

# Über die Fällung von Eiweiß mit Zinksulfat.

## II. Mitteilung.

Von

Privatdozent Dr. F. Lippich.

(Aus dem medicin.-chem. Institut der Prager deutschen Universität.)

(Der Redaktion zugegangen am 23. Februar 1914.)

In meiner ersten Abhandlung<sup>1)</sup> war ich zu dem Schlusse gekommen, daß die Fällungen, welche Zinksulfat unter verschiedenen Umständen in Eiweißlösungen hervorruft, nicht als Adsorptionskomplexe aufzufassen sind, sondern daß hier Verbindungen nach stöchiometrischen Verhältnissen vorliegen. Die Reaktion zwischen Eiweiß und Zinksulfat ist anzusehen als eine chemische Reaktion zwischen einem amphoteren und einem nicht amphoteren Elektrolyten; sie hat den Charakter einer Gleichgewichtsreaktion, jedoch keiner einfachen, wie sie etwa in der Esterbildung aus Alkohol und Essigsäure vorliegt. Denn die Gleichgewichtsbedingung ist bei Änderung der Versuchsbedingungen nicht immer durch die Konzentration einer sich gleichbleibenden Anzahl von Molekülarten bestimmt, sondern infolge von Komplexbildung, Ionisation, hydrolytischer Spaltung usw. treten neue Molekül-gattungen auf, von deren Konzentration nun ein neuer Gleichgewichtszustand abhängt. Wir gelangen auf diesem Wege zu einer Anzahl verschiedener Gleichgewichte und jedem derselben entspricht eine bestimmte Gleichung, gewisse Variable jedoch sind allen Gleichungen gemeinsam. Sind diese unabhängigen Variablen Eiweiß, Zinksalz und Wasser, so sind die neu auftretenden Molekül-gattungen die abhängigen Variablen, deren Auftreten im allgemeinen nicht gleichzeitig erfolgen wird. Entsprechen den verschiedenen Gleichgewichtszuständen existenzfähige Reaktionsprodukte, so werden diese im allgemeinen verschiedene Zusammensetzung aufweisen; einer bestimmten Kombination von Molekül-gattungen entspricht ein bestimmt zusammengesetztes Reaktionsprodukt; sein Existenzintervall entspricht dem Überwiegen der die zugehörige Gleich-

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 74, S. 360, 1911.

gewichtsbeziehung bestimmenden Molekül-gattungen; tritt nun eine neue Molekül-gattung hinzu und schwindet gleichzeitig eine andere, so wird ein kürzeres oder längeres Intervall existieren, innerhalb dessen zwei Reaktionsprodukte nebeneinander auftreten, von denen das eine eventuell einen Übergangscharakter zeigen kann. Ändert man die Konzentration der unabhängigen Molekül-gattungen gleichzeitig in genügend großen Intervallen, so werden die entsprechenden Reaktionsprodukte in ihrer Zusammensetzung und in ihren Eigenschaften merklich voneinander differieren; wird jedoch nur die Konzentration einer der unabhängigen Molekül-gattungen geändert, dann werden auch, falls dabei eine Änderung der Reaktionsprodukte eintritt, dieselben einander sehr ähnlich, zum mindesten nach demselben Typus gebaut sein. Ist eines dieser Reaktionsprodukte schwer löslich, tritt also ein Niederschlag auf, so muß derselbe demnach innerhalb eines gewissen Intervalles von gleichartiger Beschaffenheit und konstanter Zusammensetzung sein. Vermag die chemische Analyse die konstante Zusammensetzung solcher Niederschläge auch nur innerhalb eines relativ beschränkten Intervalles nachzuweisen, dann ist damit bewiesen, daß dieselben nach stöchiometrischen Gesetzen gebaut sind und daß sie komplizierten Gleichgewichtsverhältnissen ihre Entstehung verdanken. Gelingt es nun unter geänderten Bedingungen einen Niederschlag zu erhalten, der, wenn auch von dem ersten verschieden, doch durch die Konstanz seiner Zusammensetzung seine stöchiometrische Natur dokumentiert, so ist damit bewiesen, daß die in dem Intervall zwischen den beiden Niederschlägen sich abspielenden chemischen Vorgänge stöchiometrischer Natur sind, woraus unmittelbar folgt, daß überhaupt der ganze Vorgang nach stöchiometrischen Gesetzen sich abspielt.

