

79. Th. Weyl: Zur Kenntnis der Eiweißstoffe.

I. Über das Verhalten von Eiweißlösungen zu Aceton.

(Eingegangen am 4. Februar 1910.)

Bei Untersuchungen über Eiweißstoffe, über die ich demnächst berichten werde, fiel es mir auf, daß Eiweißstoffe aus ihren Lösungen durch Aceton gefällt werden ¹⁾. Dieses gilt z. B. für die neutral reagierenden Lösungen von krystallinischem und käuflichem Eiereiweiß, von krystallinischem Serumalbumin, von krystallinischem Excelsin, (0.3 g gelöst in 50 ccm 5-prozentiger Chlornatrium-Lösung), für die Kasein-Protalbumose (Blum), für Seidenpepton und für Leimlösungen ²⁾. Nicht gefällt wurde eine 0.5-prozentige Lösung von Casein in möglichst wenig sehr verdünntem Ammoniak, ferner alle ammoniakalischen Lösungen der anderen, oben genannten Eiweißstoffe. Gefällt wurden ferner alle in der Natur vorkommenden Eiweißlösungen, wie Frauen- und Kuhmilch, Colostrum und Blut, namentlich aber auch die wäßrigen Auszüge tierischer Organe. Über diese Erfahrungen gedenke ich an einem anderen Orte eingehendere Mitteilungen zu machen. Ich möchte daher hier nur noch hervorheben, daß die durch einige Tropfen Salpetersäure von 1.4 spez. Gewicht in Eiweißlösungen hervorgebrachten Niederschläge sich gegen Aceton verschieden verhalten: beim Eialbumin z. B. ist dieser Niederschlag in Aceton unlöslich, beim Casein dagegen löslich.

Da die Untersuchung zeigte, daß die durch technisches ³⁾ Aceton hervorgerufene Fällung eine vollständige war, habe ich festzustellen

¹⁾ In der Literatur habe ich nur sehr wenige Angaben über die Fällbarkeit von Eiweiß durch Aceton gefunden. Das von Cohnheim, Chemie der Eiweißkörper, 2. Aufl. [1904] S. 6 Anm. 3 angeführte Zitat: Salkowski, Ztschr. f. physiol. Chem. 31, 329 [1901], beruht auf einem Irrtum; denn Salkowski spricht in der angezogenen Arbeit nicht vom Aceton. Spiro, Hofmeisters Beiträge zur chem. Pathol. u. Physiol. 4, 301 [1903], erwähnt die Fällbarkeit von Serumalbumin durch Aceton.

²⁾ Es werden ferner aus ihren wäßrigen Lösungen durch Aceton gefällt: Glykokoll und *DL*-Valin (beide zu je 0.25 g in 5 ccm Wasser gelöst), Traubenzucker und Milchzucker (beide in etwa 1-proz. Lösung). Diese Liste soll allmählich vervollständigt werden. Für die freundliche Überlassung von Präparaten bin ich zu Dank verpflichtet den HHrn. Blumberg und Gerngroß (Berlin), Hofmeister (Straßburg) und Osborn (Boston).

³⁾ Reines Aceton aus der Bisulfitverbindung (Kahlbaum) wirkt wie das technische Präparat.

gesucht, ob das Aceton sich zur quantitativen Bestimmung des gelösten Eiweißes eignet ¹⁾. -

Eiweißbestimmung mittels Aceton.

