

Über die Gleichgewichte zwischen Eiweißkörpern und Elektrolyten.

III. Mitteilung.

Löslichkeit des Globulins in Magnesiumsulfatlösungen. Einfluß der Temperatur.

Von

G. Galeotti.

Mit einer Tafel und einer Abbildung im Text.

(Aus dem Institut für allgemeine Pathologie der Kgl. Universität zu Neapel, geleitet von
G. Galeotti.)

(Der Redaktion zugegangen am 19. Juli 1906.)

Es ist bekannt, daß die Globuline in destilliertem Wasser unlöslich sind, und daß sie andererseits durch Sättigung mit Magnesiumsulfat ausgefällt werden. Wird einer gewissen Menge destillierten Wassers, die einige Globulinflocken suspendiert enthält, eine kleine Menge Magnesiumsulfat hinzugefügt, so löst sich sofort und vollständig das Globulin auf; dasselbe kann dann zum Teil wieder zur Fällung gebracht werden, wenn man nachträglich durch reichlichen Wasserzusatz die Salzkonzentration sehr erniedrigt. Der durch Sättigung mit Magnesiumsulfat erhaltene Globulinniederschlag löst sich hingegen nach Wasserzusatz sofort wieder auf und fällt wieder aus durch erneute Sättigung. Diese einfachen Beobachtungen beweisen zur Genüge die Reversibilität der Erscheinung, und man kann sich sehr leicht davon überzeugen, daß die Globulinmenge, die in Gegenwart von ungelöstem Globulin gelöst bleibt, von der in der Lösung enthaltenen Elektrolytenmenge abhängig ist.

Durch die vorliegenden Untersuchungen beabsichtigte ich, unter Anwendung der gewöhnlichen graphischen Methode das Problem vom Gleichgewichte in den Systemen: Globulin, Wasser und Magnesiumsulfat zu lösen.

Es sei vorausgeschickt, daß, wie es für die Fällungen mit Ammon- und Natriumsulfat der Fall ist, die feste Phase bloß vom Eiweißkörper gebildet ist. Für das Magnesiumsulfat gibt

es außerdem, bei einer gegebenen Temperatur nur eine Lösung, die mit Globulinniederschlag und Magnesiumsulfatkrystallen (Heptahydrat) im Gleichgewicht steht.¹⁾ Die in dem gewöhnlichen Dreieck dargestellte Isotherme geht vom Gipfel aus, der das Reinwasser darstellt, zum Punkte, der die Löslichkeit des (Heptahydrat)salzes darstellt.

Im vorliegenden Fall wollte ich außerdem untersuchen, wie sich die Löslichkeit des Globulins bei verschiedenen Temperaturen verhält. Mit Bezug darauf muß ich noch einige Worte darüber sagen, wie man in diesem Falle am besten das Gleichgewicht in seiner größten Allgemeinheit graphisch darstellen kann.

Zu diesem Zweck muß eine zu dem genannten Dreieck senkrecht stehende Achse betrachtet werden, und dann muß man auf dieser Achse die verschiedenen Temperaturen anbringen. So entsteht ein dreieckiges Prisma, innerhalb dessen eine oder mehrere Flächen konstruiert werden können, die eben Gleichgewichtsflächen darstellen. Jeder Punkt einer solchen Fläche repräsentiert eine Lösung, die mit einer oder mehreren anderen Phasen, bei der Temperatur, die der durch denselben Punkt gehenden Ebene entspricht, im Gleichgewicht steht. Jede Fläche zusammen mit den seitlichen Prismaebenen begrenzt einen Prismateil, dessen Punkte Systeme darstellen, die gleiche Eigenschaften besitzen, d. h. sie bestehen aus einer einzigen Phase, oder streben, sich in eine oder mehrere Phasen von bestimmter Zusammensetzung zu zersetzen, je nach den Konjugationsgeraden, die man auf Grund geeigneter Analysen in den verschiedenen (zur Achse senkrecht verlaufenden) Ebenen des Prismas in bezug auf die verschiedenen experimentell gewonnenen Isothermen aufzeichnen kann.