Die qualitative Untersuchung der Vorgänge bei der Einwirkung von Zinksulfat auf Eiweiß hatte gezeigt, daß hier zwei Fällungsmaxima auftreten, zwischen deren Existenzbedingungen ein weites Variationsintervall der unabhängigen Variablen vorhanden ist. Die Niederschläge des ersten Maximums sind, wie ich gezeigt habe, in einem gewissen Intervall von konstanter Zusammensetzung und bis zu einem gewissen Grade unab-

hängig von der Konzentration der reagierenden Bestandteile. Diese Erkenntnis wurde nicht auf Grund direkter Analysen der betreffenden Niederschläge gewonnen, sondern durch Vergleich der Anfangs- und Endkonzentrationen nach Erzeugung jener Niederschläge. Diese Methode auf die Niederschläge im Bereich des zweiten Fällungsmaximums anzuwenden, geht wegen der daselbst vorhandenen hohen Zinksulfatkonzentrationen nicht an; noch weniger sind diese Niederschläge der direkten Analyse zugänglich. Verdanken sie ihr Auftreten oder die Begrenzung ihrer Existenz der Entstehung oder dem Verschwinden neuer Molekül- oder Ionengattungen, die ihrerseits wieder von der Konzentration der unabhängigen Molekülgattungen, Eiweiß, Zinksalz und Wasser abhängen, so werden sie gegen Konzentrationsänderungen der letzteren um so empfindlicher sein, je mehr dadurch die ersteren beeinflußt werden. Dies bezieht sich zunächst auf die chemischen Eigenschaften, besonders auf die Zusammensetzung, deren Konstanz sich im Verlauf der Isolierungs- und Reinigungsmanipulationen leicht ändern kann (wie die meisten der bisherigen direkten Analysen von Eiweiß-Metallsalzfällungen zeigen); doch kommt für die Isolierung nicht weniger die Änderung der physikalischen Eigenschaften wie besonders der Löslichkeit in Frage. Nun habe ich schon seinerzeit mitgeteilt, daß sich, ausgehend vom zweiten Maximum, Niederschläge erzeugen lassen, deren Eigenschaften wesentlich von jenen der Niederschläge des ersten Maximums differieren und die eben infolge dieser Eigenschaften einer Isolierung und direkten Analyse leichter zugänglich sind. Hierzu befähigt sie einerseits ihre Schwerlöslichkeit in Wasser und andererseits ihre relative Umempfindlichkeit gegen Zinksulfatlösungen, wenn diese eine gewisse Konzentration nicht überschreiten.

Bevor ich des näheren auf die Mitteilung solcher Analysen eingehe, möchte ich noch einmal auf die Niederschläge im Bereich des ersten Maximums zurückkommen. Die von mir in diesem Bereich ausgeführten und in meiner ersten Publikation mitgeteilten Analysen beziehen sich auf 10, 15 und 20fach verdünntes Pferdeserum. Die Verdünnung wurde, wie schon damals angeführt, teils aus analytischen Gründen gewählt, teils

weil sich ergeben hatte, daß durch dieselbe das Fällungsmaximum nicht verschoben, sondern höchstens etwas verbreitert wird. Aus diesen Analysen ging hervor, daß die in Rede stehenden Niederschläge von konstanter Zusammensetzung sind. Vom Adsorptionsstandpunkte konnte dieses Resultat eventuell so gedeutet werden, daß hier ein Fall von sehr schwacher Adsorption vorliegt, wobei bekanntlich schon eine geringe Anfangskonzentration der adsorbierten Substanz genügt, um das Maximum der Adsorption zu erreichen. Wenngleich diese Annahme von vornherein aus verschiedenen Gründen, wie ich schon früher ausgeführt habe und unter anderem auch darum sehr unwahrscheinlich ist, weil jene Niederschläge ihren Zinkgehalt schon dann ändern können, wenn man sie nach dem Abfiltrieren mit Zinksulfatlösungen von der Ausgangskonzentration behandelt, so wurde dennoch eine Analysenreihe bei höherer Eiweißkonzentration ausgeführt. Dabei war die Vorstellung maßgebend, durch Steigerung der Konzentration des Adsorbens bei sonst gleichbleibenden Verhältnissen den ansteigenden Teil der Adsorptionskurve, der in diesem Falle sehr steil sein mußte, zu treffen.