Für die im Folgenden mitgeteilten Versuche diene ausschließlich technisches Aceton (Kahlbaum).

a) In der Kuhmilch. In einem Becherglase werden 20 ccm Milch mit 20 ccm Wasser gemischt und die Mischung unter Umrühren in 80 ccm Aceton eingetragen. Es entsteht sofort eine feinflockige Fällung. Die Mischung wird mehrfach umgerührt und nach einer Stunde durch ein gewogenes Filter gegossen. Die Filtration geht schnell von statten ²⁾. Mit Hilfe des klaren Filtrates bringt man die letzten Reste des Niederschlages auf das Filter und wäscht dieses zweimal mit einem Gemisch gleicher Volumina Aceton und Wasser aus. Der Niederschlag wird dann mit absolutem Alkohol übergossen und das Filtrat solange auf das Filter zurückgebracht, bis das Filtrat völlig klar ist. Schließlich übergießt man das Filter mit wasserfreiem Äther, formt das Filter durch Einwickeln in Filtrierpapier zur Patrone und bringt diese auf zwei Stunden in den Soxhlet. Dann wird das Filter bei 115° getrocknet, was in etwa 6 Stunden erreicht ist. Vom Gewichte muß die Asche in Abzug gebracht werden. Das acetonhaltige Filtrat setzt auch nach 24 Stunden nur eine sehr geringe Trübung ab oder bleibt auch völlig klar. Nach dem Verdünnen mit Wasser ergibt Salpetersäure nur eine geringe Opalescenz. Diese stellt sich auch bei Zusatz von sehr verdünnter Essigsäure und Ferrocyankalium ein. Besteht ein Zweifel darüber, ob die Trübung von ausgeschiedenem, in Aceton unlöslichem Ferrocyankalium oder von Eiweiß herrührt, so verdünnt man die Lösung mit Wasser. Bleibt die Trübung bestehen, so rührt sie von Eiweiß her.

¹⁾ Die Darstellung von Casein läßt sich mit Hilfe des Acetons ebenso leicht wie schnell in folgender Weise ausführen. 100 ccm Milch werden mit 100 ccm Wasser verdünnt und dann unter Umrühren in 300 ccm Aceton eingetragen. Nach 45 Minuten wird die über dem Niederschlage stehende Flüssigkeit abgegossen und das Rohcasein abgesaugt. Es wird dann in 300 ccm Wasser verteilt und durch möglichst wenig stark verdünntes Ammoniak in Lösung gebracht. Die milchartige Flüssigkeit wird durch Leinwand (zur Zurückhaltung von Eiweißklümpchen) gegossen und sogleich mit sehr verdünnter Essigsäure vorsichtig ausgefällt. Der Niederschlag setzt sich gut ab, wird mit Wasser dekantiert, abgesaugt und der Prozeß der Lösung und Fällung wiederholt. Das schneeweiße Casein wird mit Alkohol und Äther behandelt. Ausbeute: 1.7 g.

²⁾ Im Filtrate läßt sich der Milchzucker nach Beseitigung des Acetons quantitativ bestimmen.

Durch Aceton wird also aus Kuhmilch unter den angegebenen Bedingungen alles Eiweiß gefällt. Daß die Resultate genügend mit einander übereinstimmen, zeigt die Tabelle.

Versuch Nr.	A. In 20 ccm Milch abzüglich Asche		B. In 10 ccm defibriniertem Rinderblut
	Acetonfällung	Caseinfällung	Acetonfällung
1	0.6348	0.5098	a) 1.6761 b) 1.6443
2	0.8356	a) 0.5001 b) 0.5231 c) 0.5275	a) 1.0971 b) 1.1696 c) 1.1300
3	a) 1.0141 b) 0.9856	a) 0.4556 b) 0.4773	a) 2.3035 b) 2.3192 c) 2.1770
4	a) 0.790 b) 0.713 c) 0.705	a) 0.418 b) 0.4105 c) 0.4530	

Ich habe dann die Resultate der Acetonfällung mit der ausgezeichneten Methode der Caseinbestimmung verglichen, die von Hoppe-Seyler herrührt. Zu diesen Analysen diente ein Teil derjenigen Milch, in welcher das Gesamteiweiß durch Aceton bestimmt worden war.