Praktisch können diese Gleichgewichtsflächen folgendermaßen erhalten werden. Man bestimmt verschiedene Isothermen bei verschiedenen Temperaturen und dann setzt man dieselben aufeinander, je nach dem Abstand, der den auf der Prismaachse abgetragenen Temperaturen entspricht, hierauf vereinigt man diese Kurven miteinander zu Flächen in derselben Art,

¹⁾ Vergl. die frühere Mitteilung von Guerrini über die Fällung des Albumins durch Natriumsulfat (Diese Zeitschrift, Bd. XLVII, S. 288).

wie man die für die Kurvenkonstruktion experimentell gewonnenen Punkte mit Strichen zu vereinigen pflegt.

Untersuchungsmethode.

Das Serumglobulin wurde von mir in möglichst reinem Zustand folgendermaßen dargestellt. Das Ochsenblutserum wurde mit Magnesiumsulfat gesättigt, der Niederschlag mit Wasser gelöst und von neuem gefällt; diese Operation wurde noch ein drittes Mal wiederholt. Sodann wurde der in wenig Wasser aufgelöste Niederschlag für etwa zehn Tage zur Dialyse in fließendes Wasser gebracht. Die zurückgebliebene Flüssigkeit wurde mit dem zehnfachen Volumen Wasser verdünnt. Das infolge dieser Verdünnung ausgefällte Globulin wurde auf dem Filter gesammelt, und bis zum Verschwinden der Sulfate ausgewaschen. Einige Thymolkrystalle dienten dazu, die Fäulnis zu verhüten. Immerhin ist es zu empfehlen, diese Manipulationen bei niedriger Umgebungstemperatur vorzunehmen.

Der Globulinniederschlag wurde nicht ausgetrocknet, sondern mittels einer geeigneten Kompression zwischen Blättern von Filtrierpapier vom überschüssigen Wasser befreit; dann wurde derselbe in kleinen Glasgefäßen mit geschliffenem Stöpsel verteilt, in welche ich hierauf bestimmte Mengen von titrierten Magnesiumsulfatlösungen goß, indem ich dafür sorgte, daß in jedem Gefäß die Globulinmenge so groß war, daß immer ein Teil derselben ungelöst blieb. Die diese Mischungen enthaltenden Gefäße wurden dann während etwa zwölf Stunden in einem auf konstanter Temperatur erhaltenen Wasserbade geschüttelt. Nach dieser Zeit filtrierte ich die Lösungen, indem dabei die Filter auf der Temperatur des Bades gehalten wurden, wog und bestimmte das Volumen der filtrierten Lösungen; hierauf ließ ich sie ausdunsten und bis zum konstanten Gewicht austrocknen. Den Trockenrückstand zog ich mit Wasser aus, das geronnene Globulin sammelte ich auf gewogenem Filter und wog es. In einigen Fällen (besonders bei den an Globulin und auch an Sulfat sehr reichen Lösungen, bei denen die Gerinnung dieses Eiweißkörpers nie vollständig ist) bestimmte ich ferner auch das in der Lösung zurückgebliebene Sulfat. Für viele Lösungen

wurden aber die Sulfatmengen einfach aus dem Gewichte des Trockenrückstandes und demjenigen des Globulins als Differenz ermittelt. Wenn es sich schließlich um sehr verdünnte Lösungen handelte, so glaubte ich am besten die Sulfatmenge aus dem Titer der zur Mischung angewendeten Lösung und aus dem Volumen der auszutrocknenden Flüssigkeit berechnen zu können. In diesem Fall ergab sich die Globulinmenge aus dem Unterschied zwischen dem Gewicht des Trockenrückstandes und der berechneten Sulfatmenge.

