

Weiteres über das Verhalten von Eiweißkörpern zu Aceton.

Von

Th. Weyl (Berlin).

(Der Redaktion zugegangen am 1. März 1910.)

In den Berichten der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. XLIII, S. 508 (1910), habe ich eine Methode der Eiweißbestimmung mittels Aceton angegeben, die sich durch große Einfachheit und Genauigkeit auszeichnet.

Im folgenden werden die dort mitgeteilten Beobachtungen in mehrfacher Richtung erweitert.

1. *Quantitative Eiweißbestimmung in der Frauenmilch.*¹⁾

20 ccm Frauenmilch werden im Becherglase mit 20 ccm Wasser verdünnt und die Mischung unter Umrühren in 80 ccm technisches Aceton (Kahlbaum) eingetragen. Die Mischung bleibt unter mehrfachem Umrühren eine Stunde stehen und wird dann durch ein gewogenes Filter gegossen. Die Filtration geht glatt vonstatten. Wenn die ersten Tropfen des Filtrates nicht völlig klar sein sollten, werden sie zurückgegossen und dieses so oft wiederholt, bis das Ziel erreicht ist.²⁾ Das Filter wird dann zweimal mit einem Gemisch gleicher Teile von Aceton und Wasser gefüllt und schließlich zweimal mit absolutem Alkohol und dann mit wasserfreiem Äther gewaschen. Das alkoholische Filtrat wird so oft zurückgegossen, bis es klar ist. Dann wird das Filter zusammengefaltet und in Filtrierpapier gewickelt, zwei Stunden im Soxhlet extrahiert. Es wird bei 105° getrocknet. Vom Gewichte muß die Asche abgezogen werden.

Statt das abgeschiedene Eiweiß zu wägen, kann man es selbstverständlich auch nach Kjeldahl bestimmen.

¹⁾ Für die Überlassung der Milch bin ich den Herren Geheimrat Bumm (Charité) und Prof. Finkelstein (Kinderasyl) zu Dank verpflichtet.

²⁾ Bei längerem Stehen der Milch-Aceton-Mischung scheiden sich bisweilen harte, aus Milchzucker bestehende Krusten ab, welche sich aber in dem oben benutzten Gemisch von Aceton und Wasser leicht lösen.

Im Filtrate des abgeschiedenen Eiweißes entsteht durch Salpetersäure von 1,145 D. oder von Essigsäure und Ferrocyankalium zumeist keine Fällung oder doch nur eine unwägbare Opalescenz. Ist man im Zweifel darüber, ob der Niederschlag aus Eiweiß oder aus Ferrocyankalium, bzw. Ferrocyanwasserstoffsäure — die beide in Aceton unlöslich sind — besteht, so verdünnt man mit Wasser. Hierin bleibt Eiweiß unlöslich. In diesem Filtrate läßt sich der Zucker nach bekannten Methoden leicht bestimmen, nachdem das Aceton beseitigt ist. Dieses geschieht entweder durch Destillation oder durch einen Luftstrom, den man in das auf 60° erwärmte Filtrat schickt.

Die Resultate der Acetonfällung stimmen genügend untereinander überein.

Ich habe dann in einer anderen Portion der Milch, welche für die Acetonfällung diente, auch das Casein nach Hoppe-Seyler, und zwar nach der von J. Schmidt¹⁾ angegebenen Modifikation bestimmt. Diese Modifikation besteht bekanntlich darin, daß man die mit dem zwanzigfachen Volumen Wasser verdünnte Milch bei 40° mit soviel einer sehr stark verdünnten Essigsäure versetzt, bis das Casein sich ausscheidet, und daß man dann eine halbe Stunde lang CO₂ in die auf 40° gehaltene Milch einleitet.

Die Resultate sind in der Tabelle 1 unten zusammengestellt und zeigen gut vergleichbare Werte.

Die Differenz zwischen der Acetonfällung und der Caseinfällung entspricht der Menge des Laktalbumins.

Tabelle 1.

	In 20 ccm Frauenmilch	
	Acetonfällung	Caseinfällung
Versuch 1 a)	0,2107	—
b)	0,260	—
Versuch 2 a)	0,134	0,0750
b)	0,144	0,0755
Versuch 3 a)	(0,1145)	0,1185
b)	0,135	0,1080

¹⁾ J. Schmidt, Malys Jahresberichte (1884), S. 175.

2. Unterschiede im Verhalten von Eiweißlösungen gegen Aceton.

Für die in der nachfolgenden Tabelle 2, S. 249, mitgeteilten Beobachtungen stand mir nur ein schmales Material zur Verfügung. Zum Teil verdanke ich es der Freundlichkeit der Herren Hofmeister (Straßburg) und Osborn (Boston). Reine Peptone waren mir leider nicht zugänglich.

