

Eine neue Reaktion des Eiweißes.

Von

Dr. Bruno Bardach.

Aus dem chemisch-mikroskopischen Laboratorium von Dr. B. Bardach in Wien.
(Vorgelegt der kaiserlichen Akademie der Wissenschaften in Wien am 19. Dez. 1907.)
(Der Redaktion zugegangen am 24. Dezember 1907.)

Läßt man Jod auf Albuminlösungen in Gegenwart geringer Mengen Aceton einwirken, so tritt wohl auch das Jod in das Albumin substituierend ein, aber man kann gleichzeitig beobachten, daß die Bildung von Jodoform, welches doch bei der Einwirkung von Jodjodkalium auf alkalische acetonhaltige Flüssigkeiten entsteht, durch das Albumin verhindert wird und an Stelle der charakteristischen hexagonalen Jodoformplättchen und Sterne je nach dem Verhältnis des Albumins zum Aceton nach kürzerer oder längerer Zeit ein Niederschlag von gelben Nadelchen auftritt.

In weiterer Verfolgung dieser Erscheinung untersuchte ich das diesbezügliche Verhalten anderer Eiweißkörper und wurden der Reihe nach Repräsentanten aus den verschiedenen Eiweißgruppen herangezogen. Hierbei wurde sowohl der wasserlösliche Eiweißanteil als auch der erst nach Zusatz von Alkali oder Ammoniak lösliche Anteil der Jodbehandlung unterworfen. Untersucht wurden:

Von eigentlichen Eiweißkörpern:

Acidalbuminat pur. (aus Fleisch).

Protalbumosen puriss. (in wässriger Lösung).

Pepton { puriss. sicc. (in wässriger Lösung).
 { depurat. sicc. alkohol. praecip. (wässrige Lösung).

Vitellin (aus Pflanzen, wässriger Auszug).

Casein nach Hammarsten (von Merck, von Grübler, und selbst dargestelltes.)

Von Proteiden.

Nuclein aus Hefe (wässrige Lösung).

Pankreatin.

Hämoglobin in Plättchen (Handelsprodukt).

Mucin (aus der Sehne des Rindes dargestellt nach Löbisch¹⁾)

¹⁾ M. F. Löbisch, Diese Zeitschr., Bd. X, S. 40 (1885).

Von Albuminoiden.

Leim (Gelatine).

Bei allen diesen Substanzen konnte ich in alkalischer, bei manchen auch in wässriger Lösung das Eintreten des Niederschlages konstatieren.

Im Anschluß an die reinen Eiweißkörper wurden ferner untersucht:

Sperma.

Blut.

Sputum.

Eiweißhaltiger Harn.

Während die ersteren drei die Krystalle gaben, unterblieb bei eiweißhaltigem Harn innerhalb ca. dreiviertelständiger Einwirkungsdauer die Reaktion meist vollständig. Wurde hingegen das Harneiweiß durch Erhitzen unter Essigsäurezusatz gefällt, filtriert, gewaschen und durch Alkali wieder in Lösung gebracht, so trat die Reaktion mit der der Eiweißmenge entsprechenden Intensität ein.

Ebenso konnte durch Zusatz von Natronlauge vor dem Zufügen der Reagenzien in eiweißhaltigem Harn eine sehr intensive Reaktion in kürzerer Zeit hervorgerufen werden. Der im Harneiweiß enthaltene reagierende Bestandteil muß also ebenso wie bei den andern in Wasser unlöslichen Eiweißkörpern zunächst durch Alkali abgespalten werden, um reagieren zu können.

Gelegentlich der Untersuchung eiweißhaltiger Harne hatte ich auch enteweißte und normale Harne auf ihr Verhalten gegen diese Reaktion geprüft und konnte auch bei letzteren feststellen, daß (allerdings erst nach längerer Zeit und in sehr wechselnder Menge) die Krystalle auftraten. Der reagierende Körper ist also auch im normalen Harn vorhanden, und bin ich gegenwärtig mit der Darstellung der reagierenden Substanz behufs weiterer Untersuchung derselben beschäftigt.

Ausführung und Anwendung der Reaktion.

Was die Reaktion selbst betrifft, so sind die günstigsten Bedingungen zur Hervorrufung der Krystalle die folgenden:

Auf 5 ccm der nicht zu konzentrierten Flüssigkeit setzt man 2—3 Tropfen einer ca. $\frac{1}{2}$ %igen Acetonlösung zu, hierauf soviel Lugolsche Lösung, ¹⁾ daß Jod in mäßigem Überschuß vorhanden, so daß eben eine rotbraune Färbung eintritt, die nicht mehr verschwindet, wozu je nach dem Gehalt an Eiweiß sehr verschiedene Mengen ²⁾ (ein Tropfen bis ca. 2 ccm) erforderlich. Dann wird Ammoniak im Überschuß (meist ca. 3 ccm) zugefügt und durchgemischt.

Ist Jod in mäßigem Überschuß vorhanden, so setzt sich nun ein leichter schwarzer Niederschlag von Jodstickstoffverbindungen ab, auf

¹⁾ 4 g Jod, 6 g Jodkalium, 100 ccm Wasser.

