagiert sehr deutlich alkalisch. In dem Maasse, wie sich die Kohlensäure ausscheidet, verwandelt sich der trübe, undurchsichtige, flockige oder körnige weisse, Niederschlag in eine durchscheinende, geléeartige, dehnbare, farblose Masse, die sich leicht in destillirtem Wasser löst. Die erhaltene Lösung besitzt alle Eigenschaften des sog. „salzfreien Albumins“, wie es von Aronstein und Schmidt beschrieben wurde (N.N. 48—60 p. 134—144)! Offenbar stellen die auf dieselbe Weise wie das „Paraglobulin“ erhaltenen Niederschläge hauptsächlich eine basische Verbindung vor, welche ihrerseits mit der Kohlensäure in Verbindung getreten ist, z. B. nach dem Typus-Schema (N.N. 86—92 p. 256—8):



weshalb dieselbe unter den gegebenen Bedingungen sich teilweise aus der Lösung ausscheidet. Man braucht diesen Niederschlag nur von dem Kohlensäureüberschuss zu befreien, um ihn in eine wasserlösliche Verbindung überzuführen. Wir haben schon genug darüber gesagt, warum unter denselben Bedingungen nicht sämtliches Globulin sich aus der Lösung ausscheiden kann (N.N. 81—85 p. 114).

Durch Fällung mit Essigsäure gelingt es nicht, oder doch nur sehr schwer solch ein lösliches Paraglobulin darzustellen. Bei Schmidt finden wir Angaben, wenn auch vereinzelt, über die Gewinnung des wasserlöslichen Globulins. Die Schwierigkeit besteht darin, dass die Entfernung der Essigsäure mittels der Luftpumpe schwer von statten geht, hauptsächlich aber auch noch darin, dass diese im Vergleich mit der Kohlensäure viel energischere Säure mit dem Salz des grösseren Theils der Basen des Globulats in Verbindung tritt. Jedenfalls muss man bei diesen Versuchen hinlänglich mit Wasser verdünnen und mit möglichst geringen Quantitäten verdünnter Essigsäure fällen.

Hier ist eine Erklärung am Platz, damit das, was wir über den erwähnten Übergang der Globulinniederschläge in den unlöslichen Zustand gesagt, nicht etwa zu einem Misverständnis Veranlassung gebe. Ein solcher Übergang bezieht sich auf die ausgewaschenen Niederschläge, wo, wie in Scherer's Fall (N.N. 93—100 p. 359) mit dem

getrockneten Serum, die Waschwässer die mittels Diffusion entzogenen Basen fortführen, während das Globulat noch nicht Zeit gehabt hat, sich aufzulösen. Endlich bezieht sich jene Erscheinung hauptsächlich auf die Kohlensäure. Bei Heynsius finden wir überdies eine Bestätigung unsrer Erklärung: nachdem das durch Kohlensäure ausgefällte Paraglobulin ausgewaschen ist, wird eine weniger scharf-alkalisch reagierende Asche erhalten wie auch in dem Falle, wenn das Globulin durch Essigsäure gefällt wird (51 p. 545). Dasselbe findet auch Kühne (69 p. 175). Die passende Anwendung einer und derselben Behandlung, nämlich sukzessive Verdünnung der Flüssigkeit mit Wasser und wiederholte Behandlung mit Essigsäure, führt, wie Eichwald (N. N. 48—60 p. 132 u. N. N. 93—100 p. 376) zuerst gezeigt hatte, unfehlbar zu der Ausscheidung des sämtlichen „Albumins“.

Nach der Entfernung des Kohlensäure gehen alle solche Niederschläge in Lösung über und reagiren ebenso wie das „dialysirte Albumin“. Schliesslich und gleichsam als Bestätigung desselben Gedankens kennen wir ein natürliches Eiweiss, welches in der Wärme nicht gerinnt, nämlich dasjenige der Nesthocker, oder das mit wenig Wasser verdünnte Eiweiss der Schwimmvögel (N. N. 48—60 p. 68—75), welches eine deutlich alkalische Reaktion besitzt und eine noch schärfer alkalisch reagierende Asche zurücklässt. Gleiche Resultate können übrigens auch auf eine andere Weise und ebenfalls ohne tiefgehende Veränderungen der basischen Verbindung erreicht werden. Sowohl durch vollständige als durch partielle Fällung des Proteins des Serums, des mit Wasser verdünnten und filtrirten Eiweisses und der übrigen obenerwähnten Flüssigkeiten mit neutralen Alkalisalzen, am besten mit Ammoniumsulfat, gewinnen wir die Möglichkeit, zu zeigen, dass ein jeder dieser Niederschläge nach der Auflösung in Wasser und Dialyse Lösungen bildet, die sich von dem „dialysirten Albumin“ in nichts unterscheiden. Zu gunsten dieser Tatsachen haben wir schon eine genügende Anzahl sowohl historischer als auch auf eigene Erfahrung begründeter Argumente angeführt (N. N. 48—60 p. 163—172); dennoch ist es interessant sich ins Gedächtniss zu rufen, dass z. B. Gautier (30 p. 227) fand, eine dialysirte Salzfibrinlösung sei beim Kochen nicht fällbar. Noch frappantere Beispiele führt Hammarsten an: durch Salzsäure aus Serum ausgefälltes, in Chlornatrium aufgelöstes, dann dialysirtes „Paraglobulin“ schied sich aus der Flüssigkeit nicht vollständig aus. Sogar durch Kochen konnte es aus der Lösung nicht ausgeschieden werden; andererseits aber wurde bei Gegenwart einer unbedeutenden Menge Essigsäure durch Kochen Fällung hervorgerufen (45 p. 474—5)! Ein nicht geringeres Interesse bietet die Unfähigkeit einer Salzlösung durch Dialyse ausgeschiedenen „Paraglobulins“ bei abermaliger Dialyse auszufallen! Nicht minder charakteristisch sind andere Versuche Hammarsten's (ib. p. 477, 489). Diese Eigentümlichkeit des dialysirten „Paraglobulins“ ist Hammarsten geneigt der Anwesenheit eines Alkali im Präparat zuzuschreiben (ib. p. 500). Hammarsten's Spuren folgt sein Schüler Sebelien, der nicht weniger als sein Lehrer über den Umstand verwundert war, dass auch das Casein aus einer Salzlösung durch Dialyse nicht ausfällt (104 p. 447)! In all diesen Fällen lasse sich in der Asche des Dialysats die Anwesenheit eines Alkali nachweisen! In all diesen Fällen haben wir immer Verbindungen vom Typus der Bas-saloglobine (N. N. 86—92 p. 257) vor uns, die bei einem gewissen Salzüberschuss ausfallen und durch Dialyse sich bis zu Alkali- oder Erdalkaliglobulaten zersetzen (N. N. 81—85 p. 107—109).

In der Tat können sowohl die genannten Präparate als auch Aronstein-Schmidt's „salzfreies Albumin“ beim Eindampfen die den Alkaliverbindungen des Globulins eigentümlichen Gallerten bilden. Dass Aronstein-Schmidt's „salzfreies Albumin“ eine Alkaliverbindung des Globulins bildet, beweist ausser den direkten An-

gaben der Autoren (38 p. 831; N.N. 93—100 p. 379) auch noch der Umstand, dass dasselbe von Salzen gleich einem künstlich bereiteten Globulat gefällt wird (1 p. 84—5; N.N. 48—60 p. 169). Ein fast eben solches, in Wasser lösliches und bei einem gewissen Grad von Verdünnung in der Wärme nicht gerinnendes Präparat wird beim Abdampfen an der Luft oder in einem luftleeren, jedenfalls kohlenstofffreien Raum bei möglichst niedriger Temperatur, unter  $30^{\circ}$ — $35^{\circ}$  <sup>1)</sup>, erhalten. Über die Gewinnung solcher Präparate haben wir schon ausführlich gesprochen (N.N. 48—60 p. 72—76); deshalb erwähnen wir hier nur noch, dass dieselben bei verhältnismässig geringer Verdünnung mit Wasser „salzfreies Albumin“ und bei einem gewissen Konzentrationsgrade durchscheinende geléeartige Massen ausscheiden (ib.)! Führt man jedoch fort entweder solche, oder nach der Darstellungsmethode des „Paraglobulins“ erhaltene Präparate, oder auch „salzfreies Albumin“ längere Zeit zu dialysiren, so beginnt die Lösung, welche die Fähigkeit, beim Kochen zu gerinnen, eingebüsst hatte, in dem Maasse, wie ihr die Alkalien entzogen werden, sich zu setzen, aber schon bei weniger hoher Temperatur, und schliesslich zeigen sich Niederschläge schon bei Zimmertemperatur. Heynsius bemerkte, dass, je weniger Asche das „salzfreie Albumin“ in dieser Periode enthielt, desto niedriger die Temperatur der Fällung desselben war <sup>2)</sup>. Bei Haas finden wir, dass die Fällungstemperatur der proteinhaltigen Flüssigkeiten bei der Dialyse nach kurzer Steigerung in dem Maasse, wie dieselben an anorganischen Substanzen ärmer werden, fällt (307 p. 813): nachdem der Aschengehalt in dem dialysirten Eiweiss bis 0,81% (?) gefallen war, war die Fällungstemperatur  $59,6^{\circ}$ ! Diese Fälle gehören in dieselbe Kategorie wie diejenigen, wenn die gallertartigen Massen eines „Alkalbumins“ und trocknes Serum mit Wasser gewaschen werden: das Wasser führt das Alkali fort, ehe die Verbindung Zeit gehabt hat, sich aufzulösen (N.N. 48—60 p. 100). Man darf frei behaupten, dass in allen Fällen von Dialyse nach Aronstein-Schmidt's, Hamarsten's und dergl. Methoden in der Wärme keine Fällung erfolgte, solange die Asche eine kaum noch unterscheidbare alkalische Reaktion zeigte; sobald diese aber geschwunden war, schieden sich Flocken schon bei Zimmertemperatur aus. Weit besser geht die Ausscheidung von Niederschlägen aus dem Dialysat bei vorangegangener wiederholter Neutralisation oder Ansäuerung vor sich. Dasselbe beobachtet man auch an einer künstlichen Lösung von Alkaliverbindungen des Globulins. Wenn zu einer solchen soviel Salz zugesetzt wird, dass die Fällung des Gemenges z. B. bei  $50^{\circ}$  stattfindet, so steigt die Temperatur bei der Dialyse rasch z. B. bis  $80^{\circ}$ ,  $90^{\circ}$ , dann langsam bis  $100^{\circ}$ , und beginnt dann bei fortgesetzter Dialyse noch langsamer zu fallen. Die Steigerung der Temperatur geht Hand in Hand mit der Verminderung des Salzgehalts, das Fallen derselben—mit der Verminderung des Alkaligehalts. Dasselbe beobachtet man auch an den natürlich vorkommenden Salzlösungen des Globulins. Ähnliche Erscheinungen beobachtete auch Heynsius (52 p. 556).

Hierher gehören auch die seit Macquer (80 p. 456) bekannten Beobachtungen, dass die in den proteinhaltigen Flüssigkeiten durch Alkohol erzeugten Niederschläge

<sup>1)</sup> Wenn Miller und nach ihm Ssetschenow (N.N. 48—60 p. 73) unter diesen Bedingungen undurchsichtige Niederschläge—coagula—erhielten, so geschah dies nur infolge der hohen Temperatur ( $50^{\circ}$  bei Miller, ib.), bei der das Auspumpen der Luft vorgenommen wurde, und auch des heissen Wassers, mit welchem sodann die Versuchsflüssigkeit behandelt wurde.

<sup>2)</sup> Zu gleicher Zeit bemerkte ich jedoch, dass, je mehr der Gehalt an Asche sank, die Löslichkeit

des Albumins bei Erwärmung nicht zu—, sondern abnahm.... Sind erst die löslichen, neutralen Salze entfernt, — welcher Punkt schon bald erreicht wird,—so wird bei fortdauernder Dialyse immer mehr von dem langsamer dialysirenden Alkali entzogen werden und zum Schluss so wenig Alkali übrig bleiben, dass es nicht mehr ausreicht, um bei der Siedehitze sämtliches Albumin in Lösung zu halten (52 p. 556).

sich in Wasser lösen, wenn sie aus der Mutterlauge sofort entfernt werden. Auch Berzelius erklärte diese Löslichkeit durch die Gegenwart eines Alkali (3 p. 63). In der Tat: welchen Niederschlag bei der fraktionirten Fällung der proteinhaltigen Flüssigkeiten wir auch nehmen, dessen Asche reagirt immer stark alkalisch. Bei längerer Einwirkung des Alkohols lösen sich die erwähnten Niederschläge in Wasser trotz der Gegenwart eines Alkali entweder schwer oder garnicht, was schon von tieferen Veränderungen des Globulins abhängt (N.N. 93—100 p. 351). Dasselbe kann auch in bezug auf das durch Alkohol gefällte (N.N. 68—74 p. 57) und dann mit Äther behandelte Casein gesagt werden, wie wir bei Berzelius (4 p. 677) und in neuerer Zeit bei Hammarsten (N.N. 68—74 p. 85) erwähnt finden. Nur durch die Gegenwart eines Alkali lässt sich die Wasserlöslichkeit des zuerst bei Zimmertemperatur getrockneten, dann bis über 100° erhitzten Eiweisses, Serums u. dergl., wie sie z. B. von Chevreul (13 p. 41), Brücke, Lewith (75 p. 341) u. andr. beobachtet wurde, erklären. Hier kann nur der Kern der Verbindung—das Globulin—indem ihm sein Wasser entzogen wird, eine Veränderung erfahren (N.N. 93—100 p. 349), was auch nach der Zerstörung der Verbindung, bei der Verbindung der Base mit der Säure, zu tage tritt.