Es wurden also 20 ccm Milch mit Wasser auf etwa 400 ccm verdünnt und dann mit soviel einer sehr verdünnten Essigsäure (etwa 5–10 Tropfen einer 10-prozentigen Essigsäure auf 100 ccm Wasser) tropfenweise unter Umrühren versetzt, bis flockige Fällung eintrat. Dann wurde 30 Min. Kohlensäure eingeleitet und nach 24 Stunden filtriert. Der auf gewogenem Filter gesammelte, mit absolutem Alkohol entwässerte und im Soxhlet von »Fette« befreite Niederschlag wurde bei 115° getrocknet und gewogen. Vom erhaltenen Gewichte wird die Asche in Abzug gebracht.

Die nach Hoppe-Seylers Methode erhaltenen, gut unter einander stimmenden Werte sind in der Tabelle zusammengestellt. Sie sind, wie nach Untersuchung der oben erwähnten acetonhaltigen Filtrate zu erwarten war, niedriger als die Werte der Acetonfällung.

Es ist also auch auf diesem Wege erwiesen worden, daß sich durch Acetonfällung die Menge des Gesamteiweißes in der Milch ermitteln läßt¹⁾.

¹⁾ Die Differenz der Aceton- und der Caseinfällung ergibt die Menge des in der Kuhmilch enthaltenen Lactalbumins. Statt das auf dem Filter gesammelte Gesamteiweiß oder das Casein zu wägen, kann man es natürlich auch nach Kjeldahl bestimmen.

b) Im Blut.

10 ccm frischen, durch Schlagen defibrinierten Rinderblutes wurden mit 10 ccm Wasser gemischt und die Mischung in 80 ccm Aceton eingetragen. Das häufig umgerührte Gemisch wird nach einer Stunde sehr leicht filtriert. Der hellrot gefärbte Niederschlag wird auf dem Filter zweimal mit einem Gemisch gleicher Teile Aceton und Wasser gewaschen. Dann wird das Filter zweimal mit absolutem Alkohol gefüllt und das anfangs bisweilen etwas trübe, alkoholische Filtrat auf das Filter so lange zurückgegossen, bis es klar abläuft. Schließlich wird das Filter mit wasserfreiem Äther zweimal gewaschen und zur Patrone geformt (s. oben S. 509 unter Milch) und im Soxhlet mit Äther behandelt. Es wird bei 100° getrocknet und gewogen¹⁾.

Die acetonhaltigen Filtrate sind so gut wie farblos und bleiben meist auch nach 24 Stunden klar oder setzen eine sehr geringfügige, flockige Trübung ab, die nur wenige Milligramme wiegt. Die Filtrate mit Salpetersäure, ferner mit Essigsäure und Ferrocyankalium in der oben S. 509 unter Milch angegebenen Weise geprüft, sind so gut wie frei von Eiweiß.

Die Methode gibt, wie die Tabelle auf S. 510 zeigt, unter einander gut stimmende Werte. Sie gestattet also, das im Blut vorhandene Gesamteiweiß in einfacher Weise mit Sicherheit zu bestimmen.

Es ist wichtig, darauf hinzuweisen, daß die durch Acetonfällung erhaltenen Filtrate nur dann frei von Blutfarbstoff sind, wenn das Blut frisch war und nicht etwa infolge eingetretener Fäulnis bereits alkalisch reagierte. In letzterem Fall wurden auch durch die doppelte Menge von Aceton stets rote Filtrate erhalten, die mit Salpetersäure, sowie mit Essigsäure und Ferrocyankalium stets deutlich auf Eiweiß reagierten.

Meine Versuche über das Verhalten von Fermenten, Frauenmilch, Colostrum, Harn und Pflanzenextrakten gegen Aceton teile ich demnächst an anderer Stelle mit.

Organisches Laboratorium der Technischen Hochschule Charlottenburg.

¹⁾ Statt den Aceton-Niederschlag zu wiegen, kann man ihn auch nach Kjeldahl bestimmen.