Felix Hoppe-Seyler's Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse, für Aerzte und Studierende / bearbeitet von Dr. H. Thierfelder.

Contributors

Hoppe-Seyler, Felix, 1825-1895.
Thierfelder, Hans, 1858-1930.

Publication/Creation

Berlin : August Hirschwald, 1909.

Persistent URL

https://wellcomecollection.org/works/bd8x4uuq

License and attribution

Conditions of use: it is possible this item is protected by copyright and/or related rights. You are free to use this item in any way that is permitted by the copyright and related rights legislation that applies to your use. For other uses you need to obtain permission from the rights-holder(s).

wellcome collection

Wellcome Collection
183 Euston Road
London NW1 2BE UK
T +44 (0)20 7611 8722
E library@wellcomecollection.org
https://wellcomecollection.org

Felix Hoppe-Seyler's Handbuch

der

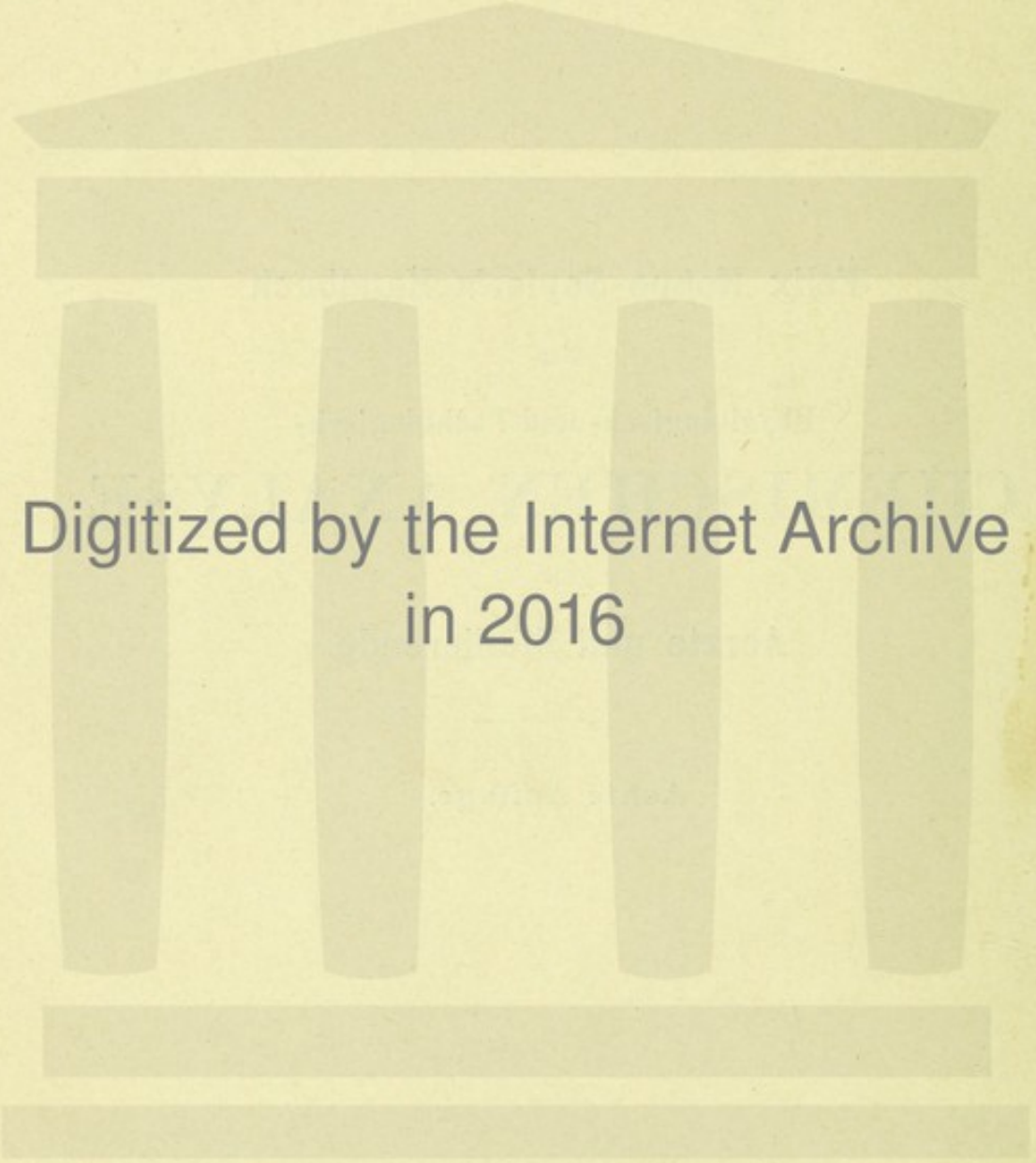
Physiologisch- und Pathologisch-

CHEMISCHEN ANALYSE

für

Aerzte und Studierende.

Achte Auflage.


Digitized by the Internet Archive
in 2016

https://archive.org/details/b28129167

Felix Hoppe-Seyler's Handbuch

der

Physiologisch- und Pathologisch-

CHEMISCHEN ANALYSE

für

Aerzte und Studierende.

Bearbeitet von

Dr. H. Thierfelder,

a. o. Professor und Vorsteher der chemischen Abteilung des physiologischen Instituts der Universität Berlin.

Achte Auflage.

Mit 19 Textfiguren und 1 Spectraltafel.

Berlin 1909.

Verlag von August Hirschwald.

NW. Unter den Linden 68.

92967

23149

Das Recht der Uebersetzung in fremde Sprachen wird vorbehalten.

7931294

WELLCOME INSTITUTE LIBRARY
Coll. wellMOmec
Call No.

Vorwort.

Die Anordnung des Buches und die Umgrenzung seines Inhaltes sind dieselben geblieben. Im einzelnen haben sich, entsprechend der reichen Bearbeitung, welche das Gebiet der physiologischen Chemie auch in den letzten Jahren wieder erfahren hat, Veränderungen, Umarbeitungen, Einfügungen neuer Abschnitte in grosser Zahl als notwendig erwiesen.

Auf der ersten Seite jedes Bogens unten rechts findet sich die Angabe der Zeit seines Abschlusses; indessen ist die Literatur auch über diesen Termin hinaus bis zur Erledigung der letzten Correctur nach Möglichkeit berücksichtigt worden.

Bei der Herstellung dieser Auflage habe ich mich mannigfacher Unterstützung zu erfreuen gehabt, in erster Linie von seiten meines Freundes E. Wörner in Posen. Herr H. Steudel in Heidelberg hat auf meine Bitte die Bearbeitung des Abschnittes Fermente (§ 480 ff.) übernommen. Herr E. Abderhalden in Berlin hat mir gestattet, für die Beschreibung der Methoden der Isolierung der Monaminosäuren aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteine (§ 472 ff.) die von ihm in Oppenheimer's Handbuch gegebene Darstellung zu benutzen. Von Herrn R. Krimberg in Moskau ist mir die Beschreibung des Verfahrens von Gulewitsch und Krimberg zur Isolierung von Carnosin, Carnitin und Methylguanidin aus Muskeln (§ 800) zur Benutzung überlassen worden. Die Herren D. Ackermann in Würzburg (§ 169, 3), A. Ellinger in Königsberg (§ 568), F. Kutscher in Marburg (§ 821), P. Rona in Berlin (§ 631) haben sich der Mühe unterzogen, meine Darstellung von ihnen angegebener Methoden einer Prüfung zu unterwerfen.

Allen diesen Herren sei auch an dieser Stelle bestens gedankt.

Zum Schluss möchte ich noch einen besonderen herzlichen Dank sagen an Herrn Dr. Karl Thomas in Berlin, welcher mich während der ganzen Zeit des Druckes bei der Durchsicht der Manuskripte und beim Lesen der Correcturen in aufopferndster Weise unterstützt und mir auch die Arbeit der Herstellung des Inhaltsverzeichnisses abgenommen hat.

Berlin, 29. Januar 1909.

H. Thierfelder.

Aus dem Vorwort zur 7. Auflage.

Die erste Auflage des Handbuches der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse liess F. Hoppe-Seyler im Jahre 1858 erscheinen. Es war ein kleines Buch in Taschenformat von kaum 300 Seiten. Die weiteren Auflagen folgten in den Jahren 1865, 1870, 1875, 1883 und 1893, jede neue die vorangehende an Inhalt und Umfang übertreffend.

Wohl wissend, dass der Fortschritt der Wissenschaft in erster Linie auf zuverlässigen und genauen Arbeitsmethoden beruht, hat Hoppe-Seyler der Ausbildung und Verbesserung dieser Methoden stets sein besonderes Interesse zugewendet. Eine grosse Anzahl von Untersuchungsverfahren sind von ihm ausgearbeitet worden, die von anderen empfohlenen hat er kritisch geprüft. Jede neue Auflage seines Handbuches brachte das von ihm auf Grund sorgfältiger experimenteller Untersuchung zur Zeit als das beste Erkannte. So bietet das Buch in seinen einzelnen Auflagen ein Bild der Entwickelung der physiologisch-chemischen Methodik während eines Menschenalters.

Zwei Generationen haben an der Hand des Hoppe-Seyler'schen Buches physiologisch-chemisch arbeiten gelernt, für viele ist es ein sicherer Ratgeber bei eigenen Untersuchungen gewesen. Indem es so belehrend und fördernd wirkte, hat es nicht nur der Verbreitung wissenschaftlicher Kenntnisse, sondern auch in reichem Masse dem Fortschritt der Wissenschaft selbst gedient.

Als nach dem Tode von F. Hoppe-Seyler das Werk nahezu vergriffen war, forderte die Verlagsbuchhandlung mich auf, eine Neubearbeitung zu übernehmen. Sie wandte sich an mich, weil ich schon bei der Herausgabe der letzten Auflage beteiligt war. Im Einverständnis mit der Familie Hoppe-Seyler habe ich der Aufforderung Folge geleistet. Was mich bestimmte, eine so grosse und verantwortungsvolle Aufgabe zu übernehmen, war einmal der begreifliche Wunsch, den Namen Hoppe-Seyler's auch durch dieses Werk lebendig zu erhalten, und dann die Befürchtung, dass mit dem Verschwinden des Handbuches aus dem Buchhandel eine Summe von Erfahrungen und Beobachtungen, die von dem grossen Forscher während eines langen Lebens gesammelt und zum Teil nur an dieser Stelle veröffentlicht worden waren, für die Wissenschaft verloren gehen könne.

Die Erinnerung an Felix Hoppe-Seyler hat mich bei der Arbeit begleitet. Möchte es mir gelungen sein, diese Arbeit im Sinne meines Lehrers und väterlichen Freundes ausgeführt zu haben. —

Die Literaturcitate sind, wenigstens was die neueren Arbeiten betrifft, möglichst vollständig angegeben worden, um dem Leser das Zurückgehen auf das Original zu erleichtern. Methoden und Einzelangaben, bei denen der Name des Autors und die Literaturstelle fehlen, stammen meist von F. Hoppe-Seyler.

Zum Schluss ist es mir ein lebhaftes Bedürfnis, auch an dieser Stelle meinem Mitarbeiter an der chemischen Abteilung des physiologischen Instituts, Herrn Dr. Albert Neumann, herzlichen Dank auszusprechen für die ausgezeichnete und unermüdliche Hülfe, die er mir während der Arbeit geleistet hat, und für die Fülle wertvoller Ratschläge, deren ich mich von seiner Seite zu erfreuen hatte.

Berlin, October 1902.

H. Thierfelder.

Verzeichnis der für die benutzte Literatur gebrauchten Abkürzungen.

A. = Liebig's Annalen der Chemie.
A. Ch. J. = American Chemical Journal.
A. exp. P. u. Ph. = Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie.
A. de Ch. Ph. = Annales de Chimie et de Physique.
A. d. Pharm. = Archiv der Pharmacie.
A. f. H. = Archiv für Hygiene.
A. f. A. u. Ph. Ph. A. = Archiv für Anatomie und Physiologie, physiologische Abteilung.
A. J. of Ph. = American Journal of Physiology.
B. = Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft.
B. C. = Biochemisches Centralblatt.
B. k. W. = Berliner klinische Wochenschrift.
B. Ph. P. = Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.
B. Z. = Biochemische Zeitschrift.
Ber. d. pharm. G. = Berichte der deutschen pharmazeutischen Gesellschaft.
Bl. s. ch. de Paris = Bulletin de la Société chimique de Paris.
C. C. = Chemisches Centralblatt.
Ch. Z. = Chemiker-Zeitung.
C. f. inn. M. = Centralblatt für innere Medicin.
C. f. med. W. (oder C. f. m. W.) = Centralblatt für die medicinischen Wissenschaften.
C. f. Ph. = Centralblatt für Physiologie.
C. r. = Comptes rendus des séances de l'Académie des sciences (Paris).
C. r. soc. biol. = Comptes rendus de la société biologique.
D. A. f. k. M. = Deutsches Archiv für klinische Medicin.
D. m. W. = Deutsche medicinische Wochenschrift.
Gaz. chim. (oder G.) = Gazetta chimica italiana.
H.-S. = Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie.
J. A. Ch. S. = Journal of the American Chemical Society.
J. B. Ch. = Journal of biological chemistry.
J. Ch. S. = Journal of the Chemical Society (London).
J. de Ph. Ch. = Journal de Pharmacie et de Chimie.
J. f. pr. Ch. = Journal für practische Chemie.
J. of Ph. = Journal of Physiology.
Maly's Jbr. = Maly's Jahresbericht für Tierchemie.
M. = Monatshefte für Chemie.
M. m. W. = Münchener medicinische Wochenschrift.
Pfl. A. = Archiv für die gesamte Physiologie.
R. = Recueil des travaux chimiques des Pays-Bas.
Skand. A. Ph. = Skandinavisches Archiv für Physiologie.
Virch. A. (oder V. A.) = Virchow's Archiv für pathologische Anatomie.
W. k. W. = Wiener klinische Wochenschrift.
Z. anal. Ch. = Zeitschrift für analytische Chemie.
Z. exp. P. Th. = Zeitschrift für experimentelle Pathologie und Therapie.
Z. f. ang. Ch. = Zeitschrift für angewandte Chemie.
Z. f. B. = Zeitschrift für Biologie.
Z. f. k. M. = Zeitschrift für klinische Medicin.
Z. f. physik. Ch. = Zeitschrift für physikalische Chemie.
Z. f. Unters. N. u. G. = Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs- und Genussmittel.
Z. rat. Med. = Zeitschrift für rationelle Medizin.

Inhaltsübersicht.

I. Wichtigere chemische und physikalische Methoden.

1. Allgemeine chemische Operationen.

Kochen und Abdampfen von Flüssigkeiten (§ 2).

Trennungsmethoden (§§ 3—7).

Destillieren (§ 3) — Extrahieren (§ 4) — Dialysieren (§ 5) — Centrifugieren (§ 6) — Filtrieren (§ 7.)

Auswaschen der Niederschläge (§ 8).

Trocknen (§ 9).

Glühen (§ 10).

2. Quantitative Methoden.

Ueber Gewichtsanalyse (§§ 11 u. 12).

Ueber Massanalyse (§§ 13—20).

Acidimetrie und Alkalimetrie (§§ 15—17) — Fällungsanalysen (§ 18) — Oxydimetrie mittelst Permanganat (§ 19) — Jodometrie (§ 20.)

3. Einige physikalische Methoden.

Untersuchung von Krystallen (§ 21).

Bestimmung des specif. Gewichtes (§ 22 u. 23).

Bestimmung des Schmelz-, Coagulations- und Siedepunkts (§ 24).

Bestimmung der Löslichkeit (§ 25).

4. Optische Methoden.

Spectraluntersuchungen (§§ 26—28).

Spectralapparate (§ 26) — Untersuchung von Farbstoffen (§ 27) — Untersuchung von Aschen (§ 28).

Untersuchung der Circumpolarisation (§§ 29 - 34).

Allgemeines (§ 29) — Polaristrobometer nach Wild (§ 30) — Bestimmung der specifischen Drehung (§ 31) — Bestimmung des Gehaltes der Flüssigkeit an activer Substanz (§ 32) — Halbschattenapparat nach Lippich-Landolt (§ 33) — Saccharimeter nach Schmidt-Haensch (§ 34).

Untersuchung der Fluorescenz (§ 35).

II. Vorkommen, Darstellung, Eigenschaften und Nachweis der bis jetzt aus dem Tierkörper gewonnenen Stoffe.

1. Anorganische Stoffe.

Allgemeines (§ 36).

Alkalimetalle (§§ 37 u. 38).

Kalium (§ 37) — Natrium, Lithium (§ 38).

Erdalkalimetalle (§§ 39 u. 40).

Calcium (§ 39) — Magnesium (§ 40).

Schwermetalle (§§ 41—45).

Eisen (§ 41) — Mangan (§ 42) — Zink (§ 43) — Kupfer (§ 44) — Blei (§ 45).

Säuren (§§ 46—51).

Chlorwasserstoff, Jodwasserstoff (§ 46) — Fluorwasserstoff (§ 47) — Schwefelwasserstoff (§ 48) — Schwefelsäure, unterschweflige Säure (§ 49) — Phosphorsäure, Pyrophosphorsäure (§ 50) — Kieselsäure (§ 51).

Ammoniak (§ 52).

2. Organische Stoffe.

Allgemeines (§§ 53—58).

Untersuchung auf Stickstoff (§ 54) — auf Schwefel (§ 55) — auf Phosphor (§ 56) — auf Eisen (§ 57) — auf Jod (§ 58).

Fettsäuren der Gruppen $C_nH_{2n}O_2$ und $C_nH_{2n-2}O_2$ (§§ 59—72).

Ameisensäure (§ 60) — Essigsäure (§ 61) — Propionsäure (§ 62) — Buttersäure, Isobuttersäure (§ 63) — Valeriansäure, Isovaleriansäure, d-Valeriansäure (§ 64) — Capronsäure, d-Capronsäure (§ 65) — Caprylsäure (§ 66) — Caprinsäure (§ 67) — Laurinsäure, Myristinsäure (§ 68) — Palmitinsäure, Stearinsäure (§ 69) — Heptadekansäure, Arachinsäure, Carnaubasäure, Hyaenasäure, Cerotinsäure Psyllostearylsäure (§ 70) — Oelsäure, Gadoleinsäure, Erucasäure (§ 71) — Linolsäure, Linolensäure (§ 72).

Abscheidung und Trennung der niederen Fettsäuren und der höheren Fettsäuren (§ 73).

Oxysäuren (§§ 74—76).

Milchsäuren (§ 74) — β-Oxybuttersäure (§ 75) — Lanopalmitinsäure, Säure $C_{18}H_{36}O_3$, Cerebronsäure, Lanocerinsäure (§ 76).

Mehrbasische Säuren (§§ 77—80).

Oxalsäure (§ 77) — Bernsteinsäure (§ 78) — Glutarsäure (§ 79) — Citronensäure (§ 80).

Aceton und Ketonsäuren (§§ 81—84).

Aceton (§ 81) — Brenztraubensäure (§ 82) — Acetessigsäure (§ 83) — Lävulinsäure (§ 84).

Schwefelhaltige Körper (§§ 85 u. 86).

Methylmercaptan (§ 85) — Aethylsulfid (§ 86).

Alkohole (§§ 87—89).

Aethylalkohol (§ 87) — Cetylalkohol, Octadekylalkohol, Eikosylalkohol, Carnaubylalkohol, Cerylalkohol, Myricylalkohol, Psyllaalkohol (§ 88) — Glycerin (§ 89).

Glycerinphosphorsäure (§ 90).

Fette (§§ 91—94).

Allgemeines, Stearin, Palmitin, Olein, α-Palmitodistearin (§ 91) — Untersuchung eines Fettgemenges auf seine Bestandteile (§ 92) — Ermittelung der Säurezahl und anderer „Zahlen" (§ 93) — Verseifung des Fettes und Isolierung der Spaltungsprodukte (§ 94).

Walrat (§ 95).

Kohlehydrat von der Formel $C_7H_{14}O_7$ (§ 96).

Kohlehydrate von der Formel $C_6H_{12}O_6$ (§§ 97—100).

Traubenzucker (§§ 97 u. 98) — Fruchtzucker, Leo'scher Zucker (§ 99) — d-Galactose (§ 100).

Kohlehydrate von der Formel $C_{12}H_{22}O_{11}$ (§§ 101—103).

Maltose, Isomaltose (§ 101), Milchzucker (§§ 102 u. 103).

Kohlehydrate von der Formel $(C_6H_{10}O_5)n$ (§§ 104—107)

Glykogen (§ 104) — Dextrine, tierisches Dextran (§ 105) — tierisches Sinistrin (§ 106) — Cellulose (§ 107).

Kohlehydrate von der Formel $C_5H_{10}O_5$ (§§ 108—110).

Allgemeines (§ 108) — Arabinose (§ 109) — Xylose, Rhamnose (§ 110).

Glukuronsäure (§ 111).

Glukosamin und Glukosamin enthaltende Verbindungen (§§ 112—114).

d-Glukosamin, Galactosamin (§ 112) — tierisches Gummi, Albamin, Paramucosin (§ 113) — Chitin, Chitosan (§ 114).

Hyalin (§ 115), Onuphin (§ 116).

Kohlensäure und Kohlensäurederivate (§§ 117—125).

Kohlensäure (§ 117) — Carbaminsäure (§ 118) — Harnstoff (§ 119) — Oxalursäure (§ 120) — Allantoin (§ 121) — Guanidin (§ 122) — Methylguanidin, Dimethylguanidin, Vitiatin (§ 123) — Kreatin (§ 124) — Kreatinin (§ 125).

Pyrimidinderivate (§§ 126—130).

Allgemeines (§ 126) — Thymin (§ 127) — Cytosin (§ 128) — Uracil (§ 129) — Orotsäure (§ 130).

Purinderivate (§§ 131—144).

Allgemeines (§ 131) — Harnsäure (§ 132).

Nucleinbasen (§§ 133—137).

Xanthin (§ 134) — Guanin (§ 135) — Hypoxanthin (§ 136) — Adenin (§ 137).

Methylderivate des Xanthins und Guanins (§§ 138—142).

1-Methylxanthin (§ 139) — Heteroxanthin (§ 140) — Paraxanthin (§ 141) — Epiguanin, Episarkin (§ 142).

Carnin (§ 143).

Darstellung von Purinbasen aus Harn (§ 144).

Schwefelcyansäure (§ 145).

Phosphatide (§§ 146—152).

Allgemeines (§ 146).

Monaminomonophosphatide (§§ 147—149).

Lecithine (§ 147) — Kephalin (§ 148) — Jecorin (§ 149).

Monaminodiphosphatid (Cuorin) (§ 150).

Diaminomonophosphatide (§ 151).

Triaminomonophosphatid (§ 152).

Monamine (§ 153).

Methylamin, Dimethylamin, Trimethylamin (§ 153).

Trimethylammoniumbasen (§§ 154—161).

Cholin (§ 154) — Neurin (§ 155) — Betain (§ 156) — Muscarin (§ 157) — Carnitin (§ 158) — Novain, Reductonovain (§ 159) — Oblitin (§ 160) — Neosin (§ 161).

Diamine (§§ 162—164).

Spermin (§ 162) — Putrescin (§ 163) — Cadaverin (§ 164).

Basen unbekannter Constitution (§§ 165 u. 166).

Carnosin (§ 165) — Ignotin (§ 166) — Kynosin, Gynesin, Mingin, Verbindung $C_3H_8N_2O$, Crangitin, Crangonin, Base $C_6H_{14}N_2O_2$ (§ 166).

Ptomaine (§ 167), Leukomaine (§ 168).

Verfahren zur Isolierung der Ptomaine (§ 169.)

Aminofettsäuren (§§ 170—176).

Allgemeines (§ 170) — Glykocoll (§ 171) — Alanin (§ 172) — Valin, δ-Amino-n-valeriansäure (§ 173) — Leucin, Leucinimid, Isoleucin (§ 174) — Asparaginsäure (§ 175) — Glutaminsäure (§ 176).

Schwefelhaltige Aminosäuren (§§ 177—179).

Taurin, Taurocarbaminsäure (§ 177) — Cystein (§ 178) — Cystin, Melolonthin (§ 179).

Oxyaminosäuren der Fettreihe (§§ 180—182).

Serin (§ 180) — Diaminotrioxydodekansäure (§ 181) — Tetraoxyaminocapronsäure (§ 182) — Oxyaminobernsteinsäure, Dioxydiaminokorksäure, Caseansäure, Leimsäure, Oxydiaminosebacinsäure (§ 182).

Diaminosäuren (§§ 183—186).

Säure $C_2H_6N_2O_2$ (§ 183). — Ornithin (§ 184) — Arginin (§ 185) — Lysin (§ 186).

Histidin (§ 187).

Prolin und Oxyprolin (§§ 188 u. 189).

Methylpyridinammoniumhydroxyd (§ 190).

Phenole (§§ 191—196).

Phenol und Kresole (§ 191) — Brenzcatechin (§ 192) — Adrenalin (§ 193) — Hydrochinon (§ 194) — Inosit (§ 195) — Scyllit (§ 196).

Aromatische Säuren (§§ 197—210).

Benzoesäure (§ 197) — Hippursäure (§ 198) — Ornithursäure (§ 199) — Phenylessigsäure, β-Phenylpropionsäure (§ 200) — Phenacetursäure (§ 201) — Phenylalanin, Phenylaethylamin (§ 202) — p-Oxyphenylessigsäure, Oxyphenacetursäure (§ 203) — Hydro-p-cumarsäure (§ 204) — Oxymandelsäure (§ 205) — Oxyhydro-p-cumarsäure (§ 206) — Tyrosin, p-Oxyphenylaethylamin, Jodgorgosäure (§ 207) — Homogentisinsäure (§ 208) — Uroleucinsäure (§ 209) — Gallussäure (§ 210).

Indol und Indolderivate (§§ 211—221).

Indol (§ 211) — Skatol (§ 212) — Skatosin (§ 213) — Indoxyl (§ 214) — Indol-Pr-3-Essigsäure (§ 215) — Indol-Pr-3-Propionsäure (§ 216) — Tryptophan (§ 217) — Oxytryptophan (§ 218) — Indigblau (§ 219) — Indirubin (§ 220).

Isolierung von Fäulnisprodukten (§ 221).

Chinolinderivate (§§ 222 u. 223).

Kynurensäure (§ 222) — Samandarin, Samandaridin, Samandatrin (§ 223).

Urocaninsäure (§ 224).

Cholesterine (§§ 225—231).

Cholesterin (§ 225) — Koprosterin (§ 226) — Hippokoprosterin (§ 227) — Isocholesterin (§ 228) — Spongosterin (§ 229) — Phytosterine (§ 230) — Cholesterinester (§ 231).

Gallensäuren (§§ 232—240).

Cholsäure, Dehydrocholsäure. Biliansäure, Isobiliansäure, Ciliansäure, Dehydrocholon (§ 232) — Cholcinsäure (§ 233) — Desoxycholsäure (§ 234) — Fellinsäure (§ 235) — α-Hyocholsäure (§ 236) — β-Hyocholsäure (237) — Chenocholsäure (§ 238) — Ursocholeinsäure (§ 239) — Lithofellinsäure (§ 240).

Gepaarte Gallensäuren (§§ 241—248).

Glykocholsäure (§ 241) — Glykocholeinsäure (§ 242) — Taurocholsäure (§ 243) — Taurocholeinsäure (§ 244) — Glykohyocholsäure (§ 245) — Taurochenocholsäure (§ 246) — Guanogallensäure (247) — Scymnolschwefelsäure (§ 248).

Aromatische Aetherschwefelsäuren (§§ 249—254.)

Allgemeines (§ 249) — Phenolschwefelsäure (§ 250) — Kresolschwefelsäure (§ 251) Brenzcatechinschwefelsäure (§ 252) — Indoxylschwefelsäure (§ 253) — Skatoxylschwefelsäure (§ 254).

Gepaarte Glukuronsäuren (§§ 255 u. 256).

Verbindungen der Glukuronsäure mit Phenolen und Alkoholen (Phenolglukuronsäure, Euxanthinsäure) (§ 255) — Verbindungen der Glukuronsäure mit Säuren (§ 256).

Chondroitinschwefelsäure (§ 257).

Glukothionsäuren (§ 258).

Protagon (§ 259).

Paranucleoprotagon (§ 260).

Cerebroside (§ 261).

Phrenosin, Kerasin, Cerebron, Cerebrin, Homocerebrin, Pyosin, Pyogenin (§ 261).

Farbstoffgruppen der Blutfarbstoffe (§§ 262—270).

Haemochromogen, Kohlenoxydhaemochromogen (§ 263) — Haematin (§ 264) — Haemin (§ 265) — Haematoporphyrin (§ 266) — Mesoporphyrin (§ 267) — Haemopyrrol (§ 268) — Haematinsäure (§§ 269 u. 270).

Gallenfarbstoffe (§§ 271—276).

Bilirubin (§ 271) — Biliverdin (§ 272) — Hydrobilirubin (§ 273) — Andere Gallenfarbstoffe (§ 274) — Den Gallenfarbstoffen nahestehende Stoffe (§ 275) — Phylloerythrin (§ 276).

Harnfarbstoffe (§§ 277—282).

Urochrom (§ 277) — Urobilin (§ 278) — Urobilinogen (§ 279) — Uroerythrin (§ 280) — Urorubrohaematin, Urofuscohaematin (§ 281) — Urorosein und andere aus Chromogenen entstehende Harnfarbstoffe (§ 282).

Braune und schwarze Pigmente, Melanine, Melanoidine (§§ 283 u. 284).

Lipochrome (§§ 285 u. 286).

Luteine (§ 285) — Tetronerythrin (§ 286).

Andere Farbstoffe (§§ 287—289).

