

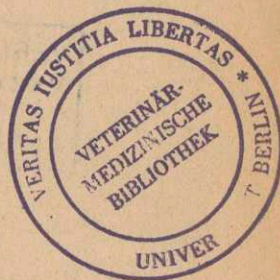
Aus dem Physiologischen Institut der
Kgl. Tierärztlichen Hochschule zu Berlin.
(Direktor: Prof. Dr. E. Abderhalden.)

**Ueber den Gehalt ägyptischer Mumien
an Eiweiss und Eiweiss-Abbauprodukten.**

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER WÜRDE EINES
DOCTOR MEDICINAE VETERINARIAE
DER
KÖNIGLICHEN TIERÄRZTLICHEN
HOCHSCHULE ZU BERLIN

vorgelegt von
Arthur Weil,
Tierarzt
aus Braunschweig.



Berlin 1911.

Hermann Blanke's Spezial-Druckerei für Dissertationen
Kl. Rosenthalerstr. 9. BERLIN C. 54, Kl. Rosenthalerstr. 9.

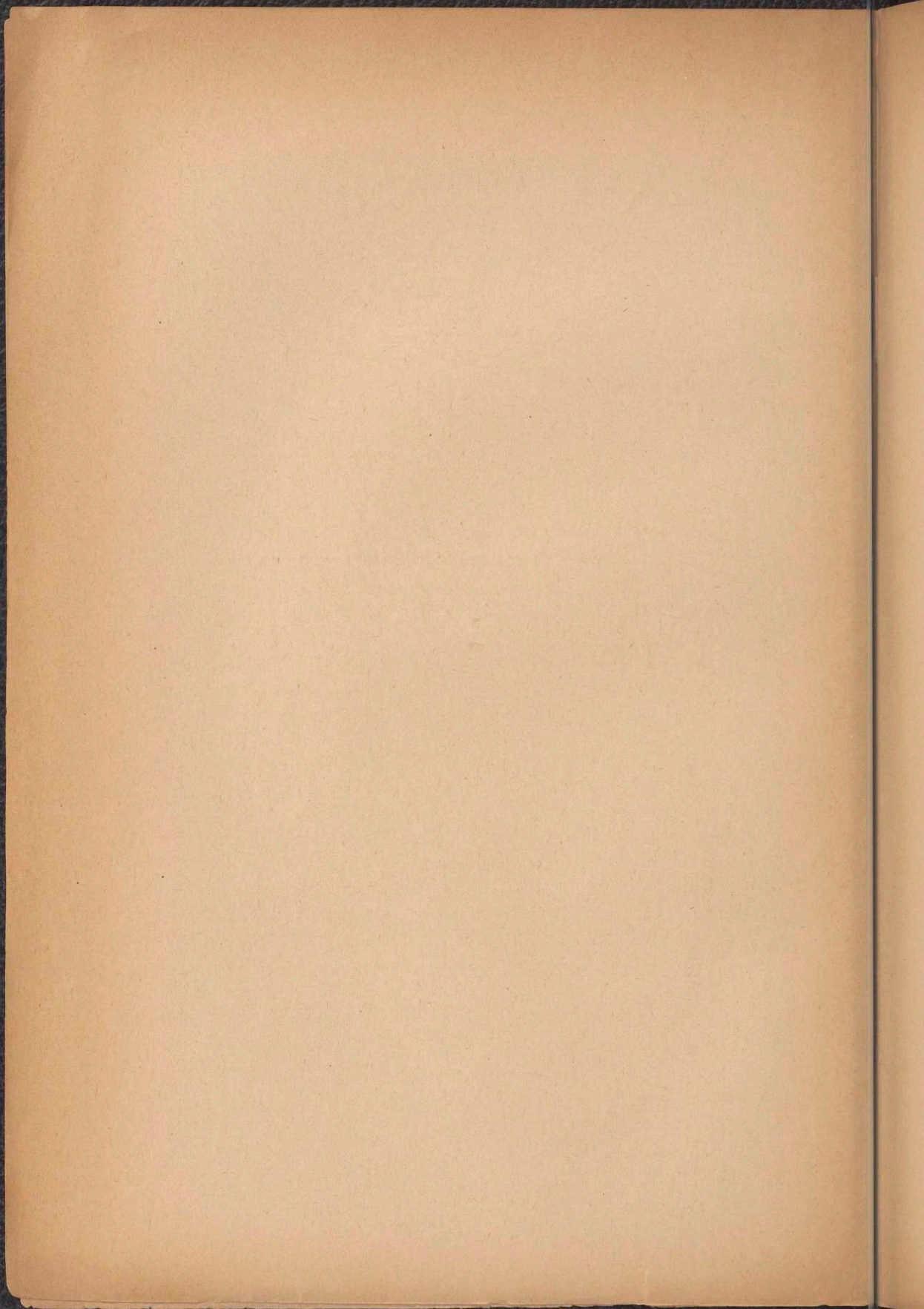
1955, 71

Gedruckt mit Genehmigung der Königlichen Tierärztlichen
Hochschule zu Berlin.

Referent: Professor Dr. med. E. Abderhalden.

VERITAS JUSTITIA LIBERTAS
Veterinärmedizinische
Bibliothek
FREIE UNIVERSITÄT BERLIN

Dem Andenken meiner Eltern.



In Jahrtausende langem Schlafe ruhen in den Felsengräbern des Niltales Legionen von Mumien, die einst von den Ueberlebenden einbalsamiert wurden, um der herumirrenden Seele Gelegenheit zu geben, von Zeit zu Zeit in der ursprünglichen Gestalt die ihr auf Erden liebgewordenen Orte wiederzusehen.¹⁾ In starrem Trotze suchte sich so der Menschengestalt gegen die Natur aufzulehnen, suchte Fäulnis und Verwesung zu überwinden und fand schliesslich nach langem Suchen ein Einbalsamierungsverfahren, das, von Generation zu Generation weiter ausgebildet, durch das trockene, heisse Klima begünstigt, schliesslich eine gewisse Vollkommenheit erlangte. Noch heute haben die aus ihren zahlreichen Hüllen befreiten Mumien ihr ursprüngliches Aussehen bewahrt; abgesehen von der Einschrumpfung des eingetrockneten Körpers scheint äusserlich keine Veränderung eingetreten zu sein; die Gesichtszüge sind noch gut erhalten, so dass man sogar die Königsmumien oft noch mit alten Bildwerken identifizieren konnte; ja, sogar Farbe und Frisur der Haare ist noch deutlich zu erkennen.²⁾

Um so mehr war es von Interesse zu erforschen, ob dieses Einbalsamierungsverfahren, das die Mumien Jahrtausende lang gegen äussere Einflüsse geschützt hatte, auch die im Innern des Körpers tätigen zer-

¹⁾ A. Wiedemann, Die Religion der alten Aegypter, S. 136. Münster 1890.