²⁾ Bei Gegenwart von Zucker ist wesentlich mehr Jod nötig.

welchem sich nach einiger Zeit die Nadelchen ablagern. Ist nur die eben erforderliche Menge Jod vorhanden, so hellt sich die auf Ammoniakzusatz eintretende Schwarzfärbung langsam auf, die Flüssigkeit wird allmählich gelb und bilden sich fast ausschließlich die gelben Krystalle.

In beiden Fällen tritt die Reaktion stets prompt ein. Anders verhält es sich jedoch, wenn die zugesetzten Jodmengen allzu stark vom richtigen Verhältnis abweichen.

Bei allzu großer Jodmenge tritt dann der schwarze Niederschlag von Jodstickstoffverbindungen außerordentlich reichlich ein, die Reaktion wird stark verzögert, beeinträchtigt, oder kann sogar ganz verhindert werden. Ebenso kann die Reaktion infolge Jodmangels, welcher durch sofortige Aufhellung respektive vollständige Entfärbung bei dem Ammoniakzusatz kenntlich wird, versagen.

Im letzteren Fall kann man allerdings, wenn nur eine geringe Menge Jod fehlt, eine Korrektur durch nachträglichen tropfenweisen Zusatz der Jodlösung vornehmen, wobei der eintretende schwarze Niederschlag sich nur allmählich verlieren darf. Genügt dieser nachträgliche Zusatz jedoch nicht, hellt sich die Flüssigkeit also sofort wieder ganz auf, so ist eine neue Probe anzusetzen. Die Probe kann auch mit wesentlich weniger als 5 ccm angestellt werden. Der Eintritt der Reaktion erfolgt je nach dem Gehalt der Lösung und dem Verhältnis der Reagenzien zu verschiedenen Zeiten. Die Beobachtung erfolgt mikroskopisch nach ca. dreiviertel- bis einstündiger Einwirkung.

Bei positivem Ausfall erscheinen zahlreiche feine gelbe Nadelchen ¹⁾ oder auch zu Büscheln gelagerte verschieden lange Fäden im Gesichtsfeld. Enthalten die zu untersuchenden Flüssigkeiten auch Phosphate, so kann man behufs leichterer Untersuchung letztere mit Salzsäure zur Lösung bringen und eine eventuell hierbei vom überschüssigen Jod entstehende Braunfärbung mit Natriumhyposulfit entfernen.

Die Empfindlichkeit der Reaktion zeigt bei den verschiedenen Eiweißkörpern, offenbar je nach dem Gehalt an fraglicher Gruppe, verschiedene Grenzen.

¹⁾ Die charakteristischen gelben nach Jodoform riechenden Krystalle rühren von einer bisher nicht beschriebenen Jodverbindung her. Dieselben werden durch verdünnte Salzsäure, Schwefelsäure, Alkali und Ammoniak in der Kälte nicht angegriffen, in kaltem Wasser sind sie etwas löslich und werden durch Kochen unter Entweichen von Jodoform zersetzt. Ihre Reinigung durch Umkristallisieren aus Alkohol, Äther, Chloroform, Toluol, etc. gelingt nicht, da sich die Krystalle hierbei fast vollständig in Jodoform umsetzen. Ich habe deshalb Versuche in Angriff genommen, um zu möglichst reinem Ausgangsmaterial zu gelangen und aus diesem die Jodverbindung direkt im reinen Zustand herzustellen.

So reagierte:

Acidalbuminat (aus Fleisch)	noch in ca. 0,01 %iger	schwach alkal. Lösung
Protalbumosen (puriss.)	» » » 0,007 %iger	» » »
Pepton (puriss. sicc.)	» » » 0,03 %iger	» » »
Vitellin (aus Pflanzen)	» » » 0,01 %iger	» » »
Casein (nach Hammarsten)	» » » 0,005 %iger	» » »
Leim (Gelatine)	» » » 0,003 %iger	wässriger »

In eiweißreichen ¹⁾ Lösungen tritt der grau-grün gefärbte Niederschlag schon nach einigen Minuten und sehr reichlich ein, so daß er mit freiem Auge leicht zu erkennen ist. Bei Gegenwart von viel Alkali tritt die Reaktion viel rascher ein und werden die Nadelchen ganz kurz und etwas breiter. Da die Reaktion allen Eiweißkörpern zuzukommen scheint, kann sie auch zum Nachweis von Eiweiß herangezogen werden. Der reagierende Anteil des Eiweißes widersteht sehr lange der Fäulnis, was namentlich bei forensischen Untersuchungen in Betracht kommen kann, doch ist nicht außer acht zu lassen, daß auch Harn und eventuell noch andere Substanzen reagieren. Vorerst, solange die im Gange befindlichen Untersuchungen nicht abgeschlossen, ist die Probe daher derart zu verwenden, daß ein negativer Befund bei längstens dreiviertel- bis einstündiger Einwirkung die Abwesenheit von Eiweiß beweist. Die Reaktion hat aber nicht bloß den Zweck, die Zahl der ganz allgemein zum Nachweis von Eiweiß dienenden Proben zu vergrößern, sondern soll — vermöge ihrer Reaktionsfähigkeit auch mit außerhalb der Eiweißgruppe stehenden Substanzen bekannter oder leicht eruierbarer Konstitution — zunächst einen Aufschluß über den reagierenden Komplex im Eiweiß ermöglichen.

¹⁾ Die Lösungen sollen nicht über 5 % Eiweiß enthalten.