Sehpurpur (§ 287) — Turacin (§ 288) — Pyocyanin (§ 289).

Proteine.

Eiweissstoffe (Albuminstoffe) (§§ 290—363).

Kurze Uebersicht (§ 290).

Native Eiweissstoffe (§§ 291—312).

Allgemeines (§ 291) — Zersetzungen (§ 292) — Reactionen (§ 293) — Abscheidung aus Flüssigkeiten (§ 294) — Serumalbumin (§ 296) — Ovalbumin (§ 297) — Conalbumin (§ 298) — Lactalbumin (§ 299) — Oxyhaemocyanin, Haemocyanin (§ 300) — Myogen (§ 301) — Myosin (§ 303) — Fibrinogen (§ 304) — Fibringlobulin (§ 305) — Serumglobulin, Glutolin (§ 306) — Percaglobulin (§ 307) — Ovoglobulin, Lactoglobulin (§ 308) — Globulin aus Harn (§ 309) — Globuline der Krystalllinse (§ 310) — Thyreoglobulin (§ 311) — Eiweisskörper von Bence-Jones (§ 312).

Umwandlungsproducte der nativen Eiweissstoffe (§§ 313—316).

Fibrin (§ 313) — Coagulierte Albuminstoffe (§ 314) — Acidalbumine, Hemiprotein (§ 315) — Albuminate (§ 316).

Intermediäre Spaltungsproducte der Eiweissstoffe und ihrer Umwandlungsproducte (§§ 318—350).

Albumosen (§§ 318—325) — Peptone (§§ 326 u. 327) — Plasteine (§ 328) — Protokyrine (§ 329) — Polypeptide (§§ 330—350).

Oxydierte, nitro-, halogensubstituierte, desamidierte Eiweissstoffe (§§ 351—356)

Oxyprotsulfonsäure (§ 351) — Peroxyprotsäure (§ 352) — Oxyprotein (§ 353) — Xanthoproteinsäure (§ 354) — Desaminoprotein (§ 355) — Halogensubstituierte Eiweissstoffe (§ 356).

Oxyproteinsäure, Antoxyproteinsäure, Alloxyproteinsäure, Uroprotsäure, Uroferrinsäure (§§ 357—363).

Histone (§§ 364—371).

Allgemeines (§ 364) — Histon aus den roten Blutkörperchen der Vögel (§ 365) — Histon aus Nucleohiston (§ 366) — Gadushiston (§ 367) — Lotahiston (§ 368) — Centrophorushiston (§ 369) — Scomberhiston (§ 370) — Histopepton (§ 371).

Globin, Arbacin, Parahiston (§§ 372—374).

Protamine (§§ 375—383).

Allgemeines (§§ 375 u. 376) — Salmin (§ 377) — Clupein (§ 378) — Scombrin (§ 379) — Cyprinin (§ 380) — Cyclopterin (§ 381) — Sturin (§ 382) — Protone (§ 383).

Albuminoide (§§ 384—402).

Keratine (§ 385) — Neurokeratin (§ 386) — Substanz der Eihäute (§ 387) — Koilin (§ 388) — Elastin (§ 389) — Collagen, Glutin, Reticulin (§ 390) — Chondrin (§ 391) — Albumoid der Linse (§ 392) — Albumoid des Knorpels (§ 393) — Albumoid des Knochens (§ 394)) — Tierische Membranine (§ 395) — Fibroin (§ 396) — Spinnenseide (§ 397) — Byssus (§ 398) — Sericin (§ 399) — Conchiolin (§ 400) — Cornein (§ 401) — Spongin (§ 402).

Proteide (§§ 403—471).

Blutfarbstoffe und ihre nächsten Derivate (§§ 404—417).

Oxyhaemoglobin (§§ 405 u. 406) — Haemoglobin (§ 407) — Spectroskopisches Verhalten von Oxyhaemoglobin und Haemoglobin (§ 408) — Kohlenoxydhaemoglobin (§ 409) — Stickoxydhaemoglobin (§ 410) — Acetylenhaemoglobin (§ 411) — Methaemoglobin (§ 412) — Cyanhaemoglobin (§ 413) — Acidhaemoglobin (§ 414) — Kathaemoglobin (§ 415) — Sulfhaemoglobin, Schwefelmethaemoglobin (§ 416) — Rote Farbstoffe der Vanessen (§ 417).

Nucleoproteide (und Nucleinsäuren) (§§ 418—443).

Allgemeines (§ 418) — Nucleoproteide aus Thymus (§§ 419 u. 420) — Nucleoproteide aus anderen lymphatischen Organen (§ 421) — Nucleoproteid aus Gänseblutkörperchen (§ 422) — Nucleoproteid aus Knochenmark (§ 423) — Nucleoproteide aus Nebennieren (§ 424) — Nucleoproteid aus Thyreoidea (§ 425) — Nucleoproteid aus Leber (§ 426) — Nucleoproteide aus Pankreas (427) — Nucleoproteid aus Hepatopankreas von Octopus (§ 428) — Nucleoproteid aus Submaxillardrüse (§ 429) — Nucleoproteid aus Milchdrüse (§ 430) — Nucleoproteid aus Placenta (§ 431) — Nucleoproteid aus Muskeln (§ 432) — Nucleoproteid aus Gehirn (§ 433) — Nucleoproteid aus elastischem Gewebe (§ 434) — Nucleoproteid aus Blutserum (§ 435) — Nucleinsäuren, Allgemeines (§ 436) — Thymonucleinsäuren, Epizuckersäure, Martamsäure (§§ 437—440) — Guanylsäure (§ 441) — Inosinsäure (§ 442) — Isolierung der Nuclein- und Pyrimidinbasen aus der Thymonucleinsäure (§ 443).

Paranucleoproteide (Nucleoalbumine) (§§ 444—458).

Allgemeines (§ 444) — Casein (§ 445) — Paranucleinsäure (§ 446) — Polypeptidphosphorsäure (§ 447) — Opalisin (§ 448) — Vitellin (§§ 449 u. 450). — Hämatogen (§ 451) — Ichthulin aus Barscheiern (§§ 452 u. 453) — Ichthulin aus Lachseiern (§ 454) — Ichthulin aus Kabeljaueiern (§ 455) — Ichthulin aus Karpfeneiern (§ 456) — Ichthulin aus Eiern von Torpedo marmorata (§ 457) — Nucleoalbumin aus Rindergalle (§ 458).

Glukoproteide (§§ 459—471).

Allgemeines (§ 459) — Mucin der Submaxillardrüse (§ 460) — Mucin der Schleimhaut der Luftwege (§ 461) — Mucin des Nabelstrangs (§ 462) — Serosamucin (§ 463) — Mucine der Schnecken (§ 464) — Mucin der Barscheier (§ 465) — Pseudomucin (§ 466) — Paramucin (§ 467) — Ovomukoid, Harnmukoid, Mukoid aus Blutserum (§ 468) — Corneamukoid, Hyalomukoid (§ 469) — Chondromukoid, Tendomukoid, Ligamentomukoid, Osseomukoid (§ 470) — Amyloid (§ 471).

Isolierung von Monaminosäuren und Diaminosäuren aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteine (§§ 472—477).

Isolierung von Glykokoll, d-Alanin, d-Valin, l-Leucin, l-Prolin, l-Asparaginsäure, d-Glutaminsäure, l-Serin, l-Phenylalanin und l-Oxyprolin mit Hülfe der Estermethode von E. Fischer (§ 473) — Isolierung von Glutaminsäure (§ 474) — Isolierung von Tyrosin und Diaminotrioxydodekansäure (§ 475) — Isolierung von Cystin (§ 476) — Isolierung von Hexonbasen (§ 477).

Gehalt einiger Proteine an Monamino- und Diaminosäuren (§ 478).
Ungefähre Bestimmung der Stickstoffverteilung in Proteinen (§ 479).
Fermente (§§ 480—500).

Allgemeines (§ 480) — Pepsin (§§ 481—484) — Trypsin (§§ 485—487) — Erepsin (§ 488) — Proteolytische Fermente der Gewebe (§ 489) — Labferment (§§ 490 u. 491) — Diastatisches Ferment (§§ 492 u. 493) — Invertase, Maltase, Lactase (§ 494) — Lipase (§§ 495 u. 496) — Arginase (§ 497) — Nuclease (§ 498) — Auf Purinbasen wirkende Fermente (§ 499) — Oxydierende Fermente (§ 500).

III. Untersuchung tierischer Flüssigkeiten, Gewebe und Concretionen.

Untersuchung der Aschen.

Herstellung der Aschen (§§ 501—506).

Veraschung auf trockenem Wege (§§ 501 u. 502) — Veraschung auf nassem Wege nach A. Neumann (§§ 504—506).

Qualitative Untersuchung der Asche (§§ 507—508).

Untersuchung des wässerigen Aschenauszugs (§ 507) — Untersuchung des salzsauren Aschenauszugs (§ 508).

Quantitative Bestimmungen einzelner Aschebestandteile (§§ 509—525).

Kalium und Natrium (§ 509) — Calcium und Magnesium (§ 510) — Eisen (§§ 511—514) — Mangan (§ 515) — Salzsäure (§§ 516—519) — Gesamtschwefel (§ 520) — Bleischwärzender Schwefel (§ 521) — Phosphorsäure (§§ 522 u. 523) — Kieselsäure (§ 524) — Kohlensäure (§ 525).

Quantitative Bestimmung der Gesamtasche (§§ 526 u. 527).

Bestimmung des Gesamtstickstoffs nach Kjeldahl.

Ausführung im Harn und bei eiweisshaltigen Substanzen (§ 528).

1. Untersuchung des Harns.

Allgemeines (§§ 529—537).

Bestandteile (§ 529) — Geruch (§ 530) — Menge und spec. Gewicht (§ 531) — Consistenz (§ 532) — Klarheit (§ 533) — Linksdrehung, Fluorescenz (§ 534) — Farbe (§ 535) — Reaction (§ 536) — Bestimmung der Titrationsacidität (§ 536) — Entfernung von Eiweiss aus eiweisshaltigem Harn (§ 537).

Normale Bestandteile (§§ 538—573).

Nachweise:

Natrium, Kalium, Calcium, Magnesium, Eisen, Salzsäure, Schwefelsäure, Aetherschwefelsäure, Phosphorsäure, Salpetersäure, salpetrige Säure, Wasserstoffsuperoxyd (§ 538) — Ammoniak (§ 548) — Harnstoff (§ 551) — Oxalursäure (§ 120) — Allantoin (§ 121) — Kreatinin (§ 125) — Harnsäure (§ 132) — Schwefelcyansäure (§ 563) — Fettsäuren (§ 564) — Oxalsäure (§ 565) — Organische Basen (§ 601) — Phenol, Kresol (§ 566) — Brenzcatechin (§ 192) — Indoxyl (§ 568) — Hippursäure (§ 198) — p-Oxyphenylessigsäure, Hydro-p-cumarsäure (§ 570) — Inosit (§ 571) — Kynurensäure (§ 222).

Quantitative Bestimmungen:

Titrationsacidität (§ 536) — Gesamtasche, Trockenrückstand (§§ 539 u. 540) — Natrium, Kalium (§ 541) — Calcium, Magnesium (§ 542) — Eisen (§ 543) — Salzsäure (§ 544) — Schwefelsäure, Gesamtschwefel (§ 545) — Phosphorsäure (§ 546) — Salpetersäure (§ 547) — Ammoniak (§ 549) — Gesamtstickstoff (§ 550) — Harnstoff (§§ 551—554) — Kreatinin (§ 556) — Kreatin (§ 557) — Harnsäure (§§ 558 bis 561) — Purinbasen (§§ 561 u. 562) — Schwefelcyansäure (§ 563) — Fettsäuren (§ 564) — Oxalsäure (§ 565) — Phenol, Kresol (§ 566) — Brenzcatechin (§ 567) — Indoxyl (§ 568) — Hippursäure, Benzoesäure (§ 569) — Kynurensäure (§ 573).

Vorwiegend pathologische Bestandteile (§§ 574—603).

Nachweise:
Traubenzucker (§ 574) — Fruchtzucker (§ 578) — Milchzucker (§ 579) — Arabinose (§ 580) — Gepaarte Glukuronsäuren (§ 581) — Aceton, Acetessigsäure (§ 583) — β-Oxybuttersäure (§ 585) — Milchsäure (§ 586) — Fett (§ 587) — Eiweiss (§§ 588 u. 589) — Albumosen (§ 592) — Aminosäuren (§ 593) — Fermente (§ 596) — Farbstoffe (§§ 597—600) — Putrescin, Cadaverin (§ 163) — Gallensäuren (§ 602) — Homogentisinsäure (§ 603) — Eiter (§ 603).

Quantitative Bestimmungen:
Traubenzucker (§§ 575—577) — Arabinose (§ 580) — Gesamt-Kohlehydrate (§ 582) — Aceton, Acetessigsäure (§ 584) — β-Oxybuttersäure (§ 585) — Eiweiss (§§ 590 u. 591) — Cystin (§ 594) — Aminosäuren (§ 595) — Gallensäuren (§ 602) — Homogentisinsäure (§ 603).

Harnsedimente, Harnsteine, Nierensteine (§§ 604—611).

Allgemeines (§ 604) — Mikroskopische Untersuchung der Harnsedimente (§§ 605 bis 607) — Kurze Charakterisierung der in Sedimenten und Steinen gefundenen Verbindungen (§ 608) — Qualitative Analyse (§§ 609 u. 610) — Quantitative Analyse (§ 611).

2. Untersuchung von serösen Flüssigkeiten, Cystenflüssigkeiten, Synovia usw.

Allgemeines (§§ 612—615).

Bestandteile (§ 613) — Specifisches Gewicht, Reaction, Farbe, Consistenz (§ 614) — Klarheit (§ 615).

Untersuchung (§§ 616—636).

Nachweise:
anorganische Salze (§ 617) — Glukoproteide, phosphorhaltige Proteide (§ 619) — Serumalbumin, Serumglobulin, Fibrinogen (§ 620) — Albumosen (§ 621) — Ammoniak (§ 52) — Harnstoff (§ 627) — Kreatin (Kreatinin) (§ 628) — Harnsäure (§ 629) — Amino- und Diaminosäuren (§ 630) — Zucker (§ 631) — ätherlösliche Substanzen (Fett, Phosphatide, Cholesterin) (§ 632) — Farbstoffe (§ 634) — verschiedene Stoffe (§ 635).

Quantitative Bestimmungen:
Trockenrückstand (§ 616) — anorganische Salze (§ 617) — Albumin + Globuline (§ 622) — Albumin, Globuline (§ 623) — Fibrinogen (§ 624) — Gesamtstickstoff und Reststickstoff (§ 625) — Ammoniak (§ 626) — Harnstoff (§ 627) — Harnsäure (§ 629) — Zucker (§ 631) — ätherlösliche Stoffe (Fett, Phosphatide, Cholesterin) (§ 632) — Glycerin (§ 633).

Quantitative Analyse (§ 636).

3. Untersuchung des Blutes.

Allgemeines (§§ 637—642).

Bestandteile (§ 637) — Specifisches Gewicht (§ 638) — Farbe (§ 639) — Reaction, Bestimmung der Alkalescenz (§ 640) — Verhalten zu Salzlösungen (§ 641) — Hämolyse (§ 642).

Gerinnung des Blutes (§§ 643 u. 644).

Trennung und Untersuchung von Plasma (oder Serum) und Blutkörperchen (§§ 645—651).

Trennung (§ 645) — Isolierung von Plasma (§ 646) — Isolierung von Serum (§ 647) — Isolierung der roten Blutkörperchen (§ 648) — Untersuchung der roten Blutkörperchen (§ 649) — Isolierung und Untersuchung der weissen Blutkörperchen (§ 650) — Isolierung der Blutplättchen (§ 651).

Untersuchung des Blutes (§§ 652—668).

Nachweise:
einzelne Bestandteile (§ 652) — Blutfarbstoff (§ 653).

Quantitative Bestimmungen:
einzelne Bestandteile (§ 652) — Blutfarbstoff (§§ 654—658) — Fibrin (§ 659) — — Plasma, Serum, Blutkörperchen (§§ 660—663) — Gesamtblut- und Gesamtblutfarbstoffmenge eines Tieres (§§ 665—667) — Bestimmung der Gesamtblutmenge beim Lebenden (§ 668).
Gesamtblutanalyse (§ 664).

4. Untersuchung des Eiters.

Allgemeines und Untersuchung (§§ 669—672).

Bestandteile (§ 669) — Trennung von Eiterserum und Eiterkörperchen (§ 670) — Untersuchung des Eiterserums (§ 671) — Untersuchung der Eiterkörperchen (§ 672).

5. Untersuchung der Secrete.

Untersuchung des Speichels.

Allgemeines (§§ 673—677).

Bestandteile (§ 674) — Specifisches Gewicht, Reaction, Klarheit (§ 675) — Pathologische Veränderungen (§ 676) — Secrete der einzelnen Speicheldrüsen (§ 677).

Untersuchung (§§ 678—681).

Nachweise:
Proteinstoffe (§ 678) — Fermente (§ 679) — Schwefelcyansäure (§ 680) — salpetrige Säure, andere Stoffe (§ 681).
Quantitative Bestimmungen:
Schwefelcyansäure (§ 680).

Speichelsteine, Zahnstein (§ 682).

Qualitative Analyse, quantitative Analyse (§ 682).

Untersuchung des Nasensecretes.

Allgemeines und Untersuchung (§§ 683 u. 684).

Bestandteile, Nachweis und Bestimmung der einzelnen Bestandteile (§ 683) — Nasensteine (§ 684).

Untersuchung der Tränen.

Allgemeines und Untersuchung (§ 685).

Untersuchung der Sputa.

Allgemeines (§§ 686 u. 687).

Bestandteile (§ 686) — Reaction, specifisches Gewicht (§ 687).

Untersuchung (§§ 688 u. 689).

Untersuchung des Magensaftes und des Mageninhaltes.

Magensaft (§ 690).

Untersuchung des Mageninhaltes (§§ 691—706).

Nachweise:
freie Salzsäure (§ 692) — Milchsäure (§ 693) — flüchtige Fettsäuren (§ 694) — saure Phosphate (§ 695) — Pepsin (§ 701) — Labferment (§ 702) — Lipase (§ 703) — Galle (§ 704) — Blut (§ 705) — Eiweiss (§ 706).
Quantitative Bestimmungen:
Gesamtacidität (§ 696) — Gesamtsäure (§ 697) — Gesamtsalzsäure (§§ 698 u. 699) — Freie Salzsäure (§ 700).

Untersuchung des Pancreassaftes.

Allgemeines (§ 707).

Bestandteile (§ 707).

Untersuchung (§§ 708 u. 709).

Nachweise:

Trypsinogen, Labferment, diastatisches Ferment, Maltase, Lipase (§ 708) — Nachweis und Bestimmung der übrigen Stoffe (§ 709).

Pancreassteine (§ 710).

Untersuchung des Darmsaftes.

Allgemeines und Untersuchung (§ 711).

Untersuchung der Galle.

Allgemeines (§§ 712—714).

Bestandteile (§ 713) — Verhalten verschiedenen Einwirkungen gegenüber (§ 714).

Untersuchung (§§ 715—728.

Nachweise:

anorganische Bestandteile (§ 715) — Gallenschleim (§ 716) — Gallensäuren (§ 717) — Cholesterin, Phosphatide, Fett (§ 718) — Harnstoff (§ 719) — Gallenfarbstoff (§ 720) — Urobilin (§ 721) — Eiweiss (§ 722) — Zucker (§ 723) — Aminosäuren (§ 724) — Blut (§ 725).

Quantitative Bestimmungen:

Trockenrückstand (§ 726) — Gesamtstickstoff, Ammoniak, einzelne Aschebestandteile (§ 727).

Quantitative Analyse (§ 728).

Gallensteine, Gallensedimente (§§ 729—731).

Einteilung (§ 729) — Qualitative Untersuchung (§ 730) — Quantitative Untersuchung (§ 731).

Untersuchung des Schweisses.

Allgemeines und Untersuchung (§§ 732—734).

Untersuchung der Milch.

Allgemeines (§§ 735—738).

Bestandteile (§ 735) — Specifisches Gewicht (§ 736) — Reaction (§ 737) — Verhalten verschiedenen Einwirkungen gegenüber (§ 738).

Gerinnung (§ 739).

Untersuchung (§§ 740—751).

Nachweise:

Casein, Albumin + Globulin, Fett, Phosphatide, Cholesterin, Milchzucker, Salze (§ 740).

Quantitative Bestimmungen:

Trockenrückstand (§ 741) — Gesamtstickstoff, einzelne anorganische Bestandteile (§ 742) — Gesamtproteingehalt (§§ 743 u. 744) — Casein, Albumin + Globulin, Milchzucker, Fett (§ 745) — Casein, Summe der übrigen Proteinstoffe, Fett (§ 746) — Casein (+ Globulin), Albumin (§ 747) — Fett (§ 748) — Milchzucker (§ 749) — Stickstoff der Extractivstoffe (§ 750) — Citronensäure (§ 751).

Quantitative Analyse (§ 750).

Untersuchung des Secretes der Talgdrüsen und ähnlicher Secrete.

Bestandteile (§ 753) und Untersuchung (§ 754).

Untersuchung des Spermas.

Allgemeines und Untersuchung (§§ 755—758).

Bestandteile (§ 755) — Trennung in Zwischenzellenflüssigkeit und Spermatozoen (§ 756) — Trennung der Spermatozoen in Köpfe und Schwänze (§ 757) — Untersuchung (§ 758).

6. Untersuchung des Darminhaltes.

Untersuchung des Dünndarminhaltes.

Bestandteile (§ 759) und Untersuchung (§ 760).

Untersuchung der Fäces.

Allgemeines (§§ 761 u. 762).

Bestandteile (§ 761) — Consistenz, Farbe, Reaction, Geruch (§ 762).

Untersuchung (§§ 763—780).

Nachweise:

anorganische Salze (§ 763) — Proteinstoffe (§ 764) — Nucleinbasen (§ 765) — aromatische Substanzen, Koprosterin, Fett, Fettsäuren, Kohlehydrate (§ 766) — Gallensäuren (§ 767) — Urobilin (§ 768) — Urobilinogen (§ 769) — Bilirubin (§ 770) — Blutfarbstoff (§ 771) — Chlorophyllan (§ 772) — Milchsäure, Leucin und Tyrosin, Phosphatide, Cadaverin und Putrescin, Ammoniak, Schwefelwasserstoff (§ 773).

Herstellung lufttrockener Fäces (§§ 774 u. 775).

Quantitative Bestimmungen:

Trockenrückstand (§ 776) — Gesamtstickstoff, einzelne Aschebestandteile (§ 777) — Nucleinbasenstickstoff (§ 778) — Fett, Fett und Fettsäuren (§ 779) — Amylum (§ 780).

Darmconcremente, Darmsteine (§ 781).

Untersuchung des Meconiums.

Allgemeines und Untersuchung (§ 782).

7. Untersuchung der Stützgewebe.

Untersuchung der Knochen, Zahnsubstanzen und Verkalkungen.

Bestandteile (§ 783).

Untersuchung (§§ 784—789).

Nachweise:

einzelne anorganische und organische Bestandteile (§ 784).

Quantitative Bestimmungen:

Gesamtstickstoff, einzelne Aschebestandteile (§ 786) — Gesamtasche (§ 787) — Collagen (§ 789).

Quantitative Analyse der Asche (§ 788).

Untersuchung des Knochenmarks.

Bestandteile und Untersuchung (§ 790).

Untersuchung des Knorpelgewebes.

Bestandteile (§ 791) und Untersuchung (§ 792).

Untersuchung des Bindegewebes.

Bestandteile (§ 793) und Untersuchung (§ 794).

8. Untersuchung der Organe.

Allgemeines (§ 795).

Untersuchung der Muskeln.

Bestandteile (§ 796).

Untersuchung (§§ 797—816).

Nachweise:
anorganische Salze (§ 797) — Proteinstoffe (§ 798) — Harnstoff, Milchsäure, flüchtige Fettsäuren, Inosit (§ 799) — Carnosin, Carnitin, Methylguanidin (§ 800) — Kreatin, Nucleinbasen (§ 801) — Kreatinin, Milchsäure, Taurin (§ 802) — Inosit (§ 803) — Zucker (§ 804) — Phosphatide (§ 805) — gebundene Pentose (§ 806) — Alkohol (§ 807).

Quantitative Bestimmungen:
anorganische Salze (§ 797) — Trockenrückstand, Gesamtstickstoff, einzelne anorganische Bestandteile (§ 808) — Ammoniak (§ 809) — Nucleinbasen (§ 810) — Harnsäure (§ 811) — ätherlösliche Substanzen (§ 812) — höhere Fettsäuren in den verseiften Muskeln (§ 813) — Glykogen (§ 814) — Proteidphosphorsäure (§ 815) — Proteinstoffe, anorganische Salze, ätherlösliche Stoffe (§ 816).

Untersuchung der drüsigen Organe.

Bestandteile (§ 817).

Untersuchung (§§ 818—821).

Nachweise:
Aminosäuren (§ 819) — andere Bestandteile (§ 820) — Verfahren zur Trennung von Basen in autolysierten drüsigen Organen (§ 821).

Untersuchung des Gehirns, des Rückenmarks und der Nerven.

Bestandteile (§ 822).

Untersuchung (§ 823—826).

Nachweise:
anorganische Salze (§ 823) — wasserlösliche Substanzen (§ 824) — Alkohol- und ätherlösliche Stoffe (§ 825) — Neurokeratin (§ 386)

Quantitative Bestimmungen:
Trockenrückstand, Gesamtstickstoff, anorganische Bestandteile, anorganische Salze, Cholesterin, Lecithin u. Kephalin, Neurokeratin, Galactose (§ 826).

Untersuchung von Hornhaut, Linse, Glaskörper, Humor aqueus.

Bestandteile und Untersuchung (§ 827).

Berichtigungen und Nachträge.

Anhang.

Einige Reagentien.

Almén'sche Lösung — Brücke's Reagens — Glyoxylsäurelösung — Magnesiamischung — Millon's Reagens — Molybdaensaures Ammoniak — Nessler's Reagens — Phosphorwolframsäure — Stokes'sche Lösung.

Tabelle der Atomgewichte und Verhältniszahlen für Analysenberechnung.

Tabelle der specifischen Gewichte.

Ammoniak — Kalilauge — Natronlauge — Salzsäure — Salpetersäure — Alkohol.

Tabelle des Volumens und der Dichte des Wassers.

Tabelle zur Traubenzuckerbestimmung nach Pflüger.

Tabelle zur Fettbestimmung nach Soxhlet.

I. ABTEILUNG.

Wichtigere chemische und physikalische Methoden.

1. Allgemeine chemische Operationen.

1. Die am häufigsten bei qualitativen physiologisch-chemischen Untersuchungen zur Anwendung kommenden Operationen sind Kochen und Abdampfen, Trennung der Substanzen, Auswaschen von Niederschlägen, Trocknen und Glühen. Auch diese einfachen Prozeduren erfordern Uebung und Aufmerksamkeit, und es ist von der richtigen Ausführung derselben das Gelingen selbst einfacher Untersuchungen abhängig. Es mögen daher zunächst über diese Operationen einige praktische Bemerkungen hier Platz finden, die besonders das Verhalten der tierischen Stoffe bei denselben betreffen.

Kochen und Abdampfen von Flüssigkeiten.

2. Das Kochen der Flüssigkeiten geschieht in Reagenzgläsern, Kolben, Kochflaschen, Porzellan- oder Glasschalen, das Abdampfen wässeriger Flüssigkeiten nur in Schalen. Alkoholische Flüssigkeiten können in hinreichend hochwandigen Schalen oder besser in Bechergläsern, ätherische oder Chloroformlösungen nur in letzteren ohne Verlust verdunstet werden. Zum Abdampfen kleiner Mengen wässeriger Flüssigkeiten sind Uhrschalen sehr geeignet. Alkoholische Lösungen dürfen nur auf dem Wasser- oder Dampfbade, nie direkt über der Flamme, ätherische nur auf dem vorher erwärmten Wasserbade nach Löschen der Flamme oder auf dem Dampfbade verdunstet werden, da sich ihr Dampf an der Flamme leicht entzündet.

Ziemlich verdünnte Flüssigkeiten, z. B. Harne, verdampft man am besten zunächst über freiem Feuer bei mässigem Sieden und setzt, wenn sie konzentrierter geworden sind, das Abdampfen auf dem Wasserbade fort. Viele Flüssigkeiten, besonders zuckerhaltige, bräunen sich beim Kochen und Abdampfen bei hoher Temperatur, besonders über freiem Feuer. Man dampft sie zweckmässig bei einer Temperatur von 70–80°, entweder direkt über kleiner Flamme oder im Wasserbade ein und beschleunigt durch Umrühren

oder einen über der Flüssigkeit angebrachten Flügelventilator die Verdunstung. In vielen Fällen ist das Eindampfen im Vacuum vorteilhaft.

Durch gutes Umrühren vermeidet man möglichst das heftige Stossen und Spritzen, welches leicht eintritt, wenn sich schwere Niederschläge aus den kochenden Flüssigkeiten absetzen, z. B. beim Eindampfen bereits konzentrierter Harne oder Salzlösungen über freiem Feuer.

Infolge von Siedeverzug nicht gleichmässig, sondern stossweise siedende Flüssigkeiten kann man in der Regel durch Einbringen von einigen wenigen ganz kleinen Stückchen von unglasiertem gebrannten Ton zu ruhigem Kochen bringen. Glasperlen oder Glaskapillaren oder über die Oberfläche der Flüssigkeit hervorragende Holzstäbchen dienen demselben Zweck.