²⁾ Rudolf Virchow, Die Mumien der Könige im Museum von Bulaq. Sitzungsber. der Kgl. Preuss. Akademie der Wissenschaften in Berlin. Jahrg. 1888, II. S. 767.

störenden Kräfte ausgeschaltet wurden, ob es gelang, die Autolyse — die verdauende Wirkung der Körperfermente — aufzuheben.

Die anorganischen Bestandteile der ägyptischen Mumien sind bereits durch Paul Haas³⁾ analysiert; dass die Körperfette zum grössten Teil in Fettsäuren und Glycerin gespalten wurden und nur noch in Spuren nachweisbar sind, zeigte W. A. Schmidt.⁴⁾ Es blieb also hauptsächlich noch die Frage nach dem Gehalt der Mumien an Eiweissstoffen zu beantworten. Waren diese von der Autolyse verschont geblieben, so mussten sie als natives Eiweiss vorhanden sein; im anderen Falle dagegen mussten sie als Peptone, Aminosäuren oder andere einfache Spaltprodukte wiedergefunden werden. — Zwar hat schon der letzterwähnte Forscher durch positiven Ausfall der Biuretreaktion in mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellten Mumienextrakten dem ursprünglichen Eiweiss sehr nahestehende Peptone nachweisen können; doch gelang ihm der Nachweis von nativen Proteinen auf chemischem Wege nicht mit Sicherheit, auf biologischem mit Hilfe der Präzipitation überhaupt nicht, so dass er selbst „nach eingehenderen Untersuchungen zur Klärung der Frage“ verlangt.⁵⁾ Auch P. Uhlen-

³⁾ Paul Haas, Notiz über die anorganischen Bestandteile zweier ägyptischen Mumien. *Chemical News* 100. p. 296. 1909.

⁴⁾ W. A. Schmidt, Ueber Mumienfettsäuren. *Chemiker-Zeitung*. Bd. 32, S. 769–70. 1908.

⁵⁾ W. A. Schmidt, Chemische und biologische Untersuchungen von ägyptischem Mumienmaterial nebst Betrachtungen über das Einbalsamierungsverfahren der alten Aegypter, *Zeitschrift für allgem. Physiologie*. Bd. VII, S. 369–392. 1908.

⁶⁾ P. Uhlenhuth und Beumer, Praktische Anleitung zur gerichtsarztlichen Blutuntersuchung mittelst der biologischen Methode. *Zeitschr. f. Medizinalbeamte* 1903, Heft 5 und 6.

⁷⁾ P. Uhlenhuth, Ueber die Bestimmung der Herkunft von Mumienmaterial mit Hilfe spezifischer Sera. *Deutsche Med.-Wochenschr.* 1905. Heft 6, S. 213.

huth konnte mit der Präzipitations-Methode keine Spur von Eiweiss in ägyptischen Mumien mehr nachweisen,⁶⁾⁷⁾ dagegen ist ihm mit Hilfe der Anaphylaxie der Nachweis geglückt.⁸⁾

Emil Abderhalden und Carl Brahm⁹⁾ führten den Nachweis, dass die Muskelsubstanz ägyptischer Mumien nach erfolgter Hydrolyse mit Salzsäure Aminosäuren liefert; aber auch hier ist die Frage nach der Art des Vorkommens der gefundenen 5 Aminosäuren nicht berührt worden.

Ich stellte deshalb auf Veranlassung von Herrn Prof. Dr. Abderhalden Untersuchungen darüber an, ob in der Muskelsubstanz von Mumien Aminosäuren bereits vorgebildet vorhanden sind, ob andere Abbau-Stufen des Eiweisses — Peptone — sich nachweisen lassen, und endlich ob Eiweiss als solches erhalten geblieben ist.

Die beiden zu meinen Untersuchungen verwandten Mumien verdanke ich durch gütige Vermittlung des Herrn Prof. Dr. Abderhalden der grossen Freundlichkeit des Herrn Dr. Borchardt, Direktor des Instituts für ägyptische Altertumskunde in Kairo. Das auf ca. 3000 Jahre angegebene Alter lässt darauf schliessen, dass die Einbalsamierung um die Uebergangszeit vom mittleren zum neuen Reiche während der Regierung etwa der XX. Dynastie erfolgte.¹⁰⁾ Die Bauch- und Brusteingeweide fehlten; es musste sich

⁸⁾ P. Uhlenhuth und Händel, Ueber die nekrotisierende Wirkung normaler Sera, speziell des Rinderserums. Zeitschr. f. Immunitätsforschung 1909. I. Teil, Bd. III, S. 284.

⁹⁾ Emil Abderhalden u. Carl Brahm, Ueber den Gehalt der Muskelsubstanz ägyptischer Mumien an Monoaminosäuren, Zeitschrift für physiologische Chemie. Bd. 61, Heft IV und V. S. 419. 1909.

¹⁰⁾ A. Wiedemann, Aegyptische Geschichte. Handbücher der alten Geschichte. I. Teil, S. 486. Gotha 1884.

also um die Mumien von Angehörigen der oberen Kasten handeln, die gleich am Tage des Todes den Priestern übergeben und mit besonderer Sorgfalt einbalsamiert wurden.¹¹⁾¹²⁾

Zu meinen Untersuchungen benutzte ich hauptsächlich die Muskelsubstanz, die zunächst rein mechanisch von Fremdkörpern — anhaftendem Staub, Wachs, Tuchstücken usw. — befreit wurde. Wiederholt beobachtete ich hierbei innerhalb der Muskelsubstanz Kristalldrüsen — nach ausgeführten Untersuchungen Palmitin- und Stearinsäure —, ferner Cholesterinkristalle. Diese Befunde zeigen in Uebereinstimmung mit W. A. Schmidt, dass Fettstoffe in der Mumie gespalten worden sind. — Die groben, vom Skelett losgelösten Gewebsstücke wurden nunmehr gepulvert, dann gesiebt und die zurückbleibenden gröberen Stücke solange weiter zerrieben, bis die ganze Substanz in Pulverform verwandelt war. Ich gewann so im Ganzen ca. 9 kg Ausgangsmaterial.