Etwas ganz anderes sehen wir, wenn reines Hydroglobin (N.N. 93—100 p. 348) oder genau neutralisirte proteinhaltige Flüssigkeiten einer ähnlichen Behandlung unterworfen werden: es werden in allen Fällen stark veränderte, in Wasser unlösliche und in den übrigen Agentien sehr schwer lösliche Präparate erhalten (N.N. 93—100 p. 349).

A. Bedeutung der Kohlensäure. Nicht alle in den natürlich vorkommenden Flüssigkeiten beobachteten Erscheinungen lassen sich jedoch auf die Gegenwart von Salzen zurückführen. Offenbar muss in all diesen Fällen eine Mitwirkung von Kohlensäure angenommen werden. Sobald diese entfernt ist, büsst die Flüssigkeit die Fähigkeit zu gerinnen ein (N.N. 48—60 p. 74). Andererseits sind direkte Angaben Eichwald's vorhanden, die Aronstein-Schmidt's Lehre über die Bedeutung der Salze in den natürlich vorkommenden Flüssigkeiten bei der Einwirkung der Wärme auf dieselben geradeswegs widersprechen (N.N. 48—60 p. 135). Diese Angaben sind dadurch interessant, dass sie noch vor Aronstein-Schmidt's Arbeiten veröffentlicht wurden und geradezu erklären, dass das Diffusat des Blutserums, in welches die Salze und ein Teil des Proteins übergegangen sind, nach der Einengung durch Abdampfen im Wasserbade beim Kochen keinen Niederschlag ausschied, wobei aber Essigsäure Fällung bewirkte <sup>1)</sup>. Aronstein und Schmidt waren sowohl diese von Eichwald gemachten Beobachtungen als auch diejenigen anderer Autoren über die von den Gasen befreiten proteinhaltigen Flüssigkeiten (N.N. 48—60 p. 72—77) unbekannt, infolgedessen sie die Gerinnbarkeit dieser letzteren fälschlich mit der Gegenwart von Salzen verknüpften. Offenbar ist dem Einfluss der Basen vor allem derjenige der Kohlensäure auf die Reaktionen, welche die proteinhaltigen Flüssigkeiten von jeher charakterisieren, anzureihen, und kommt die Einwirkung der Salze auf die Gerinnungstemperatur und die übrigen Reaktionen dieser Flüssigkeiten erst in zweiter Reihe.

Auf den Einfluss der Kohlensäure auf Paraglobulinlösungen in sehr geringen Mengen Natron wies Schmidt hin: bei der Durchleitung von Kohlensäure falle das Globulin aus, oder, richtiger gesagt, es werde ein Niederschlag erhalten, der

<sup>1)</sup> Die Fähigkeit, aus alkalischer, salzhaltiger Lösung durch Pergamentpapier gegen Wasser zu diffundiren, kann also dem Serumalbumin nicht vollständig abgesprochen werden, doch ist diese Fähigkeit sehr gering. Und in der Anmerkung: Aehnliche Resultate habe ich bereits früher bei

Diffusionsversuchen mit nativem Serum erhalten; es war dabei auffallend, dass das im Wasserbade concentrirte Diffusat gleichfalls bei einfachem Aufkochen klar blieb, aber beim Erhitzen unter Zusatz von  $C_2H_4O_2$  gerann (24 p. 103).

sich in der Mutterlauge wieder auflöse, sobald die Kohlensäure durch einen Luft- oder Sauerstoffstrom verdrängt wird (101 p. 437). Auf eben solche Weise werde das durch Alkohol-Äther ausgeschiedene Fibrinogen nach der Auflösung in einer ganz unbedeutenden Menge Natron durch Kohlensäure gefällt und löse sich bei der Verdrängung dieser durch Sauerstoff wieder auf (ib. p. 539). Nicht weniger interessante Angaben finden wir bei Kühne (69 p. 168), der Schmidt's Spuren folgte. Auf dem Filter sogar mit kohlensäurehaltigem Wasser gewaschenes und in Wasser suspendirtes Paraglobulin löse sich in demselben auf, nachdem die Kohlensäure durch Sauerstoff verdrängt worden ist. Die sehr schwach opalisirende Flüssigkeit werde durch Kohlensäure wieder gefällt; letztere fälle auch eine Alkalilösung. Die erhaltenen Lösungen würden durch die Wärme nicht gefällt.

Um ähnliche Niederschläge durch Einwirkung von Kohlensäure aus Milch zu erhalten, braucht man nicht Soxhlet's (109 p. 120) Beispiel zu folgen, der das Casein mittels Kohlensäure fällte, nachdem er die Milch mit Essigsäure bis zum Moment der Ausscheidung des „Caseins“ angesäuert hatte. Besser ist folgendes Verfahren: frische Milch wird in kleinen Porzionen, nach Belieben tropfenweise oder in einem feinen Strahl, in Wasser, welches in der Kälte mit Kohlensäure gesättigt wurde, eingetragen. Der dabei sich bildende massige Niederschlag verhält sich nach der Verdrängung der Kohlensäure im allgemeinen wie das Paraglobulin. Durch diese Beobachtungen wird auch die Milch den durch Kohlensäure fällbaren proteinhaltigen Flüssigkeiten angereicht. Streng genommen, findet hier derselbe Prozess—Verdünnung mit Wasser und Einwirkung von Kohlensäure—wie z. B. im Serum u. dergl. statt (N.N. 48—60 p. 126).

Wie wir schon erklärt haben, spielt in all diesen Fällen der Sauerstoff eine passive Rolle, und es kann von der Auflösung des Globulins in demselben nicht die Rede sein (N.N. 93—100 p. 327). Heynsius' Beobachtungen bestätigen unsere Ansicht in vollem Maasse. Derselbe fand, dass die durch Kohlensäure erzeugten Paraglobulin-niederschläge nach der Verdrängung derselben nicht nur durch Sauerstoff sondern auch durch Wasserstoff sich in Wasser lösten<sup>1)</sup> und die Eigenschaften einer Alkaliverbindung des Globulins oder des „salzfreien Albumins“—Unfällbarkeit beim Kochen und durch Alkohol—zeigten. Dass die mit dem Globulin verbundenen Basen sich bei der Fällung und Auflösung von demselben nicht trennen, beweist der Umstand, dass eine Wiederholung des Durchleitens und Verdrängens der Kohlensäure dieselben Resultate liefert: bei Heynsius finden wir Angaben über eine dreimalige Fällung und Auflösung eines und desselben Präparats durch sukzessive Einleitung und Entfernung von Kohlensäure<sup>2)</sup>. Diese durch neue Beobachtungen bestätigten Tatsachen lassen Heynsius mit Sicherheit behaupten, dass nach der Entfernung der Kohlensäure, welche das Paraglobulin ausgefällt hatte, letzteres auf Kosten der in demselben vorhandenen Alkalien sich wieder auflöst<sup>3)</sup>. Zugleich zeigten

1) Nachdem der Wasserstoff oder der Sauerstoff einige Zeit eingewirkt hatte, wurden die Flüssigkeiten filtrirt. Die Filtrate gerannen nicht bei Erhitzung und wurden durch absoluten Alkohol nicht gefällt, während — auch wenn das Filtrat wasserklar war — beim Durchleiten von Kohlensäure ein Niederschlag entstand (50 p. 17).

2) . . . . aber sogar nach dreimaliger Fällung durch Kohlensäure und Auflösen in Sauerstoff konnte ich das durch Kohlensäure gebildete Präcipitat doch noch zum Theil mit Sauerstoff lösen (50 p. 16).

3) Die Löslichkeit des Paraglobulins in O (wie einige Autoren z. B. gaben—N.N. 93—100 p. 327) ist

also keine Eigenthümlichkeit des Paraglobulins, sondern eine von Beimischungen abhängige Erscheinung, wie ich das schon früher wahrscheinlich gemacht habe. . . . Paraglobulin hinterlässt demgemäss, so lang es noch in O und H löslich ist, beim Verbrennen Asche, die dem Wasser eine alkalische Reaction mittheilt. Wenn es längere Zeit ausgewaschen ist—was, wie jeder weiss, der die Versuche selbst angestellt hat, nicht immer einerlei gelingt—hauptsächlich wenn es durch Essigsäure gefällt ist, so hinterlässt es beim Verbrennen freilich noch Spuren von Asche, diese ertheilt dem Wasser aber keine alkalische Reaction (51 p. 545).

„sorgfältige“ von Heynsius angestellte Untersuchungen (50 p. 15), dass nicht nur das „Paraglobulin“ sondern auch das „Fibrinogen“, die Alkalialbuminate, das Myosin und das Fibrin nach deren Fällung durch Kohlensäure sich in Wasser lösen, nachdem die Kohlensäure durch Sauerstoff oder Wasserstoff aus demselben verdrängt worden ist <sup>1)</sup>.

Dass dieses Verhalten der Globulinverbindungen gerade durch die gleichzeitige Anteilnahme von Basen und Kohlensäure in der Verbindung bedingt ist, zeigen sowohl Kühne's (69 p. 175), als auch Heynsius' (52 p. 545) und unsre eignen Beobachtungen: wenn zum Fällen der proteinhaltigen Flüssigkeit anstatt Kohlensäure eine andre Säure benutzt wird, wobei die Möglichkeit der Bildung beständigerer Verbindungen der Säure mit der Base gegeben ist, so bleibt die Einwirkung indifferenten Gase sowie das Auspumpen ohne Wirkung: die Präparate treten ihre Säure nicht ab, wie das mit der Kohlensäure der Fall ist, lösen sich folglich in Wasser nicht auf. Gleicherweise löst sich auch das „Paraglobulin“ nach eifrigem Waschen mit Wasser gleich dem getrockneten Serum und Eiweiss in Wasser nicht auf, wie lange Sauerstoff auch durchgeleitet werde, wie Brücke gezeigt hat (10 p. 812). Dasselbe beobachtete auch Heynsius in betreff der „Alkalialbuminate“ (50 p. 15).

Es war ganz natürlich zu erwarten, dass in Fällen, wo die Möglichkeit vorliegt, die Kohlensäure zu entfernen, ohne eine neue Säure einzuführen, eine stärker alkalisch reagirende Flüssigkeit entsteht. So bemerkte Heynsius, dass dialysirtes Hühnereiweiss nach dem Kochen mehr Säure zur Fällung bedurfte als vorher (52 p. 574). Gerhardt (34 p. 477) beobachtete, dass durch Kochen das Serum und das Eiweiss stärker alkalisch reagierten. Auch Kühne bestätigt die Steigerung der Alkaleszenz des Serums nach dem Kochen sogar in dem Falle, wenn die Flüssigkeit genau neutralisirt und dann bis 75° gewärmt worden war <sup>2)</sup>. Erscheinen oder Verstärkung der alkalischen Reaktion beobachtete Kappeler nach dem Erwärmen neutraler und schwach alkalischer „Caseinlösungen“ (62 p. 52—3). Nicht minder interessant sind Eichwald's Angaben darüber, dass eine neutrale Alkaliverbindung des „Paraglobulins“ auch bei Gegenwart von Salzen nach vorhergegangenen Ansäuern bis zur Rötung des Lakmuspapiers beim Kochen wieder alkalisch reagirt <sup>3)</sup>.

Zwar müssen wir hier auch den durch die Spaltung der Globuline bedingten Erscheinungen Rechnung tragen, die noch besser für die Beständigkeit der Verbindung des Globulins mit den Alkalien zeugen; doch kann nicht geleugnet werden, dass bei langsamem und vorsichtigem Erwärmen Fällung auch nicht erfolgen kann, während eine solche bei gewöhnlichem Erwärmen immer stattfindet (N. N. 48—60 p. 75 u. N. N. 75—80 p. 261). Im ersteren Falle sind günstigere Bedingungen für die Entfernung der Säure, im zweiten—für die unmittelbare Verbindung der Kohlensäure mit den mit dem Globulin verbundenen Basen vorhanden. Deshalb fehlt es Kossel's Ansicht, dass die Proteinsubstanzen in ihren natürlichen Verhältnissen (dem Serum) auf Kosten des Natriumcarbonats gelöst sind (66 p. 176), an der nötigen Begründung. Entsprechende Globulinmengen, in gleichen Quantitäten Natriumcarbonat aufgelöst, werden

<sup>1)</sup> Eine genaue Untersuchung hat mir gezeigt, dass nicht nur Paraglobulin und fibrinogene Substanz, sondern auch Alkalialbuminat, Myosin und Fibrin durch Kohlensäure in Wasser gelöst werden, wenn man geräumige Zeit einen Strom reinen Sauerstoffes oder Wasserstoffes durchleitet (50 p. 15).

<sup>2)</sup> . . . . darüber giebt die stark alkalische Reaction der Flüssigkeit Aufschluss, welche selbst

dann noch deutlich auftritt, wenn eine ursprünglich genau neutralisirte Lösung des Serumalbumins bei 75° theilweise coagulirt wurde (69 p. 177).

<sup>3)</sup> Eine solche nach Salzzusatz durch Hitze coagulirte Lösung reagirt nach dem Erkalten alkalisch, selbst wenn sie vorher rothes Lakmuspapier gar nicht bläute (24 p. 32).

in der Wärme nicht gefällt! Andererseits erfolgt keine Fällung, wie sehr wir die Natriumcarbonat enthaltende Globulinlösung mit Wasser auch verdünnen; die Verbindung des Globulins mit dem Alkali und der Kohlensäure vom Typus der Basacidoglobine (N.N. 86—92 p. 255; N.N. 93—100 p. 384) werden jedoch durch Wasser zersetzt, wobei ein grösserer oder kleinerer Teil des Alkali sich mit der Kohlensäure verbindet und das Globulin sich ausscheidet. Endlich kann in eine konzentrierte Alkaliglobulinlösung längere Zeit Kohlendioxydgas eingeleitet werden, ohne dass Fällung erfolgt; wird aber eine solche mit Kohlensäure gesättigte Lösung in eine grosse Menge Wasser gegossen oder gewärmt, so scheidet sich sogleich ein Niederschlag aus.