Eiweisshaltige Flüssigkeiten sind langsam unter gutem Umschütteln oder Umrühren mit einem Glasstabe zum Kochen zu erhitzen. Selbst im Probierröhrchen tritt wegen schlechter Wärmeleitung der Eiweisscoagula leicht Bräunung eiweissreicher Flüssigkeiten ein, wenn man nicht durch Umdrehen und Schütteln die Erhitzung möglichst gleichmässig auf die ganze Flüssigkeit wirken lässt.

Zu heftige plötzliche Erhitzung durch eine heisse Flamme an einer Stelle zersprengt nicht allein fast immer die Gefässe, sondern verdirbt auch sicher die ganze Flüssigkeit, wenn sie eiweissreich ist. Will man die Braunfärbung beim Kochen eiweissreicher Flüssigkeiten sicher vermeiden, so trägt man diese in kleinen Portionen unter gutem Umrühren in bereits siedendes Wasser ein.

Trennungsmethoden.

Die Trennung der Substanzen kann man bewirken durch Destillieren, Extrahieren, Dialysieren, Centrifugieren und Filtrieren. Die letztere Art der Trennung ist die am häufigsten benutzte.

3. **Destillieren**. Die Destillation dient dazu, flüchtige Stoffe von nicht flüchtigen zu trennen. Nach ihrer Verdichtung in dem mit dem Destillierkolben verbundenen Liebig'schen Kühler sammeln sich die flüchtigen Substanzen in der Vorlage, während die nicht flüchtigen im Destillierkolben zurückbleiben. Um bei stossweise siedenden Flüssigkeiten ein gleichmässiges Kochen zu bewirken, verfährt man in der § 2 angegebenen Weise. Körper, die bei ihrer Siedetemperatur oder schon unterhalb derselben sich zersetzen, destilliert man unter vermindertem Druck oder im Vacuum. Die Destillation wird wesentlich erleichtert und beschleunigt durch Einleiten von Wasserdampf in die zu destillierende Flüssigkeit. Viele Substanzen, deren Siedepunkt weit über 100° liegt, gehen unter diesen Umständen, auch schon beim Destillieren ihrer wässerigen Lösungen leicht mit den Wasserdämpfen über, z. B. fette Säuren, Phenole, Indol.

4. **Extrahieren.** Das Extrahieren einer festen Masse durch eine Flüssigkeit gelingt nur dann schnell und vollständig, wenn die Masse in hinreichend fein verteiltem Zustande der extrahierenden Flüssigkeit dargeboten wird. Sind die zu extrahierenden Körper pulverisierbar, so verwandelt man sie vor dem Aufgiessen der Flüssigkeit in ein möglichst feines Pulver; sind sie nicht pulverisierbar, so bringt man sie, wenn sie breiige, schleimige oder harzige Konsistenz haben, wenn möglich erst in konzentrierte, wässerige oder alkoholische Lösung, übergiesst nun unter gutem Umrühren mit der extrahierenden Flüssigkeit und verwandelt somit die Extraktion in eine Fällung der nicht löslichen Substanzen. Um tierische Organe zu extrahieren, z. B. Muskeln, zerkleinert man sie vorher durch Zerreiben mit Glasstücken oder durch eine Fleischhackmaschine. Alle eiweisshaltigen Substanzen extrahiert man mit Wasser am besten unter der Koagulationstemperatur der Proteine und entfernt dann im Extrakte das Eiweiss durch Aufkochen.

Zur Trennung der Fette usw. von anderen Stoffen durch Extraktion ersterer mittelst Aether oder Chloroform eignen sich im ganzen wässerige Lösungen oder Emulsionen besser als die festen Verdampfungsrückstände dieser Flüssigkeiten. Man schüttelt die Lösungen mit Aether oder Chloroform, lässt dann einige Zeit stehen und trennt die Flüssigkeiten durch Abgiessen. Ist die Aether- oder Chloroformlösung dann noch trübe, schleimig, und trennen sich die Flüssigkeiten schlecht, so fügt man Alkohol unter Umschütteln hinzu, bis die Flüssigkeiten sich trennen und klären, scheidet sie im Scheidetrichter und wäscht mehrmals die Aether- oder Chloroformlösung mit Wasser zur Entfernung des Alkohols. Schneller und bequemer und mit weniger Extraktionsmittel erreicht man den Zweck mit Hülfe einer der vielen kontinuierlich wirkenden Apparate, welche neuerdings zur Extraktion wässeriger Flüssigkeiten mit Aether, Ligroin, Chloroform und anderen mit Wasser nicht mischbaren Flüssigkeiten angegeben worden sind. Von Apparaten für spezifisch leichtere (als Wasser) Extraktionsmittel, z. B. Aether, seien die von Kutscher u. Steudel[1]) und von Zelmanowitz[2]), von Apparaten für spezifisch schwerere (als Wasser) Extraktionsmittel, z. B. Chloroform, die von Hagemann[3]) (auch für spezifisch leichtere Extraktionsmittel brauchbar) und von Stephani u. Böcker[4]) erwähnt. Zur Extraktion von Fett usw. aus pulverigen Substanzen mit Aether oder Chloroform benutzt man den Soxhlet'schen Extraktionsapparat, welcher eine völlige Erschöpfung der Masse unter Benutzung von kleinen Aethermengen gestattet und ebenfalls kontinuierlich arbeitet.

5. **Dialysieren.** Seitdem man in dem vegetabilischen Pergament einen der Fäulnis und der Veränderung durch die gewöhnlichsten Agentien nicht

1) H.-S. **39**. 473 (1903).
2) B. Z. **1**. 253 (1906).
3) B. **26**. 1975 (1893).
4) B. **35**. 2698 (1902).

ausgesetzten zu endosmotischen Versuchen sehr gut geeigneten Stoff besitzt, hat man mehrfach die endosmotischen Vorgänge zur Trennung von Substanzen empfohlen, welche mit verschiedener Geschwindigkeit oder gar nicht durch die Poren dieses Pergamentes sich ergiessen können. Einige Stoffe, wie arabisches Gummi und Proteine sind der Diffusion kaum fähig, bringt man sie in konzentrierter Lösung in eine Flasche, deren Boden abgesprengt und durch ein wasserdicht übergebundenes Stück vegetabilisches Pergament ersetzt ist, und setzt die so gefüllte Flasche in eine Schale mit destilliertem Wasser, so gehen kaum bemerkbare Spuren dieser Stoffe durch die Membran in das Wasser über. Enthält die Eiweiss- oder Gummilösung dagegen Salze oder im allgemeinen der Diffusion fähige Substanzen, so treten diese, falls sie nicht von Gummi oder Eiweiss durch chemische Affinität festgehalten sind, so lange in das Wasser über, bis die Konzentration der äusseren wässrigen Lösung der der innern für diese Substanzen nahezu gleich geworden ist. Wenn man nun sonach imstande ist, diffusible Körper (Kristalloïde nach Graham) von nicht diffusiblen (Colloïde nach Graham) zu trennen, indem man die Mischungen beider in obiger Weise mit Wasser diffundieren lässt, nach einigen Stunden das Wasser aussen in der Schale durch neues ersetzt, nach wieder einigen Stunden abermals wechselt, so können bedeutende Quantitäten der diffusiblen Substanzen aus der ursprünglichen Mischung entfernt und durch Verdunsten usw. der äusseren wässrigen Lösungen für sich gewonnen werden. Man gelangt nun zwar auch bei möglichster Begünstigung schneller Diffusion nie dahin, die Salze usw. völlig von Gummi, Proteinen u. dergl. zu trennen, doch werden sie wesentlich gereinigt und die Salze so wie andere diffusible Körper frei von Gummi, Eiweiss usw. erhalten. Graham, welcher diese Scheidungsmethode zuerst in umfassender Weise angewendet hat, nennt dieselbe Scheidung durch Dialyse[1]). Um recht schnelle Diffusion zu bewirken, ist es zweckmässig 1. die Diffusionsfläche, d. h. die Membran, durch welche die Diffusion stattfindet, recht gross zu nehmen, 2. die Temperatur etwas zu erhöhen, 3. die Flüssigkeit in der Flasche öfters mässig zu schütteln und 4. das Aussenwasser häufig zu erneuern, event. wenn es nur darauf ankommt die diffusiblen Stoffe zu entfernen, es sich beständig erneuern zu lassen. Da der Strom sich immer mehr verlangsamt, je mehr die diffusiblen Substanzen in der Flasche abnehmen, tut man gut, nach einiger Zeit den Inhalt der Flasche etwas einzudampfen und nun weiter der Dialyse zu unterwerfen.

Sehr zweckmässig sind die von Kühne empfohlenen Pergamentschläuche, welche mit der zu dialysierenden Flüssigkeit gefüllt, in hohe mit Wasser, event. mit fliessendem Wasser gefüllte Cylinder Uförmig aufgehängt werden. Die Diffusionsfläche wird auf diese Weise sehr vergrössert.

1) A. **121**. 1. (1862).

Unter Umständen kann man sich mit Vorteil der von Philippson[1]) und von Andern empfohlenen Schilfschläuche bedienen. In ihnen verläuft die Diffusion rascher. Der Fassungsraum eines Schilfschlauchs beträgt allerdings nur 8—10 ccm.

Ein Apparat, bei dem die Dialyse durch ein fortwährendes Mischen der zu dialysierenden Flüssigkeit mittelst eines Rührers begünstigt wird, ist von Siegfried[2]) angegeben.

6. **Centrifugieren.** Die Trennung von körperlichen Elementen, z. B. Niederschlägen, Blutkörperchen, im Harn suspendierten Bestandteilen usw., geschieht oft sehr zweckmässig mit Hülfe der Centrifuge. An Stelle der bisher allgemein gebräuchlichen cylindrischen Centrifugiergefässe sind von A. Kossel[3]) flache, in der Nähe der Peripherie angeordnete Gefässe empfohlen, die z. B. für die Abtrennung roter Blutkörperchen grosse Vorteile gewähren.

7. **Filtrieren.** Die Trennung der Flüssigkeiten von Niederschlägen erfolgt meist mittelst Filtration durch ungeleimtes Papier. Will man letzteres als leicht zerstörbaren organischen Körper vermeiden, so bringt man fein zerteilten und mit Wasser geschlemmten Asbest (nachdem er vorher mit Salzsäure ausgekocht, mit Wasser ausgewaschen und geglüht ist) oder Glaswolle in die Spitze eines Glastrichters und stopft sie hier nicht zu fest vor die Oeffnung der Röhre des Trichters. Das Filtrieren durch Leinwand (Kolieren) dient entweder zur ersten gröberen Scheidung massiger, schwerer, grobkörniger Niederschläge von den Flüssigkeiten, oder man zieht es in Anwendung bei Filtration schleimiger Flüssigkeiten, welche Papierfiltra schnell verstopfen würden (z. B. Trennung des geschlagenen Faserstoffs vom Blute). Dem Filtrieren durch Leinwand kann man fast stets ein Auspressen des Niederschlags im Leinwandbeutel mit der Hand oder einer Presse folgen lassen. Um starkes Pressen anwenden zu können, bedient man sich als Einhüllung des zu pressenden Breis am besten des aus Wolle gewebten Oelpresstuches. Zum Auspressen von gehacktem Fleisch eignet sich besonders ein sehr starkes Netz oder Gewebe aus Hanffäden.

Die Papierfilter sollen ein wenig kleiner sein als die Glastrichter, für welche sie bestimmt sind; nie darf das Filter über den Rand des Trichters herausragen, da sonst völliges Auswaschen unmöglich wird. Es ist meist zweckmässig, das Filter zu befeuchten und an die Wandung des Trichters überall anzulegen, ehe man die zu filtrierende Flüssigkeit aufgiesst. Sehr grosse Filter, durch welche wässrige Flüssigkeiten filtriert werden sollen, unterstützt man dadurch, dass man die Spitze derselben in ein zweites kleineres Filter stellt. Braucht man nur das Filtrat, so wendet

---

1) B. Ph. P. **1**. 80. (1902), ferner **9**. 389 u. 394. (1907).
2) B. **31**. 1825. (1898). 3) H.-S. **33**. 1. (1901).

man mit Vorteil Faltenfilter an, durch die die Flüssigkeit sehr viel schneller hindurchläuft. Auch die Benutzung von Rippentrichtern ist bei schlecht filtrierenden Flüssigkeiten oft sehr empfehlenswert.

Das Aufgiessen der Flüssigkeiten ist behutsam auszuführen, damit kein Verlust durch Spritzen entsteht und nicht durch den plötzlichen Stoss das Filter zerrissen wird. Man giesst an einem senkrecht angelegten Glasstabe aus nicht zu gefülltem Gefässe hinab, so dass die Flüssigkeit am Glasstabe hinabrieselnd unter sehr stumpfem Winkel etwa die Mitte der Seitenwand des Filters trifft. Um beim Aufgiessen ein Herablaufen von Flüssigkeit an der Aussenwand des Gefässes zu vermeiden, ist es zweckmässig, an die untere Seite des umgebogenen Randes und zwar an die Stelle, an der man ausgiessen will, eine Spur Fett zu bringen.

Bedeutende Beschleunigung der Filtration erreicht man durch Anwendung der Wasserstrahlpumpe; um das Zerreissen des Filters zu vermeiden, muss es durch einen in den Trichter eingesetzten Platinconus gestützt werden. Auch die Witt'schen Filterplatten, sowie die Büchner'schen Nutschen in Verbindung mit der Wasserstrahlpumpe empfehlen sich zur Trennung von Flüssigkeiten und Niederschlägen und sind in vielen Fällen unentbehrlich. Schleimige und sehr fein verteilte Niederschläge eignen sich nicht zur Filtration unter vermindertem Druck.

Auswaschen der Niederschläge.

8. Beim Auswaschen der Niederschläge auf dem Filter ist besonders darauf zu achten, dass der Strahl der Waschflüssigkeit weder zu heftig stossend wirkt, noch die Filterwand oder den Niederschlag senkrecht trifft, da sonst das Papier zerreissen oder Verspritzen der Niederschläge stattfinden kann. Man darf auch die Filter nicht zu hoch mit Flüssigkeit füllen, insbesondere ist es ratsam, genügenden Raum im Filter leer zu lassen, wenn sehr feinkörnige Niederschläge abzufiltrieren sind. Im ganzen gilt die Regel, Niederschläge zunächst sich absetzen zu lassen (was oft in der Wärme sehr viel schneller geschieht), sodann zuerst die Flüssigkeit zu filtrieren und endlich den Niederschlag selbst aufs Filter zu bringen, indem man ihn mit der erforderlichen Waschflüssigkeit (meist also Wasser) oder mit etwas bereits filtrierter Flüssigkeit, die man zurückgiesst, allmählich völlig auf dem Filter sammelt. In den meisten Fällen ist es zweckmässig, erst dann von neuem Waschflüssigkeit auf das Filter zu bringen, wenn die vorhergehende Portion bereits das Filter passiert hat, doch ist es in einzelnen Fällen besser, das Filter stets voll Flüssigkeit zu erhalten. Um das Hineinfallen von Staub und die Verdunstung in den Filterrändern zu verhüten, bedeckt man den Trichter mit einer Glasplatte.

Sehr massige feinkörnige oder gelatinöse Niederschläge werden auf dem Filter nur sehr schwer vollkommen ausgewaschen. Hier ist es zweck-

mässiger, durch Dekantieren, d. h. durch Abgiessen der Flüssigkeit vom Niederschlage so gut es geht, Aufgiessen einer Portion Waschflüssigkeit auf denselben, Umrühren, Absetzenlassen, Abgiessen dieser Flüssigkeit und Wiederholung der Prozedur, die Niederschläge von gelösten Substanzen allmählich zu befreien. Man filtriert dann die abgegossenen Flüssigkeiten und bringt nach völligem Auswaschen endlich den ganzen Niederschlag aufs Filter.

Trocknen.

9. Nicht leicht zersetzliche Substanzen trocknet man im sogenannten Trockenschranke oder auf dem Wasserbade oder im kleinen Luftbade bei 100—120°; viele Substanzen können, ohne Zersetzung zu erleiden, selbst bei 130—140° getrocknet werden. In manchen Fällen ist es zweckmässig, die Substanzen in einer Röhre im langsamen Luftstrome, der vorher durch ein mit Chlorcalciumstücken gefülltes Rohr oder eine konz. Schwefelsäure enthaltende Waschflasche seines Wasserdampfes beraubt ist, zu trocknen, indem man die Röhre, welche die Substanz enthält, in ein Luftbad oder Wasserbad einlegt. Den Luftstrom erzeugt und reguliert man durch einen Aspirator.

Die Kugel des Thermometers, welches die Trockentemperatur im Luftbade anzeigt, soll ebensowenig wie das Gefäss, in welchem sich der zu trocknende Körper befindet, irgendwo die Wandung des Luftbades direkt berühren; beide sollen in etwa gleicher Höhe mindestens 2—3 cm hoch über dem Boden des Luftbades stehen. Die Luftbäder haben gewöhnlich zu dem Zweck, das Gefäss mit der Substanz aufzunehmen, einen metallenen Träger in der angegebenen Höhe über dem Boden des Luftbades. Ist das Gefäss, in dem sich die zu trocknende Substanz befindet, ein metallenes, so stellt man es am besten auf ein Dreieck aus feinem Platindraht oder auf ein Stück Papier, damit nicht durch metallene Leitung das Gefäss und somit der zu trocknende Körper eine höhere Temperatur erlangt, als das Thermometer des Luftbades anzeigt. Man heizt das Luftbad langsam durch eine kleine Flamme bis auf die erforderliche Temperatur.

Filtrierpapier und andere hygroskopische Substanzen, somit auch alle pulverförmigen Körper trocknet man in Gefässen, welche man noch heiss gut verschliessen kann. Insbesondere empfiehlt sich hierzu der allgemein gebrauchte Apparat, bestehend aus 2 gut aufeinander passenden Uhrgläsern und einem metallenen Halter, welcher die Ränder der Uhrgläser dicht aufeinander gedrückt hält. Man bringt die zu trocknenden Substanzen oder Filter in das eine der Uhrgläser, legt das andere umgekehrt lose darauf, so dass es jedoch nicht schliesst, erhält die Substanz in den Uhrgläsern etwa $^1/_4$ Stunde im Luftbade bei der erforderlichen Temperatur (Filter dürfen nicht wohl über 130° erhitzt werden), öffnet dann das Luftbad, schiebt das obere Glas über das untere, so dass sie gut schliessen, schiebt auch den

Halter über und lässt den Apparat mit der Substanz unter einer Glasglocke über einer Schale, welche mit konzentrierter Schwefelsäure oder Natronkalk halb gefüllt ist (Exsiccator), erkalten. Ebenfalls sehr zweckmässig sind die sog. Trockengläschen mit eingeschliffenem Deckel.

Substanzen, welche hohe Temperatur nicht ohne Zersetzung ertragen, trocknet man entweder im Vacuumtrockenschrank oder bei gewöhnlicher Temperatur über konzentrierter Schwefelsäure im luftverdünnten Raume. Im letzteren Fall erfordert das Trocknen, selbst wenn die Substanzen relativ grosse Oberfläche haben, meist mehrere Tage; insbesondere trocknen unkoagulierte Eiweissstoffe schwer vollständig aus. Sind die Substanzen noch sehr nass, wenn man sie der Luftverdünnung aussetzen will, so vermeide man beim Evakuieren den Siedepunkt der benetzenden Flüssigkeit zu erreichen, da beim plötzlichen, meist stossweisen Sieden leicht durch Verspritzen Verluste entstehen.

Sicherheit über völlig vollendetes Austrocknen gibt nur Wägen der Substanz, Wiederholung des Trocknens und Wiederwägen. Ist das Gewicht beim zweiten Wägen gleich dem früher gefundenen (Gewichtskonstanz), so ist die mögliche Trockenheit erreicht.

Glühen.

10. Substanzen, die man hohen Hitzegraden aussetzen will, sind meist vorher hinreichend zu trocknen. Man glüht dieselben im Porzellan- oder Platintiegel, kleine Proben auch auf einem Stück Platinblech oder im Platinlöffel; enthalten jedoch die zu glühenden Substanzen leicht reduzierbare Metalle, wie Kupfer, Blei, Silber, Gold, Zinn, oder enthalten sie Jod, Brom, Phosphor, so sind alle Platingefässe zu vermeiden. Hat man auf dem Filter gesammelte Niederschläge zu glühen, so setzt man den Tiegel auf ein Stück Glanzpapier, öffnet vorsichtig das mit dem Niederschlage vorher gut getrocknete Filter, schüttet den Inhalt möglichst vollständig auf ein zweites Stück Glanzpapier, bringt das zusammengefaltete Filter in den Tiegel, verbrennt es, bringt darauf den Niederschlag vom Glanzpapier ebenfalls vollständig, die letzten Spuren mit Hülfe einer Federfahne in den Tiegel, desgleichen etwa neben den Tiegel gefallene Stäubchen und erhitzt abermals. Zu dem Zweck stellt man den Tiegel auf oder richtiger in ein Dreieck von nicht zu schwachem Eisendraht oder besser Platindraht (nie auf einen Messing- oder Kupferträger); sehr zweckmässig ist es, in einem Dreieck von Eisendraht ein kleineres Dreieck von Platindraht auszuspannen und letzteres als Träger für den Tiegel zu benutzen. Die Erhitzung des Tiegels darf nur allmählich höher und höher durch die Flamme gesteigert werden, und man hat um so sorgfältiger die heftige Erhitzung zu vermeiden, je lebhafter Gas- und Rauchentwickelung sich zeigt. Ein Auflegen des Deckels ist im Anfang zweckmässig, ebenso auch bei Veraschungen am Ende, um durch möglichste Steigerung der Hitze die letzten Spuren von

Kohle, die die Wandungen des Tiegels nicht unmittelbar berühren, zu entfernen. Das Auflegen des Deckels im Anfange ist besonders wichtig, um Verluste durch Zerplatzen von Krystallen (Decrepitieren) oder trockner amorpher Stoffe, Eiweiss, Leim usw. zu vermeiden. Durch zu schnelles Erhitzen erhält man leicht Verluste an feuerbeständigen Substanzen durch die heftig entweichenden Gase; Eisenoxyd und Platin können beim schnellen Erhitzen von Hämatin und Platinsalmiak reichlich durch die Gase fortgerissen werden; Auflegen des Deckels wirkt hierfür eher schädlich als nützlich. Nach beendetem Glühen lässt man den Tiegel auf dem Dreieck ein wenig erkalten, bringt ihn aber, falls man die geglühte Masse wägen will, noch heiss in den Exsiccator und lässt sie hier völlig erkalten, ehe man zum Wägen schreitet.

2. Quantitative Methoden.

Die folgenden Paragraphen handeln von der Gewichts- und Massanalyse. Eine Beschreibung der sog. Elementaranalyse und der gasanalytischen Methoden ist unterlassen. Eine genaue Schilderung würde den Umfang dieses Buches bedeutend vermehren, eine kurze aber für die praktischen Untersuchungen keinen Nutzen gewähren.

Ueber Gewichtsanalyse.

11. Bei der gewichtsanalytischen Bestimmung handelt es sich zunächst um eine Isolierung der zu bestimmenden Substanz. Die Art der Isolierung ist in den einzelnen Fällen eine verschiedene. Fett z. B. lässt sich durch Aether, in dem es leicht löslich ist, von allen Stoffen, die in Aether unlöslich sind, befreien. Befindet sich die zu isolierende Substanz, wie es in der Regel der Fall ist, zusammen mit anderen Stoffen in Lösung, so lässt sich die Abscheidung in je nach der Natur der Substanz verschiedener Weise bewirken, z. B. dadurch, dass man einen Körper hinzufügt, der mit ihr eine unlösliche Verbindung eingeht (Chlorbarium wenn Schwefelsäure bestimmt werden soll) oder dadurch, dass man sie direkt in eine unlösliche Modifikation überführt (Eiweiss durch Erhitzen) oder dadurch, dass man sie durch Eintragen von Salz in die Lösung zur Abscheidung bringt (Eiweiss). Die Fällungen werden in Bechergläsern, die Eiweisskoagulationen in Schalen vorgenommen. Stets ist darauf zu achten, dass die Abscheidung eine vollkommene ist: das Filtrat darf auf Zusatz weiteren Fällungsmittels keine Trübung mehr geben bzw. keine der Eiweissreaktionen mehr zeigen.

Die Filtration geschieht, wenn der Niederschlag später geglüht werden soll, durch ein aschefreies Filter, andernfalls durch ein vorher getrocknetes und zwischen Uhrgläsern oder im Trockengläschen gewogenes Filter (§ 9). Das Trocknen des Filters muss bei derselben Temperatur geschehen, bei der später der Niederschlag getrocknet werden soll. In Bezug auf Einlegen

des Filters in den Trichter, Aufbringen des Niederschlags, Auswaschen desselben siehe §§ 7 und 8. Das Filtrat muss völlig klar sein, event. so lange zurückgegossen werden, bis dies der Fall ist. Die letzten Reste des Niederschlags werden mit der Federfahne oder mit einem mit Gummikappe versehenen Glasstab auf das Filter gebracht. Das Auswaschen ist fortzusetzen, bis im Filtrat keine Spur des Fällungsmittels oder eines anderen Stoffes nachgewiesen werden kann. Häufig empfiehlt sich die Verwendung der Saugpumpe.

Ist der Niederschlag rein anorganisch oder handelt es sich um ein organisches Salz, dessen Metall bestimmt werden soll, so verfährt man nach den in § 10 gegebenen Vorschriften. Der Tiegel ist vorher leer zu glühen und zu wägen und desgleichen mit dem Glührückstand. Die Differenz beider Gewichte ergibt die Menge der geglühten Substanz.

Soll der Niederschlag nicht geglüht, sondern nur getrocknet und gewogen werden, so verfährt man nach § 9. Das Trocknen und Wägen geschieht zwischen denselben Uhrgläsern bzw. in demselben Trockengläschen, in dem das Filter getrocknet war, so dass die Gewichtszunahme das Gewicht des Niederschlags direkt ergibt. Glühen sowie Trocknen muss bis zum konstanten Gewicht fortgesetzt werden.

In manchen Fällen, z. B. bei der Bestimmung des Chlorsilbers, empfiehlt sich die Benutzung des Goochtiegels, der gleichzeitig als Filter dient. Es ist das ein Porzellan- oder Platintiegel, auf dessen durchlöchertem Boden eine Lage von weichem, langfaserigem, völlig reinem Asbest sich befindet. Man glüht ihn zusammen mit dem Asbestfilter (stellt ihn zu dem Zweck, um die direkte Einwirkung der Flammengase zu vermeiden, in einen zweiten grössern gewöhnlichen Tiegel) oder erhitzt ihn im Luftbade, wägt ihn nach dem Abkühlen, befestigt ihn mittelst eines Kautschukringes in einem Glastrichter, welcher mit der Wasserstrahlpumpe in Verbindung steht und filtriert. Nach dem Auswaschen wird er getrocknet, geglüht oder im Luftbade wieder erhitzt und wieder gewogen.

12. In Bezug auf die Benutzung der analytischen Wage ist folgendes zu bemerken: Die Wage ist stets arretiert zu halten, ausser in der einzelnen Probe beim Wägen selbst. Desgleichen ist die Tür geschlossen zu halten und nur zum Zweck des Aufbringens der Gewichte zu öffnen. Die zu wägende Substanz darf nie direkt auf die Wagschale gelegt werden. Die Gefässe, in denen Substanzen gewogen werden, sollen möglichst leicht sein und die Grösse der Totalbelastung der Wage darf sich möglichst wenig der grössten erlaubten Belastung (meist 100—200 g) nähern; ist letzteres unvermeidlich, so ist die Arretierung besonders behutsam und nur auf kurze Zeit zu lösen. Die zu wägenden Gegenstände müssen völlig abgekühlt sein; heisse Körper erscheinen wegen der an ihnen aufsteigenden erwärmten Luftströme leichter als sie sind. Flüchtige Stoffe, auch Wasser enthaltende Körper, sowie vorher getrocknete hygroskopische Substanzen dürfen nur in

verschlossenen Gefässen gewogen werden. Die Gewichte dürfen nur mit der Pinzette gefasst und transportiert werden, nie mit den Fingern. Es ist zweckmässig, die Gewichte stets auf die eine, die zu wägende Substanz auf die andere Wagschale zu legen. Die Wägung ist beendet, wenn der Zeiger nach beiden Seiten gleich ausschlägt; man sorge aber dafür, dass die Exkursionen ausgiebig erfolgen. Schliesslich addiere man zunächst nach den fehlenden Gewichten im Gewichtskasten das Gewicht der Substanz und kontrolliere dann beim Zurückbringen der Gewichte in den Kasten. Die Belastung darf auf der Wage nicht längere Zeit stehen bleiben, am wenigsten einseitige Belastung.

Zum Abwägen trockener pulveriger Substanzen werden am besten auf der einen Seite zugeschmolzene Röhrchen von ca. 1 cm lichter Weite und 10—15 cm Länge (Wägeröhrchen) benutzt. Man tariert eines derselben auf einer groben Wage, legt auf die andere Wagschale so viel Gramme oder Bruchteile von Grammen in Gewichten, als man ungefähr Substanz für die Bestimmung benutzen will und füllt nun Substanz in das Röhrchen bis ungefähr Gleichgewicht erreicht ist. Jetzt bringt man in soviel Röhrchen, als man Kontrollanalysen ausführen will, die der abgewogenen dem Augenscheine nach gleiche Menge, stellt die Röhrchen zusammen in ein Becherglas, wägt auf einer feinen Wage genau, notiert das Gewicht, schüttelt den Inhalt eines Röhrchens in das für den jeweiligen Zweck geeignete Gefäss (Platinschale, Becherglas, Kolben*) aus, stellt es in das Becherglas zurück, wägt und notiert wieder das Gewicht. Die Differenz ergibt die Menge der Substanz. Nun wird ein zweites Röhrchen in ein anderes Gefäss ausgeschüttet und in derselben Weise verfahren usw. Sollen klebrige Substanzen (Muskeln, Organe) in genau abgewogener Menge in einen Kolben gebracht werden, so wägt man sie auf einem vorher gewogenen Stückchen asche- (und stickstoff-) freien Filtrierpapiers ab und schiebt sie in Form eines allseitig von Papier umschlossenen Packetchens durch den Hals des Kolbens hindurch. Statt dessen kann man auch Bruchstücke eines Reagenzglases, von dem man sich vorher überzeugt hat, dass es den Kolbenhals passiert, als Träger benutzen.