I. Extraktion der Mumiensubstanz mit Wasser.

Ich verarbeitete zunächst probeweise 1 kg der gepulverten Substanz, die ich, auf mehrere Rundkolben verteilt, mit der vierfachen Menge Wasser 4 Stunden lang am Rückflusskühler auf dem Baboblech kochte. Hierauf filtrierte ich den tief dunkelbraun gefärbten Extrakt ab und kochte den Rückstand ein zweites Mal mit der vierfachen Menge Wasser vier Stunden

¹¹⁾ Herodotus von Hallikarnassus, Geschichten. Uebersetzt von Friedrich Lange. Neu herausgeg. v. Dr. Otto Güthling. II. Buch Euterpe Absch. 86—88, S. 172. Leipzig 1885.

Anmerkung. Dass die Angaben Herodots auf Wahrheit beruhen, beweist die Uebereinstimmung mit jetzt ausgegrabenen Inschriften. Vergl. hierzu 10, S. 115 und

¹²⁾ Curt Wachsmuth, Einleitung in das Studium der alten Geschichte, S. 328. Leipzig 1895.

lang, um ihn dann wieder durch Filtrieren vom Extrakt zu befreien und bei 80° im Trockenschrank bis zur Gewichtskonstanz zu trocknen. Er wog jetzt 754 g, so dass also 24,6% der ursprünglichen Mumiensubstanz gelöst wurden.

Der mit Wasser extrahierte Rückstand wurde dann, um die harzigen Beimengungen möglichst zu entfernen, weiter zweimal mit je 4 Liter gewöhnlichen Alkohols 5 h lang im Wasserbade gekocht, das alkoholische Extrakt abfiltriert und der Rückstand wieder bei 80° getrocknet, worauf er noch 631 g wog, so dass also noch etwa 12,3% der Mumiensubstanz durch Alkohol gelöst wurden.

Um einen Ueberblick über die Stickstoffverteilung in den beiden Extrakten zu erlangen, wurde der N in verschiedenen Proben nach der Kjeldahl'schen Methode, die auch bei allen anderen N-Bestimmungen angewandt wurde, ermittelt und aus den aliquoten Mengen der Gesamt N berechnet.

1. W ä s s r i g e r E x t r a k t bis auf 700 ccm im Vakuum bei ca. 40° und 12 mm eingedampft.

2 ccm verbrauchten 31,5 ccm $\frac{1}{10}$ n. — H_2SO_4

2 " " 31,1 " " "

Gesamt N aus dem Durchschnitt berechnet: 15,35 g.

Berechnet auf die in Lösung gegangene Substanz
(246 g) = 6,2%.

2. A l k o h o l E x t r a k t.

4 ccm verbrauchten 4,4 ccm $\frac{1}{10}$ n. — H_2SO_4 .

Gesamt N = 2,67 g

Berechnet auf die in Lösung gegangene Mumiensubstanz (123 g) = 2,2%.

Da sich hierbei ergab, dass durch die Extraktion mit Alkohol Verluste an N entstehen, extrahierte ich den Rest der Mumiensubstanz, 7,5 kg, nur mit Wasser und zwar wieder zweimal mit der vierfachen Menge Wasser durch vierstündiges Kochen in grossen

Emaillie-Töpfen unter öfterem Umrühren, wobei eine bessere Extraktion als im ersten Versuch erreicht wurde. — Der in Wasser unlösliche Rückstand betrug hierbei nur 4690 g = 62,6% der verarbeiteten Substanz, so dass der in Lösung gegangene Anteil sich auf ca. 37,4% berechnet.

Im Vakuum bei etwa 40° und 12 mm Druck bis auf 11750 ccm eingengt ergaben die N-Bestimmungen verschiedener Proben folgende Werte.

3. Wässriger Extrakt aus 7,5 kg.

10 ccm verbrauchten 166,9 ccm $\frac{1}{10}$ n. — H₂ SO₄

10	„	„	167,2	„	„	„
2	„	„	33,3	„	„	„
2	„	„	33,5	„	„	„

Gesamt N aus dem Durchschnitt berechnet: 276,13 g.
 Berechnet auf die in Lösung gegangene
 Substanz (2810 g) = 9,8%

II. Verarbeitung des wässrigen Extraktes auf freie Aminosäuren.

Die beiden gewonnenen Extrakte a) aus 1 kg, b) aus 7,5 kg dampfte ich bei etwa 40°—50° des Wasserbades unter vermindertem Druck bis zum zähen Sirup ein. Diesen übergoss ich mit absolutem Alkohol (auf 1 kg Ausgangsmaterial nahm ich 1 Liter) und leitete bis zur Sättigung trockene Salzsäuredämpfe ein, wobei sich der zähe Sirup nach einigen Stunden vollständig auflöste. Diese mit Salzsäure gesättigte alkoholische Lösung engte ich wieder bei 40° und 12 mm Druck zur Sirup-Konsistenz ein und wiederholte den ganzen Prozess unter Verwendung derselben Menge absoluten Alkohols noch ein zweites und drittes Mal, um die im Extrakt etwa vorhandenen Aminosäuren in ihre Aethylester-Chlorhydrate überzuführen.

Vet.-Med.
Bibl. J.
8 846

Aus der zum dritten Mal bis zum zähen Sirup eingeeengten alkoholischen Lösung wurden dann die Ester der Monoaminosäuren nach den von Emil Fischer gegebenen Vorschriften¹³⁾ in Freiheit gesetzt. Ich verwandte ca. 750 g gekörntes Kaliumkarbonat und 1½ kg Aethyläther auf 1 kg Mumiensubstanz. Der in wenig kaltem Wasser gelöste Sirup wurde mit Aether überschichtet und unter steter Kühlung in einer Kältemischung 33% Natronlauge bis zur alkalischen Reaktion hinzugefügt. Diese Lösung wurde mit festem Kaliumkarbonat kräftig durchgeschüttelt, der tief braun gefärbte Aether abfiltriert und wieder Natronlauge, Kaliumkarbonat und Aether solange hinzugefügt, bis der letztere fast farblos abfloss. Ich wich hierbei etwas von den Fischer'schen Vorschriften ab, indem ich nach den Angaben Emil Abderhaldens¹⁴⁾¹⁵⁾ erst Natronlauge und dann festes Kaliumkarbonat und nicht erst eine konzentrierte wässrige Lösung des letzteren hinzusetzte.