Durch die Gegenwart der Kohlensäure erklärt sich auch der Umstand, dass die kohlensäurehaltigen Flüssigkeiten auch weit schneller und vollkommener von Salzen gefällt werden als die kohlensäurefreien. Dies erklärt sich auch dadurch, dass die sauren oder basaciden Globulinverbindungen von Salzen leichter gefällt werden als die einfach basischen (N.N. 86—92 p. 259).

Zu gunsten einer basischen Verbindung des Globulins in den proteinhaltigen Flüssigkeiten zeugt auch noch der Umstand, dass bei vorsichtiger Neutralisation derselben mit Essigsäure oder Phosphorsäure keine Fällung erfolgt, wie das schon den älteren Autoren, z. B. Brücke (10 p. 894—5), bekannt war. Auf Grund unserer eignen Beobachtungen können wir Folgendes sagen: die natürlich vorkommenden proteinhaltigen Flüssigkeiten werden nicht gefällt, mit welcher Säure wir auch neutralisieren mögen, wenn nur das auf Kosten der eingetragenen Säure und der in Verbindung mit dem Globulin vorhandenen Base neugebildete Salz qualitativ oder quantitativ Kraft genug besitzt, das aus der Verbindung austretende Globulin in Lösung zu erhalten! Daraus folgt klar, dass diesen Anforderungen am besten diejenige Säure genügt, welche mit den Basen des Globulins die leichtlöslichsten und das Globulin am leichtesten lösenden Salze bildet. Dem Gesagten gemäss erscheint die Kohlensäure als die für diesen Fall passendste.

Es genügt, das Lösungsvermögen (N.N. 93—100 p. 377) der neuentstandenen Salze durch Verdünnung mit Wasser herabzusetzen, damit das Globulin sich zum Teil ausscheide (N.N. 75—80 p. 240). Dieselbe Erscheinung muss auch bei vorangegangener Verdünnung der Flüssigkeit mit Wasser erwartet werden.

Hier ist es am Platze, sich das von uns über die Unfähigkeit der proteinhaltigen Flüssigkeiten, bei Abwesenheit von Kohlensäure gefällt zu werden, Gesagte (N.N. 48—60 p. 71—6) ins Gedächtnis zu rufen. Besonders interessant sind in dieser Beziehung Mathieu & Urbain's (N.N. 48—60 p. 73 u. 75) Beobachtungen, welche gezeigt haben, dass mit Wasser verdünntes Hühnereiweiss und Serum nach der Verdrängung der Kohlensäure aus denselben ihre Gerinnungsfähigkeit in der Wärme einbüßen. Gautier bestätigt diese Beobachtungen nur deshalb nicht, weil seine Versuche nicht dieselben Resultate lieferten, wie die von Mathieu & Urbain angestellten. Gautier „reinierte durch einige Tropfen Essigsäure und Filtration“ oder verdünnte das Eiweiss unmittelbar mit 2—3 Vol. Wasser und wirkte auf dasselbe mit der Quecksilberpumpe und einem Wasserstoffstrom ein. Die erste Behandlungsmethode ist für die Veranschaulichung des Einflusses der Kohlensäure ganz untauglich; bei der zweiten war das Eiweiss ungenügend mit Wasser verdünnt, und dies erklärt die negativen Resultate, die Gautier erhielt. Nachdem aber dieser Autor Eiweiss bei niedriger Temperatur getrocknet und den Trockenrest aufs neue aufgelöst hatte, bemerkte er, dass die Lösung beim Kochen nicht gerann, dass aber nach dem Einleiten von Kohlensäuregas und nachherigem Kochen „Gerinnung“ stattfand (31 p. 51). Gautier erwidern, bemerkt Urbain (113 p. 484), dass es genüge, Hühnereiweiss mit 8—10

Vol. Wasser zu verdünnen und dann bei Zimmertemperatur zu trocknen, um nach der Auflösung des Trockenrests eine kohlenstofffreie und in der Wärme nicht gerinnende Flüssigkeit zu erhalten. Gautier (31 p. 529) war genötigt einzugestehen, dass er Urbain & Mathieu's Versuche eigentlich nicht wiederholt, sondern das von ihm Mitgeteilte zufällig beim Einleiten von Wasserstoff in 3-fach mit Wasser verdünntes und mit Essigsäure angesäuertes Hühnereiweiss beobachtet hatte <sup>1)</sup>. Und wirklich, ein Jahr später wiederholte Gautier Urbain & Mathieu's Versuche und überzeugte sich natürlich von der Richtigkeit ihrer Schlüsse; ausserdem bemerkte er, dass es bei weitem leichter sei, die Kohlensäure aus verdünntem Eiweiss zu entfernen. Beim Erwärmen der von der Kohlensäure befreiten Flüssigkeit bleibt fast die sämtliche Proteinsubstanz in der Lösung, obgleich es in dem von uns schon beschriebenen Sinne modifiziert ist (N.N. 93—100 p. 350—1): trotzdem das Protein beim Erhitzen nicht ausfiel, hatte es sich verändert und die Fähigkeit erworben, nach dem Erkalten der Flüssigkeit sowohl von sehr verdünnten Säuren als auch von Kohlensäure gefällt zu werden (32 p. 2).

Der ungenügende Kohlensäuregehalt in dem Eiweiss der Nesthocker dürfte die Bildung einer gallertartigen, mit einer Alkaliverbindung des Globulins identischen Masse aus demselben erklären. Wie sehr Tarchanoff die Selbständigkeit seines „Albumins“ in den von ihm untersuchten Eiweissen solcher Vögel auch verteidigte, musste er dennoch gestehen, dass auch „diese Art Eiweiss bei Gegenwart von CO<sub>2</sub> in eine andere (?) Modification des Eiweisses übergeht, die dem Aussehen nach sich vom gewöhnlichen Hühnerweiss nicht unterscheidet“ (110 p. 78—9: 111 p. 303).

Dieses Verhalten der Kohlensäure zu den proteinhaltigen Flüssigkeiten erklärt viele in denselben vorkommende Erscheinungen. Vor allem ist es die Unfähigkeit des Serums und des Eiweisses, zu gerinnen, nachdem dieselben bei niedriger Temperatur getrocknet und wieder aufgelöst worden sind, die unsere Aufmerksamkeit auf sich zieht. Die bei dieser Behandlungsweise der proteinhaltigen Flüssigkeiten abgetriebene Kohlensäure ist es leicht, durch Einleiten neuer zu ersetzen und dadurch diesen Flüssigkeiten ihre Eigenschaft, durch Wärme, Wasser u. s. w. (N.N. 48—60 p. 74) gefällt zu werden, wiederzugeben. Zu dieser Kategorie von Behandlungsmethoden gehört auch das Erwärmen der Flüssigkeiten, doch nicht über 50°, wodurch in der Wärme ungerinnbare Präparate erhalten werden. Das Abtreiben der Kohlensäure aus den proteinhaltigen Flüssigkeiten kann sowohl mittels sich indifferent verhaltender Gase als z. B. mittels Äther geschehen. Zwar fällt bei der Einwirkung von Äther ein Teil des Proteins aus, dennoch aber gerinnt der andre Teil nach der Entfernung des Äthers in der Wärme nicht (N.N. 48—60 p. 76). Überdies bemerkte schon Denis, dass mit Äther behandeltes Serum die Eigenschaft einbüsst, selbst beim Sättigen mit Magnesiumsulfat und Chlornatrium auszufallen.

In der Tat bewirkt Entziehung von Kohlensäure den proteinhaltigen Flüssigkeiten oder ihr Einleiten in dieselben deren Fällbarkeit oder Unfällbarkeit in der Wärme. Salze in solchen Mengen, wie sie gewöhnlich in den uns interessirenden proteinhaltigen Flüssigkeiten vorhanden sind, üben keinen wesentlichen Einfluss auf die Fällungstemperatur aus. Dem Gesagten gemäss genügt es, um ein Gemenge oder eine Verbindung darzustellen, die in allgemeinen, gröberen Zügen den natürlich

<sup>1)</sup> . . . . . mais ayant eu l'occasion de faire passer de l'hydrogène à travers de l'albumine d'oeuf maintenue à 36° dans un vide partiel et prolongé, il n'a pu constater la non-coagulation de l'albumine, quoique dans ces conditions il lui paraît que l'acide carbonique dissout aurait dû être

entraîné par l'hydrogène. L'expérience précédente a été faite d'ailleurs avec du blanc d'oeuf étendu de trois fois son volume d'eau et légèrement acidulé par une trace d'acide acétique (31 p. 529).

vorkommenden Flüssigkeiten gleichkomme, eine Globulinlösung mit möglichst geringem Alkali- oder Erdalkaligehalt zu nehmen und dieselbe mit einer genügenden Menge Kohlensäure zu versehen. Eine solche Verbindung wird von Wärme, Wasser, Salzen u. s. w. gefällt und besitzt im allgemeinen die Eigenschaften der proteinhaltigen Flüssigkeiten.

Nach allem Dargelegten bleibt wohl kaum noch ein Zweifel darüber übrig, dass sowohl das historische als das „salzfreie Albumin“ eine Verbindung des Globulins mit Basen ist! Von diesem Standpunkt aus hat Brücke und noch mehr Heynsius recht, dass sowohl das „Albumin“ als auch das Paraglobulin ein „Albuminat“ vorstellt (52 p. 586)! Andererseits ist das „salzfreie Albumin“ an sich selbst schon eine Verbindung des Globulins mit einem Alkali, d. h. die Benennungen „Alkalialbuminat“ und „Albumin“ sind Synonyme einer basischen Globulinverbindung, eines Globulats. Selbstverständlich müssen wir, von unsrem allgemeinen Schema ausgehend, in den natürlich vorkommenden Flüssigkeiten und Gebilden eine grosse Mannigfaltigkeit von Verbindungen annehmen (N. N. 93—100 p. 352). und ist kein Grund vorhanden in einzelnen Fällen die Existenz von solchen Verbindungen nicht zuzugeben, wie z. B. eine gelöste Globulinverbindung mit Kalk oder Phosphorsäure, nach Fokker's (26 p. 279) und Heynsius' (52 p. 565) Annahme, oder Eugling's (25 p. 181) „Tricalciumphosphatcasein“, wie dieser Autor das normale in der Milch aufgelöste Casein benennt, oder endlich eine complexe Verbindung von Calcium, Magnesium und Phosphorsäure mit dem „Myoglobin“, wie Danilewski (16 p. 161) annimmt! Es unterliegt keinem Zweifel, dass in den mannigfachen Verbindungen, in denen die Autoren das Globulin antrafen, von einer Identität derselben nicht die Rede sein kann; daher ist es begreiflich, dass Liebig's Idee von der Identität der proteinhaltigen Flüssigkeiten (100 p. 95) keine praktische Bedeutung gewonnen hat. Nachdem den Globulinverbindungen alle mit demselben verbundenen Mineralkörper, mit denen wir es gewöhnlich im tierischen Organismus verbunden sehen, entzogen sind, bleibt ein Globulin von identischem Charakter zurück. Daraus folgt, dass als chemisches Individuum das Globulin in der Gestalt anzusehn ist, in welcher wir es unter verschiedenen Umständen im aschenfreien Zustande erhielten (N. N. 41—7 p. 90, 93; N. N. 48—60 p. 171; N. N. 61—7 p. 30, 40, 50, 57; N. N. 68—74 p. 92; N. N. 75—80 p. 228).

2. Keine Polymerisation. Diese Thatsachen setzen uns in den Stand schon jetzt auszusagen, dass eine Polymerisation, wenn auch nur in dem Sinne, dass ein Teil des Globulins auf Kosten eines andern schon mit Mineralkörpern verbundenen gelöst ist, unter den natürlichen Existenzbedingungen nicht bestehen kann, da es kein aus den natürlich vorkommenden Flüssigkeiten erhaltenes Präparat gibt, welches keine Base, d. h. mehr oder weniger Asche enthielte. Zwar hat es nicht an Meinungsäusserungen gefehlt, dass es komplexe Verbindungen von Proteinkörpern mit einander gebe. Morin erklärte die Ungerinnbarkeit in der Wärme eines in der Flüssigkeit vorhandenen „in der Wärme gerinnenden Albumins“ dahin, dass der mit den Basen verbundene Teil des Proteins den andern Teil desselben auch beim Kochen der Flüssigkeit im gelösten Zustande erhält <sup>1)</sup>!! Mi-

<sup>1)</sup> L'union du caséum avec l'albumine m'a paru si intime et les propriétés ainsi que la composition élémentaire de l'albumine coagulée sont si rapprochées de celles du caséum caillé, que j'ai cru nécessaire d'examiner, si le lait ne renfermait pas de l'albumine seulement, mais dans deux états différents, une partie en combinaison avec des

bases exerçant sur l'autre une action assez puissante pour l'empêcher de se coaguler à la température de l'ébullition (85 p. 425).