Ueber Massanalyse.

13. Für volumetrische oder titrimetrische Bestimmungen dienen Lösungen von bekanntem Gehalt, bekanntem „Wirkungswert“ (Titrierflüssigkeiten), welche zu den Lösungen, die die zu bestimmende Substanz enthalten, in gemessenen Mengen aus Büretten zugesetzt werden bis zur sog. Endreaktion. Aus der Anzahl der bis zum Eintritt der Endreaktion gebrauchten ccm ergibt sich das Resultat durch Rechnung. Die Endreaktion ist fast stets eine Farbenreaktion.

Die Titrierflüssigkeiten sind entweder Normallösungen oder empirische Lösungen.

Normallösungen enthalten in 1 Liter Wasser das Aequivalentgewicht einer Säure, einer Base, eines Salzes in Grammen gelöst. Das Aequivalent-

*) Soll ein Kolben, z. B. ein Kjeldahlkolben benutzt werden, so muss das Röhrchen mindestens die Länge des Kolbenhalses haben, damit man es vor dem Ausschütten durch den Kolbenhals hindurchschieben kann.

gewicht fällt bei einwertigen Säuren und Basen (z. B. HCl, NaOH) mit dem Molekulargewicht zusammen, bei mehrwertigen Säuren und Basen [z. B. H_2SO_4, $Ca(OH)_2$] findet man es, wenn man das Molekulargewicht durch die Wertigkeit dividiert.

Bei physiologisch-chemischen Untersuchungen benutzt man meist schwächere Lösungen, z. B. $^1/_{10}$, $^1/_{20}$, $^1/_{100}$ Normallösungen ($n/_{10}$, $n/_{20}$, $n/_{100}$ Lösungen), die also den 10., 20., 100. Teil des Aequivalentgewichts im Liter enthalten.

Empirische Lösungen dienen ganz bestimmten Zwecken. Der Gehalt wird mit Rücksicht auf die Einfachheit der Rechnung gewählt, so ist z. B. die für die Chlortitrierung benutzte Silberlösung so hergestellt, dass 1 ccm gerade 0,01 g NaCl entspricht.

Man unterscheidet unter den volumetrischen Methoden: 1. Acidi- und Alkalimetrie, 2. Fällungsanalysen, 3. Oxydimetrie mittelst Permanganat, 4. Jodometrie.

14. Allgemeine Vorbemerkungen. 1. Genaue Abmessungen können nur in Masskolben, Büretten, Pipetten vorgenommen werden. Masscylinder dienen nur zu annähernden Abmessungen. 2. Alle Gefässe, Büretten, Pipetten, Trichter, welche zur Aufnahme oder Herstellung von Titrierflüssigkeiten dienen, müssen trocken sein oder wiederholt mit der betreffenden Flüssigkeit ausgespült werden. Dasselbe gilt für alle sonstigen Abmessungen, welche bei der Berechnung der Resultate in Betracht kommen. 3. Beim Auffüllen von Masskolben, Einstellen der Flüssigkeit in Büretten und Pipetten ist darauf zu achten, dass die untere Grenze des dicken (bei durchfallendem Licht durch Reflexion und Brechung dunkel erscheinenden) Ringes, welcher sich an der Peripherie des Niveaus durch Emporsteigen der Flüssigkeit an der Glaswand bildet, auf der Marke oder dem betreffenden Teilstrich gerade aufsitzt. Das Gefäss muss sich dabei in vollkommen vertikaler Stellung, das Auge in gleicher Höhe mit dem Flüssigkeitsniveau befinden. Dasselbe gilt für das Ablesen des Flüssigkeitsstandes in Büretten. Die Einteilung der Bürettenskala in $^1/_{10}$ ccm gestattet $^1/_{20}$ ccm noch genau abzulesen. Ein möglichst genaues Ablesen ist durchaus erforderlich. Vor Beginn einer jeden Titrierung ist der Flüssigkeitsstand in der Bürette zu notieren. 4. Beim Füllen der Büretten ist darauf zu achten, dass alle Luft aus dem Gummiverbindungsstück und der Glasspitze entfernt wird. Man erreicht dies durch wiederholtes schnelles Oeffnen des Bürettenhahnes. 5. Die Titrierungen mit Ausnahme derjenigen, bei denen der Gehalt schon annähernd bekannt ist, sind wiederholt auszuführen. Die erste hat nur den Zweck einer Orientierung über die ungefähr nötige Menge und wird deshalb ganz schnell ausgeführt. Man kommt bei Befolgung dieses Rates trotz der Wiederholung schneller zum Ziel, als wenn man die Titrierlösung von vornherein so langsam zulässt, wie es nötig ist, um nicht über das Ziel hinauszuschiessen. Bei der Alkali-

und Acidimetrie ist nur eine Titrierung erforderlich, da man hier den Vorteil hat einen zugefügten Ueberschuss durch Zurücktitrieren wieder korrigieren zu können. 6. Die für eine Titrierung erforderliche ccm-Anzahl soll weder eine zu kleine noch eine zu grosse sein. Braucht man z. B. bei der Acidimetrie für 5 ccm einer Säure nur 2 oder 3 ccm eines Normalalkali, so wiederholt man die Titrierung unter Benutzung der vielleicht vierfachen Menge, oder ist in einem anderen Falle nach Zufügen von 25 ccm die Endreaktion immer noch nicht erreicht, so wiederholt man die Titrierung ebenfalls, nachdem die Säure mit gemessenem Volumen Wasser verdünnt ist.

Acidimetrie und Alkalimetrie.

Erforderliche Lösungen: $n/_{10}$ Natronlauge, $n/_{10}$ Schwefelsäure und Indikatoren.

15. **Indikatoren** sind Farbstofflösungen, welche beim Uebergang der sauren in die alkalische Reaktion und umgekehrt ihre Farbe ändern und dadurch die Endreaktion angeben. Als solche kommen unter vielen anderen in Betracht Lacmus, Phenolphtalein, Lacmoid, Rosolsäure.

Lacmuslösung. Sie wird hergestellt, indem man von dem besten käuflichen Lacmus einen wässrigen Auszug herstellt, filtriert, das Filtrat zum Kochen erhitzt und tropfenweise verdünnte Salzsäure hinzufügt, bis auch nach längerem, 7—8 Min. dauerndem Kochen die violette Farbe nicht mehr in blau übergeht, sondern deutlich bestehen bleibt. Nach dem Erkalten fügt man das gleiche Volumen Alkohol hinzu und hebt die Flüssigkeit in mit Wattebausch locker verschlossener Flasche auf. Sie wird durch Säuren rot, durch Alkalien blau gefärbt und eignet sich zur Titration von starken, besonders anorganischen Säuren (nicht von Phosphorsäure), von Hydroxyden der Alkali- und Erdalkalimetalle und von Ammoniak.

Phenolphtaleinlösung. Man benutzt eine etwa 1 proz. alkoholische Lösung. Sie färbt sich auf Zusatz von Säuren nicht, wird aber mit einer Spur Alkali oder Alkalikarbonat schön rot und eignet sich zur Titration von Säuren, auch schwachen Säuren und starken Basen, nicht von Ammoniak und schwachen Basen.

Lacmoidlösung. Man benutzt eine etwa 0,2 proz. Lösung von reinem Lacmoid. Ist sie nicht rein blau, sondern etwas violett, so fügt man ein wenig einer alkoholischen Lösung von Malachitgrün hinzu. Sie färbt sich auf Zusatz von Säuren gelbrot und eignet sich zur Titration von starken Säuren und Basen, auch von Ammoniak, aber nicht zur Titration von schwachen Säuren.

Rosolsäurelösung. Man stellt eine etwa 0,4 proz. alkoholische Lösung her und verdünnt mit dem gleichen Volumen Wasser. Sie färbt sich

durch Säuren hellgelb, durch Alkalien und Alkalikarbonate rosarot und eignet sich zur Titration von Säuren, auch schwachen speziell organischen Säuren, Basen und auch von Ammoniak.

16. **Ausführung einer Bestimmung.** Man fülle 2 Büretten, die eine mit $n/_{10}$ NaHO, die andere mit $n/_{10}$ H_2SO_4, bringe ein bestimmtes Volumen der auf ihren Gehalt an Säure zu bestimmenden Flüssigkeit z. B. 5 ccm verdünnter Salpetersäure mit einer Pipette in ein Kölbchen, füge einige Tropfen eines Indikators z. B. Lacmustinktur hinzu und lasse aus der Bürette unter Umrühren so lange $n/_{10}$ NaOH zufliessen, bis die rote Farbe in blau umschlägt. Jetzt gebe man aus der anderen Bürette vorsichtig $n/_{10}$ H_2SO_4 hinzu, bis die blaue Farbe eben wieder in Rot übergegangen ist und gehe so vorsichtig hin und her, bis die Flüssigkeit einen violetten Farbenton (sog. Uebergangsfarbe) zeigt, welcher auf Zusatz eines Tropfens Säure in Rot, eines Tropfens Alkali in Blau übergeht. Jetzt ist die Titrierung beendet. Die Anzahl der verbrauchten ccm $n/_{10}$ NaOH abzüglich der verbrauchten ccm $n/_{10}$ H_2SO_4 ergeben mit 6,3 (der 10. Teil des Aequivalentgewichts der HNO_3) multipliziert in mg die Menge HNO_3, welche in 5 ccm der verdünnten Salpetersäure enthalten war.

Acidimetrische und alkalimetrische Bestimmungen werden bei physiologisch-chemischen Untersuchungen vielfach angewandt, z. B. bei der Bestimmung des Stickstoffs nach Kjeldahl, bei der Ammoniakbestimmung, bei der Untersuchung der Acidität von Harn, Magensaft, der Alkalescenz von Blut, bei der Phosphorsäurebestimmung nach A. Neumann.

17. **Herstellung von $n/_{10}$ Natronlauge und $n/_{10}$ Schwefelsäure.**

a) Mit Hülfe von $n/_{10}$ Oxalsäure. Da Aetznatron und Schwefelsäure nicht frei von Wasser und Kohlensäure bzw. Wasser abgewogen werden können, so geht man von der $n/_{10}$ Oxalsäure aus und wägt von einer gut krystallisierten (nicht verwitterten) pulverisierten Oxalsäure ($C_2H_2O_4 + 2H_2O$) 6,3024 g (der 10. Teil des Aequivalentgewichts) auf einem Uhrglas genau ab, bringt sie ohne Verlust mit Hülfe der Spritzflasche in ein Becherglas, fügt Wasser hinzu, löst völlig auf, führt die Flüssigkeit quantitativ unter wiederholtem Nachspülen mit Wasser in einen Litermasskolben über, füllt bis zur Marke mit Wasser auf und mischt gut.

Um mit Hülfe dieser $n/_{10}$ Oxalsäure die $n/_{10}$ NaOH herzustellen, werden etwa 12 ccm einer 33 proz. kohlensäurefreien Natronlauge in einem grossen Masscylinder mit Wasser auf etwa 1000 ccm verdünnt und gut umgeschüttelt. Mit dieser Lösung füllt man eine Bürette, eine andere mit der $n/_{10}$ Oxalsäure, lässt von letzterer 10 ccm in ein Kölbchen fliessen, fügt einige Tropfen Indikator hinzu und nun unter vorsichtigem Umschütteln so lange von der Natronlauge, bis der Farbenumschlag erfolgt. Man liest ab, wie viel ccm gebraucht sind. Sind das z. B. 6,8, so hat man zu je 6,8 ccm der Natronlauge 3,2 ccm Wasser hinzuzufügen, um sie zu einer

$n/_{10}$ NaOH zu machen. 6,8 ccm der Natronlauge sind also mit Wasser auf 10 ccm oder 680 ccm auf 1000 ccm zu verdünnen. Da bei dieser ersten Titration leicht ein kleiner Fehler unterläuft und der Fehler einer zu starken Verdünnung schwerer wieder gut zu machen ist, als der umgekehrte, so empfiehlt es sich durchaus, etwas weniger Wasser als die berechnete Menge zuzufügen, also 680 ccm durch Zusatz von Wasser nicht auf 1000 ccm, sondern nur etwa auf 980 ccm zu bringen. Jetzt wird die gut gemischte Flüssigkeit in eine Bürette gefüllt und die Titrierung wiederholt. Wieder erfährt man durch Ablesen und Rechnung die Menge des noch zuzufügenden Wassers, setzt aber auch jetzt etwas weniger Wasser zu als die Rechnung ergibt. Nach einer 2. oder 3. Wiederholung hat man bei genauem Arbeiten erreicht, dass zur Neutralisation von 10 ccm $n/_{10}$ Oxalsäure genau 10 ccm der Natronlauge erforderlich sind, dass also die Natronlauge eine $n/_{10}$ NaOH ist.

Die Herstellung der $n/_{10}$ H_2SO_4 geschieht mit Hülfe der $n/_{10}$ NaOH ganz in der eben beschriebenen Weise.

b) Mit Hülfe der Natriumpresse von A. Kossel[1]).

Dieser Apparat gestattet eine sehr einfache und schnelle Herstellung von $n/_{10}$ NaOH aus metallischem Natrium.

Fällungsanalysen.

18. Fällungsanalysen nennt man diejenigen volumetrischen Bestimmungen, bei denen die Titrierflüssigkeit einen Niederschlag hervorruft. Man verwendet hierbei meist empirische Lösungen. Die Endreaktion besteht in den meisten Fällen in dem Auftreten eines anders gefärbten Niederschlags, der durch die als Indikator dienende Substanz hervorgerufen wird. Gewöhnlich kann man den Indikator von vornherein der zu titrierenden Flüssigkeit zusetzen (Salzsäurebestimmung nach Mohr und nach Volhard), zuweilen muss man sich der sog. Tüpfelmethode bedienen (Phosphorsäuretitrierung mit Uranacetat und Ferrocyankalium, Harnstofftitrierung).

Oxydimetrie mittelst Permanganat.

19. Bei der Oxydation findet folgende Reaktion statt:

$$2\,KMnO_4 + 3\,H_2SO_4 = 2\,MnSO_4 + K_2SO_4 + 3\,H_2O + 5\,O.$$

2 Moleküle Permanganat liefern also 5 At. Sauerstoff, welche z. B. 5 Mol. Oxalsäure zu oxydieren vermögen ($H_2C_2O_4 + O = 2\,CO_2 + H_2O$).

Da die Permanganatlösungen sich leicht zersetzen, stellt man Lösungen her, welche ungefähr 3—3,5 g Kaliumpermanganat im Liter enthalten und ermittelt vor jedesmaligem Gebrauch den Wirkungswert durch Titration mit $n/_{10}$ Oxalsäure. Braucht man schwächere Lösungen, so löst man nur 0,3

1) H.-S. **33**. 1. (1901).

bis 0,35 g im Liter und titriert mit $n/_{100}$ Oxalsäure. Die abgewogene Menge Kaliumpermanganat wird in einigen 100 ccm heissem Wasser gelöst, auf 1 Liter verdünnt, nach einigem Stehen vom etwa gebildeten Bodensatz abgegossen und die Lösung in einer Flasche mit Glasstopfen aufgehoben. Für die Feststellung des Titers bringt man 10 ccm der Oxalsäure in einen Kolben, fügt überschüssige verdünnte Schwefelsäure hinzu, erwärmt auf 70 bis 80° und lässt nun die in einer Glashahnbürette befindliche Permanganatlösung unter Umschütteln zufliessen, bis ein Tropfen eine auch beim Umschütteln nicht verschwindende eben erkennbare Rosafärbung bewirkt (Endreaktion). Die bis zum Eintritt der Endreaktion erforderten ccm vermögen gerade 0,063 bzw. 0,0063 g Oxalsäure zu oxydieren, indem sie 0,008 bzw. 0,0008 g Sauerstoff liefern.

Diese Titrierung findet Verwendung bei der Bestimmung von Eisen und von Calcium.

Jodometrie.

20. Man braucht dazu eine $n/_{10}$ Jod- und eine $n/_{10}$ Natriumthiosulfatlösung. Die Reaktion verläuft nach folgender Gleichung:

$$2\,J + 2\,Na_2S_2O_3 = 2\,NaJ + Na_2S_4O_6.$$

Zur Herstellung wägt man genau 24,830 g krystallisiertes Thiosulfat ($Na_2S_2O_3 + 5\,H_2O$) ab und löst in der oben beschriebenen Weise zu 1 Liter, andererseits löst man 12,7 g Jod in Wasser, welches 25 g JK gelöst enthält und füllt etwa bis auf 900—950 ccm auf. Zu 20 ccm der Thiosulfatlösung fügt man einige Tropfen einer verdünnten Stärkelösung*) und lässt dann aus einer Glashahnbürette die Jodlösung zufliessen bis Blaufärbung eintritt (Endreaktion durch Bildung von blauer Jodstärke). Haben wiederholte Versuche das gleiche Resultate ergeben, so verdünnt man die Jodlösung mit so viel Wasser, dass für 20 ccm der Thiosulfatlösung gerade 20 ccm Jodlösung nötig sind und kontrolliert durch Wiederholung der Titrierung. Beide Flüssigkeiten sind in dunkeln, mit Glasstopfen versehenen Gefässen aufzubewahren; die Jodlösung muss häufig auf ihren Titer geprüft werden. 1 ccm der Thiosulfatlösung entspricht 0,012697 g Jod.

Da Eisenoxydsalze in der Wärme bei Gegenwart von Salzsäure aus Jodkalium unter Bildung von Eisenoxydulsalzen Jod frei machen und dieser Prozess quantitativ nach der Gleichung

$$2\,FeCl_3 + 2\,KJ = 2\,FeCl_2 + 2\,KCl + J_2$$

verläuft, so kann die Jodometrie auch zur Bestimmung von Eisenoxydsalzen benutzt werden. Für die Bestimmung der geringen Mengen von Eisen in der Asche von Harn und Geweben empfiehlt A. Neumann eine $n/_{250}$ Thio-

*) Am besten hergestellt durch Auflösen von etwa 1 g löslicher Stärke in 500 ccm Wasser in der Siedehitze.

sulfatlösung deren Titer er mit Hülfe einer Eisenchloridlösung von bekanntem Gehalt einstellt.

Mit Hülfe der Jodometrie bestimmt man Eisen, Phenole, Aceton, Rhodanwasserstoff.

3. Einige physikalische Methoden.

Untersuchung von Krystallen.

21. Die Darstellung der Krystalle der verschiedenen krystallisierbaren Körper ist so verschiedenartig, dass sich allgemeine Regeln kaum geben lassen. Nur für die mikroskopische Untersuchung ist es von Wichtigkeit darauf aufmerksam zu machen, dass man in vielen Fällen am besten tut, die Krystalle des Körpers, die man untersuchen will, auf dem Objektträger sich selbst bilden zu lassen, da feine Krystalle auch bei vorsichtiger Behandlung beim Uebertragen auf den Objektträger meist sehr beschädigt werden. Man bringt zu dem Zwecke einen Tropfen der koncentrierten Lösung der zu prüfenden Substanz auf den Objektträger, legt ein Deckgläschen auf und lässt einige Zeit an der Luft, oder wenn der Körper leicht zerfliessende Krystalle bildet, im Exsiccator stehen, lässt nötigenfalls von Zeit zu Zeit noch einige Tropfen der ganz koncentrierten Lösung von der Seite hinzufliessen, untersucht schliesslich die gebildeten Krystalle mit dem Mikroskope, während sie allseitig von der koncentrierten Lösung umgeben sind. Um bei unregelmässigen Knollen- oder Kugelformen zu entscheiden, ob sie aus Krystallen oder aus amorphen Stoffen gebildet sind, untersucht man die fraglichen Körper unter Anwendung des Polarisationsmikroskops und eines dünnen Gyps- oder Glimmerblättchens, welches bei gekreuzten Nicols so unter den Objektträger geschoben ist, dass das Licht erst durch das Glimmerblättchen und dann durch die zu prüfenden Krystalle geht. Ist das Glimmerblättchen richtig orientiert, so ist das Gesichtsfeld lebhaft gefärbt und darüber befindliche Krystalle werden, wenn sie nicht dem regulären System zugehören, je nach ihrer Lage gleiche oder andere Farben haben als das übrige Gesichtsfeld, während amorphe Substanzen keine Aenderung oder Färbung des Gesichtsfeldes hervorrufen. Tierische oder pflanzliche Gewebsteile zeigen jedoch so wie die nicht regulären Krystalle Doppelbrechung und lassen sich daher durch die Prüfung im polarisierten Lichte mit dem Glimmerblättchen nicht von letzteren unterscheiden. Auch solche Substanzen, welche in Wasser aufgequollen auf dem Objektträger eintrocknen, zeigen während und nach dem Trocknen Doppelbrechung, da sie beim Trocknen eine unregelmässige Spannung erhalten; so zeigt es sich z. B. beim Leim. Es sind daher alle auf Krystallisation zu prüfenden Körper während der Untersuchung vor dem Trocknen zu schützen, indem man sie stets von Flüssigkeit umgeben erhält.

Bestimmung des specifischen Gewichts von Flüssigkeiten.

22. a) Durch Aräometer. Das Gefäss, in dem die Bestimmung vorgenommen werden soll, muss eine solche Weite haben und so hoch mit der zu prüfenden Flüssigkeit gefüllt sein, dass das Aräometer, ohne die Wandungen und den Boden zu berühren, schwimmen kann. Das Instrument soll in vollkommen reinem und trockenem Zustande langsam in die Flüssigkeit eingesenkt werden und darf während der Ablesung nicht an die Wandung anstossen. Der Teilstrich der Skala, bei welchem das Niveau der Flüssigkeit die Spindel des schwimmenden Aräometers schneidet, gibt bei zweckmässig hergestellten Instrumenten direkt das spec. Gewicht an.

Die Aräometerspindeln sind gewöhnlich für Flüssigkeiten von 15° bis 17° angefertigt und eine Korrektur ihrer Angabe ist nur dann nötig, wenn die Temperatur der mit ihnen untersuchten Flüssigkeiten hiervon mehr als einige Grade abweicht. Es ist am einfachsten, in solchen Fällen die Flüssigkeit auf die richtige Temperatur zu bringen.

Zur Bestimmung des spec. Gewichts trüber Flüssigkeiten, wie Blut, Milch, Eiter sind Aräometer nicht zu verwenden.

23. b) Durch Pyknometer. Diese Bestimmung, am besten in einem mit Thermometer versehenen Pyknometer ausgeführt, ist für genaue Ermittelungen die allein zulässige.

Zur Ausführung ist zuerst das Gewicht des leeren und trocknen Pyknometers zu ermitteln, dann ist dasselbe mit ausgekochtem destilliertem Wasser ganz zu füllen, nach Entfernung etwaiger Luftbläschen das Thermometer einzusetzen und die Oberfläche des Fläschchens schnell abzutrocknen, ohne es hierbei mit der Hand zu erwärmen. Nun hat man die Kappe auf das Kapillarröhrchen aufzusetzen, die Temperatur am Thermometer abzulesen, einen etwa herabgelaufenen Tropfen abzutrocknen und zu wägen. Man giesst dann das Wasser aus und trocknet das Fläschchen, Thermometer usw. sorgfältig, füllt das Fläschchen mit der Flüssigkeit, deren spec. Gewicht bestimmt werden soll, in der angegebenen Weise, setzt das Thermometer ein, trocknet aussen gut ab, setzt die Kappe auf das Kapillarrohr, liest die Temperatur ab und wägt. Zieht man das Gewicht des Pyknometers von den beiden gefundenen Gewichten, 1. des Pyknometers mit Wasser und 2. des Pyknometers mit Flüssigkeit ab, so erhält man die Gewichte gleicher Volumina von Wasser und von der zu untersuchenden Flüssigkeit und wenn beide Bestimmungen bei derselben Temperatur vorgenommen waren, so gibt das Gewicht der Flüssigkeit dividiert durch das Gewicht des gleichen Volumen Wasser das spec. Gewicht jener Flüssigkeit. Meist werden jedoch die Füllungen und Wägungen des Pyknometers mit Wasser und mit den zu untersuchenden Flüssigkeiten bei verschiedenen Temperaturen vorgenommen und das Gewicht des Wassers, welches das Pyknometer füllt, ist entsprechend den Temperaturen, bei denen das Gewicht

der Flüssigkeiten bestimmt wurde, zu korrigieren. Ist z. B. das Gewicht des Wassers, welches das Pyknometer bei 21° füllt, zu 24,1080 g gefunden und ferner das Gewicht einer Flüssigkeit, welche das Pyknometer bei 12° füllt, bestimmt, so ist zunächst zu berechnen, wie gross das Gewicht Wasser ist, welches das Pyknometer bei 12° füllen würde. Tab. I. Col. B. im Anhange gibt die spec. Gewichte des Wassers für die verschiedenen Temperaturen; bei 21° ist dasselbe 0,998065, bei 12° dagegen 0,999544, hiernach ist das Gewicht des Wassers, welches bei 12° das Pyknometer füllen würde, $= \frac{0{,}999544}{0{,}998065} \cdot 24{,}1080 = 24{,}1431$. Durch dies Gewicht sind nun die Gewichte der bei 12° dieses Pyknometer füllenden Flüssigkeiten zu dividieren und so die spec. Gewichte der letztern zu erhalten. Es ist selbstverständlich, dass mit dem Pyknometer auch die Gewichte von festen Körpern oder von Gemengen, z. B. Flüssigkeiten, welche feine Teilchen suspendiert enthalten (Harne mit Sedimenten, Milch, Blut usw.) ermittelt werden können. — Sehr genaue Bestimmung des spec. Gewichts erreicht man auch mittelst eines von Sprengel angegebenen Apparates[1]).

Bestimmung des Schmelz-, Koagulations- und Siedepunkts.

24. Zur Bestimmung des Schmelzpunkts (Smp. oder F.) bringt man eine kleine Menge der völlig trocknen Substanz in ein Kapillarröhrchen und befestigt dies mit einem Gummiring oder besser mit Hülfe eines kleinen Tröpfchens Schwefelsäure (durch Adhäsion) an ein Normalthermometer in der Weise, dass die Substanz sich in der Höhe des Quecksilbergefässes befindet. Das Thermometer steckt in einem Korkstopfen und taucht in einen zu $^4/_5$ mit konc. Schwefelsäure gefüllten Jenaer Kolben bis zur Mitte der Flüssigkeit ein, indem es durch den locker auf der Mündung des Kolbenhalses aufsitzenden Stopfen gehalten wird. Der Kolben steht auf einem Drahtnetz und wird durch eine unterstehende Flamme erhitzt. Man beobachtet, bei welcher Temperatur die Substanz schmilzt, ob dem Schmelzen ein Zusammensintern vorangeht, ob sich die Substanz verfärbt, zersetzt usw. Der so gefundene Schmelzpunkt ist der sog. unkorrigierte. Er ist etwas zu niedrig, da der Quecksilberfaden des Thermometers zum grossen Teil ausserhalb der Schwefelsäure sich befindet. Um den richtigen Schmelzpunkt zu ermitteln, bedient man sich abgekürzter (Zincke'scher) Thermometer, welche nur ein kleines Temperaturintervall umfassen. Am bequemsten ist es, von vorneherein für eine ganze Anzahl von Temperaturgraden durch Vergleich der Zincke'schen mit dem zu benutzenden Normalthermometer für dieses

1) Siehe bei Landolt, Das optische Drehungsvermögen organischer Substanzen. 2. Aufl. Braunschweig 1898, S. 406; vergl. hier auch die Angaben über die für möglichst genaue Bestimmungen erforderlichen Korrekturen.

die entsprechenden richtigen Werte festzustellen und in einer Tabelle zusammenzustellen. Zur Bestimmung des Schmelzpunktes hochschmelzender Substanzen (über 300) siehe Kutscher und Otori[1]).

Zur Bestimmung der Koagulationstemperatur von Eiweissstoffen bringt man die Eiweisslösung in ein Reagenzglas, fixiert dieses in einem mit Wasser gefüllten und auf einem Drahtnetz stehenden Becherglas in der Weise, dass das Flüssigkeitsniveau im Becherglas höher steht, als im Reagenzglas, bringt in das Reagenzglas ein Thermometer, welches, durch einen auf dem Reagenzglas lose ruhenden Stopfen gehalten, bis in die Mitte der Flüssigkeit eintaucht und erwärmt nun langsam unter gleichzeitigem Umrühren des Wassers mit einem Rührer, bis in der klaren Eiweisslösung eine Abscheidung erfolgt. Nun wird die Temperatur abgelesen, abfiltriert und das klare Filtrat weiter erhitzt, beim Erscheinen einer neuen Abscheidung in derselben Weise verfahren und so fort.

Zur Bestimmung des Siedepunktes (Sdp. oder K.) bringt man die Flüssigkeit in einen kleinen Rundkolben mit langem Hals, in dessen oberem Teil ein schräg nach abwärts geneigtes Ansatzrohr eingeschmolzen ist (Destillierkölbchen). Das Ansatzrohr führt in eine Vorlage. Bei niedrig siedenden Flüssigkeiten ist zwischen Ansatzrohr und Vorlage ein längeres Rohr oder ein Liebig'scher Kühler einzuschalten. Das Destillierkölbchen ist durch einen Stopfen verschlossen, in dessen Bohrung ein Thermometer steckt. Das Thermometer soll sich möglichst seiner ganzen Länge nach im Kolbenhals befinden, aber nicht in die Flüssigkeit eintauchen, damit der Quecksilberfaden während des Siedens ganz vom Dampf umgeben ist.