Die N Verteilung bei dieser Infreiheitsetzung der Ester war folgende:

1. Aetherische Ester-Lösung.

a) Extrakt von 1 kg. Aether-Lösung:

2860 ccm

4 ccm brauchten 1,5 ccm $\frac{1}{10}$ n. — H_2SO_4

Gesamt N 1,50 g

b) Extrakt von 7,5 kg. Aether-Lösung bei 25° und 12 mm auf 5940 ccm eingeengt.

¹³⁾ Emil Fischer, Ueber die Hydrolyse des Caseins durch Salzsäure. Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 33, S. 151. 1901.

¹⁴⁾ Emil Abderhalden, Neuere Ergebnisse auf dem Gebiete der speziellen Eiweisschemie, S. 17. Jena 1909.

¹⁵⁾ Emil Abderhalden. Ueber totale Hydrolyse von Proteinen. Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 68, S. 480. 1910.

5 ccm verbrauchen	19,5 ccm $\frac{1}{10}$ n. — H ₂ SO ₄
5 „ „	19,6 „ „ „

Gesamt N aus dem Durchschnitt berechnet 32,54 g.

Von dem Aether wurden also insgesamt 34,04 N aufgenommen = 11,7% des gesamten Extraktstickstoffes (291,48 g).

2. Rückstand nach der Ausätherung der Ester.

a) in 5185 ccm Wasser gelöst.

10 ccm verbrauchten	17,8 ccm $\frac{1}{10}$ n. — H ₂ SO ₄
5 „ „	9,6 „ „ „

Gesamt N (Durchschnitt): 13,42 g.

b) α in 10950 ccm Wasser gelöst, auch die Filterrückstände.

5 ccm verbrauchten	43,8 ccm $\frac{1}{10}$ n. — H ₂ SO ₄
5 „ „	43,5 „ „ „

Gesamt N (Durchschnitt) 133,93 g

β) in 13750 ccm Wasser gelöst

5 ccm verbrauchten	28,3 ccm $\frac{1}{10}$ n. — H ₂ SO ₄
5 „ „	28,5 „ „ „

Gesamt N (Durchschnitt) 108,42 g

Der Rückstand nach der Ausätherung enthielt also noch insgesamt 255,7 g N = 87,7% des Extraktstickstoffes. Die abfiltrierte Aether-Lösung der Ester wurde 12 Stunden über Magnesiumsulfat getrocknet; dann destillierte ich den Aether bei 25° des Wasserbades und 12 mm Druck ab und trennte die zurückbleibenden Ester in 3 Fraktionen. Die erste Fraktion gewann ich bis zu 100° des Wasserbades und 12 mm Druck; die zweite bei 100° des Wasserbades und 0,1 mm; die dritte bis 200° des Oelbades und 0,1 mm.

I. Fraktion:

a)	Extrakt aus 1 kg	6,0 g
b)	„ „ 7,5 „	232,4 g

II. Fraktion:

a)	—
b)	3,9 g

III. Fraktion:

a)	4,9 g
b)	100,2 g

Sa. 347,4 g Ester.

Der im Kolben verbleibende Rückstand wog a) 14,1 g, b) 132 g.

Jede Ester-Fraktion wurde mit der 6—8fachen Menge destillierten Wassers bis zum Verschwinden der alkalischen Reaktion am Rückflusskühler gekocht, was bei der I. und II. Fraktion etwa 8 Stunden, bei der III. Fraktion etwa 20 Stunden dauerte.

Hierbei wich ich von dem bisher üblichen Verfahren insofern ab, als ich auch die III. Fraktion, welche die Ester des Phenylalanins, der Glutamin- und Asparaginsäure und des Serins enthält, ebenfalls mit Wasser verseifte und nicht durch mehrstündiges Kochen mit Baryt. Der Verseifung durch Kochen mit Wasser, die allerdings längere Zeit, bis zu 24 Stunden erfordert, weil die Halbestere der genannten Aminosäuren, worauf schon Emil Fischer hingewiesen hat, sehr widerstandsfähig sind, ist deshalb der Vorzug zu geben, weil es bei geringen Mengen der erwähnten Aminosäuren oft Schwierigkeiten bereitet, diese nach erfolgter Verseifung mit Baryt zu isolieren; besonders störend macht sich die Abscheidung von schwerlöslichem asparaginsaurem Baryt geltend.¹⁶⁾

¹⁶⁾ Vergl. 14), S. 21.

Nach dem Kochen mit Wasser blieb ein Teil der dritten Fraktion ungelöst als ölige Schicht auf der Oberfläche schwimmend zurück. Ich entfernte ihn durch Ausäthern und dampfte die übrig bleibende wässrige Lösung im Vakuum bis zur Trockne ein. Den Rückstand löste ich wieder in wenig Wasser und leitete bis zur Sättigung HCl Gas ein, worauf sich beim Abkühlen im Eisschrank Glutaminsäurechlorhydrat abschied, das abfiltriert und umkristallisiert wurde. Aus dem Filtrat wurde die Salzsäure durch Kochen von überschüssigem Bleioxyd wieder entfernt; dann kochte ich die so verarbeitete III. Fraktion mit überschüssigem Kupferoxyd. Beim Abkühlen des Filtrats fielen bald hellblaue Nadeln von asparaginsäurem Kupfer aus, die von dem in Lösung bleibenden Serin-Kupfer durch Filtrieren getrennt wurden. Aus den Lösungen der beiden Salze gewann ich schliesslich die reinen Aminosäuren durch Fällen des Kupfers mit Schwefelwasserstoff, Eindampfen der Filtrate und mehrmaligem Umkristallisieren der so gewonnenen festen Rückstände.