Dans cette hypothèse, la combinaison d'albumine dans le lait aurait joué le rôle d'un sel à deux équivalents d'acide pour un de base, l'un devenant immédiatement libre sous forme de caséine caillé.

chailoff findet es sogar „unmöglich anzunehmen, dass die ihrer Lösungsfähigkeit nach so verschiedenen Albumine und Globuline infolge der Beimengung von Salzen sich gleichzeitig auflösen könnten“ (?). „Es ist dagegen nicht nur möglich, sondern ganz natürlich zuzugeben, dass die gleichzeitige Löslichkeit der Globuline und der Albumine dadurch bedingt wird, dass die Eiweissstoffe des Serums in Gestalt einer salzartigen Verbindung an einander gebunden sind“! Seine Vermutung sucht Michailoff auf Danilewski's Angaben zu stützen, aus denen, wie er meint, geschlossen werden könne, dass „die Globuline als einen alkalischen Charakter besitzende Substanzen angesehen werden dürfen“ (15 p. 929), und auf seine eignen Beobachtungen, die ihm gezeigt haben sollen, dass „reines Albumin sauer reagiert“ (82 p. 352). Dies veranlasst Michailoff, das Vorhandensein von „Albumin-Globulingruppen“ „in Gestalt von salzartigen Verbindungen“ anzunehmen (83 p. 117—8). Wenn Michailoff zur Erklärung der ihm unverständlichen Fällungserscheinungen im Serum und im Eiweiss einer solchen Annahme bedurfte, so interessirten Danilewski, der Michailoff's Gedanken beitrug, diese Beobachtungen an sich selbst, und er gibt die Existenz von „Verbindungen von komplexem Eiweisstypus zu, in denen basisches Eiweiss an saures gebunden ist“. Obgleich Danilewski's Schrift ganz der Entwicklung von Michailoff's Gedanken gewidmet ist, erwähnt der Autor seines Vorgängers mit keinem Worte und schreibt sich sogar die Benennung dieser vermuteten Verbindung zu, indem er sagt: „die untersuchten neuen komplexen Eiweissformen sind Verbindungen von Globulin mit Albumin, weshalb ich für sie die allgemeine Benennung *G l o b o - A l b u m i n* vorschlage“ (17 p. 379). Wenn wir uns dem von Danilewski gegebenen faktischen Material zuwenden, so befremdet uns höchlich, wie wenig die Schlüsse den Resultaten entsprechen. „Zu den Versuchen bereitete man eine ziemlich grosse Quantität verdünnter Salzsäure und Ätznatronlösung, deren gegenseitige Äquivalenz auf empirischem Wege festgestellt wird, oder man nimmt diese Flüssigkeiten in ihren  $\frac{1}{10}$  Normaltitern. Die Flüssigkeit lässt man tropfenweise (grösserer Genauigkeit halber), oder auch in Cubikcentimetern aus den respektiven Büretten herausfliessen. Die Gegenwart von freier Salzsäure oder freiem Ätznatron wird im Trockenrest mittelst Tropäolin 00 und 000 N 1 auf einer Porzellanplatte erkannt“. Weiter folgt die Beschreibung des ersten Versuchs: „Eine gewisse Menge mit Wasser aus durchgeseihtem Eiweiss ausgefällten und sorgfältig mit Wasser ausgewaschenen Eiweissstoffs wurde in Wasser verrührt, in einen Kolben getan und mit der erwähnten Salzsäure solange versetzt, bis Tropäolin Vorhandensein derselben im freien Zustande zeigte“. Diese Reaktion oder die 1. Sättigungsgrenze mit der Säure wurde bei dem 28 Tropfen erreicht. Danach brachte man das Gemenge genau bis zur neutralen Reaktion und bestimmte auf dieselbe Weise mittels Tropäolin 000 N 1: die 2. Sättigungsgrenze mit dem Alkali, welche durch 8 Tropfen ausgedrückt ist“! Darauf „wird das Gemenge mit 10 cc. verdünnter Säure versetzt und auf 24 Stunden bei 30—35° sich selbst überlassen. Aufs neue wird sehr sorgfältig neutralisirt. Jetzt wird die Sättigungsgrenze mit 15 Tropfen erreicht (ib. p. 374). Daraufhin gründet Danilewski folgende Sätze: „auf diese Weise hat die anfängliche Substanz unter dem Einfluss einer sehr gemässigten Einwirkung von verdünnter Säure saure Eigenschaften erworben. Da einfache (?) Eiweisskörper sich unter solchen Umständen niemals (?) derartig verändern (!), so darf angenommen werden, dass die anfängliche Substanz einen complexen Körper,

lée, dès que la base était saturée par les acides acétique ou lactique, l'autre reprenant la faculté de se coaguler par une élévation de température

suffisante. Les essais suivants ont eu pour but d'éclaircir cette question (85 p. 426).

etwa ein Eiweissalz (?), enthielt, bei dessen Zersetzung sich eine freie saure Eiweissform bildete, welche mit einer eben solchen basischen unter gewöhnlichen Bedingungen nicht in Verbindung tritt“ (ib. p. 374—5). Der Autor führt noch einige Beispiele ähnlicher Versuche nicht mit einheitlichen Flüssigkeiten oder Präparaten sondern mit Gemengen an, in denen mit jeder neuen Operation die Verhältnisse der löslichen und unlöslichen Bestandteile andere waren. Und auf solchen Versuchen gründet Danilewski seine Schlüsse! Alle in derartigen Gemengen beobachteten Verhältnisse finden ihre Erklärung in den von uns betrachteten komplexen Verbindungen des Globulins mit Mineralkörpern (N.N. 75—80 p. 171, 231; N.N. 81—85 p. 66; N.N. 86—92 p. 168). Die Faktoren, welche nicht die letzte Rolle spielten, und welche Danilewski ausser acht gelassen hat, waren eben die mineralischen Bestandteile der von ihm zu den Versuchen genommenen Präparate.

In der Tat können in der Frage nach dem gegenseitigen Verhältniss der Bestandteile der proteinhaltigen Flüssigkeiten die mineralischen Teile als hinlängliches Kriterium dienen. Würde es z. B. Verbindungen von der Zusammensetzung  $Gb[Gb(Gb(Gb + Base))]$  u. dergl. geben, so müsste man erwarten, dass z. B. bei der Einwirkung von Wasser, Säuren, Salzen sich aschenfreie Niederschläge bilden. Solche Niederschläge sind aber bis jetzt nicht beobachtet worden: mineralische Bestandteile begleiten das Globulin sowohl in den Niederschlägen als in den Lösungen, und ist es, wie wir gesehen, ziemlich schwer, dieselben abzutrennen. Endlich ergaben unsre direkten Versuche in bezug auf die Löslichkeit des frischgefällten „leichtlöslichen“ Globulins in neutralen Natronglobulatlösungen (N.N. 81—85 p. 107) negative Resultate: das Globulin löste sich nicht auf. Hätte es sich aber auch gelöst, so würde man eher die Bildung saurer Globulinverbindungen mit dem Alkali haben annehmen können (N.N. 81—85 p. 108). Vorläufig die mineralischen Bestandteile in betracht ziehend, bleibt uns nur übrig anzunehmen, dass es komplexe und parallele Verbindungen eines und desselben Globulins, nämlich mit den in den natürlich vorkommenden tierischen Flüssigkeiten enthaltenen Basen, Säuren und Salzen gibt. Diese Verbindungen befinden sich im Gleichgewicht, insofern dies durch den gelösten Zustand ausgedrückt ist; sobald aber ein mechanisches oder dynamisches Agens ins Spiel kommt, wird das Gleichgewicht gestört, und ein grösserer oder kleinerer Teil des Globulins schlägt sich in Gestalt einer unter den veränderten Umständen in der Mutterlauge unlöslichen Verbindung nieder! Von diesen Sätzen ausgehend, darf man erwarten aus einer und derselben proteinhaltigen Flüssigkeit nach Wunsch und durch Anwendung irgend eines Agens zahlreiche sukzessive Fällungen zu erhalten!

**Multiple Fällung der proteinhaltigen Flüssigkeiten.** Schon Hewson fand, dass Serum einen Niederschlag bei 71.1°, einen zweiten beim Kochen ausscheidet und dass auch noch nachdem eine Substanz zurückbleibt, welche beim Eindampfen der Flüssigkeit erscheint und dem am Morgen aus den Luftwegen ausgeworfenen Schleim gleicht <sup>1)</sup>. Wie dem auch sei, interessant ist, dass schon Hewson diese drei Fällungen, bei 71.1°, beim Kochen und beim Eindampfen beobachtete (49 p. 27, 105—7; 48 p. 135—6), allen dreien aber einen und denselben Namen gab. Auch Thouvenel findet, dass das Protein aus den proteinhaltigen Flüssigkeiten sich beim Kochen nicht vollständig ausscheidet; ebenso wenig unter der Einwirkung von Säuren, oder Alkohol, woraufhin er die Existenz zweier „schleimi-

<sup>1)</sup> This serosity contains the neutral salts of the blood, and although it has been exposed to the heat of boiling water, yet it still contains a part of the mucilaginous substance, which is combined with the water in such a manner as not

to be coagulated by the heat of boiling water till a part of the water is evaporated by boiling and then it coagulates and appears not very much unlike then mucus spit up from the aspera arteria on a morning (48 p. 136).

ger Substanzen“ zugibt: einer in der Wärme gerinnbaren und einer unter denselben Bedingungen <sup>1)</sup> nicht fällbaren; für die erstere möchte er den Namen albuminöse Substanz beibehalten, die letztere „gelatinöse oder ungerinnbare Substanz“ nennen. Dabei hält Thouvenel das gallertartige Aussehen, welches die Flüssigkeit beim Eindampfen annimmt, für eine zufällige Erscheinung <sup>2)</sup>. Zu derselben Zeit beobachtete Rouelle (96 p. 250) eine gleiche Erscheinung in den Molken: nach dem Kochen derselben bekam das Filtrat beim Eindampfen häufig ein gallertartiges Aussehen. Auch Gmelin (35 p. 723) findet, dass nach der Abtrennung des Niederschlags von dem Blutserum, nachdem dieses bis 58° erhitzt wurde, noch ein Proteinkörper in der Flüssigkeit zurückbleibt.

Offenbar muss unter dem Körper, der ein gallertartiges Aussehen annimmt, derjenige Zustand der Flüssigkeit verstanden werden, den der in der Wärme ungerinnbare Teil einer proteinhaltigen Flüssigkeit beim Eindampfen und Abkühlen annimmt. Um aus Eiweiss Gallerte zu erhalten, kochte Schnaubert (102-a p. 78) dasselbe mit Alkohol, verdünnte das Filtrat mit Wasser, kochte aufs neue; das letzte Filtrat gab noch dem Abdampfen eine gallertartige Masse. Fourcroy beschreibt umständlich sowohl die Darstellung als auch die Eigenschaften dieses Rückstands, den er für wirkliches Glutin ansieht (N. 48—60 p. 74). Offenbar war Fourcroy über das gallertartige Aussehen des ungeronnenen Teils des Serums so erstaunt, dass er auf Hewson's und Thouvenel's Ansicht keine Rücksicht nahm (oder dieselbe nicht kannte). Bostock dagegen (6 p. 246), der alles, was beim Kochen ausfiel „albumen“ nannte, hielt den Rückstand für eine besondere Substanz, die er mit dem unbestimmten Ausdruck „Schleim“ benannte <sup>3)</sup> & <sup>4)</sup>. Weiter findet Bostock, dass auf 100 Teile Eiweiss 80 Teile Wasser, 15,5 sich ausscheidenden Albumens und 4,5 ungerinnbaren Proteins incoagulable matter—kommen. Obgleich Bostock selbst beobachtete, dass bei einer Verdünnung von 1:1000 keine Gerinnung, sondern nur leichte Opalescenz stattfand, stellte er später die allgemeine Formel auf, dass schon bei einem Gehalt an  $\frac{1}{30}$  Protein nach Gewicht beim Kochen Gerinnung erfolgt (7 p. 141). In der Folge gibt Bostock zu noch grösseren Misverständnissen Veranlassung durch die Annahme, dass die proteinhaltigen Flüssigkeiten ausser „Albumen“ auch noch „Glutin und Schleim“ enthalten <sup>5)</sup>. Die ersten Erklärungen dieser Erscheinungen, die den wirklichen Tatbestand darstellen, wurden wunderbarerweise ziemlich früh gegeben; im Jahre 1812 (9 p. 98) schrieb Brande, dass Bostock's „mucus“ nichts anderes als dasselbe Protein, aber mit einem Alkaliüberschuss sei, und dass dieselbe Erscheinung auch in anderen proteinhaltigen Flüssigkeiten beobachtet werde <sup>5)</sup>. Krimer teilt Brande's Ansicht, indem er meint, der Umstand, dass das Filtrat von durchge-

1) La partie du sang extravasé qui se présente sous forme fluide, et qu'on appelle serum ou sérosité contient outre l'eau, qui en fait la plus grande partie, et quelques sels, dont nous parlerons ci-après, contient dis—je, deux sortes de matière muqueuse, dont l'une se coagule par la chaleur portée à un certain degré, ainsi que par les acides et l'esprit de vin concentrés, au lieu que l'autre est inconcrécible par ses mêmes moyens (112 p. 22).

2) L'analogie qu'on a découverte entre le blanc d'oeuf et celle des deux substances muqueuses contenues dans le serum, laquelle se coagule par les agens chimiques, c'est à dire par le feu et les menstrues acides ou spiritueux, lui a sans

doute fait donner le surnom d'albumineuse, que nous lui conserverons. Quant à celle qui ne se concrète pas par ces moyens, nous la nommons gélatineuse ou inconcrécible; car il paraît que la forme gélatineuse lui est purement accidentelle (112 p. 23).

3) white of egg ist not pure albumen; it contains a little of matter not coagulable. . . . (6 p. 246).

4) The substances which I originally included in the dosse of primary animal fluides were albumen, jelly and the uncoagulable matter of the serum which is descominoted mucus (8 p. 54-5).