Bestimmung der Löslichkeit.

25. Man schüttelt die möglichst fein gepulverte Substanz mit einer zur Lösung unzureichenden Menge Wasser oder eines andern Lösungsmittels in einer Flasche stundenlang, am besten in einem Schüttelapparat, filtriert, verdunstet einen abgewogenen Teil des klaren Filtrats, trocknet den Rückstand und wägt. Um die Löslichkeit bei Siedetemperatur zu bestimmen, kocht man längere Zeit, etwa 1 Stunde, am Rückflusskühler, filtriert kochend heiss, wägt nach dem Erkalten, verdunstet, trocknet den Rückstand und wägt wieder.

4. Optische Methoden.

Die Benutzung optischer Untersuchungsmethoden hat sich für die Lösung theoretisch- wie praktisch-chemischer Fragen bekanntlich ausserordentlich hülfreich erwiesen. Ein hervorragendes Interesse auch für medizinisch-chemische Zwecke verdienen ohne Zweifel die Methoden der Spek-

1) H.-S. **42**. 193. (1904).

tral- und der Circumpolarisationsuntersuchungen. Seltener anwendbar, aber zuweilen von Wert ist die Untersuchung der Fluorescenz.

Spektraluntersuchungen.

26. Fig. 1 gibt die Ansicht eines grösseren Spektroskops. Dasselbe besteht aus dem Collimatorrohr *a b*, an dessen einem Ende, dem Licht zugekehrt, bei *a* ein vertikaler Spalt, durch Mikrometerschraube enger oder weiter stellbar, sich befindet, während am andern Ende des Rohrs bei *b* die Konvexlinse angebracht ist. Der Spalt soll im Brennpunkt der Konvexlinse liegen.

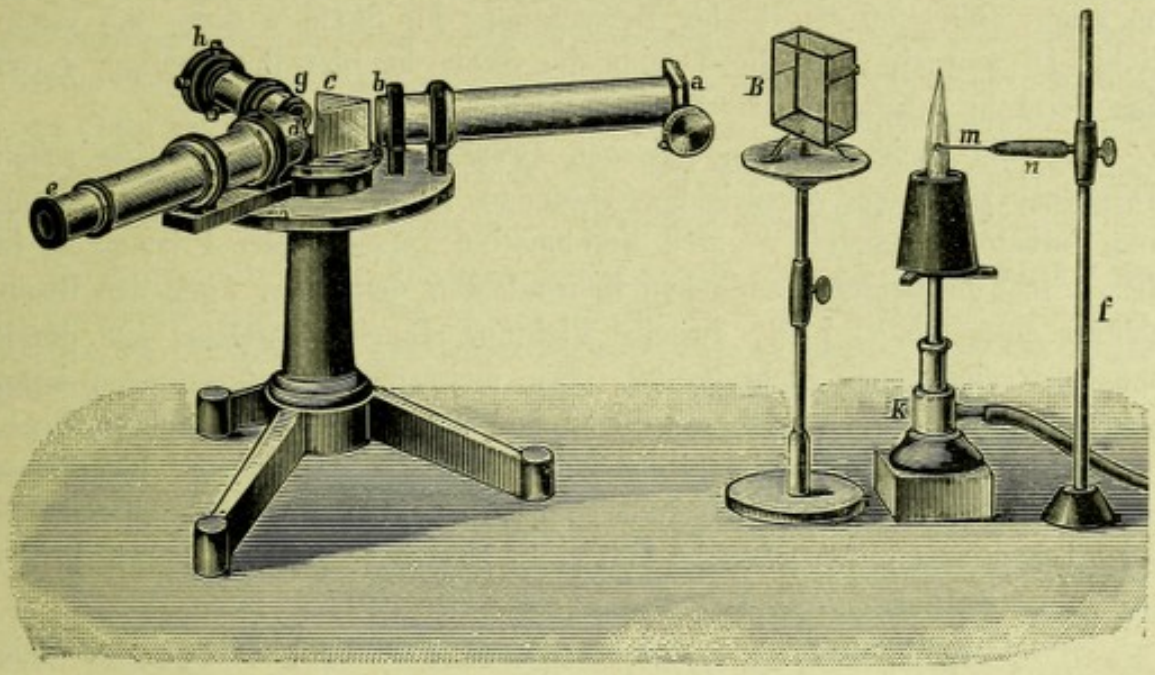


Fig. 1.

Das durch den Spalt eintretende Licht wird durch den Collimator parallel gemacht und auf das Prisma *c* geworfen; in diesem Prisma gebrochen und in das Spektrum aufgelöst, treten die Lichtstrahlen in das astronomische Fernrohr *d e* ein, welches gewöhnlich 6—8 malige Vergrösserung hat, und gelangen von da bei *e* zum Auge des Beobachters; am Kopfe des Rohres *g h* bei *h* befindet sich eine feine durch eine Lampe zu beleuchtende (womöglich auf Wellenlängen geaichte) Skala auf Glas. Ist diese beleuchtet, so stellt ihr Bild von der dem Fernrohre zugekehrten Fläche des Prisma *c* als Spiegel reflektiert sich dem Auge des Beobachters bei *e* dar und zwar horizontal das Gesichtsfeld im Fernrohre teilend.

Es sind zuweilen zwei oder mehr Prismen im Spektralapparate kombiniert angewendet, um eine grössere Dispersion des Spektrums zu erhalten. Für physiologisch-chemische Untersuchungen ist diese Verbreiterung des Spektrums wohl fast immer ohne Nutzen, insbesondere bei Untersuchung der Absorption der Lichtarten durch Farbstoffe. Hat das Prisma eine Neigung seiner Flächen von etwa 60° und besteht es aus hin-

reichend stark lichtzerstreuendem Glase, so wird es für jetzt allen Anforderungen für physiologisch-chemische Zwecke genügen, und sowohl starke Dispersion durch mehrere Prismen als stark vergrössernde Fernrohre sind durchaus zu vermeiden, da sie die Absorptionen des Lichtes in Flüssigkeiten weniger scharf zeigen, auch leuchtende Linien von glühenden Metalldämpfen wegen Lichtschwäche oft übersehen lassen, während man dieselben mit schwachem Fernrohre und einem Prisma noch ganz deutlich erkennt.

Um den Apparat richtig einzustellen, entfernt man zunächst das Prisma *c* und sieht in der Richtung von *b* nach *a* durch das erste Rohr bei mässig geöffnetem Spalte; man zieht nun das Rohr mit dem Spalte so weit aus, bis die Ränder des letzteren ganz scharf begrenzt erscheinen, dann stellt man das Fernrohr *d e* so ein, dass man sehr weit entfernte Gegenstände recht deutlich dadurch erkennt, setzt darauf das Prisma wieder an seine Stelle und schiebt bei Beleuchtung der Skala *h* diese mit ihrem Rohre so weit ein, bis die Teilung der Skala bei der Beobachtung durch das Fernrohr möglichst scharf erkannt wird.

Für die meisten physiologischen Zwecke sind die Browning'schen Taschenspektroskope vorzuziehen, besonders wo es sich um Untersuchung von Farbstoffen handelt. Durch Kombination verschiedener Prismen ist in diesen sehr bequemen, handlichen Instrumenten dem zum Auge des Beobachters austretenden Licht dieselbe Richtung gegeben, welche das durch den Spalt eintretende Licht besitzt. Die meisten Farbstoffprüfungen kann man mit ihnen schnell auch mit Benutzung von Tageslicht ausführen.

Ein anderes für physiologische Untersuchungen bestimmtes, handliches Spektroskop, welches sich durch besonders grosse Lichtstärke und Schärfe der Absorptionsstreifen auszeichnen soll, ist vor Kurzem von Schumm[1]) angegeben worden.

27. **Untersuchung von Farbstoffen mit dem Spektralapparate.** Die zu prüfenden Farbstoffe sind in womöglich koncentrierter Lösung in ein Gefäss mit zwei planparallelen Wandungen aus Spiegelglas oder in Flaschen mit planparallelen Seitenwänden zu bringen; Fig. 1 auf S. 21 stellt ein solches Gefäss *B* vor dem Spektralapparate dar. Zur Untersuchung der Flüssigkeit stellt man den mit einem schwarzen Tuche überdeckten Spektralapparat so auf, dass entweder direktes Sonnenlicht von einem Heliostaten oder starkes zerstreutes Tageslicht oder das Licht einer hellbrennenden Lampe in das Spektrum zerlegt im Fernrohre möglichst hell sichtbar wird; ausserdem wird die Skala bei *h* beleuchtet, so dass auch deren Bild deutlich erkennbar sich mitten durch das Gesichtsfeld im Fernrohre hinzieht. Jetzt stellt man den mit der Farbstofflösung gefüllten Glaskasten dicht vor den Spalt, so dass das Licht senkrecht durch die Glasplatten dieses Gefässes und die darin enthaltene Flüssigkeitsschicht hindurchgeht, ehe es in den Spalt eintritt. Beobachtet man dann das Spektrum durch das Fernrohr, so wird ein grösserer oder geringerer Teil desselben fehlen, und

1) M. m. W. 1907. S. 2335.

es ist mittelst der Skala leicht zu bestimmen, welche Teile desselben durch die Lösung abgehalten werden. Verdünnt man darauf die Farbstofflösung mit Wasser oder einem anderen farblosen Lösungsmittel, so werden bei wiederholter Untersuchung neue Partien des Spektrums sichtbar werden und bei weiter fortgesetzter Verdünnung wird allmählich das ganze Spektrum sich entfalten. Es zeigt sich nun hierbei, dass nur einige Farbstoffe bei weiterer Verdünnung ihrer Lösungen das Spektrum allmählich allseitig oder einseitig weiter und weiter sich entwickeln lassen, während eine grosse Anzahl von Farbstoffen und gerade diejenigen, welche die lebhaftesten Farben zeigen, bei der Verdünnung ein diskontinuierliches Spektrum erscheinen lassen, indem sie für bestimmte Stücke des Spektrums sehr kräftige und für nahe dabeiliegende Spektralabschnitte sehr schwache absorbierende Kraft besitzen. Bei gewissen Verdünnungen erscheinen dann ein oder mehrere schmale oder breitere Absorptionsstreifen, auch Spektralbänder genannt, deren Lage und Ausdehnung durch die Skala am einfachsten bestimmt und mit den Fraunhofer'schen Linien des Sonnenspektrums verglichen oder noch genauer nach dem System der Wellenlängen angegeben werden können.

Spektrophotometrie. Die Untersuchung im Spektrum in der geschilderten Weise gibt vorzügliche Resultate für den sicheren Nachweis einer grossen Zahl von Farbstoffen, besonders des Blutfarbstoffes und einiger seiner Zersetzungsprodukte, ferner des Indigo, des Chlorophylls; man hat aber auch vielfach das Spektrum für quantitative Farbstoffbestimmungen verwertet und zu diesem Zweck verschiedene Kombinationen von Apparaten benutzt. Hauptsächlich sind hier die Arbeiten von Vierordt[1]) und von Hüfner[2]) zu erwähnen, durch welche diese Apparate vervollkommnet worden sind[3]).

28. **Untersuchung der Aschen mittelst des Spektrums.** Alle organischen Bestandteile des Tierkörpers geben in der Flamme des Bunsenschen Brenners verbrannt Licht, welches durch den Spektralapparat in ein kontinuierliches Spektrum, wie es der Kohlenstoff selbst bei mässiger Glühhitze liefert, zerlegt wird. Nur die Aschenbestandteile zeigen ein charakteristisches Verhalten, wenn man dieselben von Kohle sorgfältig gereinigt in die Flamme bringt und das von ihnen ausgehende Licht prüft.

Das zum Oehr umgebogene Ende eines feinen Platindrahtes wird erst in der Flamme des Brenners ausgeglüht, bis es keine leuchtende Flamme mehr gibt, dann schmilzt man in das Oehr eine Perle von der Asche ein, indem man mit dem zum Glühen erhitzten oder ein wenig mit Wasser

1) K. Vierordt, Die Anwendung des Spektralapparates zur Photometrie der Absorptionsspektren etc. Tübingen 1873.

Derselbe, Die quantitative Spektralanalyse etc. Tübingen 1876.

2) Hüfner, J. pr. Ch. N. F. **16**. 290. (1877.)

Derselbe, Z. physik. Ch. **3**. 562. (1889.)

E. Albrecht, Anleitung zum Gebrauch des Hüfner'schen Spektrophotometers etc. Tübingen 1892.

3) G. u. H. Krüss, Kolorimetrie und quantitat. Spektralanalyse etc. Hamburg u. Leipzig 1891.

befeuchteten Drahte etwas von der Asche aufnimmt, an der Oberfläche der Flamme trocknet und etwas sintern lässt. Man stellt nun (Fig. 1) vor dem Spalte *a* des Spektralapparates etwa 5—10 cm davon entfernt einen Bunsen'schen Gasbrenner *k* mit nicht leuchtender Flamme und mit Schornstein versehen so auf, dass 1. die obere Grenze des Schornsteins etwa 2 bis 3 cm tiefer als das untere Ende des Spaltes steht und 2. bei verschlossenen Luftlöchern des Brenners (also hellem Leuchten seiner Flamme) ein möglichst strahlendes Spektrum im Fernrohre sichtbar ist. Man öffnet wieder die Luftlöcher am Brenner, nachdem man die richtige Stellung desselben ausfindig gemacht hat, beleuchtet die Skala in *h* am Spektralapparate und bringt nun die Aschenprobe am Platindrahte *m*, welcher durch ein an ihm angeschmolzenes Glasröhrchen *n* am Stative *f* befestigt ist, in die Flamme, während man durch das Fernrohr beobachtet. Es wird in allen Fällen ein diskontinuierliches Spektrum erscheinen, welches stets mehr oder weniger stark leuchtend die gelbe Natriumlinie enthält. Fast in allen Fällen wird sich daneben auch die rote Kaliumlinie zeigen. Man bestimmt nun die Lage der vorhandenen Linien nach der Skala und findet dann die Lage dieser Linien im Sonnenspektrum, wenn man Sonnenlicht an Stelle des Brennerlichtes in den Apparat eintreten lässt und die Lage der Fraunhofer'schen Linien an der Skala des Apparates abliest. Statt dessen kann man reines Chlorkalium, Chlorcalcium usw. jedes für sich am reinen Platindrahte in die Flamme des Brenners bringen, die Lage der erscheinenden Linien auf der Skala ablesen und damit die Ergebnisse der Aschenprüfung vergleichen.

An vielen Spektralapparaten befindet sich vor der oberen Hälfte des Spaltes ein dieselbe deckendes kleines Prisma, welches gleichzeitige Beobachtung einer zweiten, seitlich gestellten Flamme oder des Sonnenlichtes gestattet, indem deren Strahlen durch das Prisma gebrochen in den Spalt eintreten und im übrigen denselben Weg verfolgen, als die der ersteren Flamme: Es erscheint dann das Spektrum der einen Flamme über, das der anderen unter der Mitte des Gesichtsfeldes im Spektroskop.

Untersuchung der Circumpolarisation*).

29. Während kein einziger in einer Flüssigkeit gelöster oder selbst flüssiger anorganischer Körper optisch aktiv ist, zeigen bekanntlich eine ganze Reihe von Kohlenstoffverbindungen infolge einer asymmetrischen Lagerung der Atome in ihrem Molekül rechts- oder linksseitige Circumpolarisation. Solche optisch aktive (links- und rechtsdrehende) Stoffe finden sich unter den Verbindungen, welche in den Geweben und Flüssigkeiten

*) Eine eingehende Beschreibung der Apparate und Untersuchungsmethoden der Circumpolarisation siehe bei Landolt, Das optische Drehungsvermögen organischer Substanzen. 2. Aufl. Braunschweig 1898.

des tierischen und pflanzlichen Organismus vorkommen, und unter ihren Zersetzungsprodukten der Zahl und der Quantität nach in reichlicher Menge (Proteine, Zuckerarten, Gallensäuren, Aminosäuren usw.). In der Beobachtung der Circumpolarisation hat man einerseits ein schnell anwendbares Mittel, um über die Anwesenheit oder das Fehlen gewisser Gruppen von Stoffen in den zu prüfenden Flüssigkeiten Aufschluss zu erhalten, andererseits ergibt die Bestimmung der spec. Drehung eines Körpers unter dem Einflusse gewisser Agentien auf diesen Körper eins der sichersten und feinsten Hülfsmittel zur Unterscheidung chemischer Stoffe von einander, sowie zur Beurteilung der Veränderungen, welche diese Körper unter der Einwirkung gewisser Processe erfahren. Endlich dient die Bestimmung der Circumpolarisation zur schnellen Feststellung des Gehaltes einer Flüssigkeit an dem einen oder anderen optisch-aktiven Körper, z. B. an Glukose. Die Beobachtung der Circumpolarisation erfordert kaum eine Minute Zeit und bedingt bei einiger Vorsicht keinen Verlust der zu prüfenden Flüssigkeit.

Ein Haupterfordernis für diese Untersuchung ist, dass die Lösungen klar, durchsichtig und möglichst farblos sind; schwach gelbe Färbung tut keinen erheblichen Eintrag an Genauigkeit, wohl aber rote oder braune Färbung. Die in den einzelnen Fällen zur Entfärbung und Klärung anwendbaren Agentien werden später an den betreffenden Stellen angegeben.

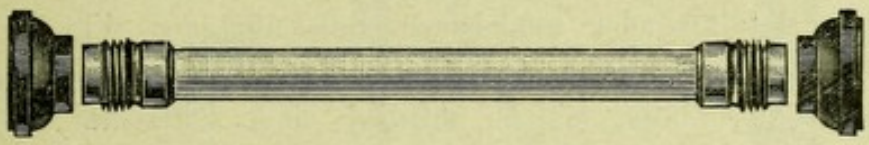


Fig. 2.

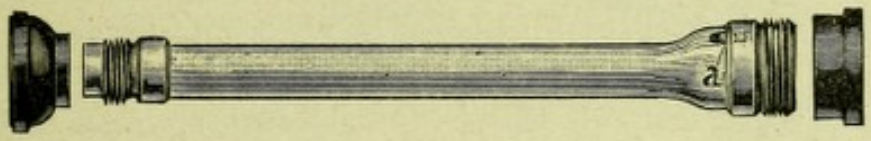


Fig. 3.

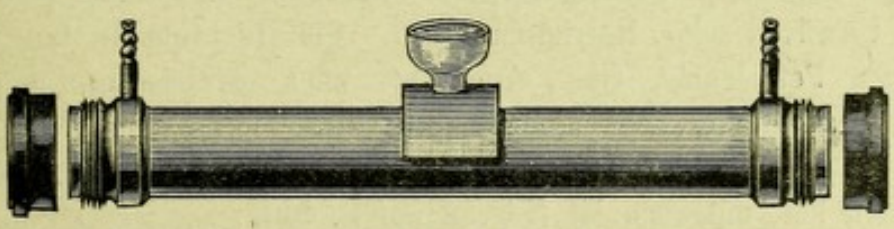


Fig. 4.

Mit der zu prüfenden Lösung füllt man die Untersuchungsröhre, deren Länge man nach der Klarheit und Tiefe der Färbung der Flüssigkeit auswählt. Da die Bestimmung um so genauer ausfällt, je länger die vom Lichte durchwanderte Flüssigkeitsschicht ist, verwendet man eine Röhre von möglichster Länge, nach deren Füllung aber beleuchtete Gegenstände

beim Hindurchsehen durch die Flüssigkeitsschicht in der Röhre scharf unterschieden werden können. Röhren von 3, 2 und 1 Decimeter Länge des in der Röhre eingeschlossenen Raumes sind die gewöhnlich zu diesen Untersuchungen benutzten. Fig. 2 stellt ein solches Rohr dar. Die Kappen aus Metall, welche auf die Enden der Röhre aufgeschraubt sind, haben eine mindestens 5 mm weite runde Durchbohrung und drücken durch einen eingelegten Kautschukring eine runde Glasplatte gegen den gerade abgeschliffenen Rand der Röhre; sie dürfen nicht zu fest aufgeschraubt werden. Sehr praktisch ist das in Fig. 3 abgebildete Rohr. Man braucht es nicht bis zum Ueberlaufen zu füllen, da eine kleine eingeschlossene Luftblase bei horizontaler Lage des Rohrs in die Erweiterung *a* eintritt und nicht im Gesichtsfeld störend erscheint. Für Beobachtungen bei bestimmter Temperatur ist das mit der Flüssigkeit zu füllende Rohr zweckmässig von einem wasserdicht aufgesetzten weiteren Rohr umgeben (Fig. 4). Durch den Zwischenraum zwischen beiden Rohren zirkuliert beständig Wasser von bestimmter Temperatur, welches durch das eine Ansatzrohr zu- und durch das andere abfliesst. Der Tubus in der Mitte, welcher in Verbindung mit dem inneren Rohr steht, dient zum Einbringen der Flüssigkeit und zur Aufnahme eines Thermometers.

Sollen die Beobachtungen bei Natriumlicht ausgeführt werden, so benutzt man als Lichtquelle einen von einem weiten innen und aussen geschwärzten Metallcylinder umgebenen Bunsenbrenner (Fig. 5). Durch den unteren Teil des seitlichen Ausschnitts dieses Cylinders wird eine ringförmige Rinne aus Platin, welche mittelst einer horizontal verlaufenden Stange *v* an einer um die vertikale Achse drehbaren Stange *w* befestigt ist, durch Drehen dieser Stange am Trieb *x* in die Flamme geschoben. In der Rinne befindet sich trocknes Kochsalz. Damit herabfallende Kochsalzpartikelchen nicht die Oeffnung des Bunsenbrenners verstopfen, ist diese Oeffnung seitlich bei *y* angebracht, wie aus der Abbildung hervorgeht. Die Lampe ist so aufzustellen, dass nur das Licht aus der obern Abteilung des Ausschnittes zu dem Apparat gelangt. Ein bedeutend intensiveres Natriumlicht gibt die Landolt'sche Natriumlampe[1]). Als Lichtquelle für weisses Licht dienen Petroleum-, Gas-, Auerlicht- oder elektrische Lampen, bei denen der Glascylinder bzw. die mattierte Birne mit einem Metallcylinder, welcher an passender Stelle eine seitliche Oeffnung zum Durchtritt der Lichtstrahlen hat, umgeben ist (Fig. 8 auf S. 33).

Die besten Polarisationsapparate sind die neuen auf dem Prinzip von Lippich beruhenden Halbschattenapparate, von denen einer in der Ausführung von Landolt (§ 33) beschrieben wird. Von älteren Apparaten wird das im folgenden Paragraphen auseinandergesetzte Polaristrobometer von Wild noch vielfach gebraucht. Für die speziellen Zwecke der Trauben-

1) Z. f. Instrumentenkunde. **4**. 390. (1884).

zuckerbestimmung ist das Soleil-Ventzke'sche Saccharimeter durch den viel empfindlicheren Halbschattenapparat mit Keilkompensation verdrängt. Derselbe ist im § 34 beschrieben.

Polaristrobometer nach Wild.

30. Fig. 5 stellt den Apparat dar. Das von der Natriumflamme ausgehende Licht tritt bei *d* in das Instrument ein, geht in seiner Achse hindurch und trifft bei *a* das Auge des Beobachters. Durch ein Diaphragma bei *d* gelangt das Licht zunächst zu einem Nicol, welcher im Centrum der Scheibe *k* mit dieser zusammen um ihre Achse durch ein Zahngetriebe mittelst des Knopfes *c* drehbar ist. An der Peripherie der Scheibe *k* befindet sich eine Kreisteilung in $^1/_5$ Grade geteilt. Das drehbare Nicol'sche

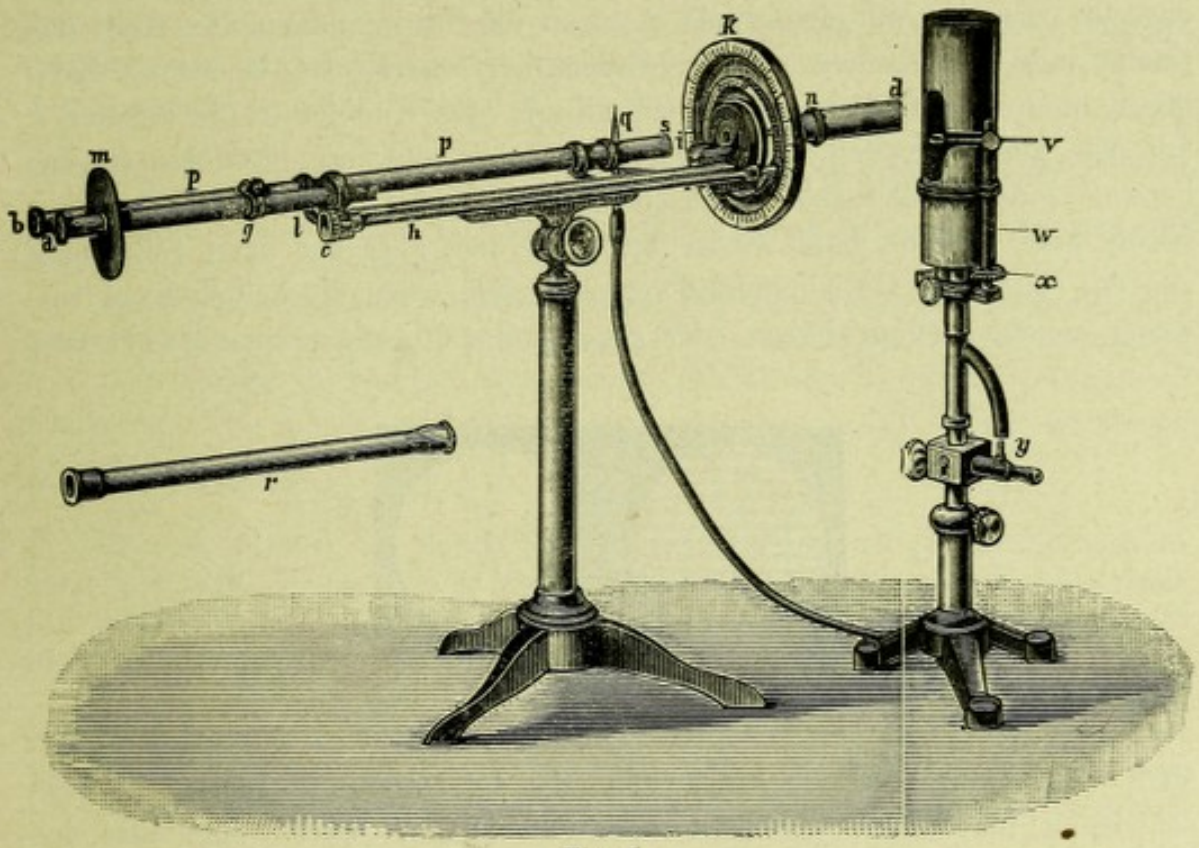


Fig. 5.

Prisma wird gehalten durch den Träger *h*, an welchem andererseits ein kleines Fernrohr, ein Nicol und das Polariskop *a g l*, endlich vor der Kreisscheibe *k* der Indikator *i* befestigt sind. Zwischen Polariskop und drehbarem Nicol ist der Raum für die einzulegenden mit den zu untersuchenden Flüssigkeiten gefüllten Beobachtungsröhren *r*. Der dem Auge des Beobachters zugewandte Teil des Instruments besteht bei *a* aus einem Nicol und Savart'schem Polariskop (zusammengesetzt aus zwei Kalkspathplatten, die unter 45° gegen die optische Achse des Krystalls geschnitten und mit ihren Hauptschnitten unter 90° gekreuzt auf einander gelegt sind.) Dies letztere bewirkt, dass bei der Beobachtung in allen Stellungen der Nicol gegen einander das durch das Instrument gehende Licht horizontale Inter-

ferenzstreifen zeigt, wenn nicht die Schwingungsebene des zweiten Nicols parallel oder senkrecht zu derjenigen des in ihn eintretenden Lichtes ist. Am Kopf des Apparates befindet sich ferner, wie bereits angegeben, ein kleines Fernrohr und in dem Rohre an geeigneter Stelle ein Fadenkreuz, dessen Bild bei der Beobachtung genau einzustellen ist. Durch das Fernrohr *b p p s* ferner beobachtet man die Skala der Scheibe *k* und den Indikator *i*, während von dem Schlitzbrenner *q* die Beleuchtung dieser Skala vermittelst eines schräg gestellten, in der Mitte durchbohrten Metallspiegels, der sich am Ende des Fernrohrs befindet, bewirkt wird. Der Träger *h* ist auf dem Stativ horizontal und vertikal drehbar, damit man ihn mit *d* genau auf die Natriumflamme einstellen kann.

Um Beobachtungen mit dem Instrumente auszuführen, richtet man dasselbe zunächst mit dem Ende *d* gegen die Natriumlichtquelle, stellt das Ocular in *a* so ein, dass man das Fadenkreuz scharf sieht, beleuchtet durch die Flamme *q* die Skala und dreht mittels des Knopfes *c* die Scheibe *k* mit dem analysierenden Nicol. Es zeigen sich schwarze Interferenzstreifen horizontal das Gesichtsfeld durchsetzend, welche bei der Drehung des einen Nicols bald dunkler, bald wieder heller werden, aber nur dann vollständig aus der Mitte des Gesichtsfeldes verschwinden, wenn die beiden Nicol entweder gleiche Stellung haben oder genau unter 90° gegen einander gekreuzt

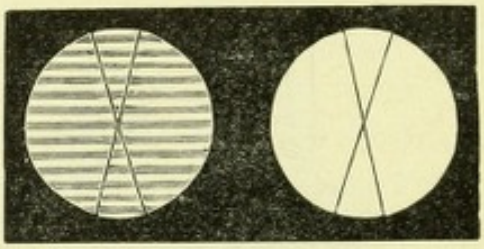


Fig. 6.

sind. Fig. 6 erläutert die Erscheinung der Interferenzstreifen und ihr Verschwinden im Gesichtsfelde mit dem Fadenkreuz. Dreht man also den Nicol um seine Achse einmal ganz herum, so verschwinden die Interferenzstreifen 4 mal entsprechend den 4 Quadranten des Kreises. Die Stellung der Nicol, bei welcher die Interferenzstreifen verschwinden, lässt sich an der Kreisteilung genau ablesen.