Den oben erwähnten, in Wasser unlöslichen Anteil der III. Fraktion, der nach dem Verdunsten des Aethers a) 2,32 g, b) 81,6 g wog, verseifte ich durch zweimaliges Eindampfen mit der gleichen Menge concentrirter Salzsäure auf dem Wasserbade; beim zweiten Verseifen erstarrte das Ganze zu einer fest krystallinischen Masse, aus der ich mit Leichtigkeit nach Entfärbung der Lösung durch Kochen mit Tierkohle und Umkristallisieren der gewonnenen Fraktionen des eingedampften farblosen Filtrats reines Phenylalaninchlorhydrat gewinnen konnte, das durch Kochen mit überschüssigem Bleioxyd und Entfernung die in Lösung gegangenen Bleis aus dem Filtrat mit Schwefelwasserstoff in reines Phenylalanin übergeführt wurde.

Die unter vermindertem Druck zur Trockne verdampfte I. und II. Fraktion wurden zunächst mit Alkohol ausgekocht und das so gewonnene Prolin durch Kochen der wässrigen Lösung mit CuO in das Kupfersalz übergeführt. Aus der wieder in Wasser gelösten I. Fraktion gelang es eine ziemlich reine Valin-Fraktion beim Einengen zu gewinnen, die durch Umkristallisieren aus Wasser gereinigt wurde. Die zurückbleibende, zum Kochen erhitzte Mutterlauge des Valins wurde mit wenig alkoholischer Pikrinsäurelösung versetzt. Nach dem Erkalten fiel Glykokoll-Pikrat aus, das abgesaugt wurde. Aus dem Filtrat wurde die überschüssige Pikrinsäure durch Ansäuern mit verdünnter Schwefelsäure und Ausäthern entfernt, die Schwefelsäure wieder quantitativ mit Baryt gefällt und aus der übrig bleibenden Lösung beim Eindampfen Alanin gewonnen, das durch Umkristallisieren aus heissem Wasser gereinigt wurde. — Die vom Prolin befreite, eingedampfte II. Fraktion lieferte beim Einengen der heissen Lösung mehrere Leucinfractionen, die ebenfalls durch Umkristallisieren gereinigt wurden.

Von den so gewonnenen Aminosäuren wurde der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt. Das Prolinkupfer identifizierte ich als lufttrocknes Salz.

1. Valin.

0,1349 g Substanz verbr. 11,75 ccm $\frac{1}{10}$ n H_2SO_4 .
Gefunden: 12,20% N. Berechnet: 11,98% N.

2. Alanin.

0,1264 g verbr. 14,35 ccm $\frac{1}{10}$ n — H_2SO_4 .
Gefunden: 15,91% N. Berechnet: 15,74% N.

3. Leucin.

0,1469 g verbr. 11,35 ccm $\frac{1}{10}$ n — H_2SO_4 .
Gefunden: 10,82% N. Berechnet: 10,69% N.

4. Phenylalanin.

0,2404 g verbr. 14,8 ccm $\frac{1}{10}$ n — H_2SO_4 .

Gefunden: 8,63% N. Berechnet: 8,49% N.

5. Asparaginsäure.

0,2578 g verbr. 19,4 ccm $\frac{1}{10}$ n — H_2SO_4 .

Gefunden: 10,54% N. Berechnet: 10,53% N.

6. Prolin.

0,1926 g gaben 0,0417 g CuO .

Gefunden: 19,24% Cu

Berechnet für $(C_5H_8NO_2)_2 Cu + 2H_2O$: 19,40% Cu.

III. Hydrolyse des in Wasser unlöslichen Anteils der Mumiensubstanz mit Säuren.

Nachdem ich so den gesamten wässrigen Extrakt auf freie Aminosäuren verarbeitet hatte, versuchte ich auch aus dem in Wasser unlöslichen Anteil der Mumiensubstanz Aminosäuren durch Hydrolyse zu gewinnen und zwar

A. Durch Kochen mit 25% Schwefelsäure.

630 g in Wasser unlöslicher Rückstand des ersten verarbeiteten kg, das ich auch mit Alkohol extrahiert hatte (vergl. S. 9), liess ich zunächst 12 Stunden lang bei Zimmertemperatur mit 2 Liter 25% Schwefelsäure stehen und kochte dann 20 Stunden lang am Rückflusskühler im Oelbad bei etwa 115° . Das Hydrolysat wurde abfiltriert und der Rückstand so lange mit Wasser ausgewaschen, bis eine Probe des Filtrats mit Barytlösung keinen Niederschlag mehr gab; bei 80° getrocknet wog er dann 440 g = 69,84% der hydrolysierten Substanz, so dass also ca. 30,16% in Lösung gingen. Ueber die N Verteilung gibt folgende Uebersicht Auskunft:

1. Hydrolysat 3900 ccm.	
4 ccm verbrauchten	5,8 ccm $\frac{1}{10}$ n. — H_2SO_4
2 " " "	2,8 " " "
Gesamt N (Durchschnitt)	7,78 g
Berechnet auf N Gehalt von Hydrolysat und Rückstand	62,68%.

2. Rückstand; fein gepulvert; aus dem Gemisch verschiedener Proben wird N bestimmt.

0,3811 g verbr.	2,8 ccm $\frac{1}{10}$ n.- H_2SO_4	N ber.	1,04 %
0,2722 g " "	2,4 " " "	" "	1,23 %
0,2656 g " "	1,7 " " "	" "	0,90 %
			Durchschnitt: 1,057 %

Gesamt N des Rückstandes	4,65 g
Berechnet auf die N Summe: Hydrolysat und Rückstand:	37,42%.

Das Hydrolysat füllte ich mit Wasser auf ca. 6 Liter auf und fällte die Schwefelsäure quantitativ aus mit einer heissgesättigten Lösung von etwa 1800 g Baryt. Den abgesaugten Baryumsulfatniederschlag kochte ich dann zwei Mal mit je 3 Liter Wasser $\frac{1}{2}$ Stunde lang aus und dampfte die vereinigten Filtrate auf dem Wasserbade bis auf etwa 1 Liter ein, wobei ich eine dunkelbraune Lösung erhielt, die ich durch einstündiges Kochen mit 10 g Tierkohle entfärbte. Das jetzt schwach gelbliche Filtrat wurde bis auf 200 ccm weiter eingeengt, worauf beim Erkalten sich Kristalle abschieden, die abgesaugt, aus heissem Wasser umkristallisiert und bei 80° getrocknet wurden, worauf ich blendend weisse, filzige Kristalle erhielt, von denen schon Spuren mit Millons Reagens deutliche Rotfärbung beim Erwärmen gaben, so dass also Tyrosin vorlag. Isoliert: 1,2 g.