5) Mucus Bostock (a serosity) is a compound of albumen with excess of alkali (9 p. 98).

kochtem Serum weder von Galläpfelauguss noch von Bleiacetat gefällt wird, beweise noch nicht, dass es keine Proteinsubstanz enthält, und dass auch die Ungerinnbarkeit in der Wärme kein Beweis für das Nichtverhandensein von Protein sei, da bei Gegenwart von Alkali auch Eiweiss in der Wärme nicht gerinne <sup>1)</sup>). Hünefeld bemerkte, dass ein wässriger Auguss verriebener Linsen des Auges beim Eindampfen ebenfalls in einen gallertartigen Zustand übergehe (61 p. 98).

In enger Verknüpfung mit diesen Tatsachen stehen auch Nasse's Beobachtungen, nach welchen das Protein sich aus dem Serum beim Kochen nur deshalb in geringer Menge ausscheide, weil ein grosser Teil desselben mit einem Alkali verbunden sei: zur Ausfällung dieses Teils müsse die Flüssigkeit mit Essigsäure angesäuert und aufs neue gekocht werden (89 p. 157). Dreimalige Fällung aus defibrinirten Blut führte Ludwig aus: zuerst wurde dieses einfach gekocht, dann wurde das Filtrat neutralirt und wieder gekocht. Das neue Filtrat schied, mit 4—5 Vol. 85° Weingeist vermischt, wiederum einen Niederschlag aus. Dollfus & Verdeil (21 p. 658) wärmten defibrinirtes Blut, nachdem es mit Wasser verdünnt worden war, auf dem Wasserbade, bis es gerann, engten das Filtrat bis zu syrupähnlicher Konsistenz ein und fällten es dann mit Alkohol. Den Niederschlag sahen sie für einen Teil des nicht vollständig geronnenen Proteins des Serums an. Morin glaubte, wie wir schon oben erwähnt (N.N. 93—100 p. 392), diese sukzessive Fällung durch die Lehre erklären zu können, nach welcher ein Teil des Proteins deshalb in Lösung bleibe, weil es mit einer Base verbunden sei, wobei beim Eintragen einer Säure nur der eine Teil desselben, beim Kochen auch der andre ausfalle. Auch Scherer (99 p. 321) bewirkte Gerinnung des Blutes, indem er es in siedendes Wasser einfliessen liess; das ganz klare Filtrat schied beim Abdampfen Häute aus, worauf die ganze Masse ein gallertartiges Aussehen bekam. Zu derselben Zeit sagte auch Wittstein (116 p. 362) aus, dass nicht nur durch blosses Kochen sondern auch durch Kochen nach vorangegangener Neutralisation nicht alles Protein ausgefällt werden könne: ein wenn auch nur ganz geringer Teil desselben bleibe in der Lösung zurück; zuerst falle ein Teil, dann beim Kochen ein zweiter aus. Im Einklang damit stehen Limprecht's Beobachtungen (79 p. 186), denen zufolge ein wässriger Auguss von feingehackten Muskeln der Plötze (*Leuciscus rutilus*) nach dem Kochen noch eine gewisse Menge Proteinsubstanz enthält, beim Abdampfen erstarrt und mit Säuren einen weissen Niederschlag ausscheidet, in welchem Limprecht die Eigenschaften einer Säure erkannte, und den er deshalb „Protsäure“ benannte.

Wir wollen hier nicht alles, was über die multiplen Fällungen des Globulins der Milch bekannt ist, anführen, und verweisen den Leser auf die Geschichte des Lactoglobins, aus welcher klar zu ersehen ist, dass ein Teil des Proteins bei der Neutralisation und auch bei dem spontanen Sauerwerden der Milch, ein anderer, kleinerer Teil beim Kochen derselben Flüssigkeit ausfällt, wonach durch Alkohol, Metallsalze und andere stark wirkende Agentien auch das übrige Protein aus dem Filtrat ausgeschieden wird. Wir führen jedoch Morin's Angaben an, welcher, übrigens gleich andern Autoren, zeigte, dass nach der Entfernung eines Teils des Globulins (Casein) durch Neutralisation, ein anderer (Albumin) durch Kochen entfernt wird. Ungeachtet dieser zwei Fällungen, bleibe noch ein Teil in Gestalt eines Alkalialbuminats zurück, da beim Abdampfen des Filtrats und nach der Entfernung der krystallinischen Niederschläge die Flüssigkeit noch gallertartige Massen bildete, welche Morin veranlassten ausser Globulin auch noch die Gegenwart von Glutin in derselben anzunehmen (86 p. 428; N.N. 68—74 p. 70).

<sup>1)</sup> Ebenso wenig konnte das Nichtgerinnen desselben in der Siedhitze als Beweis gelten, indem das in Aetzkali aufgelöste Eiweiss auf diese Weise behandelt, auch nicht gerinnt (67 p. 252).

Die Geschichte des Serums, des Eiweisses, der Milch u. s. w. lässt uns einen analogen Charakter der Fällung dieser Substanzen erkennen. Es ist interessant, dass nach dem Kochen in allen Fällen ein Teil des Globulins mit dem Charakter einer Alkaliverbindung des Proteins zurückbleibt. Nicht minder interessant ist, dass Denis auch in der Bestimmung des Charakters dieses übriggebliebenen Teils solche Tatsachen angibt, welche über die Art und Weise der Entstehung desselben keinen Zweifel lassen. Indem Denis eine salz-alkalische Fibrinlösung mit dem Serum für identisch erklärt, findet er zugleich, dass eine solche Lösung beim Kochen nicht sämtliches Protein ausscheidet. (20 p. 114). Gerhardt (34 p. 477) ist ebenfalls der Ansicht, dass im Eiweiss und im Serum, welche Natronverbindungen vorstellen, beim Kochen partielle Fällung stattfindet, wobei ein Teil des Natronalbuminats auch noch aus dem Grunde in Lösung bleibt, weil die Flüssigkeit stärker alkalisch zu reagieren beginnt. Es seien hier der höchst interessanten Beobachtungen von Selmi erwähnt (105 p. 141), welcher zeigte, dass nach der Abscheidung des Caseins das Serum 4 sukzessive Fällungen gab: bei 68°, das erhaltene Filtrat bei 72°; nach Entfernung dieses Niederschlags fiel ein neuer bei 85°—90° aus, und das letzte Filtrat schied noch einen Niederschlag bei 100° aus. Auch Vintschgau (115 p. 503) beobachtete sukzessive Fällungen an einem wässerigen Linsenextrakt und bemerkte dabei, dass das Aussehen des Niederschlags von dem Konzentrationsgrad der Flüssigkeit abhing. Indem Rollett (95 p. 547) Lösungen einer Alkaliverbindung des Globulins mit Natriumphosphat nach Lieberkühn bereitete und dieselben ansäuerte, fand er, dass sie schon bei 35°—40° anfangen einen Niederschlag auszuscheiden; mit der Erhöhung der Temperatur erfolgte neue Fällung, doch auch bei 100° hatte sich noch nicht alles Paraglobulin aus der Lösung ausgeschieden. Vollständige Fällung wurde erst beim Kochen der Flüssigkeit nach dem Ansäuern (95 p. 549) erreicht. Wir erwähnten schon der interessanten Beobachtungen Schmidt's über die sukzessive Fällung eines wässerigen Linsenextrakts sowohl unter dem Einflusse von Kohlensäure als auch bei Abwesenheit solcher (101 p. 442 N.N. 93—100 p. 368). Kühne und Halliburton beobachteten mehrere Fällungen in wässerigen Muskelextrakten und auch im Muskelerum (p. n. N.N. 61—7 p. 49) in Abhängigkeit von der Temperatur. Die bei niedrigeren Temperaturen, 15°—40°, erhaltenen Niederschläge hingen ganz von der Menge der Säuren ab, die sich in der Flüssigkeit entwickelten, oder in dieselbe eingetragen wurden, (68 p. 12—15; 69 p. 277—8). Veränderlichkeit der Gerinnungstemperatur der Milch in Abhängigkeit von den Salzen beobachtete auch Zahn (116 p. 607), und in der Folge bemerkte derselbe Autor, dass die Gerinnungstemperatur des Serums durch Zusatz von Alkali sich nach einer Seite hin verändert, nämlich steigt, andererseits durch Säurezusatz herabgesetzt wird (118 p. 77). In demselben Sinne stellte auch Eichwald seine Beobachtungen an (24 p. 88—94 und 170—1).

Multiple Fällung unter besonderen Umständen beobachtete Kemmerich (64 p. 405): frische Milch wurde mit Essigsäure gefällt und das Filtrat in ein in Eis gestelltes Gefäss gesammelt. Das Filtrat sah ganz klar aus; es genügte aber das Probirröhrchen mit der Flüssigkeit in die Hand zu nehmen, damit sie sich nach 5—6 Minuten trübte und Flocken abschied. Offenbar bewirkte die im Vergleich zu der Zimmertemperatur grössere Wärme eine Fortsetzung der Reaktion, die die Kälte unterbrochen hatte. Gautier (29 p. 177) fand, dass gewöhnliches Eiweiss bei 63° einen Niederschlag, bei 74° einen zweiten ausschied; diese Niederschläge sah Gautier für verschiedene Proteine an.

Eine grosse Anzahl von Versuchen über die Abhängigkeit der Fällung des Globulins von der Menge der Salze und Säuren stellte Heynsius (51 p. 539—51)

an und zeigte dabei, dass die Gerinnungstemperatur sowohl von der Menge der vorhandenen Salze als von derjenigen der zugesetzten Säure abhängt <sup>1)</sup>. Gleichsam als Ergänzung zu Heynsius Beobachtungen dienen <sup>2)</sup> Musso & Menozzi's Versuche (N.N. 68—74 p. 84), aus denen folgt, dass mit der Steigerung des Gehalts an Milchsäure die Fällungstemperatur der Milch fällt.

Hammarsten findet seinerseits, dass derjenige Teil der Proteine der Milch, welcher weder beim Ansäuern noch beim nachherigen Kochen ausfällt und von Millon & Commaille (N.N. 68—74 p. 73) „Lactoprotein“ benannt wurde, entweder einfaches Albumin oder ein Gemenge dieses mit Peptonen ist (43 p. 13). Auch Liebermann hält diesen Proteinrest der Milch für „Albumin“, da derselbe von Tannin gefällt wird (77 p. 283); Köster (65 p. 14) scheidet denselben durch Alkohol aus. Biddert unterscheidet bis fünf Niederschläge aus der Milch (5 p. 105).

Offenbar lenkte dieses veränderliche Verhalten der proteinhaltigen Flüssigkeiten zur Wärme die Aufmerksamkeit auf sich, und sowohl ältere als auch einige, wenn auch nicht viele neuere Autoren gaben für diese Veränderlichkeit eine wahrheitsgemässe Erklärung. So zeigten z. B. Cazeneuve & Lépine an dem Protein des Urins, dass mit der Veränderung der Löslichkeitsbedingungen durch die Ausscheidung dieser oder jener Agentien sich sowohl die Fällbarkeit als auch das Aussehen der Proteinniederschläge verändert (12 p. 621). Andererseits hält eine viel grössere

Hühnereiweiss.

		ClNa-Gehalt der Mischung in p. Ct.						
		0	0,1	1	4	8	16	32
1)	Essigsäure auf 50 cc.							
	Ohne Säure	38 <sup>0</sup>	54 <sup>0</sup>	58 <sup>0</sup>	58 <sup>0</sup>	62 <sup>0</sup>	68 <sup>0</sup>	62 <sup>0</sup>
	1 Tropfen	66 <sup>0</sup>	66 <sup>0</sup>	60 <sup>0</sup>	60 <sup>0</sup>	60 <sup>0</sup>	60 <sup>0</sup>	53 <sup>0</sup>
	2 „	74 <sup>0</sup>	75 <sup>0</sup>	70 <sup>0</sup>	60 <sup>0</sup>	60 <sup>0</sup>	56 <sup>0</sup>	56 <sup>0</sup>
	4 „	80 <sup>0</sup>	75 <sup>0</sup>	68 <sup>0</sup>	52 <sup>0</sup>	45 <sup>0</sup>	40 <sup>0</sup>	gewöhnl. Temperat.
	5 „	85 <sup>0</sup>	75 <sup>0</sup>	66 <sup>0</sup>	50 <sup>0</sup>	44 <sup>0</sup>	38 <sup>0</sup>	id.
10	„ beim Sieden klar (51 p. 549).		85 <sup>0</sup>	66 <sup>0</sup>	50 <sup>0</sup>	gewöhnl.	gewöhnl.	Temperat. Temperat. id.

Serumeiweiss.

		ClNa-Gehalt der Mischung in p. Ct.							
		0	0,1	1	2	4	8	16	32
1)	10 Normal-Essigsäure auf 20 cc.								
	Ohne Säure	56 <sup>0</sup>	—	—	—	—	—	—	—
	Mit 1 cc.	54 <sup>0</sup>	56 <sup>0</sup>	68 <sup>0</sup>	72 <sup>0</sup>	—	72 <sup>0</sup>	75 <sup>0</sup>	gewöhnl. Temperat.
	3 „	80 <sup>0</sup>	68 <sup>0</sup>	65 <sup>0</sup>	65 <sup>0</sup>	73 <sup>0</sup>	—	65 <sup>0</sup>	id.
	4 „ beim Sieden klar		76 <sup>0</sup>	65 <sup>0</sup>	65 <sup>0</sup>	63 <sup>0</sup>	—	65 <sup>0</sup>	id.
	5 „ id.		76 <sup>0</sup>	65 <sup>0</sup>	64 <sup>0</sup>	—	—	56 <sup>0</sup>	id.
	10 „ id.		—	65 <sup>0</sup>	64 <sup>0</sup>	51 <sup>0</sup>	35 <sup>0</sup>	gewöhnl. Temperat.	id.
	40 „ id.		—	65 <sup>0</sup>	62 <sup>0</sup>	40 <sup>0</sup>	gewöhnl.	id.	id.