Die neue Versuchsreihe wurde, wie die früheren, mit Pferdeserum und zwar diesmal mit 5fach verdünntem ausgeführt. Die Durchführung der Versuche war im übrigen genau die gleiche, wie in den drei früher beschriebenen Versuchsreihen. Serum- und Endvolum, also auch die Eiweißmenge wurde wieder konstant gehalten. Die neue Reihe bestand aus vier Einzelproben. Eine jede derselben setzte sich aus 100 ccm einer Mischung von Serum, gesättigter Zinksulfatlösung und Wasser zusammen. Die Reihenfolge, in der diese Bestandteile zusammengebracht wurden, wechselte jedesmal in den aufeinanderfolgenden Proben, so daß also einmal das Serum mit der entsprechenden Menge Zinksulfatlösung versetzt wurde, worauf mit Wasser die Ergänzung zu 100 erfolgte, das andere Mal das Serum zunächst mit der entsprechenden Menge Wasser verdünnt wurde, worauf erst der Zusatz der Zinksulfatlösung erfolgte. Auf je 20 ccm Serum kamen 2,0; 1,6; 1,2; 0,8 ccm gesättigte Zinksulfatlösung. Nachdem Gleichgewicht eingetreten war, wurden alle Proben gleichzeitig filtriert und von den

Filtraten bestimmte Volumina in gewogene Wägegläschen eingemessen und gewogen, in jedem Falle wurde eine Parallelbestimmung ausgeführt. Hierauf wurde, wie früher, bei 100° zur Gewichtskonstanz getrocknet und im wässrigen Extrakt der Trockenrückstände die Zinkmenge als Zinkoxyd bestimmt.

Die Ausgangskonzentrationen an Eiweiß und Zinksulfat wurden gleichfalls in der schon seinerzeit angegebenen Weise ermittelt. Einmal kam in abgemessenen und gewogenen Volumina des 5fach verdünnten Serums der bei 100° gewonnene Trockenrückstand und die Gesamtasche zur Bestimmung; die Differenz beider wurde als Eiweißwert angenommen. Ferner erfolgte die Bestimmung des Zinksulfatgehaltes durch Ermittlung des bei 100° gewonnenen Rückstandes eines abgemessenen und gewogenen Volumens der gesättigten Zinksulfatlösung. Folgende Werte wurden erhalten:

10 ccm unverdünntes Serum wogen 10,2384 g; in 10 g des 5fach verdünnten Serums waren enthalten 0,1542 g Eiweiß und 0,0194 g Gesamtasche.

10 ccm der gesättigten Zinksulfatlösung wogen 14,558 g; in 1 ccm dieser Lösung waren enthalten 0,5031 g  $ZnSO_4$ .

10 ccm Wasser wogen bei der Versuchstemperatur von ca. 20° 9,9960 g.

In der folgenden Tabelle sind die Resultate der Analysen zusammengestellt; soweit die Zahlen Zehntelmilligramme bedeuten, beziehen sie sich auf 10 g, soweit sie Millimole bedeuten, beziehen sie sich auf 1000 g Filtrat.

Tabelle I.

Ver- such	ZnO ge- funden	Anfangs- konzentration an $ZnSO_4$		End- konzentration an $ZnSO_4$		$ZnSO_4$ des Niederschlages			Trocken- rück- stand	Eiweiß im Filtrat	Eiweiß im Nieder- schlag
		0,1 mg	0,1 mg	Milli- mol	0,1 mg	Milli- mol	0,1 mg	Milli- mol			
1	461	993	61,5	915	56,7	78	4,8	0,31	1493	283	1259
2	361	796	49,3	716	44,4	80	4,9	0,32	1271	281	1261
3	259	598	37,0	514	31,8	84	5,2	0,33	1012	247	1295
4	162	399	24,7	321	19,9	78	4,8	0,31	775	224	1318

Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, sind die Ergebnisse dieser neuen Untersuchungsreihe ganz analog den seinerzeit publizierten für 10-, 15- und 20fach verdünntes Serum. Zunächst ergibt sich zweifellos wieder die Konstanz der Zinkwerte des Niederschlages; da die Eiweißwerte desselben von einem bestimmten Mittelwerte nur wenig abweichen, so folgt daraus auch hier wieder die konstante Zusammensetzung des Niederschlages überhaupt.

Infolgedessen ergibt sich auch sowohl bezüglich der Gleichgewichtsbedingung der Adsorption, als auch bezüglich der Beziehung von Freundlich dasselbe Resultat wie früher; auch für die neue Versuchsreihe sind die in beiden Fällen konstruierten Kurven zur Abszissenachse parallele Gerade.