Legt man nun, nachdem an der Skala die Stellung festgestellt ist, bei welcher die Interferenzstreifen verschwunden sind, eine mit drehender Flüssigkeit gefüllte Röhre zwischen den drehbaren Nicol und das Polariskop ein, so wird das Verschwinden der Interferenzstreifen nicht mehr bei der Stellung des Nicols stattfinden, bei welcher dies vor Einlegen der Röhre der Fall war. Man sucht jetzt durch Drehung des Knopfes *c* die Stellung des Nicols auf, bei welcher nun die Interferenzstreifen verschwunden sind, liest durch das Fernrohr an der Skala ab, wie weit man nach der einen

oder anderen Seite den Nicol hat drehen müssen, um das Verschwinden der Streifen herbeizuführen, und findet in der Differenz der beiden Ablesungen den Winkel der Rotation, welche die Flüssigkeit ausübt. Hat man, um die Interferenzstreifen zum Verschwinden zu bringen, vom Nullpunkt aus bei Rechtsdrehung weniger weit nach rechts als bei Linksdrehung nach links drehen müssen, so handelt es sich in den meisten Fällen um eine rechtsdrehende, im umgekehrten Falle um eine linksdrehende Substanz. Ist man über die Drehungsrichtung im Zweifel (bei stark drehenden Substanzen), so wiederholt man die Polarisationsbestimmung unter Benutzung eines Rohres von der halben Länge.

31. Bestimmung der specifischen Drehung. Die specifische Drehung einer aktiven Substanz ist diejenige Drehung der Polarisationsebene, welche 1 g in 1 ccm Flüssigkeit gelöst bei einer Rohrlänge von 1 Decimeter bewirkt. Die specifische Drehung bezeichnet man mit $[\alpha]$ und die auf Natriumlicht und eine Temperatur von z. B. 20^0 sich beziehende mit $[\alpha]_D^{20^0}$. Enthält die Flüssigkeit nur eine optisch aktive Substanz, so ist $[\alpha] = \pm \frac{\alpha}{c.\,l}$, wobei α den beobachteten Drehungswinkel, c die Menge der Substanz in Grammen, welche in 1 ccm der Lösung bei 20^0 enthalten sind, und l die Länge des Rohrs in Decimetern bezeichnet.

Handelt es sich darum, die Aenderungen der spec. Drehung bei verschiedenen Koncentrationen festzustellen, so ist es nötig, auch den Gehalt der Substanz in Grammen in 1 g der Lösung (p) und das spec. Gewicht der Lösung (d) bei 20^0 (bezogen auf Wasser von 4^0 als Einheit) zu kennen und die spec. Drehung $[\alpha]_D^{20^0}$ nach der Formel $\pm \frac{\alpha}{p.\,l.\,d}$ zu berechnen.

Die spec. Drehung der meisten Substanzen ändert sich mit der Koncentration der Lösung, mit dem Lösungsmittel und der Temperatur. Die Lösungen mancher Substanzen, z. B. mancher Zucker, zeigen, frisch hergestellt, ein anderes Drehungsvermögen als nach einiger Zeit (Mutarotation).

32. Bestimmung des Gehaltes der Flüssigkeit an aktiver Substanz. Kennt man die specifische Drehung der untersuchten Substanz, weiss man, dass diese sich mit der Koncentration nicht oder nur wenig ändert und enthält die Lösung nur diese eine optisch aktive Substanz, so ergibt sich aus der Drehungsbestimmung der Gehalt der Lösung an der aktiven Substanz nach der Formel $c = \frac{\alpha}{[\alpha].\,l}$, worin α die beobachtete Drehung, $[\alpha]$ die specifische Drehung, l die Rohrlänge in Decimetern und c das Gewicht des die Drehung bewirkenden Stoffes für 1 ccm Lösung.

Halbschattenpolarimeter mit Lippich's dreiteiligem Polarisator in der Konstruktion von Landolt.

33. Von allen Halbschattenapparaten, welche seit dem von Jellett[1]) nach diesem Prinzip zuerst konstruierten Instrument bekannt geworden

1) Rapports of the British Association. **2.** 13. (1860), vergl. hinsichtlich der übrigen Halbschattenapparate, von denen besonders der von Laurent sehr verbreitet ist, Landolt, Das optische Drehungsvermögen organischer Substanzen usw. Braunschweig, 2. Aufl. 1898.

sind, zeichnen sich die mit Lippich's Polarisator[1]) versehenen Apparate durch die grosse Schärfe, mit welcher sie Bestimmungen auszuführen gestatten, aus. Es sind überhaupt die genauesten aller Polarimeter. Im Folgenden soll eine von H. Landolt[2]) empfohlene, von der Firma Schmidt und Haensch in Berlin ausgeführte Konstruktion beschrieben werden, welche den grossen Vorteil gewährt, dass nicht nur Beobachtungsröhren, sondern auch beliebig gestaltete Beobachtungsgefässe eingeschaltet werden können (Fig. 7).

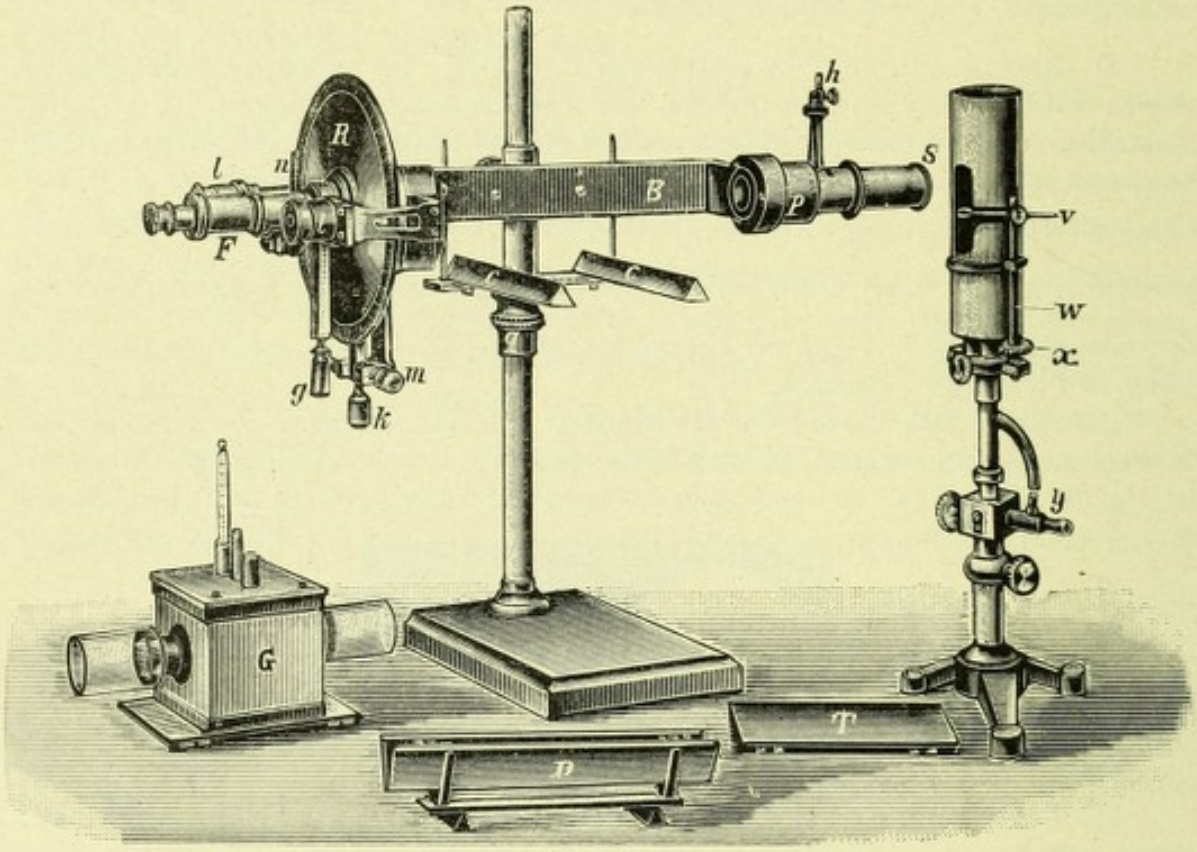


Fig. 7.

Was die optische Einrichtung betrifft, so folgt zunächst auf das Diaphragma S eine Beleuchtungslinse, dann bei P der 3teilige Lippich'sche Polarisator, bestehend aus einem um die Achse des Apparates drehbaren polarisierenden Nicol'schen Prisma, welches das ganze Gesichtsfeld bedeckt und zwei kleinen feststehenden Nicol'schen Prismen (Halbprismen), die hinter dem grossen in symmetrischer Stellung und so angeordnet sind, dass jedes ein äusseres Drittel des Gesichtsfeldes deckt.

1) Naturwissenschaftl. Jahrbuch Lotos. N. F. **2**. 1880. Prag, Tempsky. Zeitschr. f. Instrumentenk. **2**. 167. (1882.) **14**. 326. (1894.) Wien. Acad. Sitzungsber. **91**. II. 1081 (1885) u. **105**. II. 317 (1896), citiert nach Landolt.

2) B. **28**. 3102. (1895).

Hierdurch wird eine Dreiteilung des Gesichtsfeldes bewirkt*). Das drehbare Prisma lässt sich behufs Aenderung des Winkels zwischen den beiden Polarisationsebenen durch den festschraubbaren Zeiger bei *h* verstellen und die Grösse des Winkels (Halbschatten) an der Skala bei *h* ablesen. Der Winkel beträgt im allgemeinen 7,5°. Zwischen *P* und *R* werden die Beobachtungsröhren oder -gefässe eingeschaltet. Im Centrum von *R* ist das analysierende Nicol'sche Prisma fest in die drehbare Scheibe eingefügt. Der Rand dieser Scheibe ist in Viertelgrade eingeteilt und durch Nonius in Hundertstelgrade ablesbar eingerichtet. Die Drehung erfolgt durch den Hebel *g* und weiterhin zum Zweck der feinen Einstellung nach Anziehen der Klemme *k* mittelst der Mikrometerschraube *m* und wird gemessen mit Hülfe der beiden feststehenden Nonien *n*, welche mit den Lupen *l* abgelesen werden. *F* stellt ein Fernrohr dar, mit dem man die Grenzlinien des 3teiligen Gesichtsfeldes scharf einstellt.

Die beschriebenen Teile sind auf einer starken eisernen Schiene *B* montiert, welche an einem schweren Stativ verschoben und festgeklemmt werden kann[1]). Die Führungshülse ist am unteren Ende schraubenförmig gestaltet und mit einer Schraubenmutter *q* versehen, mittelst deren sich eine horizontale Schiene, an welcher die zwei prismatischen Träger *cc* sitzen, emporheben lässt. Sollen die letzteren gesenkt werden, so wird *q* tiefer geschraubt und mit den Fingern auf die Schiene gedrückt. Zwei dünne Stahlstangen, welche durch den hinteren Teil der Hauptschiene *B* gehen, vermitteln die genaue Vertikalführung. Auf die beiden Träger *cc* kann 1. die zum Einlegen von Flüssigkeitsrohren dienende Rinne *D* gesetzt und horizontal verschoben werden, bis die Röhre in der optischen Achse liegt; die zugleich nötige Vertikaleinstellung bewirkt man mit der Schraube *q*; ferner ist die Rinne *D* auf ihrer Bodenplatte um einen kleinen Winkel verschiebbar; 2. eine ebene unten mit Führungsleisten versehene Messingplatte *T* aufgelegt werden, die als Unterlage für Glaströge dient; 3. der Kasten *G* eingeschaltet werden, ein mit Asbest bekleideter Kasten aus Messingblech, durch welchen eine inwendig vergoldete Messingröhre geht, deren herausragende Enden sich durch gläserne Deckplatten und Ueberwurfsschrauben verschliessen lassen. Ein in die Röhre senkrecht eingelötetes enges Röhrchen, welches durch den abnehmbaren Deckel des Kastens hindurchgeht, erlaubt die Ausdehnung oder Zusammenziehung der eingefüllten aktiven Substanz. Ausserdem besitzt der Deckel 2 Oeffnungen für Thermometer und Rührer. Füllt man den Kasten mit einer als Bad geeigneten Flüssig-

*) Ist nur ein feststehendes Halbprisma vorhanden, welches die eine Hälfte des Gesichtsfeldes deckt, so erhält man ein zweiteiliges Gesichtsfeld. Der dreiteilige Polarisator leistet das Doppelte an Genauigkeit, ist deswegen dem zweiteiligen bei Weitem vorzuziehen.

1) Von hier an ziemlich wörtlich nach Landolt.

keit und erhitzt mittelst untergestellten Brenners, so lässt sich das Drehungsvermögen der Substanz bis zu beliebig hohen Temperaturen untersuchen. Werden behufs Beobachtung bei niederer Temperatur Kältemischungen in den Kasten gebracht, so müssen, um den Wasserbeschlag auf der Aussenseite der Deckgläser zu verhindern, an die Ueberwurfsschrauben Glascylinder (aus der Zeichnung ersichtlich) angesteckt werden, welche am Ende mit Platten verschlossen sind und in die man etwas Chlorcalcium gebracht hat.

Ausführung von Bestimmungen. Nach richtiger Aufstellung der Natriumlichtflamme und scharfer Einstellung des Fernrohres *F* auf die Grenzlinien des Gesichtsfeldes wird die Klemme *k* gelöst und nun durch Bewegung des Hebels *g* dem Analysator eine Stellung gegeben, bei welcher die 3 Teile des Gesichtsfeldes annähernd gleiche Beschattung zeigen. Jetzt schraubt man *k* fest, führt durch Drehen der Mikrometerschraube *m* möglichst gleiche Beschattung des Gesichtsfeldes herbei und liest am Rande der Scheibe *R* durch die Lupen an Gradteilung und Nonius die Stellung ab. Diese Bestimmung wird oft wiederholt, auch das eine Mal von der einen, das andere Mal von der anderen Seite her die Gleichstellung herbeigeführt, schliesslich aus allen Beobachtungen das Mittel berechnet (Nullpunkt). Bei Wiederholung der Versuchsreihe nach Drehung um 180° muss der gleiche Nullpunkt gefunden werden.

Durch Verschiebung des Zeigers *h* an seiner Skala und hierdurch bewirkter Drehung des das ganze Gesichtsfeld deckenden Nicol'schen Prisma kann man erkennen, bei welchem Winkel der Polarisationsebene desselben zu derjenigen des Polarisators für die herrschende Belichtung die schärfste Bestimmung erzielt werden kann.

Nachdem auf dem beschriebenen Wege die Bestimmung des Nullpunktes mit möglichster Schärfe ausgeführt ist, wird die Röhre mit der zu prüfenden Flüssigkeit eingelegt, das Fernrohr scharf eingestellt und nun die Bestimmung in der angegebenen Weise wiederholt. Die Differenz der beiden Ablesungen ergibt die Grösse des Winkels, um den die Flüssigkeit nach links oder rechts dreht.

Um den Sinn der Drehung in zweifelhaften Fällen festzustellen, verfährt man nach § 30; desgleichen werden die Berechnungen der specif. Drehung und des Gehaltes an optisch aktiver Substanz im bestimmten Volumen der Flüssigkeit in der in den §§ 31 und 32 angegebenen Weise ausgeführt.

Halbschattenapparat mit Keilkompensation zur Bestimmung des Traubenzuckergehalts nach Schmidt und Haensch (Saccharimeter).

34. Es ist ein Apparat, bei dem zwischen Polarisator und Analysator, die beide festliegen, eine Quarzkeilkompensation eingeschaltet ist und der infolge dessen bei weissem Licht benutzt werden kann. Es ist ferner

so eingerichtet, dass auf der Skala direkt der Gehalt der untersuchten Flüssigkeit an Traubenzucker in Procenten (d. h. Grammen in 100 ccm Flüssigkeit) abgelesen werden kann. Fig. 8 stellt den Apparat dar. Von der Lampe aus tritt das Licht ein. Bei *B* ist die Beleuchtungslinse, bei *P* das Halbschattenprisma angebracht. In dem Gehäuse *G* befindet sich der Quarzkeil, dessen Verschiebung durch die Schraube *T* an der Skala durch die Lupe *L* ablesbar ist. Die Beleuchtung der Skala erfolgt durch

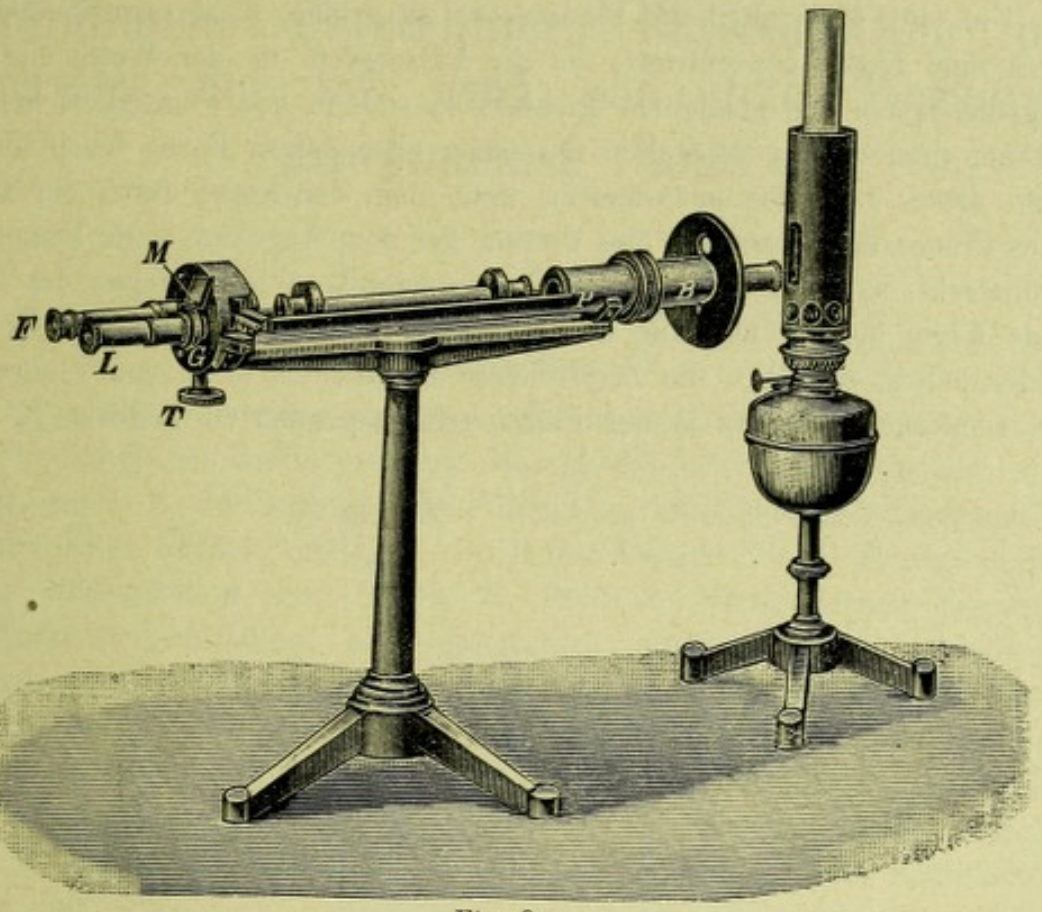


Fig. 8.

den Spiegel *M*, der sein Licht von der Beobachtungslampe her empfängt. Von der Quarzkeilkompensation geht das Licht zum Analysator und zum Fernrohr *F*. Soll eine Bestimmung ausgeführt werden, so überzeugt man sich zunächst, dass nach richtiger Aufstellung der Lampe und scharfer Einstellung des Fernrohrs bei gleicher Helligkeit der beiden Gesichtshälften, die man durch Drehen an der Schraube *T* herstellt, der Nullstrich der Skala mit dem Nullstrich des Nonius genau zusammenfällt. Ist das nicht der Fall, so muss der Nonius mittelst eines dem Apparat beigegebenen Schlüssels entsprechend verschoben werden. Jetzt wird die Beobachtungsröhre (von 2, 1 oder $^1/_2$ Decimeter Länge) eingelegt und nach Richtigstellung des Fernrohrs an der Schraube *T* bis zur gleichen Helligkeit beider Gesichtshälften gedreht. Bei Benutzung einer 2 Decimeter langen Röhre gibt die Teilstrichzahl der Skala, bei der der Nullstrich des Nonius steht,

direkt den Procentgehalt an Traubenzucker an, bei Benutzung einer 1 oder $^1/_2$ Decimeter langen Röhre muss die Zahl mit 2 oder 4 multipliziert werden.

Untersuchung der Fluorescenz.

35. Fluorescenz in auffallenderem Grade zeigen nur wenige der in höheren Tieren vorkommenden Substanzen. Stark fluorescieren die Lösung der Gallensäuren in concentrierter Schwefelsäure sowie Urobilinlösungen. Eiweisslösungen, Harn usw. lassen schwache Fluorescenz erkennen.

Um eine Flüssigkeit auf Fluorescenz zu prüfen, lässt man Sonnenlicht, durch eine Linse concentriert, in die Flüssigkeit in der Weise einfallen, dass die Spitze des gebildeten Lichtkegels sich in der Flüssigkeit befindet. Erkennt man den Lichtkegel in der einen oder andern Farbe leuchtend und bleibt dieses Leuchten unverändert, wenn man den Kegel durch ein Nicolsches Prisma betrachtet und dies Prisma vor dem Auge um seine Längsachse herumdreht, so ist die Flüssigkeit fluorescierend. Wird dagegen der leuchtende Kegel bei der Drehung des Nicols dunkler und bei weiterer Drehung wieder heller, so rührt die Zerstreuung des Lichtes nicht von Fluorescenz her, sondern von feinen in der Flüssigkeit suspendierten Teilchen.

II. ABTEILUNG.

Vorkommen, Darstellung, Eigenschaften und Nachweis der bis jetzt aus dem Tierkörper gewonnenen Stoffe.

1. Anorganische Stoffe.

Allgemeines.

36. Jeder Teil eines tierischen oder menschlichen Körpers, sei er eine mit Flüssigkeit imbibierte geformte Masse, wie Fleisch oder Drüsensubstanz, sei er, wie z. B. die Sekrete, eine Flüssigkeit, lässt sich in Wasser und eine Anzahl fester Körper zerlegen. In jedem Organe eines Tieres, in jeder seiner Flüssigkeiten sind C, H, N, O, S in verschiedenen chemischen Kombinationen enthalten; alle hinterlassen ferner beim Glühen mehr oder weniger Asche. Die chemischen Stoffe, welche man als Bestandteile des Körpers kennen gelernt hat, werden in organische und anorganische eingeteilt, je nachdem dieselben Kohlenstoff enthalten oder nicht. Die Aschen können, abgesehen von der Kohlensäure, nie organische Stoffe enthalten, aber sie stellen durchaus nicht immer die Gesamtheit der anorganischen Stoffe dar, welche in der geglühten Substanz enthalten waren, da Ammoniakverbindungen beim Erhitzen leicht verflüchtigt werden, auch Schwefelsäure, Salzsäure, Phosphorsäure, wenn sie nicht mit feuerbeständigen Basen verbunden sind, beim Glühen verdampfen oder sich zerlegen. Die Bildung der Aschen ist sonach zunächst abhängig von dem Vorhandensein solcher Metallverbindungen, die in schwacher Glühhitze nicht flüchtig sind.

Die Betrachtung der anorganischen Stoffe ist der der organischen im Folgenden vorausgeschickt, da sie eine ziemlich gut abgegrenzte Klasse bilden, soweit sie die Bestandteile der Aschen sind. Das Ammoniak und seine Verbindungen bilden dann gleichsam den Uebergang zu den organischen Stoffen, aus denen es bei der Zersetzung derselben fast immer entsteht, wenn diese Stoffe Stickstoff enthalten.

Die Behandlung der einzelnen Stoffe ist weder eine erschöpfende noch eine gleichmässige. Rücksichten auf die analytischen Zwecke waren die in erster Linie massgebenden.

Den sämtlichen in diesem Lehrbuche enthaltenen Berechnungen liegen die Atomgewichte H = 1,008, C = 12,00, O = 16,00, N = 14,01 usw. zu Grunde, vergl. im Anhang Tabelle II.

Alkalimetalle.

Kalium und Natrium finden sich in fast jeder tierischen Asche neben einander; in seltenen Fällen ist auch Lithium nachgewiesen. Die Verbindungen der Alkalimetalle, welche in den tierischen Organen und den daraus gewonnenen Aschen vorkommen, sind sämtlich in Wasser leicht löslich, werden aus ihren wässerigen Lösungen weder durch kohlensaures noch durch oxalsaures Ammoniak gefällt, sind in der schwachen Rotglühhitze nicht bemerkbar flüchtig, schmelzen dagegen in der Weissglühhitze und verflüchtigen sich dann allmählich unter Nebelbildung. Am flüchtigsten sind die kohlen- und die salzsauren Verbindungen, weniger die schwefelsauren und die phosphorsauren Salze dieser Metalle. Am leichtesten flüchtig sind die Kaliumverbindungen, am wenigsten die Natriumverbindungen. Lithium steht in der Mitte.

Vorkommen. 37. **Kalium K.** Kalium befindet sich besonders in der Asche der Muskeln, der roten Blutkörperchen, der Nerven, des Eidotters, der Milch, des Harns verbunden mit Salzsäure oder Schwefelsäure oder Phosphorsäure.

Eigenschaften. Fällungsreaktionen der Kalisalze:

1. Sie geben in nicht sehr verdünnten Lösungen mit einigen Tropfen Platinchlorid versetzt einen orangegelben fein krystallinischen Niederschlag von Kaliumplatinchlorid, der in Wasser schwer, in Säuren leichter löslich, in Alkohol und Aether fast ganz unlöslich ist. Empfindlichkeitsgrenze bei etwa 0,2—0,3 pCt. K.

2. Sie geben mit Weinsäure einen weissen krystallinischen Niederschlag von saurem weinsauren Kali, wenn die Lösung ziemlich neutral oder von organischen Säuren sauer ist. Das saure weinsaure Kali löst sich in 180 Tl. kaltem Wasser, ist also die Lösung sehr verdünnt, so entsteht kein Niederschlag. Ist die Lösung nicht sehr concentriert, so bildet sich der Niederschlag nur allmählich; Umschütteln und Reiben mit dem Glasstab beschleunigen seine Bildung. Empfindlichkeitsgrenze bei etwa 0,1 bis 0,2 pCt. K. Abfiltriert, getrocknet und geglüht gibt dieser Niederschlag einen kohligen Rückstand, der Kaliumcarbonat enthält, daher alkalisch reagiert und mit Säuren aufbraust.

3. 10procentige Lösung von Natriumnitrit mit Cobaltochlorid und Essigsäure gemischt oder einfacher eine wässerige Lösung des käuflichen Cobaltinatriumnitrit $Na_3Co(NO_2)_6$ gibt mit wässeriger Lösung eines Kalisalzes sofort gelben krystallinischen Niederschlag $K_3Co(NO_2)_6$, wenn die Mischung mindestens 0,1 pCt. K. enthält; bei geringerem Gehalte gelbe Lösung. Der Niederschlag ist unlöslich in Alkohol.

Macallum[1]) empfiehlt diese Reaktion auch für den mikrochemischen Nachweis von Kalium in tierischen und pflanzlichen Geweben.

4. Auf Zusatz von 10 procentiger Lösung von Phosphorwolframsäure entsteht in Lösungen, die 0,25 pCt. oder mehr K enthalten, sofort milchige Fällung, in Lösungen, die 0,1—0,2 pCt. K enthalten, nach 1 bis 2 Minuten, in Lösungen, die 0,05 pCt. K enthalten, nach 1 bis 2 Stunden (Wörner[2]).

5. Nicht allzuverdünnte Lösungen werden durch Phosphormolybdänsäure gefällt, der Niederschlag ist gelb und feinpulverig wie phosphormolybdänsaures Ammoniak.

Kaliumverbindungen färben die Flamme violett. Zu dieser Prüfung glüht man zunächst das zum Oehr umgebogene Ende eines reinen dünnen Platindrahtes in der Flamme, bis keine leuchtenden Dämpfe mehr davon ausgehen, taucht ihn dann in die zu prüfende möglichst concentrierte Lösung oder nach Anfeuchten mit einem Tröpfchen Wasser in die Asche selbst, welche zu untersuchen ist, bringt das Oehr des Drahtes in den äusseren Saum der Flamme und beobachtet die davon ausgehende Färbung der letzteren. Ist Kalium fast allein zugegen, so erhält die Flamme über dem Platinöhr die bezeichnete violette Färbung, ist dagegen viel Natrium neben Kalium in der geprüften Substanz, so kann man das intensive Natriumlicht dadurch vom Auge abhalten, dass man die Flamme durch ein tiefblaues Cobaltglas beobachtet. Dies absorbiert das Natriumlicht stark, lässt dagegen das Kaliumlicht wenig geschwächt hindurchgehen[3]). Die spektralanalytische Untersuchung des Kalium zeigt helle Linie im Rot bei der Spektrallinie A und Linie im Violett.