Die Mutterlauge wurde weiter auf 100 ccm eingeengt, Salzsäuregas bis zur Sättigung eingeleitet, wo-

rauf beim Abkühlen im Eisschrank Glutaminsäurechlorhydrat ausfiel. Isoliert: 5,8 g.

B. Hydrolyse mit rauchender Salzsäure.

Der durch Auskochen von 7,5 kg gewonnene Rückstand (vergl. S. 8) wurde in 3 Rundkolben verteilt (a und b je 1520 g; c 1655 g), zu jeder Portion 4 Liter konzentrierte Salzsäure (spez. Gew. 1,19) hinzugefügt und ca. 16 Stunden im konzentrierten Salzwasserbade bei 106° — 108° am Rückflusskühler gekocht. Hierauf goss ich das Hydrolysat ab und erwärmte den im Kolben a und b als zähe feste Masse haftenden Rückstand mit je 2 Liter Tetrachlorkohlenstoff, um die Harze und Fette zu lösen. Die CCl_4 -Lösung dampfte ich dann im Vakuum zur Trockne ein, wog den Rückstand und bestimmte den N-Gehalt, ebenso wie von dem nicht in CCl_4 gelösten Anteil des Hydrolysenrückstandes. In dem Kolben c hatte sich nach dem Erkalten eine ca. 1 cm dicke fettige Harzschicht abgeschieden, die auf dem Hydrolysat schwamm; nach dem Sprengen des Kolbens wurde sie für sich gewogen und N bestimmt.

N Verteilung bei der Salzsäure Hydrolyse.

1. Hydrolysat.

Kolben a und b	9200 ccm
10 ccm verbr. $\frac{1}{10}$ n. — H_2SO_4	30,2 ccm
10 " " "	30,0 " "
N (Durchschnitt)	38,80 g
Kolben c	2680 ccm
2 ccm verbr. $\frac{1}{10}$ n. — H_2SO_4	9,8 ccm
2 " " "	9,7 " "
N (Durchschnitt)	18,20 g

Der gesamte in das Hydrolysat übergegangene Stickstoff betrug also 57,0 g.

Berechnet auf Hydrolysat und Rückstand: 42,9%.

2. Hydrolysen — Rückstände.

Kolben a und b

1. In CCl_4 nicht löslich; bei 80° getrocknet 2014 g.

0,5373 g verbr. 8,8 ccm $\frac{1}{10}$ n.- H_2SO_4 ; N = 2,313 ‰

0,6567 g „ 10,0 „ „ „ N = 2,301 ‰

Durchschnitt 2,307 ‰

N = 46,46 g

2. In CCl_4 löslich; 250 g.

0,4360 g verbr. 1,3 ccm $\frac{1}{10}$ n. — H_2SO_4

N: 0,413 ‰ = 1,03 g

Kolben c.

1. Fett- und Harzschicht 245 g.

0,1894 g verbr. 1,2 ccm $\frac{1}{10}$ n. — H_2SO_4

N: 0,887 ‰ = 2,15 g

2. Uebriger Rückstand 940 g.

0,5375 g verbr. 10,2 ccm $\frac{1}{10}$ n. — H_2SO_4

0,3802 g „ 7,4 „ „ „ „ „ „

N (Durchschnitt) 2,62 ‰ = 24,63 g

Der N Gehalt des gesamten

Rückstandes ist also 74,27 g

Berechnet auf 3504 g = 2,17 ‰

„ auf N Gehalt von

Hydrolysat und Rückstand 57,12 ‰

Die vereinigten Filtrate der drei Portionen engte ich dann bei etwa 50° des Wasserbades und 12 mm bis zum zähen Sirup ein, den ich mit 3 Liter absolutem Alkohol und Sättigung mit trockenem Salzsäuregas 3 Mal veresterte (vergl. S. 10—12). Hierauf setzte ich die Aminosäureester nach dem oben beschriebenen Verfahren mit 4 kg Aether, ca. 250 ccm 33% Natronlauge und 2 kg Kaliumkarbonat in

Freiheit und trocknete die ätherische Lösung 12 Stunden lang über Magnesiumsulfat.

Die N-Verteilung war folgende:

1. Aetherische Ester-Lösung
4800 ccm.

2 ccm brauchten 4,3 ccm $\frac{1}{10}$ n. — H_2SO_4
N = 14,46 g.

Auf den N des veresterten Hydrolysats ber. = 25,4%.

2. Rückstand, nach der Ausätherung der Ester, und Filtrerrückstände in 32340 ccm H_2O gelöst.

6370 ccm

5 ccm verbr. 3,95 $\frac{1}{10}$ n.- H_2SO_4 N (Durchschnitt) 7,13 g
5 " " 4,05 ccm —

11730 ccm

5 ccm verbr. 4,25 ccm $\frac{1}{10}$ n- H_2SO_4 N = 13,64 g
5 " " 4,05 " " "

14240 ccm

5 ccm verbr. 5,55 ccm $\frac{1}{10}$ n- H_2SO_4 N = 22,05 g
5 " " 5,50 " " "

N-Gehalt des gesamten Rückstandes 42,82 g
Ber. auf den N des Hydrolysats = 75,1 %

Durch fraktionierte Destillation gewann ich aus dem von Aether befreiten Estergemisch 3 Fraktionen:

I. Fraktion bis 100^0 und 12 mm	150 g
II. " " 100^0 " 0,1 "	72 g
III. " " 200^0 " 0,1 "	24,7 g

Sa. 246,7 g

Destillationsrückstand 100 g.

Die Verarbeitung der 3 Fraktionen war dieselbe wie bei der Veresterung des wässrigen Extraktes. Auffallend war der grosse Gehalt an Leucin, das sich nach dem Eindampfen der II. Fraktion durch Um-

kristallisieren aus kochendem Wasser leicht in mehreren Fraktionen rein gewinnen liess. — Der in Wasser unlösliche Anteil der 3. Fraktion wog 1,3 g und lieferte beim Verseifen mit Salzsäure Phenylalanin. — Das Prolin wurde wieder als Kupfersalz bestimmt, nachdem ich es zwei Stunden bei 115° im Vakuum-exsiccator getrocknet hatte.