Die Analogie erstreckt sich ferner auf den Prozentsatz des ausgefällten Eiweißes, welcher für 10 g Lösung berechnet im Mittel 83,22% beträgt. Auch die Übereinstimmung dieses Wertes mit den entsprechenden der anderen Versuchsreihen ist befriedigend.

Während also in allen wesentlichen Punkten zwischen der neuen Versuchsreihe und den früher mitgeteilten völlige Analogie herrscht, so daß also die dort gezogenen Schlüsse in vollem Umfange auch hier gelten, fällt auf, daß der Zinkwert des Niederschlages in den hier mitgeteilten Versuchen viel höher ist als in den früheren.

Nun hatte es sich bei der Analyse der Filtrate von den Zinksulfatniederschlägen in den früheren Versuchsserien bekanntlich herausgestellt, daß das in ihren Trockenrückständen enthaltene Zink in einer Form vorliegt, in welcher es völlig mit Wasser extrahierbar ist, so daß der Zinkoxydwert der Extrakte mit jenem aus der Asche der entsprechenden Rückstände übereinstimmte. Demnach enthielt das in den Filtraten resp. in deren Rückständen vorhandene Eiweiß keine gewichtsanalytisch bestimmbar Mengen Zink in festerer Bindung. In der hier mitgeteilten Versuchsserie wurden, wie schon erwähnt, die Trockenrückstände der Filtrate von den Zinksulfatniederschlägen gleichfalls mit Wasser extrahiert und der Zinkgehalt der Extrakte bestimmt; diese Werte liegen der Tabelle I zugrunde.

Wurden nun die nach der Extraktion verbliebenen Eiweißrückstände verascht und entsprechend auf Zinkoxyd analysiert, so ergab sich in jedem Falle eine wägbare, wenn auch kleine Menge Zinkoxyd. Das Eiweiß hatte also Zink in fester, gebundener, mit Wasser nicht extrahierbarer Form enthalten. Die Menge desselben betrug mit Berücksichtigung der bei der kleinen Zinkoxydmenge besonders ins Gewicht fallenden Analysenfehler in allen Fällen den gleichen Wert. Um diese Größe verringert sich nunmehr der Zinkoxydwert des Niederschlages. Wie die Tabelle II zeigt, ändert sich durch Berücksichtigung der Zinkoxydwerte der Asche nichts an den in der Tabelle I wiedergegebenen Verhältnissen und somit auch nichts an den daraus gezogenen Schlußfolgerungen.

Tabelle II.

Versuch	ZnO des Filtrat- eiweißes 0,1 mg	ZnO gefunden 0,1 mg	ZnSO <sub>4</sub> gefunden 0,1 mg	ZnSO <sub>4</sub> des Niederschlages		
				Millimol	0,1 mg	Millimol pro 1 g Eiweiß
1	14	475	943	50	3,1	0,20
2	17	378	750	46	2,8	0,19
3	18	277	550	48	3,0	0,19
4	16	178	353	46	2,8	0,19

Trotz der Verminderung bleibt aber der Zinkoxydwert des Niederschlages der neuen Versuchsreihe immer noch größer als jener der früheren Versuchsreihen. An der Konstanz der Zusammensetzung und an seinem stöchiometrischen Charakter wird dadurch natürlich nichts geändert; wohl aber ergibt sich daraus ein gewisser Einblick in den Mechanismus der Reaktion zwischen Eiweiß und Zinksulfat.

Im Sinne der einleitenden Bemerkungen ändert sich beim Übergang der einen der vier Versuchsreihen zur andern nur die eine der drei Variablen, nämlich das Wasser; das Verhältnis von Eiweiß zu Zinksulfat ist in allen Fällen das gleiche, nämlich 10 ccm Serum zu je 1: 0,8; 0,6; 0,4; 0,2; 0,1 ccm gesättigter Zinksulfatlösung; in der neuen Serie wird zu 50, in den früheren