In dieser Mitteilung veröffentliche ich drei Isothermen zu den Temperaturen von 10°, 25° und 40° C. und ich behalte mir vor, die Gleichgewichtsbedingungen in den übrigen Prisma-gebieten später zu untersuchen, die einerseits die Gefrierpunkte der Globulin- und Sulfatlösungen und andererseits die Gerinnungspunkte dieser Eiweißkörper umfassen, und ebenfalls die singulären Punkte festzustellen, die mit anderen Magnesiumsulfathydraten im Gleichgewicht stehenden Lösungen entsprechen. Auf diese Weise hoffe ich, die Gleichgewichtsflächen dieser Systeme in ihrer vollständigen Ausdehnung konstruieren zu können.

Isotherme bei 10°.

Lösungen	Ergebnisse der Analyse in Grammen			Prozentische Zusammen- setzung der Lösungen		
	H ₂ O	Globulin	MgSO ₄	H ₂ O	Globulin	MgSO ₄
a	8,1491	0,0061	0,0048	99,87	0,07	0,06
b	12,2633	0,0156	0,0111	99,79	0,12	0,09
c	11,4280	0,0249	0,0171	99,64	0,21	0,15
d	9,5395	0,0327	0,0178	99,48	0,34	0,18
e	12,3978	0,0553	0,0269	99,35	0,44	0,21
f	6,3323	0,1056	0,0421	97,72	1,63	0,65
g	8,2940	0,2142	0,1118	96,22	2,48	1,29
h	10,3994	0,3685	0,2321	94,54	3,35	2,11
i	9,5186	0,3965	0,4349	91,97	4,20	3,83
k	7,3109	0,3541	0,3461	91,26	4,42	4,32
l	7,7160	0,2395	1,2556	83,76	2,60	13,63
m	9,7729	0,0465	2,5881	78,77	0,37	20,86
n	6,6647	0,0163	2,1304	75,64	0,18	24,18

Isotherme bei 25°.

Lösungen	Ergebnisse der Analyse in Grammen			Prozentische Zusammen- setzung der Lösungen		
	H ₂ O	Globulin	MgSO ₄	H ₂ O	Globulin	MgSO ₄
a'	10,0260	0,0070	0,0061	99,87	0,07	0,06
b'	13,4551	0,0364	0,0189	99,59	0,27	0,14
c'	9,4892	0,0583	0,0204	99,18	0,61	0,21
d'	8,2848	0,0991	0,0356	98,40	1,17	0,42
e'	5,6815	0,1287	0,0372	97,16	2,20	0,63
f'	7,0246	0,3306	0,1045	94,16	4,43	1,40
g'	6,9838	0,4221	0,1735	92,14	5,56	2,28
h'	6,4829	0,4066	0,1817	91,67	5,75	2,57
i'	6,4493	0,4322	0,2385	90,58	6,07	3,35
k'	9,1792	0,6329	1,0935	84,17	5,80	10,03
l'	9,6694	0,4876	1,9350	79,96	4,03	16,00
m'	10,0390	0,1227	2,7504	77,75	0,95	21,30
n'	10,5270	0,0042	3,5989	74,50	0,03	25,47

Isotherme bei 40°.

Lösungen	Ergebnisse der Analyse in Grammen			Prozentische Zusammen- setzung der Lösungen		
	H ₂ O	Globulin	MgSO ₄	H ₂ O	Globulin	MgSO ₄
a''	10,6436	0,0454	0,0068	99,51	0,42	0,06
b''	12,4090	0,1838	0,0188	98,39	1,46	0,14
c''	12,2050	0,2018	0,0270	98,16	1,42	0,21
d''	9,8192	0,1805	0,0301	97,90	1,80	0,30
e''	11,2196	0,6434	0,0728	94,00	5,39	0,61
f''	9,2004	0,8520	0,1966	89,77	8,31	1,92
g''	9,1710	0,8781	0,2799	88,78	8,50	2,71
h''	8,6491	0,8683	0,5439	85,97	8,63	5,40
i''	7,5732	0,6049	0,7613	84,72	6,76	8,51
k''	12,6563	0,4626	2,2647	82,27	3,00	14,72
l''	8,3536	0,1167	1,7784	81,51	1,13	17,35
m''	7,9756	0,1125	1,6919	81,54	1,15	17,30
n''	8,9355	0,1132	2,0502	80,50	1,02	18,47
o''	8,0365	0,0016	2,9784	72,95	0,01	27,03

Mit den in diesen Tabellen angegebenen Daten habe ich die drei in Figur 1 abgebildeten Isothermen konstruiert.