Bei allen Untersuchungen auf Alkalimetalle usw. durch Flammenfärbung ist es unerlässlich, dass keine organischen Stoffe, auch keine Kohle in der zu prüfenden Substanz enthalten sind, sowie dass die Flamme mit bläulichem Licht brennt.

Zum Nachweis dienen besonders die oben unter 1., 2. und 4. aufgeführten Reaktionen und die Flammenreaktion. Nachweis.

38. **Natrium Na**. Natrium befindet sich besonders reichlich im Blutplasma, Harn, Pankreassekret, in der Galle des Menschen und der meisten Tiere, in serösen Transsudaten gebunden an Salzsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Kohlensäure, und andere organische Stoffe, wie Milchsäure, Harnsäure usw. Vorkommen.

Fällungsreaktionen der Natronsalze: Eigenschaften.

1. Selbst concentrierte Lösungen werden durch Platinchlorid, Weinsäure, Phosphorwolframsäure oder Phosphormolybdänsäure nicht gefällt.

2. Eine frisch bereitete Lösung von pyroantimonsaurem Kali gibt in nicht sehr verdünnten, neutralen oder schwach alkalischen Lösungen

1) J. of Ph. **32**. 95. (1905). 2) Ber. d. pharm. G. **10**. 4. (1900).
3) Cartmell, Philos. Magaz. Novbr. 1858.

(saure sind zunächst durch Zusatz von Kalilauge oder Ammoniak schwach alkalisch zu machen) einen weissen krystallinischen Niederschlag von pyroantimonsaurem Natron. Umschütteln und Reiben beschleunigt seine Bildung. Dieser Niederschlag löst sich in 300 bis 400 Tl. kaltem, leichter in heissem Wasser.

Bringt man eine natriumhaltige Substanz in die Flamme in gleicher Weise, wie es § 37 bezüglich der Prüfung auf Kalium angegeben ist, so entsteht eine strahlend gelbe Flammenfärbung. Diese Reaktion ist so scharf, dass nicht mehr sichtbare Staubteilchen am Platinöhr diese Färbung deutlich erkennbar erzeugen, wenn gleich sehr vorübergehend. Ist in einer Substanz Natrium in nicht zu geringer Spur enthalten, so tritt dauerndes und intensiv strahlendes Leuchten ein. Die spektralanalytische Untersuchung zeigt gelbe Linie auf der Linie D. Beleuchtet man mit der gelben Natriumflamme Krystalle von saurem chromsaurem Kali oder eine mit Quecksilberjodid bestrichene Papierfläche, so erscheinen erstere farblos, letztere weiss.

Nachweis

Zum Nachweis dient die unter 2 angegebene Reaktion und die Flammenreaktion.

Lithium Li. Lithium ist mittelst Spektralanalyse in Fleisch, Blut und Milch von Tieren, die lithiumhaltiges Futter genossen, einige Male in Spuren nachgewiesen. E. Herrmann[1]) fand es ebenfalls mittelst der Spektralanalyse als regelmässigen Bestandteil menschlicher Organe, auch in menschlichen Foeten.

Es färbt die Flamme intensiv rot, wenn es auf die oben § 37 geschilderte Weise im Oehr des Platindrahtes geprüft wird.

Zur Prüfung einer Asche auf Spuren von Lithium fällt man zuerst durch Barytwasser die Phosphorsäure, filtriert und fällt im Filtrate den Baryt durch verdünnte Schwefelsäure, erwärmt auf dem Wasserbade, filtriert, dampft das Filtrat ein und erhitzt den Rückstand zur Entfernung der freien Schwefelsäure, indem man zuletzt einige Stückchen kohlensaures Ammoniak in den Tiegel bringt. Nach dem Erkalten laugt man die Masse mit absolutem Alkohol aus, filtriert, dampft ein und prüft den Rückstand mittelst Spektralanalyse. Helle Linien ungefähr auf der Mitte zwischen den Spektrallinien des Sonnenspektrums B und C. Herrmann benutzte ein etwas modificiertes Verfahren.

Erdalkalimetalle.

Calcium und Magnesium finden sich in allen Teilen der tierischen Organe. Strontium kommt gleichfalls bei Fütterung mit Strontium enthaltenden Nährstoffen vor. Die Skelettsubstanz der Acantharien besteht aus Strontiumsulfat (Bütschli[2]), die Granellen der als Xenophyophora bezeichneten Rhizopoden aus Bariumsulfat (F. E. Schulze und H. Thierfelder[3]). Calcium und Magnesium unterscheiden sich von den Alkalimetallen unter anderem durch die Unlöslichkeit ihrer neutralen kohlensauren und phosphorsauren Salze in Wasser und grössere Feuerbeständigkeit.

1) Pf. A. **109**. 26. (1905).
2) Ref. Bioch. Cbl. **6**. 266. (1907).
3) Ref. Bioch. Cbl. **3**. 657. (1904/05).

39. **Calcium Ca.** Es findet sich in geringer Menge in jeder tierischen Zelle und Flüssigkeit, reichlich in Knochen, Zähnen und allen tierischen Gerüstsubstanzen, sowie in vielen pathologischen Produkten (Arterienverkalkungen, Tuberkelmassen, Harn-, Gallen-, Speichel-, Pankreassteinen). Auch in den Fäces ist es regelmässig vorhanden. Man nimmt an, dass es in Knochen, Zähnen, pathologischen Ablagerungen an Phosphorsäure, Kohlensäure, Fluorwasserstoff gebunden ist, in den Lösungen an Phosphorsäure, Kohlensäure (als saures Salz), Salzsäure oder organische Säuren, in den Fäces an Schwefelsäure und organische Säuren, sowie an Kohlensäure und Phosphorsäure. In den Zellen und Flüssigkeiten findet es sich vermutlich auch in Verbindung mit Protein- und anderen organischen Stoffen. Vorkommen

Kalksalze werden gefällt: Eigenschaften.

1. Durch Oxalsäure oder oxalsaures Ammoniak in neutralen, alkalischen oder essigsauren Lösungen. Der weisse, sehr feinkörnige, zuweilen schwer filtrierbare Niederschlag, oxalsaurer Kalk, ist unlöslich in Wasser oder Alkohol, wird beim vorsichtigen Glühen ohne Verkohlung in kohlensauren Kalk, beim heftigen Weissglühen in Calciumoxyd verwandelt.

2. Durch neutrale kohlensaure Alkalien in neutraler oder alkalischer Lösung. Der feine, weisse Niederschlag, kohlensaurer Kalk, ist leicht löslich in Säuren unter Aufbrausen. Saure kohlensaure Alkalien fällen die Kalksalze nicht oder nicht vollständig, dagegen entsteht nach ihrem Zusatz ein Niederschlag beim längeren Kochen der Mischung.

3. Durch phosphorsaures Natron in neutraler oder alkalischer Lösung. Der weisse, flockige, gallertartige Niederschlag, phosphorsaurer Kalk, ist leicht löslich in Säuren, auch in citronensaurem Ammoniak, unlöslich in Alkalien.

4. Durch Schwefelsäure oder schwefelsaure Salze in nicht zu verdünnten, wässerigen, vollständig in alkoholischen Lösungen. Der bald krystallinisch werdende Niederschlag, schwefelsaurer Kalk, ist löslich in 400 bis 500 Teilen Wasser, etwas leichter in Säuren oder concentrierten Salzlösungen, unlöslich in Alkohol.

Die salpeter- und salzsauren Verbindungen des Calcium oder andere Kalksalze mit Salzsäure befeuchtet färben die Flamme gelbrot. Die spektralanalytische Untersuchung zeigt mehrere Linien im Grün und Orange und eine Linie im Violett.

Zum Nachweis dient besonders die unter 1. aufgeführte Reaktion. Nachweis.

40. **Magnesium Mg.** findet sich (in meist geringerer Quantität) als steter Begleiter des Calcium in tierischen Organen; reichlich ist es gewöhnlich im Harne, auch in den Faeces enthalten, fast stets in Verbindung mit Phosphorsäure, oft als phosphorsaure Ammoniak-Magnesia in Krystallen (fauler Harn, Faeces etc.). Vorkommen.

Die Lösungen der Magnesiumverbindungen werden durch schwefelsaure Eigenschaften.

oder oxalsaure Alkalisalze aus verdünnten Lösungen nicht gefällt, dagegen treten Fällungen ein:

1. Bei Gegenwart von Chlorammonium durch Ammoniak und phosphorsaures Natron als allmählich entstehender krystallinischer, in reinem Wasser sehr wenig, in Säuren, auch in Essigsäure leicht löslicher weisser Niederschlag, phosphorsaure Ammoniak-Magnesia. Derselbe ist unlöslich in citronensaurem Ammoniak.

2. Durch kohlensaures Natron in neutraler Lösung bei Abwesenheit von Ammoniakverbindungen. Die Fällung ist nur durch Kochen der Mischung vollständig zu erhalten. Der bei gewöhnlicher Temperatur dargestellte weisse gallertige Niederschlag ist basisch kohlensaure Magnesia. Saure kohlensaure Alkalien fällen Magnesiasalze gar nicht; durch kohlensaures Ammoniak werden sie teilweise gefällt und bei Gegenwart von Chlorammonium tritt erst sehr spät schwache Fällung ein.

3. Durch Alkalien, Kalk- oder Barytwasser wird aus Lösungen der Magnesiasalze Magnesiumhydroxyd als flockiger weisser Niederschlag ausgeschieden, löslich in Ammoniumsalzen.

Nachweis. Zum Nachweis dient besonders die unter 1. aufgeführte Reaktion.

Schwermetalle.

Vorkommen. 41. **Eisen Fe.** Eisen findet sich im roten Farbstoffe des Blutes der Wirbeltiere, daher relativ reichlich als Eisenoxyd in der Asche des Blutes, welche durch dasselbe rötlich gefärbt erscheint. Ausser dem Blut ist besonders die Galle noch eisenhaltig, doch ist die Quantität hier schon sehr unbedeutend. Kleine Mengen finden sich in Leber, Milz, Lymphdrüsen, reichlicher (Ablagerungen von Ferrihydrat) unter pathologischen Verhältnissen. In den übrigen Geweben und tierischen Flüssigkeiten zeigen sich nur Spuren davon, so z. B. im Harne. Im Inhalte des Darmkanals kann es sich reichlich finden, da die Speisen fast stets eisenhaltig sind.

In Leichen hat sich teils im Darmkanale, teils in verschiedenen Organen oft Vivianit, phosphorsaures Eisenoxydoxydul, gefunden, das seine Entstehung wohl stets einer Zersetzung der organischen Stoffe durch Fäulnis und Reduktion des Eisenoxydes verdankt.

Bei der Prüfung auf Eisen hat man sehr darauf zu achten, dass die Reagentien und das benutzte Filtrierpapier eisenfrei sind, und dass kein Staub Eisenpartikel in die Flüssigkeit trägt.

Eigenschaften. Das Eisen ist in den hier in Betracht kommenden Verbindungen in der heftigsten Weissglühhitze durchaus nicht flüchtig; trotzdem kann es bei Veraschungen leicht geschehen, dass durch die entweichenden Gase wägbare Quantitäten von Eisenoxyd fortgerissen werden (§ 10). In den Aschen findet sich das Eisen nach völligem Verbrennen in der Kohle stets als Eisenoxyd frei oder an Phosphorsäure gebunden.

Lösungen, welche das Eisen als Ferriverbindung enthalten, werden gefällt:

1. Durch Alkalien oder kohlensaure Alkalien. Der flockige, rotbraune, gallertige Niederschlag, welcher Alkali enthält, besteht aus Ferrihydroxyd, ist unlöslich in überschüssigem Alkali und verwandelt sich beim Erhitzen in pulveriges Eisenoxyd. Befindet sich in der Lösung Weinsäure in hinreichender Menge, so tritt diese Fällung nicht ein.

2. Durch Schwefelammonium in neutraler oder alkalischer Lösung (auch bei Gegenwart von Weinsäure). Der schwarze Niederschlag (grüne Färbung bei starker Verdünnung) besteht aus Schwefeleisen; der Bildung des letzteren geht eine Reduktion des Oxydes zu Oxydul voran, bei der zugleich Schwefel abgeschieden wird. Das Schwefeleisen ist leicht zerlegbar durch Mineralsäuren, wird an der Luft rot durch Oxydation zu basisch schwefelsaurem Eisenoxyd. In Schwefelammonium ist das Schwefeleisen völlig unlöslich.

3. Durch Ferrocyankalium in neutraler oder salzsaurer Lösung. Der blaue Niederschlag, Berliner Blau, wird durch Alkalien in Ferrihydrat und Ferrocyanmetall zerlegt.

4. Durch Gallustinktur in neutraler Lösung schwarz (Tinte).

5. Durch phosphorsaures Natron in neutraler oder essigsaurer Lösung. Der gelblichweisse, flockige Niederschlag, phosphorsaures Eisenoxyd, ist unlöslich in Essigsäure, etwas löslich in überschüssigem Ammoniak, phosphorsaurem Natron oder essigsaurem Eisenoxyd.

6. Durch Kochen mit essigsaurem Natron in neutraler Lösung; der rotbraune Niederschlag ist basisch essigsaures Eisenoxyd.

Durch Schwefelcyankalium werden selbst sehr verdünnte Lösungen von Eisenoxyd schön blutrot gefärbt, wenn die Lösung etwas freie Salzsäure enthält.

Schwefelwasserstoff fällt Eisen aus seinen Lösungen in verdünnten Mineralsäuren nicht, reduziert aber beim Erwärmen das Oxyd zu Oxydul unter Abscheidung von Schwefel. Metallisches Zink reduziert das Eisenoxyd in salzsaurer Lösung schnell zu Oxydul.

Zum Nachweis dienen besonders die Reaktionen mit Ferrocyankalium und mit Schwefelcyankalium. Nachweis.

42. **Mangan Mn.** Mangan findet sich zuweilen in geringen Spuren als Begleiter des Eisens in der Blutasche und in der Asche der Galle, doch ist sein Vorkommen in diesen Aschen durchaus nicht konstant. Auch in der Pankreasasche ist es nachgewiesen (Lüning[1]), ebenso in einem Blutprotein der Steckmuschel (Pinna) und in den Geweben der Süsswassermuscheln (Unio und Anadonta). Vorkommen.

Es ist in den in Betracht kommenden Verbindungen in der heftigsten Weissglühhitze durchaus nicht flüchtig. Es wandelt sich beim Glühen, wenn die übrigen Bestandteile seiner Verbindungen flüchtig sind, in Oxyduloxyd um und so, meint man, sei es auch in den Aschen enthalten; ist jedoch Alkalicarbonat zugegen, so geht es beim Glühen an Eigenschaften.

1) Dissert. Würzburg 1899. Ref. Maly's Jbr. 1900. S. 386.

der Luft in Mangansäure über. Die wässerige Alkalimanganat enthaltende Lösung der Asche färbt sich bald rot und scheidet einen flockigen Niederschlag von Manganhyperoxydhydrat ab.

Manganosalze werden aus ihren Lösungen gefällt:

1. Durch Alkalien als weisses Hydrat, welches an der Luft schnell in braunes Oxyduloxydhydrat übergeht. Ammoniak ruft bei Gegenwart von Ammoniaksalzen und Ausschluss der Luft keine Fällung hervor.

2. Durch Schwefelammonium in concentrierter Lösung sogleich, in verdünnter allmählich als gelblicher oder fleischroter Niederschlag, Schwefelmangan, welcher in Schwefelammonium unlöslich ist, an der Luft bald braun wird durch Umwandlung in Oxyduloxydhydrat. Bei Gegenwart von viel Ammoniak ist Mangan aus verdünnten Lösungen durch Schwefelammonium schwer fällbar.

3. Durch kohlensaure oder phosphorsaure Alkalien, weisser Niederschlag.

Nachweis. Zum Nachweis dienen folgende Reaktionen:

1. Eine Probe einer manganhaltigen Substanz mit etwas trockener Soda und Salpeter auf Platinblech heftig geglüht, gibt eine blaugrüne geschmolzene Masse (mangansaures Alkali), sehr scharfe und sichere Probe. 2. Erhitzt man eine manganhaltige Substanz mit etwas syrupöser Phosphorsäure nnd Salpeter im Porzellantiegel, so erhält man eine schöne, violette, geschmolzene Masse von phosphorsaurem Manganoxyd. 3. Bringt man in einem Probierröhrchen auf etwas Bleihyperoxyd oder Mennige etwas von einer chlorfreien manganhaltigen Flüssigkeit, fügt verdünnte Salpetersäure hinzu und erhitzt zum Sieden, so tritt schöne violette Färbung der Flüssigkeit durch gebildete Uebermangansäure ein*) (Hoppe-Seyler's Probe).

Vorkommen. 43. **Zink Zn.** ist gelegentlich in Leber, Galle, Milch nachgewiesen worden; regelmässig findet es sich in Leber und Blut von Mollusken (Sycotypus).

Eigenschaften. Die Lösungen der Zinksalze werden gefällt:

1. durch Alkalien oder Ammoniak als weisses gallertiges Hydroxyd, welches im Ueberschuss des Fällungsmittels und in Säuren löslich ist.

2. Durch Schwefelammonium als weisses gelatinöses Schwefelzink, welches in verdünnten Mineralsäuren löslich, in Essigsäure unlöslich ist.

3. Durch kohlensaure Alkalien als basisches Zinkcarbonat, durch phosphorsaure Alkalien als Zinkphosphat, durch Ferrocyankalium als Ferrocyanzink.

Vorkommen. 44. **Kupfer Cu.** Das Vorkommen von Kupfer in Leber und Galle der Menschen und Säugetiere ist fast konstant, auch in Niere, Milz, Gehirn von Menschen ist es in geringerer Menge, im Blut in Spuren nachgewiesen; im Blute einiger Krebs- und Schneckenarten, auch im Blute und in der Leber von manchen Cephalopoden und Gastropoden ist es reichlich und konstant gefunden. In welcher Verbindung das Kupfer in diesen tierischen Geweben sich befindet, ist nicht sicher festgestellt, jedenfalls handelt es sich um eine Kupferproteinverbindung; im Blut der genannten niederen Tiere findet es sich im Farbstoff (Haemocyanin). Auch der Farbstoff aus den Flügelfedern von Musophagiden (Turacin) ist kupferhaltig.

Bei Darstellung der Aschen kupferhaltiger organischer Massen durch Glühen bei Luftzutritt wird es stets als Oxyd gewonnen. Die Lösungen der Cuprisalze werden gefällt:

Eigenschaften. 1. Durch Alkalien bei gewöhnlicher Temperatur als gelatinöser, flockiger, blauer Niederschlag, Kupferhydroxyd. Dieser Niederschlag entsteht nicht bei Gegenwart von viel Ammoniak oder gewissen organischen Stoffen. Das Hydroxyd verwandelt sich beim Kochen der Flüssigkeit, in der es suspendiert ist, in schwarzes, feinflockiges oder pulveriges Oxyd.

---

*) Die Probe gelingt in der beschriebenen Ausführung nur bei Anwesenheit von sehr wenig Mangan.

2. Durch Schwefelwasserstoff in verdünnter, saurer oder neutraler Lösung als schwarzes, flockiges, in Wasser (nach Oxydation zu Kupfersulfat) oder Schwefelammonium ein wenig lösliches Schwefelkupfer.

3. Durch kohlensaures Natron als grünlich blaues, basisches Kupfercarbonat.

4. Durch Ferrocyankalium als kapuzinerbraunes Ferrocyankupfer (in sehr verdünnter Lösung entsteht nur braune Färbung derselben).

5. Durch metallisches Eisen oder Zink als metallisches Kupfer, welches das in die Lösung gestellte Eisen- oder Zinkstück als kohärente Schicht überzieht.

6. Durch Traubenzucker in alkalischer Lösung bei Abwesenheit von Ammoniak in der Wärme als gelbes Kupferoxydulhydrat oder rotes Kupferoxydul.

Ammoniak oder kohlensaures Ammoniak bewirken in neutralen oder sauren Lösungen zunächst Niederschläge, beim Zusatz eines Ueberschusses jedoch eine noch bei geringem Kupfergehalte der Lösung bemerkbare blaue Färbung der wieder klar gewordenen Flüssigkeit durch gelöstes Kupferoxydammoniak.

Alle Kupfersalze färben besonders nach Zusatz von etwas Salzsäure die Flamme schön grün.

Selbst aus den verdünntesten Lösungen wird Kupfer durch Elektrolyse am positiven Pol abgeschieden. Ueber den elektrolytischen Nachweis siehe den nächsten Paragraphen. Nachweis.

45. **Blei Pb.** Blei ist hier und da im Blut in Spuren nachgewiesen, zuweilen auch in der Leber. Bei Bleikrankheiten ist es in Knochen, Muskeln, Leber, Harn gefunden. Vorkommen.

Lösungen der Bleisalze werden gefällt: Eigenschaften.

1. Durch Alkalien als weisses, im Ueberschuss lösliches Bleihydroxyd.

2. Durch Schwefelwasserstoff aus nicht zu saurer Lösung als schwarzes in Schwefelammonium unlösliches Schwefelblei.

3. Durch Natriumcarbonat als weisses basisches Bleicarbonat (Bleiweiss).

4. Durch Salzsäure nur aus conc. Lösungen als in heissem Wasser reichlich lösliches weisses Chlorblei.

5. Durch Schwefelsäure auch aus verdünnten Lösungen als weisses Bleisulfat.

6. Durch Kaliumchromat als gelbes Bleichromat, durch Jodkalium als gelbes Jodblei.

Gegen die Elektrolyse verhält es sich ebenso wie Kupfer.

Zum Nachweis von Kupfer oder Blei in Flüssigkeiten oder Organen bedient man sich mit Vorteil der Elektrolyse: Man mischt die zu prüfende Substanz, die möglichst mechanisch vorher zu zerkleinern ist, in einer Porzellanschale mit verdünnter Salzsäure und trägt unter Erhitzen der Mischung auf dem Wasserbade allmählich kleine Portionen chlorsaures Kali ein, so lange bis die Flüssigkeit hellgelb geworden ist und die organischen Stoffe nur gelblichweisse, flockige oder faserige Massen hinterlassen haben. Man filtriert jetzt ab, wäscht den Niederschlag einige Male mit heissem Wasser aus und engt die Flüssigkeit im Wasserbade auf ein kleines Volumen ein (färbt sie sich dabei dunkelbraun, so fügt man noch ein wenig chlorsaures Kali hinzu). Man giesst dann die concentrierte, noch saure Lösung in eine Flasche, deren Boden abgesprengt und durch ein wasserdicht übergebundenes Stück gutes vegetabilisches Pergament ersetzt ist, und hängt diese Zelle in einem Becherglase von etwas grösserem Durchmesser, welches mit verdünnter Schwefelsäure zum Teil gefüllt ist, so auf, dass das Niveau der Flüssigkeit in der Zelle und dem Becherglase ungefähr gleich hoch steht, bringt ein Stück Platinblech an einem hinreichend starken Platindraht befestigt in der Weise unter den Pergamentboden der Zelle, dass es horizontal und ziemlich dicht an dem Boden anliegt, ein gleiches mit Platindraht verbundenes Platinblech in die Zelle ein, so dass es horizontal über dem Pergament liegt, und verbindet den ersteren Draht mit dem positiven, den letzteren mit dem negativen Pole einer galvanischen Batterie von etwa 4 Grove'schen Nachweis.

oder Bunsen'schen Elementen. Sofort soll sich Entwickelung von Gasen an beiden Elektroden einstellen; ist sie zu stürmisch, so schaltet man ein Element fürs Erste aus. Man lässt etwa 6 Stunden den Strom in Tätigkeit (ist die Quantität der Flüssigkeit gross, etwas länger, ist sie klein, so sind ein paar Stunden völlig ausreichend), unterbricht dann die Leitung, nimmt Platindraht und Blech aus der Zelle, spült ein paar Male mit destilliertem Wasser ab und stellt sie dann in ein Probierglas in verdünnte Salpetersäure, erhitzt zum Kochen, giesst die Lösung ab und verdunstet in einer kleinen Schale auf dem Wasserbade. Ist Blei vorhanden, so gibt der Rückstand mit einem Tropfen verdünnter Schwefelsäure einen weissen Niederschlag, der abfiltriert, mit dem Filter getrocknet und mit Soda auf Kohle mittelst des Lötrohrs zum Schmelzen erhitzt regulinisches Blei gibt, welches durch Waschen, Schlemmen mit Wasser in einer Reibschale gereinigt und durch Reiben zum Blech ausgewalzt wird. Ist dagegen Kupfer zugegen, so gibt der obige Rückstand auch nach dem Zusatz von Schwefelsäure (behufs Prüfung auf Blei) mit Ammoniak im Ueberschusse dunkelblaue Lösung und nach dem Verdunsten dieser Lösung und Ansäuern mit Salzsäure mit Ferrocyankalium einen braunen Niederschlag. Schon beim Herausnehmen der Elektrode aus der Zelle erkennt man, ob eine Ablagerung eines roten oder grauen Metalls stattgefunden hat. Die oben angegebenen Reaktionen der Metalle dienen zur weiteren Bestätigung.

Säuren.

Vorkommen.

46. **Chlorwasserstoff HCl.** Chlor findet sich gebunden an Kalium oder Natrium in fast allen Teilen des tierischen und menschlichen Körpers; nur im Magensafte ist bei Menschen und Säugetieren freie Salzsäure oder an organische Stoffe gebundene nachgewiesen. Besonders reichlich sind Chlormetalle, abgesehen vom Magensafte, im Blutserum, in Transsudaten und im Harne enthalten.

Eigenschaften.

Der Chlorwasserstoff ist ein farbloses, mit Wasserdampf oder mit Ammoniakgas weisse Nebel bildendes Gas. Eine mehr oder weniger gesättigte Lösung dieses Gases in Wasser ist die bekannte Salzsäure. Durch stark oxydierende Substanzen, z. B. durch Manganhyperoxyd, wird der Chlorwasserstoff in Chlor und Wasser umgewandelt. Die Verbindungen mit Alkalien sind leicht löslich in Wasser, krystallisieren im regulären Systeme, meist als Würfel, in unreinen Lösungen auch in Oktaëder-, Pyramidenwürfel- und Tetraëderform. Chlorkalium sowie Chlornatrium schmelzen in der Weissglühhitze und verflüchtigen sich dann, das Chlorammonium sublimiert bereits unter der Rotglühhitze, ist aber bei 100° nicht bemerkbar flüchtig. Chlorkalium und Chlornatrium sind sehr schwer löslich in absolutem Alkohol, leichter in verdünntem, unlöslich in Aether. Chlorammonium ist leichter löslich in Alkohol, auch etwas löslich in Aether. Durch freie Schwefelsäure werden diese Salze in freien Chlorwasserstoff und schwefelsaure Salze umgewandelt, durch Abdampfen und Erhitzen mit viel Salpetersäure in salpetersaure Salze. Chlorcalcium und Chlormagnesium sind sehr hygroskopisch, leicht löslich in Wasser oder Alkohol, nicht in Aether; beim heftigen Erhitzen verliert das letztere Chlorwasserstoff und die wässerige Lösung des Rückstandes reagiert alkalisch.

Die Lösungen der salzsauren Salze werden gefällt:

1. durch salpetersaures Silber. Der weisse, besonders beim Erwärmen sich käsig absetzende Niederschlag von Chlorsilber ist unlöslich in Salpetersäure, löslich in Ammoniak, färbt sich am Licht grauviolett.

2. durch Mercurosalze. Der weisse Niederschlag von Calomel (Mercurochlorid) färbt sich mit Ammoniak schwarz.

3. durch Bleisalze. Der weisse Niederschlag von Chlorblei löst sich schwer in kaltem, leicht in heissem Wasser.

Zum Nachweis dient die Reaktion mit Silbernitrat und das Verhalten des Chlorsilbers gegen Salpetersäure und Ammoniak. Nachweis.

Jodwasserstoff HJ. Jod kommt in organischer Bindung in der Schilddrüse von Menschen und Tieren und in einigen niederen Tieren, z. B. Schwämmen vor. Auch in Knochentumoren mit Schilddrüsenbau ist es nachgewiesen (Gierke[1]). Nach Bourcet[2]) und Justus[3]) kommt es in geringer Menge in weiter Verbreitung in den Geweben vor. Im Blut soll es ausschliesslich in den weissen Blutkörperchen enthalten sein (Bourcet[4]). Als Jodkali erhält man es beim Veraschen dieser Gewebe mit Alkalien und Salpeter.

Lösungen von Jodiden werden durch salpetersaures Silber unter Bildung von gelbem in Ammoniak und Salpetersäure unlöslichem Jodsilber gefällt. Versetzt man sie mit Chlorwasser oder mit Kaliumnitrit und Salpetersäure und schüttelt mit Chloroform, so färbt sich letzteres violett.

47. **Fluorwasserstoff HFl.** Fluor findet sich in sehr geringen Mengen im Blute, Gehirn, Eidotter, in der Milch, im Harne; gut nachweisbar in den Knochen und Zahnsubstanzen. Man nimmt an, dass es hier stets an Calcium gebunden sei. Auch in Molluskenschalen ist es enthalten. Vorkommen.

Fluormetalle werden durch concentrierte Schwefelsäure unter Freiwerden von Fluorwasserstoff zerlegt, der gasförmige Fluorwasserstoff greift Glas an, indem er Fluorsilicium, Fluormetall und Wasser bildet. Eigenschaften.

Um Flüssigkeiten oder Gewebe auf Fluor zu prüfen, trocknet man sie, verascht den Rückstand, extrahiert die Asche, wenn sie viel lösliche Salze enthält, mit Wasser, ohne jedoch viel auszuwaschen. Den Rückstand kann man nach folgenden beiden Methoden untersuchen. Nachweis.