Serien je zu 100, 150 und 200 ccm mit Wasser ergänzt. Die Niederschläge, die unter diesen Umständen erhalten werden, sind äußerlich und in ihren Eigenschaften nicht von einander verschieden; sie sind für eine Serie wenigstens von identischer Zusammensetzung; das in ihnen enthaltene Eiweiß macht in allen Fällen ca. 84% der ursprünglich vorhandenen Menge aus; diese Verhältnisse können nur der Ausdruck stöchiometrischer Gleichgewichtsbedingungen sein. Es entspricht die äußere Ähnlichkeit der Niederschläge den einleitenden Ausführungen bezüglich der Änderung nur einer der unabhängigen Variablen; diese Niederschläge müssen auch chemisch einander nahe stehen, brauchen aber keineswegs chemisch identisch zu sein, ohne daß deshalb ihr stöchiometrischer Charakter tangiert wird. In der Tat zeigen dies die vorliegenden Analysen. In der neuen Serie beweist der Zinkgehalt des Filtrateiweißes, daß hier eine Verbindung von gemischtem Typus vorliegt, die Zink in festerer Bindung enthält,  $\text{ZnO-Eiweiß-ZnSO}_4$ , analog den entsprechenden Aminosäureverbindungen. Bei Verdünnung wird die Existenz dieses Typus durch Störung des Gleichgewichtes infolge Eintretens hydrolytischer Spaltung unmöglich. Die Analysen der früheren Serien zeigen dies; das Filtrateiweiß enthält kein fester gebundenes Zink mehr; nunmehr liegt also der einfache Typus  $\text{Eiweiß-ZnSO}_4$  vor, der gleichfalls bei den Aminosäuren und neuerdings auch bei den Polypeptiden<sup>1)</sup> seine Analogien hat. Die weiteren Verdünnungen zeigen nun, daß noch eine Störung des Gleichgewichtes eintritt; es macht sich die sogen. höhere Basenkapazität des Eiweißes bemerkbar. Auch hierfür läßt sich neuerdings<sup>2)</sup> eine Analogie bei den Aminosäuren anführen; es vermag z. B. das Salz einer zweiwertigen Base nicht nur mit einem, sondern auch mit zwei und drei Molekülen Aminosäure sich zu verbinden. Darnach wäre die Erhöhung der Basenkapazität nichts anderes als die infolge der Verdünnung eintretende Lösung von innerer oder äußerer Komplex-

<sup>1)</sup> Vgl. Pfeiffer und Modelski, Diese Zeitschrift, Bd. 81, S. 329, 1912.

<sup>2)</sup> Pfeiffer und Modelski, loc. cit. und Diese Zeitschrift, Bd. 85, S. 1, 1913.

bildung, wodurch weitere Aminogruppen zur Bindung von Salz verfügbar werden. In der Tabelle III sind die berechneten und gefundenen Zinkoxydwerte sowohl entsprechend der Tabelle I als auch der Tabelle II zusammengestellt; man sieht, daß auch hier wieder Reihen vorliegen, deren je zwei untereinander liegende Glieder mit genügender Übereinstimmung gleiche Differenzen geben, sodaß demnach auch die Differenzen je zweier gegenüberstehender Glieder gleich sein müssen. Dies verdeutlicht sehr anschaulich die Unabhängigkeit der Zusammensetzung des Niederschlages (im Versuchsbereich) von der Zinksulfatkonzentration.

Tabelle III.

	ZnO ber.	Diff. I	Ohne ZnO des Filtrateiweiß		Mit ZnO des Filtrateiweiß		Differenz III	
			ZnO gef.	Diff. IIa	ZnO gef.	Diff. IIb	a	b
1	500	99	461	100	475	97	39	25
2	401	100	361	102	378	101	40	23
3	301	100	259	97	277	99	42	24
4	201	100	162		178		39	23

Die neue Versuchsreihe bestätigt somit in jeder Beziehung die aus den früheren Versuchen gezogenen Schlüsse; trotz der höheren Eiweißkonzentration hat sich nicht der geringste Anhaltspunkt für das Hervortreten von Adsorptionserscheinungen ergeben; im Gegenteil tritt die stöchiometrische Natur des ganzen Vorganges nicht nur immer deutlicher hervor, sondern es hat sich auch auf chemisch-analytischem Wege in gewisser Beziehung ein Einblick in die keineswegs hoffnungslos komplizierten Reaktions- und Gleichgewichtsverhältnisse gewinnen lassen und die daraus sich ergebenden Schlüsse erfahren durch Analogien an Aminosäuren und Polypeptiden eine beachtenswerte Stütze.