Aus der Tabelle möchte ich hervorheben, daß in Aceton löslich sind: die Nitrate von Serumalbumin, Casein aus Frauenmilch und Casein Protalbumose I, unlöslich dagegen die Nitrate der anderen in der Tabelle erwähnten Eiweißstoffe. Ammoniak verhindert schon in kleiner Menge bei den meisten Eiweißstoffen die Fällbarkeit durch Aceton, während dieses bei Essigsäure, Salzsäure und Salpetersäure nicht der Fall ist. Die Darstellung der Eiweißnitrate in festem Zustande ist mir bisher nicht gelungen. Es scheint sich um sehr leicht dissociable Verbindungen zu handeln.¹⁾

3. Fällbarkeit von Eiweißderivaten und einigen anderen Stoffen durch Aceton.²⁾

Durch Aceton wurden gefällt:

a) folgende Aminosäuren:

Glykokoll und Glykokollesterchlorhydrat	} 0,25 g in 3 ccm Wasser. Fällung sofort oder nach mehrtägigem Stehen in der Kälte krystallinisch.
dl-Valin	
d-Alanin	
d-Leucin	} Fällung krystallinisch.
d-Cystin (0,2 in sehr verdünnter HCl)	
l-Tyrosin (heiße, dann abgekühlte wässrige Lösung)	

b) folgende Polypeptide:

Glycyl-d-Alanin	} 0,2 g in 3 ccm	} Fällung nach mehrstündigem Stehen krystallinisch.
dl-Leucyl-Alanin		
Seidenpepton	} Wasser	} Fällung amorph.

¹⁾ Vgl. die Literatur bei Schryver, General characters of the proteids, S. 39, 82 (1909).

²⁾ Für die freundliche Überlassung von Präparaten bin ich den Herren Dr. Dr. Blumberg und Gerngross (Berlin) zu großem Danke verpflichtet.

Tabelle 2.

Aceton	Eieralbumin käuflich: 1%ige Lösung	Krystallisiertes Serumalbumin 0,2 in 50 ccm Wasser + Tropf. Ammoniak	Krystallisiertes Excelsin 0,5 in 50 ccm NaCl-Lösung von 5%	Vitellin ¹⁾ in 5%iger NaCl-Lösung	Kuhcasein 0,5 g in 100 ccm Wasser + Tropf. NH ₃	Leim ²⁾ 1%ige lauwarme Lösung	Casein Protalbu-mose I (Blum) 0,25 g in 50 ccm Wasser
Aceton (über die Konzentration der in dieser horizontalen Spalte benutzten Reagenzien vgl. die erste Vertikalspalte)	Nd., unlöslich in Essigsäure, HCl, HNO ₃ ; löslich in NH ₃	Nd. löslich in Essigsäure, HCl, HNO ₃ , NH ₃	Nd., unlöslich in Essigsäure, HCl, HNO ₃ . Löslich in NH ₃	Nd. löslich in Essigsäure und HNO ₃ . Schwerlöslich in HCl und NH ₃	kein Nd.	Nd., löslich in HCl, HNO ₃ ; schwerlöslich in Essigsäure und in Ammoniak	Geringe Opalescenz
Essigsäure 1%ige Lösung	Nd. leicht im Überschuß löslich. Mit Aceton Nd., der unlöslich in viel Aceton ist	kein Nd. Aceton erzeugt Fällung	Nd.	Nd. im Überschuß löslich.	Nd. löslich in Aceton, löslich in NH ₃	kein Nd.	kein Nd. Mit Aceton Nd.
Salzsäure 25 ccm D = 1,120 auf 100 ccm verdünnt	idem	—	Nd. löslich in Aceton	Durch Aceton: Fällung	idem	kein Nd. Auf Zusatz von	kein Nd. Durch Aceton Nd., unlöslich in Aceton
Salpetersäure D = 1,145	idem	Nd. löslich in Aceton	Nd.	Nd. unlöslich in Aceton	Nd. löslich in Aceton, durch mehr Aceton wieder Fällung	Aceton Fällung	Nd. löslich in Aceton
Ammoniak 25 ccm D = 0,905 auf 100 ccm verdünnt	kein Nd. Sehr viel Aceton ruff geringe Opalescenz hervor	kein Nd. Aceton gibt Trübung, aber keine Fällung	kein Nd.	Aber Nd. nach Zusatz von Aceton	kein Nd. Auch nicht nach Zusatz von Aceton	kein Nd.	kein Nd.

¹⁾ Eidotter mit Aceton erschöpft. Weißer Rückstand abgepreßt, in 5%iger NaCl-Lösung 24 Stunden extrahiert. Filtrat durch 4 Vol. Wasser + CO₂ + Tropf. 1%ige Essigsäure gefällt. Nd. in 5%iger NaCl-Lösung gelöst, diente zu den Reaktionen.

²⁾ Die Reaktionen pflegen erst beim starken Schütteln einzutreten.

c) folgende, anderen Gruppen angehörige Stoffe:

Traubenzucker (1%ige Lösung): Niederschlag sirupartig.

Milchzucker (1%ige Lösung): Niederschlag krystallinisch.

Kreatinin (0,2 g in 5 ccm heißem Wasser, dann abgekühlt):
amorph.

Die Fällbarkeit der Eiweißstoffe durch Aceton erklärt sich wohl am besten durch die Fällbarkeit der Aminosäuren.

Organ. Laborator. d. Techn. Hochsch. Charlottenburg.