<sup>2)</sup> Auf 100 cc. Menge der Säure in mgr. bei t<sup>0</sup> (88 p. 139).

Milch	0 <sup>0</sup> —4 <sup>0</sup>	15—16 <sup>0</sup>	40—42 <sup>0</sup>	100 <sup>0</sup>	150 <sup>0</sup>
1) frisch	602	520	436	184	Fällung ohne Säure
2) id.	698	—	512	244	
3) id. (2,3 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> Kas.)	478	—	—	184	
4) id. (3,9 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> Kas.)	640	—	—	220	
5) abgerahmt	742	576	498	246	
6) id.	696	—	520	266	

Anzahl von Autoren die Fällungstemperatur für eine charakteristische Eigentümlichkeit dieses oder jenes Proteinkörpers, obgleich die Unhaltbarkeit einer solchen Ansicht vor Augen liegt. So nahm z. B. Cahn im Gehirn und in der Retina Vorhandensein von Myosin nur deshalb an, weil wässrige Extrakte dieser Gebilde bei 55° gefällt wurden (11 p. 213).

Nicht minder interessant sind Halliburton's (39 p. 152) Beobachtungen, wenn man von den sie begleitenden Erklärungen absieht, die weder der Zeit noch dem Sinne nach ihrer Bestimmung entsprechen. Diese Beobachtungen lassen sich am besten durch den Bau der natürlich vorkommenden Flüssigkeiten vom Gesichtspunkte alkalischer Globulinlösungen aus erklären und erklären ihrerseits einen solchen Bau. Obgleich Halliburton die von ihm ins Werk gesetzte Fällung des Serums verschiedener Tiere fraktionirte „Wärmefällung“ nennt <sup>1)</sup>, so ist hier nicht bloss der Einfluss der Wärme im Spiel, da der Autor auch die Einwirkung von Säuren, insbesondere die Neutralisation durch solche, zu Hilfe ruft. Mit andern Worten, Halliburton zerlegt das längst bekannte Verfahren Scherer's, proteinhaltige Flüssigkeiten durch Zusatz von Essigsäure bis zu schwachsaurer Reaktion unter Erwärmen zu fällen, in mehrere Momente. Er teilt die vollständige Fällung in eine Reihe durch die Umstände, in Abhängigkeit von der Säuremenge und der Temperatur, bedingte Fällungen. Halliburton's Beobachtungen lassen keinen Zweifel übrig, dass sowohl das Serum verschiedener Tiere als auch die pathologischen Flüssigkeiten Alkaliverbindungen vorstellen und zwar so beständige, dass deren Zersetzung durch neutralisierende Säuremengen erst bei erhöhter Temperatur vor sich geht, den Beobachtungen früherer Autoren nach, die in solchen Fällen die Einwirkung der Wärme durch den Einfluss der Zeit ersetzten (N.N. 93—100 p. 368). Halliburton's Versuche beschränken sich in der Tat auf Ansäuern und nachheriges 5 Minuten langes Wärmen in dem Schäfer'schen Apparat (N.N. 75—80 p. 253), von niedrigeren Temperaturen an beginnend. Vor allem achtet der Autor darauf, dass die Flüssigkeit nicht alkalisch sei; da auch neutrale Flüssigkeiten nach der Fällung durch Wärme alkalisch reagiren, so empfiehlt er, dieselben wieder etwas anzusäuern <sup>2)</sup>. Zum Ansäuern benutzte Halliburton 2% Essigsäure bis zu schwachsaurer Reaktion auf violettes Lakmuspapier, nämlich auf ungefähr 3 cc. 1 Tropfen =  $\frac{1}{25}$  cc. verdünnter Essigsäure. Nachdem die Flüssigkeit gewärmt, und der Niederschlag abfiltrirt worden war, wurde das Filtrat wieder angesäuert und gewärmt u. s. w. Auf diese Weise schied Halliburton aus dem Serum verschiedener Tiere vier Niederschläge <sup>3)</sup> aus, nämlich:

<sup>1)</sup> A process of fractional heat-coagulation (39 p. 155-6 etc.).

<sup>2)</sup> The liquid must not be alkaline; alkali albumin is then liable to be formed either wholly or partially, and thus coagulation does not occur. Neither must the liquid be exactly neutral, for it is a well-known fact that when a proteid separates as a heat-coagulum from a liquid, such

separation is accompanied by an increase in the alkalinity, or decrease in the acidity, of that liquid. If the liquid is exactly neutral, a small amount of coagulation renders the liquid alkaline; alkali albumin is then apt to form as before. In order to obtain complete precipitation at any given temperature, it is necessary that the liquid be faintly acid. . . . (39 p. 155).

<sup>3)</sup> Temperatures of coagulation of the proteids contained in the serum by a fractional process:

Animal.	Serum-Albu- min. $\alpha$	Serum-Globu- lin.	Serum Albu- min. $\beta$	Serum Albu- min. $\gamma$
Dog. . . .	70°—10° C.	75° C.	77°—80° C.	82°
Ox. . . . .		73°	76°—8	84°
Man. . . . .	70°	73°—5°	77°	82°—3°
Monkey .	72°	75°	77°	84°
Sheep . .		73°—4°	77°—5°	84°

bei 70° den von ihm  $\alpha$ -Albumin genannten, bei 75°—Globulin, bei 77°—78°— $\beta$ -Albumin und bei 82°—85°— $\gamma$ -Albumin (39 p. 163).

Schon die obenangeführten Angaben von Heynsius zeigen zur genüge, dass Halliburton bei einer gewissen Geschicklichkeit auch noch eine grössere Anzahl von Niederschlägen hätte erhalten können, wie das mit Hundeblytserum auch der Fall war: dasselbe gab bei 87° (ib. p. 161) noch ein viertes Albumin, während in Affenblytserum einmal kein  $\gamma$ -Albumin gefunden wurde!

Der Sinn von Halliburton's Beobachtungen lässt sich im allgemeinen auf die Einwirkung der Wärme, der durch die Neutralisation der Basen mit einer Säure immer anwachsenden Salz mengen und auf den vergrösserten Säuregehalt zurückführen. Wir besitzen eine gar zu grosse Menge historischer Zeugnisse für die Möglichkeit einer fraktionirten Fällung des Globulins einer und derselben Herkunft unter den genannten Umständen, als dass es nötig wäre, sich noch länger bei Halliburton's Arbeit aufzuhalten. Doch muss in dieser Arbeit ein Umstand befremdlich erscheinen: im Widerspruch zu den historischen Tatsachen nimmt Halliburton das Vorhandensein eines Albumins ( $\alpha$ ) an, welches eine niedrigere Gerinnungstemperatur als das Globulin besitzen soll. Man fragt sich unwillkürlich, welche Tatsachen, welche Gründe der Autor zu einer solchen Annahme oder Erklärung besass, und ausserdem, wodurch dieses oder jenes Albumin charakterisirt wurde. Über die Eigenschaften dieser bei verschiedenen Temperaturen sich ausscheidenden Körper finden wir bei Halliburton keine Angaben: der Grund aber, dass er ohne weiteres einen Niederschlag für Albumin, einen anderen für Globulin erklärte, ist darin zu sehen, dass er sich mit Hammarsten's und Hoppe-Seyler's Schlüssen begnügte. Sich mit Hammarsten's Angaben vom Jahre 1878, dass die Gerinnungstemperatur des Serumglobulins zwischen 68° und 80° liege, im Mittel für 75°<sup>1)</sup> angenommen werden könne, zufrieden gebend, scheint Halliburton über die Widersprüche mit seinen Schlüssen gleichsam die Augen geschlossen zu haben. Wenn die Gerinnungstemperatur zwischen 68° und 80° angegeben ist, so könne das Globulin auch bei diesen Temperaturen ausfallen. Abgesehen

Animal.	Serum-Albu- min. $\alpha$	Serum-Globu- lin. $\beta$	Serum-Albu- min. $\gamma$	Serum-Albu- min. $\delta$
Rabbit...	72°	75°—6	77°—8°	83°
Pig.....	70°	73°	77°	84°—5°
Cat ....	71°	74°	77°	84°
Horse...		74°—75°	77°	84°

(39 p. 159).

Solution of Albumins: i. e. after the precipitation of the Globulins by Mag. Sulph. Temperature of coagulation.

Fluid.	Serum Albu- min. $\alpha$	Serum Albu- min. $\beta$	Serum Albu- min. $\gamma$
Human blood-serum.....	73°C.	77°C.	85°C.
Hydrocele Fluid.....	70°—71°	77°—8°	83°
Pleuritic Fluid.....	73°—4°	78°	85°
Ascitic Fluid.....	73°	78°	84°
Pericardial Fluid.....	73°	77°	84°
Parovarian Fluid.....	78°—79°	77°	82°

(39 p. 163).

1) The temperature of heat-coagulation of serum globulin is stated by Hammarsten to vary between 68 and 80°, but the average he puts as

75°C., wobei in der Anmerkung steht: Hammarsten „Ueber etc“..... Pflüger's Archiv, 1878, Vol. XVIII p. 64 (39 p. 154).

davon, dass Halliburton zur Aufstellung eines Kriteriums äusserst wenig Material besass, widerspricht das angeführte Zitat aus Hammarsten's Arbeit geradezu Halliburton's Schlüssen. Hammarsten sagt an jener Stelle, — dass die von vielen Autoren angegebene Gerinnungstemperatur für das Paraglobulin —  $75^{\circ}$  — in den meisten Fällen stimme, dass es aber wichtig (!) sei zu wissen, dass, je nach der Anordnung der Versuche und der ungleichen Beschaffenheit des Paraglobulins, diese Temperatur zwischen  $68^{\circ}$  und  $78^{\circ}$  schwanken und sogar bis  $80^{\circ}$  steigen könne <sup>1)</sup>. Nicht genug: Hammarsten spricht auf derselben Seite weiter von der Abhängigkeit der Gerinnungstemperatur auch von den Mengenverhältnissen des Paraglobulins <sup>2)</sup>. Wir wollen des Materials schon nicht gedenken, welches Halliburton offenbar unbekannt war und seine Schlüsse in dieser Hinsicht noch kräftiger widerlegt (N.N. 93—100 p. 394—9). Was Halliburton's Berufung auf Hoppe-Seyler, der die Gerinnungstemperatur des Serumalbumins auf  $70^{\circ}$ — $73^{\circ}$  festgestellt haben sollte, anbetrifft, so machte er sich schon darin eines Fehlers schuldig, dass er, auf das Lehrbuch des genannten Autors hinweisend, nicht erwähnte, in welchem Jahre es herausgegeben war u. s. w. <sup>3)</sup>. In den Halliburton's Arbeit zunächst stehenden Ausgaben desselben aus den Jahren 1875 und 1883 finden wir die oben erwähnten Zahlen nicht. So schreibt Hoppe-Seyler im Jahre 1875, dass beim Erwärmen bis auf  $72^{\circ}$ — $73^{\circ}$  Blutserum, oder Hydroceleflüssigkeit Flocken ausseide, Trübung aber schon bei  $60^{\circ}$  erfolge. Ausserdem sagt er geradezu, dass durch Eintragen von Phosphorsäure oder Essigsäure die Temperatur bis  $70^{\circ}$ ,  $50^{\circ}$  (!) und noch weiter herabgesetzt werden könne <sup>4)</sup>! In der Ausgabe vom Jahre 1883 dagegen schreibt Hoppe-Seyler, dass salzfreies Serumalbumin bei ungefähr 1% Salzgehalt bei  $50^{\circ}$  gerinne, und dass mit dem Steigen des Salzgehalts auch die Gerinnungstemperatur steige. In einem Globulin und Salze enthaltenden Gemenge, wie das im Serum des Blutes und der Lymphe der Fall ist, gerinne das „Albumin“ über  $60^{\circ}$ ; zuerst erscheine Trübung, dann, zwischen  $72^{\circ}$ — $75^{\circ}$ , auch ein Niederschlag. Ein Zusatz von Salzen, Säuren und Alkalien verändere die Gerinnungstemperatur merklich <sup>5)</sup>. Ein Vergleich der soeben angeführten Angaben, auf welche Hal-

<sup>1)</sup> Die Gerinnungstemperatur des Paraglobulins ist von mehreren Forschern (Weyl, Frédéric und mir) zu  $+75^{\circ}\text{C}$ . bestimmt worden, und diese Angabe dürfte wohl auch für die meisten Fälle eine richtige sein. Es ist doch gewiss nicht unwichtig zu wissen, dass die Gerinnungstemperatur des Paraglobulins je nach der Versuchsanordnung und wahrscheinlich auch mit der bei verschiedenen Gelegenheiten ungleichen Beschaffenheit des Paraglobulins zwischen  $+68^{\circ}\text{C}$ . und  $+78^{\circ}\text{C}$ . oder sogar  $+80^{\circ}\text{C}$ . wechseln kann. Die Umstände, welche, so weit ich bisher gefunden habe, die Coagulationstemperatur einer und derselben Paraglobulinlösung verändern können, sind: der Gehalt an Paraglobulin, der Gehalt an Salz (NaCl) und endlich die Geschwindigkeit, mit welcher das Erwärmen geschieht (44 p. 64).

<sup>2)</sup> Die Abhängigkeit der Coagulationstemperatur von dem Gehalte der Lösung an Paraglobulin dürfte aus Folgendem hervorgehen (44 p. 64).