Ich gehe nun zu den in der Einleitung angeführten Niederschlägen über, die sich im Bereich des zweiten Fällungsmaximums erzeugen lassen und von denen hervorgehoben wurde, daß sie der direkten Analyse weit eher zugänglich sind

als die Niederschläge im Bereich des ersten Fällungsmaximums. Daß der Unterschied in den Eigenschaften dieser beiden Maximumniederschläge recht erheblich ist, wurde schon in meiner ersten Mitteilung genügend charakterisiert, sodaß hier nur darauf hingewiesen zu werden braucht. Man erhält also diese hier zu besprechenden Niederschläge, indem man im Bereich des zweiten Maximums, d. i. etwa von Halbsättigung des unverdünnten Serums mit Zinksulfat an, mit Wasser verdünnt. Diese Niederschläge sind zwar fast unlöslich in Wasser, doch mußte darauf geachtet werden, um möglichen Einwänden zu begegnen, so lange noch Filtrateiweiß in merklicher Menge vorhanden war, das Gleichgewicht möglichst zu erhalten. Es wurde daher wie folgt vorgegangen.

Zunächst wurden Niederschläge unter verschiedenen Bedingungen im Bereich des zweiten Maximums erzeugt. 1. Wurden 100 ccm unverdünntes Pferdeserum mit 100 ccm gesättigter Zinksulfatlösung gemischt und die Mischung mit Wasser zu 1000 ccm ergänzt. 2. Wurde eine ebensolche Mischung von je 100 ccm Serum und Zinksulfatlösung auf 2000 ccm mit Wasser ergänzt. 3. Wurden 100 ccm Serum und 150 ccm Zinksulfatlösung gemischt und auf 2000 ccm mit Wasser ergänzt. Nach etwa 48stündigem Stehen war Gleichgewicht eingetreten. Die Niederschläge wurden nun auf gewogenen Filtern abfiltriert. Gewaschen wurde, entsprechend der oben gemachten Bemerkung, zunächst mit einer Zinksulfatlösung von Mutterlaugenkonzentration; diese Waschflüssigkeit wurde rasch durch zwei bis drei Zinksulfatlösungen abnehmender Konzentration verdrängt und schließlich wurde mit reinem Wasser schwefelsäurefrei gewaschen. Nach gründlichem Waschen mit Alkohol und Äther folgte die Trocknung der Niederschläge bei 100° zur Gewichtskonstanz und sodann deren Veraschung. Aus der Asche wurde das Eisen mittels Natriumacetat entfernt, das Zink als Carbonat niedergeschlagen und als Oxyd gewogen.

Folgende Werte wurden erhalten:

1. Entsprechend der ersten Fällung:

0,7754 g Niederschlag = 0,0172 g ZnO; 0,7947 g = 0,0161 g ZnO;  
0,3324 g = 0,0066 g ZnO; 0,3619 g = 0,0069 g ZnO.

Diese Werte entsprechen der Reihe nach 2,22<sup>o</sup>/<sub>o</sub>; 2,03<sup>o</sup>/<sub>o</sub>; 1,98<sup>o</sup>/<sub>o</sub>; 1,90<sup>o</sup>/<sub>o</sub>. Daraus ergibt sich als Mittelwert 2,06<sup>o</sup>/<sub>o</sub>.

2. Entsprechend der zweiten Fällung:

1,2999 g Niederschlag = 0,0272 g ZnO;

1,2626 g = 0,0250 g ZnO.

Diesen Werten entsprechen 2,09<sup>o</sup>/<sub>o</sub>, 1,98<sup>o</sup>/<sub>o</sub> oder im Mittel 2,04<sup>o</sup>/<sub>o</sub> ZnO.

Entsprechend der dritten Fällung:

0,6121 g Niederschlag = 0,0117 g ZnO.

Dem entspricht 1,91<sup>o</sup>/<sub>o</sub> ZnO.