A n a l y s e n :

1. Alanin.
0,1338 g verbr. 15,2 ccm $\frac{1}{10}$ n — H₂ SO₄.
Gefunden: 15,92% N. Berechnet: 15,74% N.
2. Leucin.
0,2075 g verbr. 16,05 ccm $\frac{1}{10}$ n — H₂ SO₄.
Gefunden: 10,83% N. Berechnet: 10,69% N.
3. Phenylalanin.
0,1295 g verbr. 7,6 ccm $\frac{1}{10}$ n — H₂ SO₄.
Gefunden: 8,22% N. Berechnet: 8,49% N.
4. Asparaginsäure.
0,1347 g verbr. 10,1 ccm $\frac{1}{10}$ n — H₂ SO₄.
Gefunden: 10,50% N. Berechnet: 10,53% N.
5. Serin.
0,0826 g verbr. 7,7 ccm $\frac{1}{10}$ n — H₂ SO₄.
Gefunden: 13,06% N. Berechnet: 13,34% N.
6. Prolin.
0,2161 g gaben 0,0579 g CuO.
Gefunden: 21,41% Cu
Berechnet: 21,80% Cu für (C₅H₈NO₂)₂ Cu

Um den zweiten Teil der Fragestellung — Nachweis von Peptonen in der Muskelsubstanz der Mumien — zu lösen, stellte ich noch folgende Versuche an:

IV. Dialyse von Mumiensubstanz.

20 g feingepulverter Muskelsubstanz dialysierte ich 24 Stunden lang im Pergamentschlauch gegen 12 Liter destilliertes Wasser. Das Dialysat dampfte ich dann auf dem Wasserbade bis auf 35 ccm ein und bestimmte den N-Gehalt.

5 ccm verbr. 8,7 ccm $\frac{1}{10}$ n. — H_2SO_4

35 ccm enthalten also 85,32 mg.

Die Farbe des eingedampften Dialysats war dunkelgelb; ich entfärbte durch Kochen mit 2 g Tierkohle und erhielt ein schwach gelbes Filtrat, das die Biuret-Reaktion mit rotvioletter Farbe gab.

Millons Reagenz gab keine Rotfärbung.

Glyoxylsäure gab keine Tryptophanreaktion.

V. Reaktionen des Extraktes.

30 ccm des durch Auskochen mit Wasser gewonnenen Mumiensextraktes entfärbte ich durch zweimaliges einhalbstündiges Kochen mit je 5 g Tierkohle und füllte mit Wasser auf 200 ccm auf, wobei ich eine schwach gelbliche Lösung erhielt, die ich mit folgenden Reagentien prüfte:

1. Blaues Lackmuspapier wird stark rot gefärbt.
2. Biuretprobe gibt deutliche violettrote Färbung.
3. Millons Reagenz negativ.
4. Xantho-Protein Reaktion: keine Gelbfärbung.
5. Bromwasser keine Fällung oder Rotfärbung.
6. Glyoxylsäure keine Reaktion.

Der Extrakt war stark optisch aktiv. 1,03 ccm (= 3,0822 mg N) + 2,84 ccm Wasser drehten im 1 dm Rohr die Ebene des polarisierten Lichtes — $0,49^\circ$.

Um einen Ueberblick über die Stickstoffverteilung bei der Verarbeitung der beiden Mumien zu erlangen, ordnete ich schliesslich noch die gefundenen Werte in einer Tabelle zusammen, wobei ich den N-Gehalt des Ausgangsmaterials aus der Summe von Extrakten, Hydrolysaten und Hydrolysenrückständen berechnete, unter der Voraussetzung, dass bei den Hydrolysen selbst kein N verloren geht,¹⁷⁾ oder doch so wenig, dass es bei der Berechnung in Prozenten vernachlässigt werden kann.

Die in der zweiten Reihe angegebenen Prozente sind auf die so gefundene Gesamtstickstoffsumme berechnet.

Eine direkte Bestimmung des N-Gehaltes des Ausgangsmaterials war mir leider nicht möglich, da trotz sorgfältiger Zerkleinerung das Gemisch immer noch zu inhomogen war, um aus verschiedenen Proben annähernde Werte zu erhalten.

N-Gehalt der verarbeiteten Mumiensubstanz.

	N-Gehalt	%
1) Alkohol-Extrakt aus 1 kg	2,67 g	0,6
2) Wasser-Extrakt aus 8,5 kg	291,48 g	66,4
3) Hydrolysenfiltrate	64,78 g	14,8
4) Hydrolysen-Rückstände	80,36 g	18,2
	439,29 g	100,0 %

Fasse ich zum Schluss noch einmal alle Resultate zusammen, so ergibt sich folgendes:

Es ist mir geglückt, in der Muskelsubstanz ägyptischer Mumien sämtliche mit Hilfe der Estermethode Emil Fischer's isolierbaren Mono-Aminosäuren in freiem Zustande vorkommend nachzuweisen.

¹⁷⁾ Emil Abderhalden, Beitr. zur Kenntnis der bei der totalen Hydrolyse von Proteinen auftretenden Aminosäuren. Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 68, S. 479 (Tabelle). 1910.

Ferner konnte ich zeigen, dass das Muskeleiweiss nicht vollständig zu Aminosäuren abgebaut war, sondern, dass auch noch Zwischenstufen — Biuret gebende, in Wasser lösliche Peptone — vorhanden waren, die bei der Infreisetzung der Ester in Kaliumkarbonatrückstand verblieben; enthielt dieser doch noch 88% des gesamten Extraktstickstoffs.

Drittens musste ein Teil des Eiweisses noch als solches vorhanden sein; denn bei den Hydrolysen des im Wasser unlöslichen Anteils der Mumiensubstanz konnte ich noch verhältnismässig grosse Mengen von Aminosäuren isolieren.

Im Gegensatz hierzu mussten aber auch die Aminosäuren zum Teil noch weiter abgebaut sein, gelang es mir doch nicht, einzelne, wie z. B. das Tryptophan, das auch beim künstlichen Abbau der Proteine durch Fermente schon sehr frühzeitig abgespalten wird, im Extrakt und im Dialysat noch mit Sicherheit nachzuweisen.

Hiermit ist wohl bewiesen, dass durch die Konservierung der Leiche die Autolyse nicht vollständig aufgehoben wurde; es müsste denn die Einbalsamierung erst längere Zeit nach erfolgtem Tode vorgenommen sein, was aber nach dem oben angeführten (vergl. S. 8 Anm.) so gut wie ausgeschlossen ist.