<sup>3)</sup> The temperature of heat-coagulation of serum albumin is put down by Hoppe-Seyler as  $70^{\circ}$ — $73^{\circ}\text{C}$ ., in der Anmerkung: Hoppe-Seyler, Handbuch d. phys. u. path. chem. Analyse; nichts weiter (39 p. 154).

<sup>4)</sup> Beim Erhitzen auf  $72^{\circ}$  bis  $73^{\circ}$  wird das Se-

rumalbumin aus Blutserum, Hydroceleflüssigkeit u. s. w. in Flocken oder als compacte Masse coaguliert, nachdem über  $60^{\circ}$  (!) bereits Trübung (!) der Flüssigkeit sich eingestellt hat; diese Fällung erfolgt nicht, wenn durch Diffusion die Salze völlig entfernt sind. Durch Zusatz von sehr verdünnter Phosphorsäure oder Essigsäure, ebenso durch Zusatz von Chlornatrium oder anderen neutralen Alkalisalzen wird der Coagulationspunkt erniedrigt, durch Zusatz von sehr wenig kohlen-saurem Natron dagegen erhöht. Aus diesem Grunde gerinnt das Serumalbumin in sauer reagierenden Harnen meist unter  $70^{\circ}$ , oft schon in den  $50$ -er Graden oder bei einer noch niedrigeren Temperatur (59 p. 232).

<sup>5)</sup> Möglichst salzfrei dargestelltes Serumalbumin gerinnt in ungefähr 1 procentiger Lösung gegen  $50^{\circ}$ , durch Zusatz von NaCl wird die Coagulationstemperatur erhöht. In der Mischung aus Serumglobulin und Salzen, wie das Serumalbumin im Blut und Lymphserum auftritt, gerinnt es stets über  $60^{\circ}$  zuerst als Trübung, zwischen  $72$ — $75^{\circ}$  in Flocken. Zusatz von Salz, Säuren oder Alkalien ändern die Gerinnungstemperatur erheblich (60 p. 269).

liburton sich beruft, gibt schon das Recht zu der Aussage, dass sein „Albumin“ aus „Globulin“ allein, oder aus einem Gemenge von „Albumin“ und „Globulin“ bestehen und sein „Globulin“ auch gar kein „Globulin“ enthalten konnte, nämlich im Sinne der Autoren, auf deren Angaben er seine Schlüsse gründete, indem er ganz willkürlich die Existenz dieser vier durch Wärme und Säure erzeugten Niederschläge, die schon genügend von Heynsius (N.N. 93—100 p. 398) erforscht worden waren, annahm. Herter, der Referent dieser Arbeit in Maly's Jahresberichten, hält es für angemessen, die von Halliburton angegebenen Zahlen „70°—73°“ ohne weiteres durch 72°—75° zu ersetzen (47 p. 127), indem er sich dabei auf Hoppe-Seyler's Lehrbuch vom Jahre 1883 (60 p. 269) beruft. Dass es sich in Halliburton's Arbeit nicht um einen Druckfehler handelt, den der Referent zu verbessern hatte, erhellt daraus, dass auf S. 170 seines Buches Halliburton dieselben Zahlen wiederholt (39 p. 170) <sup>1)</sup>. Die bedeutungslosen Benennungen bei Seite lassend, darf man wohl sagen, dass Halliburton sukzessive Fällung bei Gegenwart unbedeutender Säuremengen, die allein keine Fällung bewirken konnten, erhielt, indem er die Verdünnung mit Wasser, deren sich z. B. Eichwald zu seinen fraktionirten Fällungen bediente, durch Wärme ersetzte. Wenn in Eichwald's Falle das beim Einleiten von Kohlensäure sich bildende kohlensaure oder doppelkohlensaure Natron das Globulin in Lösung erhalten konnte, das Wasser aber die lösende Kraft des Salzes herabsetzte und das Globulin sich ausschied, so nahm auch hier das Lösungsvermögen des Salzes nicht bloss infolge des Vorhandenseins eines Säureüberschusses sondern auch durch die Temperatur ab: je höher diese ist, desto weniger Globulin kann das Salz in Lösung halten (N.N. 75—80 p. 266), namentlich bei Gegenwart einer wenn auch nur in geringer Menge vorhandenen Säure (N.N. 86—92 p. 259).

Somit besitzen wir in Halliburton's Arbeit einen neuen Beweis für den Aufbau der natürlich vorkommenden Flüssigkeiten aus Lösungen basischer Globulinverbindungen. Zugleich beobachtete der Autor einen interessanten Umstand, der mit allen Angaben im Einklang steht, welche zu gunsten einer nicht nur bei einfachem Kochen sondern auch nach sorgfältiger Neutralisation und nachherigem Kochen in der Flüssigkeit bleibenden Alkaliverbindung reden, nämlich, dass es zur vollständigen Fällung nicht bloss der Siedhitze sondern auch einer leichten Ansäuerung bedarf, mit einem Worte alles dessen, was auch Scherer empfohlen hatte; der einzige Unterschied besteht darin, dass Halliburton dasselbe bei niedrigerer Temperatur—82°—87°—erreichte, wobei, wie wir schon erklärten, die Gerinnungstemperatur hier auch noch niedriger sein kann; vollständige Ausscheidung des Proteins aus der Flüssigkeit kann auch bei Zimmertemperatur stattfinden, wenn die Menge der Säure oder des vorhandenen Salzes bis zu einem gewissen Grade gesteigert wird, wie wir es schon aus der Lehre über das Verhalten des Globulins zu den Säuren kennen gelernt haben.

Diesen Tatsachen gemäss kann auch hier kein Körper durch die Temperatur charakterisirt werden. Halliburton selbst gibt übrigens zu, dass die Gerinnungstemperatur der Flüssigkeiten durch mancherlei Umstände beeinflusst wird, vor allem durch deren Reaktion, dann durch die Gegenwart von Salzen, endlich durch die Dauer und den Grad der Erhitzung <sup>2)</sup>.

Ausser dem Dargelegten und ohne der Gerinnungstemperatur eine diagnostische Bedeutung zuzuschreiben, muss noch erwähnt werden, dass wir bei Halliburton viele

<sup>1)</sup> The observer upon whose authority the coagulation temperature of serum albumin is stated as 70°—73° is Hoppe-Seyler (39 p. 170).

<sup>2)</sup> Various circumstances influence the tempe-

rature of coagulation of a proteid: the most potent of these is the reaction; others are, the amount of sodium chloride present, and the duration and rate of heating и т. д. (39 p. 161).

Angaben über die Abhängigkeit der Fällungstemperatur von den quantitativen Verhältnissen der Salze, Säuren und Alkalien finden (39 p. 165). Nicht weniger unbegründet erscheinen die Versuche, das Protein in den natürlich vorkommenden Flüssigkeiten durch die Einwirkung von Salzen bei Gegenwart von Alkohol abzutrennen, wie wir dessen schon erwähnten; dieses Verfahrens bediente sich sehr beharrlich Hofmann (53 p. 135), der aus einer Porzion das Protein mit Alkohol, aus einer anderen das „Globulin“ mit Magnesiumsulfat fällte und dabei glaubte, diese beiden Körper auf diese Weise von einander getrennt und deren gegenseitiges Verhältniss in den proteinhaltigen Flüssigkeiten bestimmt zu haben.

Ebenso wenig Erfolg hatte Kauder, der sich bestrebte die Trennung des „Albumins“ und des „Globulins“ durch Sättigung mit Ammoniumsulfat zuwege zu bringen; der Zusatz dieses Salzes bis 24-33,6% Gehalt desselben sollte Ausfallen des „Globulins“, 36,6-47,2%—Ausfallen des „Albumins“ (63 p. 420) bewirken.

Sowohl die soeben angeführten Beispiele als auch die von uns früher erwähnten Beobachtungen der Autoren lassen sich durch den Umstand erklären, dass die Fällungstemperatur der proteinhaltigen Flüssigkeiten durch den Zusatz von Salzen bis zur Zimmertemperatur herabgesetzt werden kann. Bei Béchamp finden wir auch wirklich Angaben darüber, dass die Fällungstemperatur des Eiweisses verschiedener Vogelarten mit dem Eintragen von Salzen gewöhnlich sinkt, wobei aber auch der Konzentrationsgrad der proteinhaltigen Flüssigkeiten einen bedeutenden Einfluss ausübt (2 p. 17—31). Auch Varrenne (114 p. 129) findet, dass Salze die Temperatur der Fällung verschiedener Präparate des Hühnereiweisses stark beeinflussen, namentlich die Temperatur der „Gerinnung“ herabsetzen. Diese Veränderlichkeit der Fällungstemperatur unter dem Einfluss verschiedener Agentien veranlasste Michailoff (83 p. 107) nach den Beziehungen zwischen der Fällungstemperatur des mit Wasser versetzten Hühnereiweisses und der Base der Salze, welche dieselbe beeinflusst hatte, zu forschen. Selbstverständlich konnte der Autor in dieser Hinsicht infolge des Verhaltens der Salze zu der Fällungstemperatur der Salz-, Alkali- und Säureglobuline, von denen wir in den entsprechenden Kapiteln (N. N. 75—80 p. 255—64; N. N. 81—85 p. 111; N. N. 86—92 p. 252) ausführlich gesprochen haben, zu keinen bestimmten Schlüssen gelangen (83. p. 112).

Ohne die Geschichte zu rate zu ziehen, oder die Arbeiten ihrer Vorgänger kritisch zu prüfen, wiederholten Corin & Bérard Halliburton's Versuche mit dem Ansäuern und nachherigen Erwärmen des Eiweisses und fanden, dass das Hühnereiweiss fünf besondere Proteinkörper enthalte, deren Gerinnungstemperaturen 57,5°, 67°, 72°, 76° und 82°<sup>1)</sup> seien! Es ist interessant, dass diese Autoren im Einklang mit unseren Erklärungen nach einer jeden Fällung, folglich vor einem jeden nachfolgenden Erwärmen, die Flüssigkeit anzusäuern raten, da das Alkali der proteinhaltigen Flüssigkeit die Fällung verhindern würde<sup>2)</sup>. Im Hinblick auf die von den Autoren angenommenen fünf besondern Körper neben dem Alkali in der Flüssigkeit gestatte man mir die Frage, ob es blosse Naivetät war, welche die Autoren die einfachsten Substitutionsreaktionen vergessen liess, die unter dem Einfluss der Wärme mehr oder weniger günstig vor sich gehen und hier auch wirklich stattfanden?! So-

<sup>1)</sup> 1. Le blanc d'oeuf contient cinq substances albuminoïdes différentes, isolables par la chaleur, et dont les points, tant d'opalescence que de coagulation, doivent être fixés à peu près comme il suit: 57,5—67°—72°—76°—82° (14 p. 177).

<sup>2)</sup> Il est indispensable, chaque fois qu'on a obtenu une coagulation dans un liquide albumi-

neux, de rétablir le degré d'acidité avant de procéder à la coagulation suivante. Ce phénomène, met, en effet, en liberté une certaine quantité d'alcali qui vient élever plus ou moins le degré où se fera la coagulation de d'albumine restant dans le liquide (14 p. 171).

lange unter dem Ausdruck „Gerinnungstemperatur“ die Ausscheidung des Proteins unter dem alleinigen Einfluss der Wärme verstanden wurde, konnte man sich damit noch zufrieden geben, da einer solchen Vorstellung eine ausschliesslich durch Wärme bedingte vermeintliche Eigenschaft dieses Körpers zu grunde lag; nun aber verstiesse Halliburton und Corin & Bérard nicht nur gegen das historische Anrecht auf die Vorstellung von der „Wärme gerinnung“, sondern verwechselten auch noch, bewusst, oder unbewusst, die Fällung durch blosse Wärme mit einer solchen durch Wärme bei Gegenwart einer Säure, indem sie die Fällungstemperatur, wie sie nach dem oben Dargelegten von Hoppe-Seyler, Hammarsten (N.N. 93—100 p. 400) u. a. unter der ausschliesslichen Einwirkung der Wärme beobachtet wurde, der Fällung unter der gleichzeitigen Einwirkung von Wärme und Säuren gleichstellten. Dies ist um so befremdlicher, als Halliburton ungefähr 4 Jahre nach seiner ersten Arbeit ein Kochsalzextrakt aus den Lymphdrüsen des Abdomen ohne Ansäuerung wärmte und bei 50 und 75° Niederschläge erhielt, die er Globuline nannte, während er den bei 73° erhaltenen intermediären Niederschlag für Albumin ansah (40 p. 255)!! Dasselbe wiederholen Halliburton & Friend (42 p. 535) auch in bezug auf die Stromata der roten Blutkörperchen, indem sie auch hier mehrere Proteinkörper finden, welche bei verschiedenen Temperaturen ausfallen. Auch in bezug auf die Proteine der Milch finden wir bei Halliburton mehrere Fällungen in Abhängigkeit von den Salzen (41 p. 450).

Selbstverständlich wurde ein solches Verhalten dieser Autoren den beschriebenen Erscheinungen gegenüber in Haycraft & Duggan's Mitteilungen (46 p. 473) einer strengen Kritik unterworfen. Diese Forscher meinten nämlich, dass die Fällungstemperatur der proteinhaltigen Flüssigkeiten von der Menge der Salze, des Proteins u. s. w. abhängt, und dass man durch gleichzeitige Einwirkung von Säuren und Wärme so viele Niederschläge, wie man wünscht, erhalten könne (ib. p. 475). Wenn das Gesagte sich nur auf Halliburton und Corin & Bérard bezöge, so würde es genügen dessen bloss zu erwähnen; doch sprechen sich in letzter Zeit in diesem Sinne auch andere Beobachter aus. Am befremdlichsten ist, dass Fredericq (27-b p. 601 u. 633) und später Halliburton (41 p. 453), das Ansäuern der Flüssigkeit in Corin & Bérard's Versuchen gutheissen und für zweckmässig erklären. . . . welchen Zweck hatten sie aber im auge? fragen wir.