Diese unter verschiedenen Bedingungen erzeugten Niederschläge besitzen also gleichen Zinkgehalt und somit auch gleiche Zusammensetzung. Es führt demnach die direkte Analyse im Bereich des zweiten Fällungsmaximums zu demselben Resultat, wie die indirekte im Bereich des ersten. Auch hier liegen also stöchiometrische Verhältnisse vor. Leider lassen sich die Niederschläge des zweiten Maximums, von denen ausgehend man durch Verdünnung zu den hier analysierten Niederschlägen gelangt, weder direkt noch indirekt analysieren. Ersteres nicht, weil sie gegen Änderung der Zinksulfatkonzentration sehr empfindlich sind, letzteres nicht wegen der hohen Zinksulfatkonzentrationen. Nun muß man sich aber wohl vorstellen, daß die hier analysierten Niederschläge durch hydrolytische Spaltung aus den ursprünglichen Niederschlägen hervorgegangen sind. Diesbezüglich sei auch darauf hingewiesen, daß die Gesamtmenge des Niederschlages in den drei das Analysenmaterial liefernden Proben verschieden war; am größten in der Probe 100 Serum: 100 Zinksulfatlösung: 2000 Wasser, am kleinsten in der Probe 100 Serum: 150 Zinksulfatlösung: 2000 Wasser. Die Analyse ergibt, daß die Niederschläge denselben Zinkgehalt aufweisen, also gleiche chemische Zusammensetzung besitzen müssen; soll man annehmen, daß eine chemische Verbindung aus Adsorptionskomplexen durch Verdünnung der Mutterlauge hervorgeht? Es ist also wohl die Ausgangsverbindung, d. h. beispielsweise der bei Halbsättigung mit Zinksulfat entstehende Niederschlag gleichfalls eine nach stöchiometrischen Gesetzen gebildeter Körper, und es muß dann hier ebenso ein Ver-

wandtschaftsverhältnis vorliegen, wie dies aus der Untersuchung der Niederschläge beim ersten Maximum hervorgeht. Nun besteht gegen dieses allerdings ein Unterschied insofern, als beim Verdünnen keine Reihe von Niederschlägen erhalten wird, sondern der Übergang von einem Niederschlag zum andern durch ein Lösungsintervall erfolgt. Doch scheint mir darin ein prinzipieller Unterschied nicht zu liegen; denn entweder entspricht das Lösungsintervall der Bildung einer löslichen Verbindung in dem eingangs erwähnten Sinne, oder aber es ist der Aussalzungsvorgang nichts anderes als die Herabsetzung der Löslichkeit einer Verbindung durch eine andere, welche in großer Konzentration auftritt.

Wir kommen also zum Schlusse neuerdings und nun auf noch besser fundierter Basis zu der Anschauung, daß den gesamten Beziehungen zwischen Eiweiß und Zinksulfat stöchiometrische Verhältnisse zugrunde liegen, im Sinne einer Gleichgewichtsreaktion von der einleitend charakterisierten Art. Mit Rücksicht auf die schon erwähnten Befunde von Pfeiffer und Modelski dürfte wohl auch der Analogieschluß nicht allzu gewagt erscheinen, daß die Eiweiß-Salzbeziehungen überhaupt ganz allgemein stöchiometrischer Natur sind.

Längere Zeit nach meiner ersten Publikation erschien eine Arbeit von Pauli und Flecker,<sup>1)</sup> in der hauptsächlich mittels viskosimetrischer Bestimmungen eine Analysierung der Schwermetallsalz-Eiweißbeziehungen unternommen wird. Bei dieser Gelegenheit unterzieht Pauli meine erste Publikation einer Kritik, die mich zwingt, des näheren darauf einzugehen, wie unfruchtbar mir auch derartige Diskussionen erscheinen mögen. Zunächst sei festgestellt, daß rein physikalisch-chemische Methoden wie Viskositätsbestimmungen, Überführungszahlen, Leitfähigkeitsbestimmungen usw. keineswegs unbedingt überzeugend die Frage zu entscheiden vermögen, ob die Eiweißsalzbeziehungen stöchiometrischer Natur sind oder nicht; die Literatur zeigt dies zur Genüge. Hier wird die chemische Analyse die notwendige Ergänzung abgeben können. Um diese Grundlage aber handelt es sich in meinen Arbeiten. Daß ein

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr., Bd. 41, S. 461, 1912.