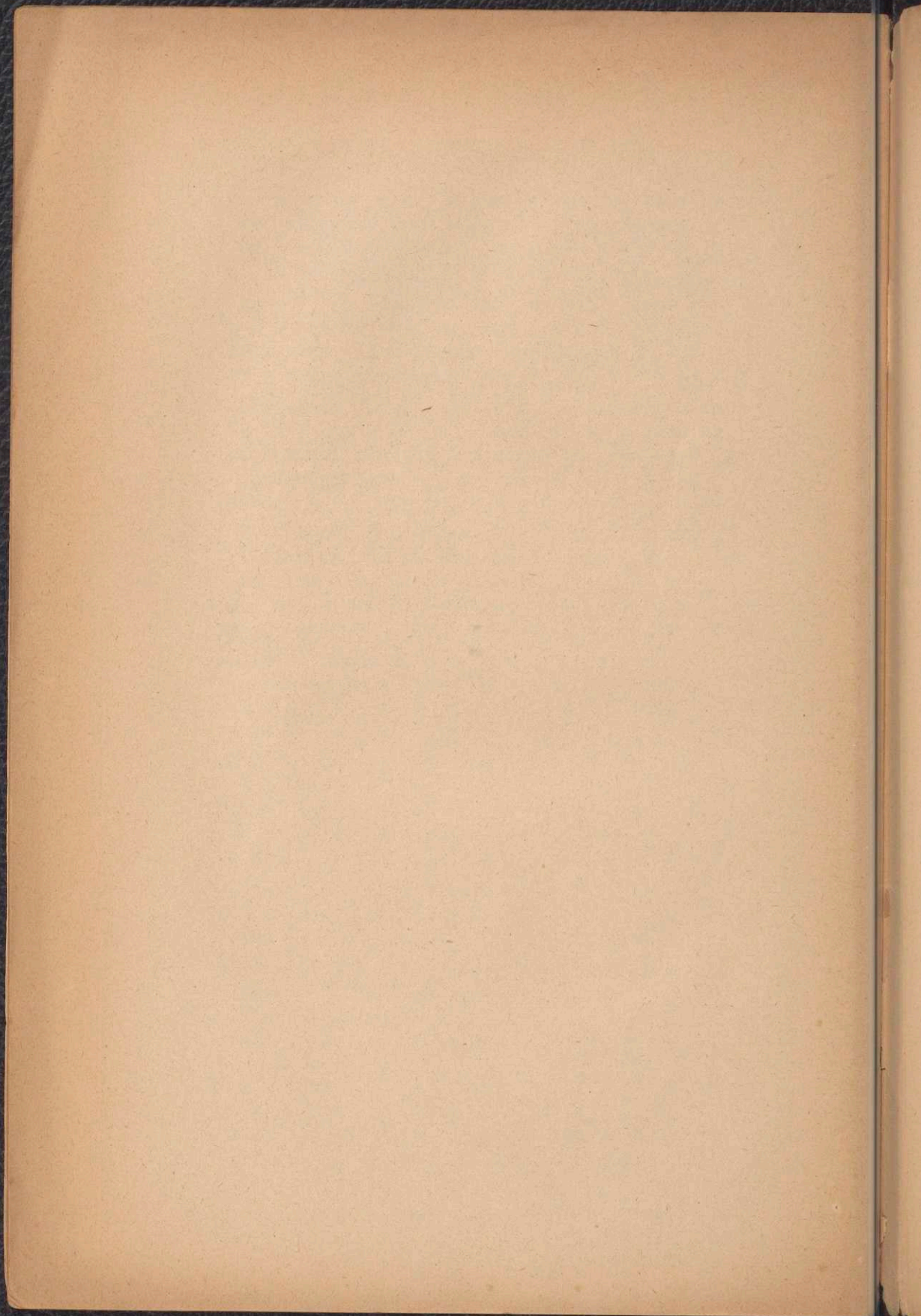
In dem sich selbst überlassenen Körper werden also durch die Autolyse aus den Proteinen dieselben Aminosäuren abgespalten, die man bis jetzt *in vitro* durch Kochen mit Säuren und Alkalien, durch Fäulnisversuche und durch künstlichen Abbau mit Fermenten gewonnen hat — ein neuer Beweis dafür, dass die erhaltenen Aminosäuren als Bausteine der Proteine vorgebildet vorhanden sein müssen und nicht erst künstlich im Reagenzglas erzeugt¹⁸⁾ werden.

¹⁸⁾ Vergl. hierzu: Emil Abderhalden, F. Medigreceanu und L. Pincussohn, vergleichende Hydrolysen von Seide. Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 61, S. 206. 1909.

Die vorliegende Arbeit wurde im Physiologischen Institut der Königl. Tierärztlichen Hochschule zu Berlin in der Zeit von Oktober 1910 bis März 1911 ausgeführt.

Die Anregung hierzu verdanke ich meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. med. Emil Abderhalden, der mir durch seine Ratschläge, sein ständiges Interesse über alle Schwierigkeiten hinweghalf und mir die Vollendung der Arbeit zu einer angenehmen Aufgabe machte.

Ihm an dieser Stelle danken zu dürfen, ist mir nicht nur eine gern erfüllte Pflicht, sondern auch eine grosse Freude.



Lebenslauf.

Ich, Arthur Weil, bin am 3. Oktober 1887 zu Braunschweig geboren; israelitischer Konfession. Ich besuchte in Braunschweig die Mittelschule, die Volksschule zu Seesen a. Harz und die dortige Realschule, dann die Oberrealschule I zu Hannover, wo ich im Februar 1906 das Maturitätsexamen bestand. Mein Studium absolvierte ich an den Hochschulen zu München (1., 2. u. 5. Semester), Hannover (3. u. 4. Semester), Berlin (6.—8. Semester). Die naturwissenschaftliche Prüfung bestand ich am 3. Februar 1908 in Hannover, die Fachprüfung im August 1910 in Berlin. Tag der Approbation 29. August 1910. Nach der Approbation arbeitete ich von Oktober 1910 bis März 1911 am Physiologischen Institut der Königl. Tierärztl. Hochschule zu Berlin, wo ich seit 1. April als wissenschaftlicher Hilfsarbeiter angestellt bin.



84600000558175

Freie Universität  Berlin