Andererseits hat es auch in letzter Zeit nicht an Hinweise auf den Einfluss der Salze auf die Temperatur der Fällung gefehlt. So zeigte Ringer zuerst an den Proteinen der Milch (91 p. 469; 92 p. 164), dann im Verein mit Sainsbury an zweifach mit Wasser verdünntem Serum (93 p. 170), übrigens an einer geringen Anzahl von Beispielen, die Abhängigkeit der Fällungstemperatur von der Quantität und Qualität der Salze.

Das soeben Dargelegte hat eigentlich nur historische Bedeutung, und dient nur dazu die irrthümliche Ansicht der Autoren über die Temperatur der „Gerinnung“ zu zeigen, da sie, die äusseren Züge der Beobachtungen ihrer älteren Vorgänger sich zu eigen machend, höchst originell die Gerinnungstemperatur zu den Grundeigenschaften der Proteinkörper rechneten.

Auf welche Art die Temperatur der „Fällung“ sich verändert, und welches die Bedingungen sind, die auf diese Veränderungen einwirken, haben wir schon (N.N. 75—80 p. 255; N.N. 81—85 p. 110 und 86—92 p. 252) genügend erklärt. Auch erbrachten wir schon Beispiele multipler Fällung, 6- und 7-mal (N.N. 75—80 p. 266—7), in einer und derselben Lösung. Die Beobachtungen über die Fällungstemperatur können wir durch ein ungleich interessanteres Beispiel als die von den genannten Autoren angeführten vervollständigen. In den Protokollen der Herren Stud. Dobrotworski

und Iermanski, die in unserem Laboratorium arbeiteten, steht unter dem 20 November 1887 aufgezeichnet, dass mit 10 Vol. Wasser verdünntes Kalbsblutserum nach 2-stündiger Einwirkung eines Kohlensäurestroms einen Niederschlag absetzte, nach dessen Abtrennung in dem mit Essigsäure neutralisirten Filtrat ein Niederschlag sich zwischen 37°—42° bildete; danach erfolgte in den Filtraten, schon ohne neuen Säurezusatz, Fällung bei 60°, 67°, 72°, 75°, 77° und 100° (beim Kochen)! Die Temperatur der „Fällung“ oder „Gerinnung“ ist im allgemeinen die Dissoziationstemperatur der vorhandenen Verbindungen oder derjenigen, die sich bilden sollen (N. N. 75—80 p. 265—6). Somit besitzen wir nach der Ausscheidung des durch die in den Filtraten vorhergegangenen Temperaturfällungen erzeugten Niederschlags eine neue Globulinverbindung, deren Fällungstemperatur wiederum sowohl von der Globulinmenge selbst als von den Mengenverhältnissen der übrigen Bestandteile der Lösung abhängt (N. N. 48—60 p. 62—79; N. N. 75—80 p. 255; N. N. 81—85 p. 110; N. N. 86—92 p. 252—60). Dem Dargelegten gemäss verändert sich die Fällungstemperatur der proteinhaltigen Flüssigkeiten in weiten Grenzen auch durch den Zusatz verschiedener chemischer Agentien.

---

## L I T E R A T U R.

- 1) **Aronstein**.—Pflügers Archiv. 1874. Bd. 8. 2) **Béchamp**.—Nouvelles recherches sur les albumines. Paris. 1887. 3) **Berzelius**.—Lehrbuch der Thier-Chemie. Dresden. 1831. 4) **Id.**—Ib. 4 Aufl. Dresden & Leipzig. 1840. Bd. 9. 5) **Biddert**.—Deutsch. med. Wochenschrift. Berlin. 1887. 6) **Bostok**.—A. Journal of Natural Philosophy etc. London. 1805. vol. 11. 7) **Id.**—Ib. 1806. Vol. 14. 8) **Id.**—Medico-chirurgical Transact. London. Edit. 2. 1813, vol. 4. 9) **Brande**.—Philos. Transact. 1812. 10) **Brücke**.—Sitzungsber. Wien. 1867. Bd. 55. 11) **Cahn**.—Zeitschr. f. physiol. Chem. 1881. Bd. 5. 12) **Caseneuve & Lepine**.—Gaz. méd. de Paris. 1880. t. 2. 13) **Chevreul**.—Ann. de chim. & de phys. 1821. t. 19. 14) **Corin & Bérard**.—Travaux de l'Institut de physiologie de Liège. 1888. t. 2. 15) **Danilewsky**.—Centralb. f. m. W. 1880. 16) **Id.**—Zeitschr. physiol. Chem. 1881. Bd. 5. 17) **Id.**—(Данилевский).—Физиологическій сборникъ братьевъ Данилевскихъ. Харьковъ. 1888 т. 1. 18) **Denis**.—Essai sur l'application de la chimie etc. Paris. 1838. 19) **Id.**—Démonstration expérimentale etc. Commerc. 1839. 20) **Id.**—Nouvelles études chimiques etc. Paris. 1856. 21) **Dollfus & Verdeil**.—Comp. rend. 1850. t. 30. 22) **Dubrunfaut**.—Comp. rend. 1871. t. 72. 23) **Eichwald**.—Zeitschr. med. Würzb. 1864. Bd. 5. 24) **Id.**—Beiträge zur Chemie etc. Berlin. 1873. Heft. 1. 25) **Eugling**.—Maly's Jahrb. 1885. Bd. 15. 26) **Fokker**.—Pflüger's Arch. 1873. Bd. 7. 27) **Fourcroy**.—Système des connaissances chimiques etc. Paris. 1801. t. 9. 27-a) **Fredericq**.—Archives de Biologie von Beneden. 1880 t. 1. 27-b.) **id.** Centralb. für Physiologie Exner's. 1880 Bd. 3. 28) **Gautier**.—Des matières albuminoïdes. Paris. 1865. 29) **Id.**—Bullet. de la Société chimique. Paris. 1870. t. 14. 30) **Id.**—Comp. rend. 1874. t. 79. 31) **Id.**—Bullet. de la Société chimique. Paris. 1874. t. 22. 32) **Id.**—Ib. 1875. t. 23. 33) **Gerhardt**.—Traité de Chimie organique. Paris. 1856. t. 4. 34) **Id.**—Lehrbuch der organ. Chemie etc. Leipzig. 1857. Bd. 4. 35) **Gmelin**.—Grundriss der allgem. Chem. Göttingen. 1789. Bd. 2. 36) **Graham**.—Liebig's Ann. 1862. Bd. 121. 37) **Gscheidlen**.—Schmidt's Jahrbuch. 1871. Bd. 149. 38) **Haas**.—Chem. Centralb. 1876. Bd. 3. 39) **Halliburton**.—Journ. of Physiol. 1884. Vol. 5. 40) **Id.**—Proceed. of the Royal Society of London. 1888. vol. 44. 41) **Id.**—Journ. of Physiology. 1890. t. 11. 42) **Id.** & **Friend**.—Ib. 1889. vol. 10. 43) **Hammarsten**.—Maly's Jahrb. 1876. Jahrg. 6. 44) **Id.**—Pflüger's Archiv. 1878. Bd. 18. 45) **Id.**—Zeitschr. für physiol. Chemie. 1883-4. Bd. 8. 46) **Haycraft & Dugann**.—Centralb. für Physiologie. 1889. Bd. 3. 47) **Herter**.—Maly's Jahresber. 1884. Jahrg. 14. 48) **Hewson**.—Experimental Inquiries. Part. the first. London. 1780. 49) **Id.**—Vom Blute etc. Nürnberg. 1780. 50) **Heynsius**.—Pflüger's Archiv. 1869. Bd. 2. 51) **Id.**—Ib. 1874. Bd. 9. 52) **Id.**—Ib. 1876. Bd. 12. 53) **Hofmann**.—Klebs-Naunyn's Archiv. 1883. Bd. 16. 54) **Hoppe-Seyler**.—Virchow's

Archiv. 1856. Bd. 9. 55) **Id.**—Ib. 1859. Bd. 17. 56) **Id.**—Schmidt's Jahrbüch. 1860. Bd. 106. 57) **Id.**—Zeitschr. für analyt. Chemie. 1864. 3 Jahrg. 58) **Id.**—Handbuch d. physiol. & patholog.—chem. Analyse. Berlin. 1865. 2 Aufl. 59) **Id.**—Ib. 4 Aufl. 1875. 60) **Id.**—Ib. 5 Aufl. 1883. 61) **Hünefeld.**—Physiologische Chemie. 1827. Bd. 2. 62) **Kapeller.**—Untersuchungen über das Kasein. Dorpat. 1874. 63) **Kauder.**—Klebs-Naunyn's Archiv. 1886. Bd. 20. 64) **Kemmerich.**—Pflüger's Archiv. 1869. Bd. 2. 65) **Köster.**—Maly's Jahresber. 1881. Bd. 11. 66) **Kossel.**—Zeitschr. physiol. Chem. 1878—9. Bd. 2. 67) **Krimer.**—Versuch einer Physiologie des Blutes. Leipzig. 1823. Bd. 1. 68) **Kühne.**—Untersuchungen über das Protoplasma. Leipzig. 1864. 69) **Id.**—Lehrbuch der physiolog. Chem. Berlin. 1866—8. 70) **Lehmann.**—Lehrbuch der physiol. Chemie. Leipzig. 1850. Bd. 2. 71) **Id.**—Ib. Bd. 3. 72) **Id.**—Ib. 2 Aufl. 1853. Bd. 1. 73) **Id.**—Ib. Bd. 2. 74) **Id.**—Gmelin's Handbuch der Chemie. Bd. 8. Heidelberg. 1858. 75) **Lewith.**—Klebs'-Naunyn's Archiv. 1890. Bd. 26. 76) **Lieberkühn.**—Müller's Archiv für Physiologie. 1848. 77) **Liebermann.**—Schmidt's Jahrbüch. 1875. Bd. 168. 78) **Liebig.**—Handwörterbuch der Chemie von Liebig u. and. 1838—41. Bd. 1. 79) **Limpricht.**—Liebig's Ann. 1863. Bd. 127. 80) **Macquer.**—Dictionnaire de Chimie. Paris. 1778. t. 3. 81) **Melsens.**—Comp. rend. 1851. t. 33. 82) **Michailoff** (Михайловъ).—Журналъ русск. физико-химич. Общ. 1885. t. 17. 83) **Id.**—О студенистомъ состояніи бѣловыхъ веществъ. Спб. 1888. 84) **Monnier.**—Bull. Soc. chim. 1869. t. 11. 85) **Morin.**—Journ. de pharm. 1853. t. 24. 86) **Id.**—Ib. 1854. t. 25. 87) **Müller, I.**—Handbuch der Physiologie. 1844. Bd. 1. 88) **Musso & Menozzi.**—Petersen's Forschungen. Bremen. 1878. Bd. 1. 89) **Nasse.**—Wagners Handwörterbuch der Physiologie. 1842. Bd. 1. 90) **Panum.**—Virchow's Archiv. 1851. Bd. 3. 91) **Ringer.**—Journal of Physiology. 1890. t. 11. 92) **Id.**—Ib. 1891. vol. 12. 93) **Id. & Sainsbury.**—Ib. 94) **Rollett.**—Sitzungsber. Wien. 1860. Bd. 39. 95) **Rouelle.**—Journal médic. 1773. t. 39. 96) **Scheer.**—Liebig's Ann. 1841. Bd. 40. 97) **Id.**—Wagner's Handwörterbuch der Physiologie. 1843. Bd. 2. 98) **Id.**—Verhandlung. d. physiolog.—medizinisch. Gesellschaft. Würzburg. 1852. Bd. 2. 99) **Schlosserger.**—Lehrbuch der organ. Chemie. 2 Aufl. Stuttgart. 1852. 100) **Schmidt. Du-Bois.**—Reymond's Archiv der Physiologie. 1862. 101) **Id.**—Pflüger's Archiv. 1872. Bd. 6. 102) **Schnaubert.**—Tromsdorf's Journal. 1804. Bd. 4. 102-a) **Schützenberger.**—Comp. rend. 1864. t. 58. 103) **Sebelien.**—Zeitschrift für physiolog. Chem. 1885. Bd. 9. 104) **Selmi.**—Petersen's Forschungen. Bremen. 1878. Bd. 1. 105) **Setschenow** (Сѣченовъ).—Журналъ русск. физико-хим. Общества 1878. Отд. 1. t. 10. 106) **Simon.**—Handbuch der angew. Chemie. Berlin. 1840. Bd. 1. 107) **Soxhlet.**—Journal für prakt. Chemie. 1872. Bd. 6. 108) **Id.**—Die Landwirtschaftl. Versuchsstation von Noble. Chemnitz. 1876. Bd. 19. 109) **Tarchanoff** (Тархановъ).—Военно-медицинскій журналъ. Спб. 1883 часть 146. 110) **Id.**—Pflüger's Archiv. 1884. Bd. 33. 111) **Thouvenel.**—Mémoires chimiques etc. St.-Pétersb. 1777. 112) **Urbain.**—Bulet. de la Soc. chim. Paris. 1874. t. 22. 113) **Varenne.**—Comp. rend. 1886. t. 102. 114) **Vintschgau.**—Sitzungsber. Wien. 1857. Bd. 24. 115) **Wittstein.**—Vierteljahresschrift für prakt. Pharmacie. 1853. Bd. 2. 116) **Zahn.**—Pflüger's Archiv. 1869. Bd. 2. 117) **Id.**—Ib. 1870. Bd. 3.