so gewonnener Standpunkt eine gewisse Selbständigkeit beanspruchen darf, auch in dieser so vielbearbeiteten Frage, bedarf wohl keiner weiteren Begründung. Paulis Kritik meiner Arbeit enthält nichts Tatsächliches. Ich glaube wohl bemerken zu dürfen, daß es nicht angeht, eigene Deutungen der Versuchsergebnisse anderer ohne jeden Kommentar wiederzugeben, und konstatiere daher ausdrücklich, daß trotz Paulis gegenteiliger Bemerkung die zweite und dritte der von mir mitgeteilten Analysenreihen keineswegs typischen Adsorptionscharakter zeigen. Ganz unverständlich ist mir seine Bemerkung bezüglich der ersten Analysenreihe, «daß diese trotz ihrer Sonderstellung leider nicht reproduziert worden ist»; ein Blick auf meine Arbeit genügt, um zu zeigen, daß sie in genau derselben Weise reproduziert wurde wie die anderen Analysenreihen. Es ist ferner bei sachlichen Kritiken Gebrauch, kritische Bemerkungen zu begründen. Wenn also Pauli meine Methodik «klippenreich» nennt, so möchte man erwarten, daß er wenigstens die eine oder andere dieser «Klippen» anführt. Die einzige tatsächliche Bemerkung betrifft einen eventuellen Neutralsalzeinfluß. Dazu ist zu bemerken, daß die Menge des Neutralsalzes innerhalb jeder Versuchsreihe immer die gleiche war ebenso wie die Eiweißkonzentration und daß die in allen Proben der Versuchsreihe gleichen Zinkwerte zeigen, daß auch der eventuelle Einfluß immer der gleiche blieb, somit nicht für das Endresultat in Betracht kommt. Ich darf wohl ruhig behaupten, daß viskosimetrische Bestimmungen usw. mindestens ebenso klippenreich sind wie Zinkbestimmungen. Die von Pauli verwendete Eiweißlösung ist dialysiertes Rinderblutserum, welches nach achtwöchentlicher Dialyse und noch weiterem mehrwöchentlichem Stehen stets unter Toluol, zur Verwendung kam. Durch die Dialyse werden wohl die Salze und gewisse Extraktivstoffe beseitigt, nicht aber die Lipide. Dabei wird das Globulin denaturiert und fällt aus; ganz zu beseitigen ist es aber auf diese Weise nicht, so daß die Albuminlösung immer noch eine geringe Menge desselben enthält. Ist nun das In-Lösung-Bleiben ein sicheres Zeichen des nicht Denaturiert-Seins? Kann sicher angenommen werden, daß auch das zwar

viel resistenter, aber als Eiweißkörper leicht genug veränderliche Albumin während der langdauernden Dialyse nicht ein Veränderungsstadium durchläuft, wobei auch die Einwirkung des Toluols zu berücksichtigen ist? Meinen Erfahrungen nach ändern sich die Fällungsverhältnisse besonders gegen Metallsalze sehr leicht. Solche Änderungen müssen aber auch auf die Viskosität und ihre Beeinflussung durch verschiedene Zusätze eine Wirkung ausüben; übrigens kann hier auch die Gegenwart der Lipoide selbst in geringer Menge von Bedeutung sein.

Wenn meine polemischen Bemerkungen über die einseitige kolloidchemische Auffassung der Eiweißmetallsalzbeziehungen «einer gewissen Fremdheit gegenüber dem Gange der Entwicklung dieses Gebietes entspringen», wie Pauli sagt, so muß er diesen Vorwurf in etwas anderem Sinne auch der Mehrzahl der Kolloidchemiker machen; denn man braucht nur irgend eines der zahlreichen kolloidchemischen Lehrbücher herzunehmen, um zu finden, daß die Metallalbuminate durchaus als Adsorptionskomplexe ohne stöchiometrische Zusammensetzung aufgefaßt und für die Eiweißsalzbeziehungen direkt der stöchiometrische Charakter in Abrede gestellt wird. Wie stimmt übrigens das, was Pauli in seiner Polemik gegen mich anführt, er habe im Jahre 1899<sup>1)</sup> gegen Hardy bezüglich der Beziehung von Globulin zu Salz auf den chemischen Standpunkt verwiesen, zu der von mir schon einmal zitierten wörtlichen Bemerkung aus dem Jahre 1905:<sup>2)</sup> «Die Bildung echter chemischer Verbindungen kann für die Eiweißsalzbeziehung außer Betracht bleiben?»

Schließlich sei noch bemerkt, daß der Ausdruck Adsorptionsverbindung vom chemischen Standpunkte nicht zu verwenden ist, schon aus dem einfachen Grunde, weil er jederzeit zu irrtümlichen Auffassungen Veranlassung geben kann, da Adsorption etwas nicht Stöchiometrisches, Verbindung etwas Stöchiometrisches bezeichnet.

<sup>1)</sup> Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. 78, S. 317, 1899.

<sup>2)</sup> Hofmeisters Beiträge, Bd. 6, S. 233, 1905.