Aus denselben geht hervor, daß für alle drei von mir untersuchten Temperaturen die Globulinkonzentration in Lösungen, die sich mit gefällttem Globulin im Gleichgewicht befinden, zuerst regelmäßig und stetig mit der Konzentration von Magnesiumsulfat zunimmt, ein Maximum erreicht, das im Falle der Isothermen zu 40° C. besonders hervortritt, und dann ebenfalls kontinuierlich abnimmt, bis sie in gesättigten Magnesiumsulfatlösungen beinahe gleich Null wird. Mit anderen Worten: dieses Salz wirkt dahin, daß es das Globulin gelöst erhält, solange es innerhalb einer gewissen Konzentration steht, hingegen fällt, wenn seine Konzentration zunimmt, das Globulin allmählich aus.

Vergleicht man die drei Isothermen miteinander, so erkennt man folgendes:

1. Bei niedrigen $MgSO_4$ -Konzentrationen nimmt die Löslichkeit des Globulins mit der Temperatur zu; diese Zunahme findet in allen drei Fällen gleichmäßig statt, denn die drei Kurven zeigen bis zu den Punkten f'' , i' , h einen gleichen Verlauf und sie weisen ferner von einander immer einen gleichen Abstand auf.

2. In den Punkten f'' , i' , h zeigen sie ein Maximum, welches einem Maximum der Globulinlöslichkeit entspricht, welches für die folgenden $MgSO_4$ -Lösungen zu den folgenden Temperaturen statthat:

	Temperatur 10°	Temperatur 25°	Temperatur 40°
$MgSO_4$	4,5%	3,5%	2,1%

3. Die Abnahme der Löslichkeit des Globulins infolge von Zunahme der Salzkonzentration findet rascher für die Isotherme zu 40°, minder rasch für die zu 10° und noch langsamer für die Isotherme zu 25° statt.

4. In allen drei Kurven gibt es einen Punkt l'' , m' , m , nach dem die Globulinlöslichkeit noch rascher als zuvor abnimmt, in dem Maße, wie man sich der $MgSO_4$ -Sättigung nähert. Ich kann aber nicht entscheiden, ob diese Punkte wirklich als singulärer Punkt der Isothermen betrachtet werden muß, weil ich keine Analysen von Lösungen ausgeführt habe, die sich sehr nahe an diesen Punkten befanden. Immerhin könnte ich

für die Isotherme zu 40° eine solche Annahme machen, weil die beiden durch die Analyse festgestellten Punkte sehr nahe dem Punkte l'' liegen und weil derselbe Punkt l'' sich aus zwei Bestimmungen (Lösung l'', m'' der Tabelle) ergab.

Diese Punkte l'', m', m befinden sich in verschiedener Höhe des Feldes vom Dreieck, und zwar l'' ganz oben, m unterhalb desselben und m' ganz unten, was besagt, daß die Löslichkeit des Globulins, wenn man sich der Sättigung nähert, eine plötzliche Änderung erfährt, und sie variiert eben bei einer niedrigeren MgSO₄-Konzentration, wenn die Temperatur 40° C. beträgt, bei einer mittleren MgSO₄-Konzentration, wenn die Temperatur 10° C. ist, bei einer höheren MgSO₄-Konzentration, wenn die Temperatur 25° C. ist. Anders ausgedrückt, finden diese plötzlichen Variationen in der Globulinlöslichkeit zu den folgenden Temperaturen für die folgenden prozentigen MgSO₄-Konzentration statt:

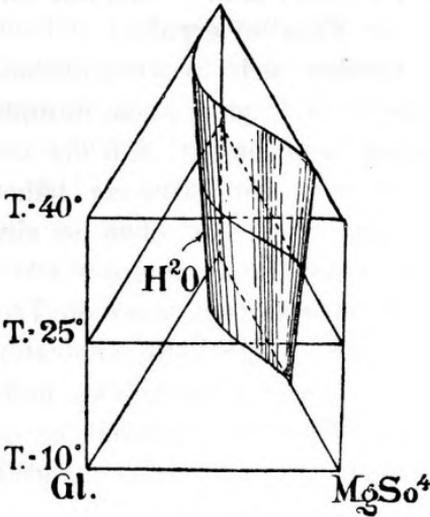
Temperatur 10°	Temperatur 25°	Temperatur 40°
MgSO ₄ 20,9%	21,5%	17,5%

Konstruiert man mit diesen drei Isothermen innerhalb des Temperaturenprismas die Fläche, die ich anfangs erwähnt habe, so erhält man ein solches Bild, wie ich es schematisch in der Figur 2 dargestellt habe.

Dieselbe geht von der Ebene T=10° aus, erweitert sich zuerst gleichmäßig und dann, während sie sich gegen den Winkel H₂O zu weiter erweitert, wendet sie in ihrem Teil gegen die Achse Gl, MgSO₄ zu m, indem sie sich der Ebene H₂O, MgSO₄, T nähert. Diese Wendung ist der Ort der Punkte l'', m', m, die in der Figur 1 angegeben wurden, aus deren Niveau die Löslichkeit des Globulins eine plötzliche Änderung erfährt.

Diese Fläche löst graphisch das Problem des Gleichgewichts für jedes System von Globulin, Wasser und MgSO₄ und für jede Temperatur zwischen 10°—40° C.; denn bei jedem gegebenen System, welches von einem Punkt innerhalb des Prismas dargestellt wird, kann man sofort sagen, ob dasselbe eine einfache Lösung bleiben wird, oder ob es einen Globulin-

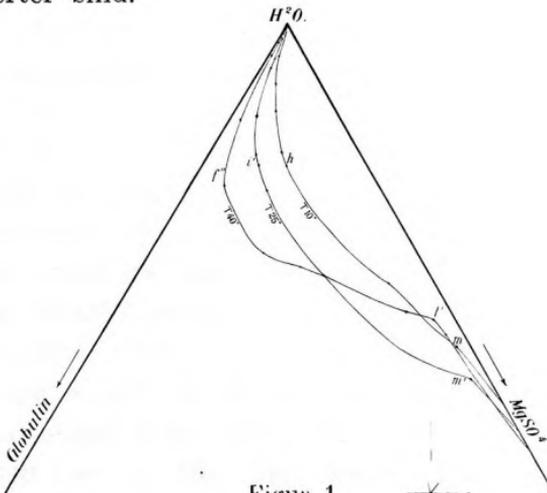
niederschlag geben würde; ferner wird man die Zusammensetzung der mit dem Niederschlag im Gleichgewicht gebliebenen Lösung zu der Temperatur kennen, die der Ebene entspricht, zu der der das gegebene System darstellende Punkt gehört.



Figur 2.

fällt das Globulin aus, und diese Fällung hängt von der Salzkonzentration ab. Man darf daher nicht von fraktionierten Globulinfällungen sprechen, im Sinne, daß man dadurch verschiedene Globulinarten isolieren kann.

3. Die Temperatur übt einen Einfluß auf die Löslichkeit des Globulins aus, indem sie dieselbe erhöht, solange die $MgSO_4$ -Lösungen verdünnt sind, und sie verringert, wenn die Lösungen konzentrierter sind.



Figur 1.

Schlüsse.

1. Das Serumglobulin löst sich in verdünnten Magnesiumsulfatlösungen in immer größeren Proportionen, je höher die Salzkonzentration ist.

2. Wenn die $MgSO_4$ -Lösung der Sättigung nahe ist, dann

H^2O .

Figur 1.