1. Man bringt ihn in einen Platintiegel, giesst einen Ueberschuss concentrierter Schwefelsäure darauf und bedeckt den Tiegel sofort mit einem in folgender Weise vorbereiteten Uhrglase. Man überzieht ein solches Uhrglas an der konvexen Seite mit geschmolzenem Wachs in dünner Schicht, und graviert in diesen Ueberzug mittels eines spitzen Hölzchens einen Buchstaben in der Weise, dass in dieser Gravierung die spiegelnde Glasfläche entblösst ist. Man bedeckt mit diesem Glase, die konvexe Seite nach unten, den Tiegel (doch darf es die Flüssigkeit im Tiegel nicht berühren),

---

1) B. Ph. P. **3**. 286. (1903).
2) C. r. **128**. 1120. (1899); **130**. 1721. (1900); **131**. 392. (1900); **135**. 185. (1902).
3) Virch. A. **176**. 1. (1904). 4) C. r. **132**. 1587. (1901).

bringt oben in seine Höhlung einige Tropfen Wasser oder besser ein Stückchen Eis und erwärmt den Tiegel auf etwa 40°. Indem man zuweilen die Masse im Tiegel mit einem Platindrahte umrührt, lässt man 24 Stunden stehen, entfernt dann durch Schmelzen des Wachses und Waschen mit Petroleum den Wachsüberzug, trocknet das Glas und beobachtet, ob der in den Wachsüberzug gravierte Buchstabe auf der Glasfläche aufgeätzt erscheint, und wenn er nicht sichtbar ist, ob er beim Anhauchen des Glases zum Vorschein kommt.

2. Ebenso lässt sich der Nachweis führen durch Ueberführung des Fluors beim Erhitzen mit Kieselsäure und konc. Schwefelsäure in $SiFl_4$ und Zerlegung dieses Gases durch Wasser (man bringe einen mit Wasser befeuchteten Glasstab in die Dämpfe) in Kieselfluorwasserstoff und Kieselsäurehydrat, das sich als gallertiger Niederschlag oder Beschlag abscheidet.

Vorkommen. 48. **Schwefelwasserstoff H_2S.** Als ziemlich konstanter Bestandteil findet sich Schwefelwasserstoff in dem Gemisch der Gase im Dickdarm, oft auch im übrigen Darme. Er bildet sich bei der Fäulnis in Leichenteilen, sowie in brandigen Abscessen, Pneumothorax, faulendem Eiter auf Geschwüren. Auch bei der Autolyse der Leber und anderer Organe tritt er auf (Magnus-Levy[1]). In Verbindung mit Alkalimetallen erhält man ihn beim Kochen vieler schwefelhaltiger, organischer Substanzen mit Alkalien oder beim Glühen von schwefelsauren Salzen mit Kohle bei gehindertem Luftzutritt.

Eigenschaften. Schwefelwasserstoff ist ein farbloses, wie faule Eier riechendes, vom Wasser reichlich absorbierbares Gas; es färbt feuchtes, blaues Lacmuspapier rot (an der Luft getrocknet wird dies wieder blau), brennt mit bläulicher Flamme und wird durch Oxydationsmittel unter Abscheidung oder gleichzeitiger Oxydation des Schwefels oxydiert. Mit Alkalien verbindet sich Schwefelwasserstoff zu in Wasser löslichen, an der Luft sehr veränderlichen Schwefelmetallen.

Die Lösungen der Schwefelalkalien werden:

1. durch viele Schwermetalle unter Bildung meist gefärbter Sulfide gefällt. Schwefelblei und Schwefelsilber sind schwarz und in verdünnten Säuren unlöslich.

2. durch Nitroprussidnatrium purpurrot gefärbt.

3. sie entwickeln auf Zusatz von Salzsäure Schwefelwasserstoff.

Freier Schwefelwasserstoff gibt die erste, aber nicht die zweite Reaktion.

Nachweis. Zum Nachweis der Schwefelalkalien dient der schwarze Niederschlag (bzw. Schwarzfärbung) auf Zusatz von essigsaurem Blei und die Rotfärbung auf Zusatz von Nitroprussidnatrium.

Zum Nachweise des Schwefelwasserstoffs dienen ausser dem

---

1) B. Ph. P. **2**. 276. (1902).

charakteristischen Geruche noch folgende Proben: Ein Schwefelwasserstoff enthaltendes Gasgemenge färbt 1. einen mit einer Lösung von essigsaurem Blei und etwas Ammoniak befeuchteten Papierstreifen schwarz; 2. einen mit einer Lösung von Nitroprussidnatrium und einem Tropfen verdünnter Natronlauge befeuchteten Papierstreifen purpurrot. Die geringsten Spuren von Schwefelwasserstoff findet man in Gasgemengen, wenn man dieselben durch eine mit überschüssiger Natronlauge versetzte Bleizuckerlösung streichen lässt.

49. **Schwefelsäure H_2SO_4.** Die Schwefelsäure, in sehr geringer Menge im Blute und in den Gewebsflüssigkeiten, mit Ausnahme der Milch auch in allen Secreten enthalten, findet sich nur im Harne etwas reichlicher, wohl stets an Alkalien gebunden. Sie ist im Trinkwasser und in fast allen Nahrungsmitteln enthalten und bildet sich ausserdem im Tierkörper als Oxydationsprodukt der Proteinstoffe. Freie Schwefelsäure findet sich im Speicheldrüsensecret von Dolium galea, Pleurobranchaea und anderen Schnecken. Vorkommen.

Die reine Schwefelsäure stellt eine erst weit über 100° flüchtige, mit Wasser, Alkohol oder Aether in jedem Verhältnisse mischbare, farblose Flüssigkeit dar. Sie ist bei gewöhnlicher Temperatur die stärkste Säure und treibt alle leichter flüchtigen Säuren aus ihren Verbindungen beim Erwärmen aus. Die neutralen schwefelsauren Salze sind in Alkohol und Aether unlöslich. Beim Glühen mit Kohle werden sie zu Schwefelmetallen reduziert; beim Glühen mit Soda und Kohle geben sie Schwefelnatrium, welches in Wasser gelöst metallisches Silber schwarz färbt (Schwefelsilber) und beim Zusatz von Salzsäure Schwefelwasserstoff entwickelt. Eigenschaften.

Die Lösungen schwefelsaurer Salze werden gefällt:

1. Durch Chlorcalcium in concentrierter Lösung. Der krystallinische Niederschlag, schwefelsaurer Kalk, bildet sich, wenn die Lösung nicht sehr concentriert ist, allmählich, ist in viel Wasser löslich, leichter in Salzlösungen, unlöslich in Alkohol.

2. Durch Chlorbarium oder salpetersauren Baryt. Der sehr feinkörnige, leicht durchs Filter gehende Niederschlag, schwefelsaurer Baryt, ist unlöslich in Wasser, kaum löslich in Säuren. In sehr verdünnten Lösungen entsteht er erst nach einigen Sekunden. Durch Erwärmen und Zusatz von Chlorammonium wird er besser filtrierbar. Stark mit Salzsäure oder Salpetersäure versetzte Lösungen geben auch bei Abwesenheit von Sulfaten mit Chlorbarium einen weissen, krystallinischen, in Wasser leicht löslichen Niederschlag.

3. Durch essigsaures Bleioxyd. Der weisse feinkörnige Niederschlag, schwefelsaures Bleioxyd, ist sehr schwer löslich in Wasser oder verdünnten Säuren.

Zum Nachweis der Schwefelsäure benutzt man vor allem das Verhalten gegen Barytsalze, da dies keine Verwechselung zulässt. Nachweis.

Vorkommen. **Unterschweflige Säure $H_2S_2O_3$.** Von Schmiedeberg[1]) und Meissner[2]) als fast regelmässiger Bestandteil des Katzenharns und sehr häufiger Bestandteil des Hundeharns nachgewiesen. Ihr Auftreten in diesen Harnen steht wahrscheinlich in Beziehung zum Cystin, welches im Hundeharn nicht selten ist und bei der Oxydation mit Wasserstoffhyperoxyd unterschweflige Säure liefert. Spiegel[3]) fand auch in einem Fall von menschlicher Cystinurie diese Säure im Harn. Nach Eingabe von Cystin erscheint unterschweflige Säure im Harn von Kaninchen (Wohlgemuth[4]), sie entsteht bei der Fäulnis des Cystin (Wohlgemuth[5]).

Eigenschaften. Die unterschweflige Säure ist im freien Zustande nicht bekannt, in Verbindung mit Natrium erhält man sie am einfachsten durch Kochen einer Lösung von schwefligsaurem Natron mit gepulvertem Schwefel. Ihre Alkali- und Erdalkalisalze sind ebenso wie das Magnesium- und Zinksalz in Wasser löslich, am Wenigsten das Barytsalz, es entsteht daher ein Niederschlag von unterschwefligsaurem Baryt, wenn man eine nicht allzuverdünnte Lösung des Alkalisalzes mit Chlorbarium versetzt. Das Silbersalz ist unlöslich in Wasser, aber leicht löslich in überschüssigem unterschwefligsaurem Alkali. Das unterschwefligsaure Silber schwärzt sich bald durch Bildung von Schwefelsilber. Das Kalk- sowie das Strontiansalz zersetzen sich beim Kochen der Lösung unter Abscheidung von Schwefel. Versetzt man die Lösung eines unterschwefligsauren Salzes mit Salzsäure, so trübt sich die Flüssigkeit bald durch Abscheidung von amorphem Schwefel, in der Lösung ist dann schweflige Säure. Unterschwefligsaure Salze entfärben Jod unter Bildung von jodwasserstoffsauren und tetrathionsauren Salzen.

Darstellung aus Harn. Schmiedeberg stellte unterschwefligsauren Baryt aus Hunde- oder Katzenharn dar, indem er zunächst den Harn mit Kalkmilch und salpetersaurem Kalk fällte, dann durch Kohlensäure im Filtrate den Kalk entfernte, mit Essigsäure oder Salpetersäure neutralisierte und mit Bleiessig fällte. Den mit Wasser ausgewaschenen Bleiniederschlag zerlegte er mit kohlensaurem Ammoniak, entfärbte mit Tierkohle, erwärmte mit Aetzbaryt, so lange Ammoniak ausgetrieben wurde, fällte den überschüssigen Baryt mit Kohlensäure und dampfte das Filtrat zur Krystallisation ein.

Meissner behandelte den Harn sogleich mit Barytwasser im Ueberschusse, filtrierte, dampfte ein, fällte mit Alkohol. Der dicke weisse Niederschlag löste sich grösstenteils in kochendem Wasser und beim Abdampfen und nachherigen Erkalten der Lösung schied sich der unterschwefligsaure Baryt in schönen farblosen Krystallen ab.

Gegen diese Darstellungsmethode ist nur einzuwenden, dass Cystin, welches jedenfalls oft in diesen Harnen vorkommt, bei dem längeren Erwärmen mit Barytwasser Schwefelbarium und durch Einwirkung der Luft unterschwefligsauren Baryt liefern kann.

Nachweis. Den einfachsten Nachweis der unterschwefligen Säure im Harne erhält man durch Zusatz von starker Salzsäure, der Harn wird bei ihrer Anwesenheit bald milchigtrübe und setzt im Verlaufe mehrerer Tage Schwefel mit anderen Substanzen (Kynurensäure usw.) ab. Der Schwefel kann dann mit frisch rectificiertem Schwefelkohlenstoff gelöst und durch Verdunsten der Lösung rein erhalten werden.

Vorkommen. 50. **Phosphorsäure H_3PO_4.** Nächst dem Calcium ist die Phosphorsäure im Körper der Wirbeltiere am reichlichsten von allen anorganischen Substanzen enthalten und zwar besonders in den Knochen und Zähnen, hier nur an Calcium und Magnesium gebunden; sie findet sich mit diesen Me-

1) Arch. d. Heilkunde. **8**. 422. (1867).
2) Zeitschr. f. rat. Med. **31**. 322 Anm. (1868).
3) Virch. A. **166**. 364. (1901). 4) H.-S. **40**. 81. (1903/04).
5) H.-S. **43**. 469. (1904/05).

tallen und mit Alkalimetallen verbunden in geringer Menge in allen tierischen Flüssigkeiten, besonders auch im Harne, ist ein gewöhnlicher Bestandteil der Harnsteine und anderer Konkremente und bildet sich bei der Zerlegung der Nuclein- und Paranucleinstoffe, der Phosphatide, der Glycerinphosphorsäure und anderer wenig bekannter phosphorhaltiger Verbindungen.

Eigenschaften.

Sie ist eine farblose Säure, die bei gewöhnlicher Temperatur leicht aus ihren neutralen Salzen einen Teil des Metalls an andere Säuren abtritt und saure Salze bildet, in der Hitze dagegen die meisten Säuren aus ihren Salzverbindungen austreibt. Beim Erhitzen geht sie unter Wasserverlust in Pyro- und endlich in Metaphosphorsäure über, welche durch Glühen mit kohlensaurem Natron wieder in gewöhnliche Phosphorsäure umgesetzt werden. Beim lebhaften Erhitzen der freien Säure in offener Platinschale verdampft sie, ihre neutralen Alkalisalze werden beim Erhitzen mit Kohle nicht zerlegt, die Verbindungen mit schweren Metallen dagegen werden durch Glühen mit organischen Stoffen zersetzt.

Die Phosphorsäure ist dreibasisch, gibt also mit Metallen drei Reihen von Verbindungen, ein neutrales und zwei saure Salze und viele Doppelsalze. Die Verbindungen mit Alkalien sind löslich in Wasser, unlöslich in Alkohol; die neutralen Verbindungen mit alkalischen Erden sind alle unlöslich in Wasser, etwas löslich in kohlensäurehaltigem Wasser, unlöslich in Ammoniak, leicht löslich in Mineralsäuren, auch löslich in Essigsäure.

Die Verbindungen mit 1 Aequivalent Alkali röten blaues Lacmus, lassen Lacmoid blau, Phenolphtalein oder Curcuma farblos resp. gelb. Die Verbindungen von 1 Aequiv. Phosphorsäure mit 2 Aequiv. Alkali lassen Curcuma und Phenolphtalein unverändert, färben aber rotes Lacmus blau. Die Verbindungen mit 3 Aequiv. Alkali färben auch Curcuma braun, Phenolphtalein rot. Freie Phosphorsäure färbt auch Lacmoid rot.

Die nur zwei Atome feuerbeständige Basis enthaltenden Salze werden beim Glühen in pyrophosphorsaure Salze umgewandelt.

Die Lösungen phosphorsaurer Salze werden gefällt:

1. Durch Chlorbarium oder Chlorcalcium und Ammoniak; der weisse flockige Niederschlag ist unlöslich in Ammoniak, löslich in Essigsäure und in Mineralsäuren.

2. Durch salpetersaures Silber; der gelbe Niederschlag ist in Säuren oder Ammoniak leicht löslich.

3. Durch Magnesiamischung (Anh.); in nicht zu verdünnten Lösungen entsteht der weisse Niederschlag als feinkörniges Pulver sofort, in sehr verdünnten allmählich sich als Krystalle an den Glaswandungen absetzend. Der Niederschlag, phosphorsaure Ammoniak-Magnesia, ist leicht löslich in Säuren, unlöslich in Ammoniak.

4. Durch wenig Eisenchlorid (in nur Essigsäure als freie Säure ent-

haltender Lösung) als flockiger gelblichweisser Niederschlag, phosphorsaures Eisenoxyd. (Eigenschaften des Niederschlags siehe § 41, 5.)

5. Durch Lösung von molybdänsaurem Ammoniak in Salpetersäure (Anh.). Der gelbe Niederschlag entsteht bei gewöhnlicher Temperatur langsam, beim Erwärmen schneller und überhaupt nur dann, wenn die Lösung weniger Phosphorsäure als zu ihrer Ausfällung erforderliches molybdänsaures Ammoniak enthält und keine Weinsäure zugegen ist; er ist unlöslich allein in der Lösung des Fällungsmittels selbst. Gegenwart von Salzsäure beeinträchtigt diese Fällung sehr.

6. Durch Uranylsalzlösungen bei Gegenwart von Natriumacetat als gelblichweisser flockiger Niederschlag von Uranylphosphat.

Nachweis. Zum Nachweis dienen die unter 3. und 5. aufgeführten Reaktionen.

Pyrophosphorsäure $H_4P_2O_7$ bildet sich aus der gewöhnlichen Phosphorsäure, wenn entweder sie selbst oder ihre Salze, die nur zwei Atome feuerbeständiger Basen enthalten, stark erhitzt werden. Sie bildet sich z. B. bei Verkohlung und Veraschung des Gehirns und anderer lecithinreicher Substanzen.

Die pyrophosphorsauren Alkalien sind in Wasser löslich, die Salze der alkalischen Erden nur in Lösungen anderer Salze. Die Lösungen pyrophosphorsaurer Alkalien geben:

1. mit salpetersaurem Silber einen weissen, in Salpetersäure sowie in Ammoniak löslichen Niederschlag;

2. mit schwefelsaurer Magnesia einen weissen, flockigen Niederschlag, der sowohl in überschüssiger schwefelsaurer Magnesia als in überschüssigem phosphorsaurem Alkali sich löst. Durch Ammoniak wird diese Lösung nicht gefällt;

3. mit Luteocobaltchlorid (Cobaltihexaminchlorid) bei mässiger Verdünnung sogleich, bei starker Verdünnung erst beim Umschütteln einen blassrötlichgelben krystallinischen Niederschlag, während die Lösungen der Alkalisalze der gewöhnlichen Phosphorsäure und der Metaphosphorsäure erst nach einigen Stunden Niederschläge geben, die auch durch ihr Ansehen von dem der Pyrophosphorsäure leicht zu unterscheiden sind.

Durch Kochen mit Säuren oder Glühen mit Alkalien oder alkalischen Erden geht die Pyrophosphorsäure in gewöhnliche Phosphorsäure über.

Arsen As. findet sich nach Gautier und Bertrand in ganz geringen Spuren physiologischer Weise in weiter Verbreitung in den Geweben. Hödlmoser[1]) u. a. konnten die Angaben nicht bestätigen. Vermutlich erklären sich diese Unterschiede aus örtlichen Verhältnissen (Vorhandensein oder Fehlen von Arsen in Nahrung, Wasser, Boden usw.).

Vorkommen. 51. **Kieselsäure SiO_2.** Aus ihr bestehen die Panzer der niedrigsten Tierklassen (Bacillarien, Infusorien). Sie findet sich als unlösliche Kieselsäure reichlich in den Federn der Vögel (hier nach Drechsel[2]) auch in organischer esterartiger Verbindung), in geringer Menge in den Haaren der Säugetiere. Als lösliche Kieselsäure findet sie sich im Harn der Pflanzenfresser in leicht nachweisbarer Menge, im menschlichen Harn nur in Spuren; H. Schulz[3]) stellte ihr Vorkommen im Bindegewebe fest. Kunkel[4]) fand sie regelmässig im Pancreas.

---

1) H.-S. **33**. 329 (1901); siehe auch Cerny H.-S. **34**. 408 (1901/02) u. Kunkel H.-S. **44**. 511 (1905), wo sich auch die Literatur angegeben findet.

2) C. f. Ph. **11**. 361. (1898.)

3) Pfl. A. **84**. 67. (1901), **89**. 112. (1902). D. m. W. 1903. 673.

4) Sitzungsber. d. physik.-medic. Ges. zu Würzburg 1898. 78.

Die wasserfreie Kieselsäure stellt ein feuerbeständiges, weisses, in gewöhnlichem Feuer nicht schmelzbares Pulver dar, das in Wasser oder Säuren nach dem Trocknen in der Hitze unlöslich ist. Wird die lösliche Säure aus ihren alkalischen Verbindungen durch Säuren abgeschieden, so bleibt sie zunächst gelöst, bildet beim Concentrieren der sauren Lösung eine Gallerte mit dem noch rückständigen Wasser und bleibt beim Eintrocknen und Erhitzen des Rückstandes als weisse pulverige, in Wasser und in Säuren unlösliche, in kochender Alkalilauge lösliche Masse zurück. Fluorwasserstoff löst die Kieselsäure zu Fluorsiliciumgas, welches sich mit Wasser in Kieselfluorwasserstoff und gallertige Kieselsäure zerlegt (s. § 47, 2). Eigenschaften.

Zum Nachweis der Kieselsäure in Aschen (die in Platingefässen angefertigt sein müssen) fügt man zu denselben mässig verdünnte Salzsäure in genügendem Ueberschusse, verdunstet zur Trockne, erhitzt den Rückstand einige Minuten auf dem Sandbade über 100°, so lange saure Dämpfe entweichen, lässt erkalten, übergiesst mit verdünnter Salzsäure und erwärmt; ist Kieselsäure vorhanden, so bleibt sie als feines weisses Pulver zurück, welches mit überschüssiger wässeriger Flusssäure in einer Platinschale verdampft, sich ganz verflüchtigt. Nachweis.

Ammoniak NH_3.

52. In Verbindungen mit Säuren findet sich Ammoniak im Magen- und Darminhalte, besonders im Dickdarme oft reichlich, im Harne in geringen wechselnden Mengen normal, bei manchen Krankheiten reichlicher. Regelmässig findet es sich im Blut, in der Milch und, so weit die Untersuchungen reichen, in allen Organen. Bei der Fäulnis von Harn, Blut, Eiter, tierischen Geweben und Organen bildet es sich reichlich, ebenso bei der Zersetzung von Harnstoff, Proteinen usw. durch Kochen mit starken Säuren oder Alkalien; es entsteht auch bei der Pancreasverdauung der Eiweissstoffe. Vorkommen.

Das freie Ammoniak ist ein farbloses Gas von eigentümlichem, stechendem Geruche, welches bei gewöhnlicher Temperatur sehr reichlich vom Wasser absorbiert wird und aus wässerigen Flüssigkeiten beim Kochen oder Stehen an der Luft nur langsam vollkommen entweicht. Es färbt feuchtes rotes Lacmuspapier blau, Curcumapapier braun, mit Mercuronitratlösung befeuchtetes Papier schwarz, Cochenilletinktur carminrot. Das Ammoniak verbindet sich direkt mit Säuren zu Salzen, als Gas gibt es mit dem Dampfe von Säuren, wie Salzsäure, Salpetersäure, Essigsäure, weisse Nebel, welche aus Ammoniaksalzen bestehen. Die Verbindungen des Ammoniaks mit Säuren gleichen den entsprechenden Verbindungen des Kalis und geben auf die gleiche Weise wie diese Niederschläge mit Platinchlorid, Weinsäure, Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdänsäure. Das durch Fällung der Ammoniaklösungen mit Platinchlorid erhaltene hellgelbe, feinkrystallinische Ammoniumplatinchlorid ist in Wasser schwer, in Alkohol und Aether fast gar nicht löslich; beim Erhitzen zerlegt es sich unter Verflüchtigung von Salzsäure und Chlorammonium und Hinterlassung von metallischem Platin. Aus seinen Salzen wird das Ammoniak durch Eigenschaften.

Alkalien oder alkalische Erden in Freiheit gesetzt und kann durch die oben beschriebenen Eigenschaften leicht erkannt werden.

Nachweis. Zum Nachweis von freiem Ammoniak in Flüssigkeiten ist es zweckmässig, die zu prüfende Flüssigkeit in ein Becherglas zu bringen, ohne dessen Rand damit zu benetzen; man bedeckt das Becherglas mit einer reinen Glasplatte, an deren untere Seite ein Stück feuchtes rotes Lacmuspapier angelegt ist. Enthält die Flüssigkeit auch nur Spuren von Ammoniak, so wird das Papier nach einiger Zeit blau gefärbt. Bei Anwesenheit stickstoffhaltiger organischer Stoffe, die leicht zersetzlich sind, darf man die Flüssigkeiten nicht zu lange vor der Prüfung stehen lassen, da man sonst befürchten muss, dass eine Zerlegung unter Ammoniakentwickelung eintritt. Auf Ammoniaksalze prüft man die Flüssigkeiten in gleicher Weise, nachdem man einen genügenden Ueberschuss von Kalkmilch oder, bei Anwesenheit von leicht zersetzlichen stickstoffhaltigen Substanzen, z. B. Proteinen, von Magnesia hinzugefügt hat.

Nachweis von Ammoniak in Spuren. Flüssigkeiten, die selbst nur Spuren von freiem Ammoniak enthalten, geben mit einigen Tropfen Quecksilberchlorid versetzt weisse Trübung oder Niederschlag von Quecksilberammoniumchlorid, mit Nessler's Reagens (Anh.) versetzt braune Fällung oder gelbe Färbung. Diese letztere Reaktion tritt auch ein bei Anwesenheit von Spuren von Ammoniaksalzen. Natürlich dürfen die zu prüfenden Flüssigkeiten keine anderen Substanzen, welche durch diese Reagentien gefällt werden, enthalten. Ist das der Fall, so empfiehlt es sich, den Nachweis mit Hülfe des Nesslerschen Reagens in der Weise zu führen, dass man mittelst eines Aspirators Luft durch drei mit einander verbundene Kugelapparate leitet, von denen der erste mit Schwefelsäure, der zweite mit der zu untersuchenden Flüssigkeit und der dritte mit Nessler's Reagens gefüllt ist. Die durch Schwefelsäure von Ammoniak völlig befreite Luft entzieht der zu prüfenden Flüssigkeit allmählich das freie Ammoniak vollständig und bewirkt beim Durchstreichen durch die alkalische Jodquecksilber-Jodkaliumlösung einen braunen Niederschlag oder mindestens eine gelbe Färbung.

2. Organische Stoffe oder Kohlenstoffverbindungen.

Allgemeines.

53. Die sogenannten organischen Körper oder Kohlenstoffverbindungen sind beim anhaltenden Erhitzen unter Zutritt der atmosphärischen Luft entweder unzersetzt oder unter Zersetzung flüchtig. Die letzteren, d. h. die in der Hitze sich zerlegenden organischen Stoffe geben bei dem Erhitzen fast alle zunächst Kohle, welche dann beim weiteren Glühen mit dem Sauerstoff der Luft zu Kohlensäure verbrennt. Beim Erhitzen mit leicht oxydierenden Körpern, wie Kupferoxyd, Salpeter, chlorsaurem Kali, wird der ganze Kohlenstoffgehalt zu Kohlensäure, der ganze Wasserstoff-

gehalt zu Wasser oxydiert. Erhitzt man dagegen organische Stoffe bei Ausschluss oder unzureichender Menge von Sauerstoff oder oxydierenden Substanzen, so treten ausser Kohlensäure und Wasser noch andere meist sehr mannigfaltige flüchtige Zersetzungsprodukte auf und Kohle bleibt zurück.

Alle hierher gehörigen Körper mit Ausnahme der gasförmigen Kohlensäure und der Schwefelcyanverbindungen enthalten Wasserstoff, alle mit wenigen Ausnahmen (z. B. Schwefelcyanverbindungen, Adenin) auch Sauerstoff. In vielen Kohlenstoffverbindungen findet sich ausserdem Stickstoff, welcher beim Erhitzen als Ammoniak oder Ammoniakverbindung entweicht. Nur wenige der im Folgenden abgehandelten Stoffe enthalten Schwefel, noch weniger Phosphor (und zwar letzteren stets in der Verbindung der Phosphorsäure), Eisen oder Jod.

Zur Erkennung organischer Stoffe erhitzt man ein wenig der zu prüfenden Substanz auf Platinblech zuerst sehr vorsichtig, allmählich bis zum Glühen. Die meisten organischen Stoffe, die hierher gehören, werden bei dieser Erhitzung unter Hinterlassung von Kohle zerlegt, auch diese verbrennt beim weiteren Glühen und man erkennt dann, ob ausser der organischen Substanz sich noch schmelzbare oder unschmelzbare anorganische Stoffe in der Probe befinden. Andere verflüchtigen sich ohne Bildung von Kohle, z. B. Ammoniaksalze, organische flüchtige Säuren, Oxalsäure.

Zur weiteren Specialisierung ist es erforderlich, einen organischen Stoff, über dessen Zusammensetzung man keine hinreichende Kenntnis besitzt, auf Gehalt an Stickstoff, Schwefel, Phosphor, Eisen, Jod zu untersuchen.

54. **Untersuchung organischer Stoffe auf Stickstoffgehalt.** Körper, welche viel Stickstoff enthalten, entwickeln beim Erhitzen den Geruch nach verbranntem Horn oder Leim und die sich entwickelnden Gase geben die Reaktionen des freien Ammoniaks. Zur sicheren Prüfung schlägt man folgende Wege ein:

a) Man vermischt die zu untersuchende Substanz mit vorher geglühtem Natronkalk im Ueberschusse und erhitzt dann das Gemenge im Glaskölbchen. Ist die Substanz stickstoffhaltig, so entweicht Ammoniak gasförmig und wird an seinem Geruche, Verhalten gegen feuchtes, rotes Lacmuspapier, gegen Essigsäure usw. (vergl. § 52) erkannt.

b) Sehr scharfe Erkennung des Stickstoffgehaltes in organischen Körpern gestattet Lasseigne's Methode. Man bringt die trockene Substanz in ein trockenes Probierröhrchen, wirft ein Stückchen metallisches Natrium dazu und erhitzt nun allmählich bis zum Glühen. Beim Glühen des Natrium mit Kohlenstoff und Stickstoff enthaltenden Substanzen bildet sich Cyannatrium. Zertrümmert man jetzt das noch warme Glas durch Aufstossen in einem wenige Cubikcentimeter Wasser enthaltendem Bechergläschen, rührt um, filtriert und fügt zum klaren Filtrate etwas Eisenvitriol und etwas

Eisenchlorid hinzu, so entsteht nach Zusatz von Salzsäure grüne bis blaue Färbung oder blauer Niederschlag (Berliner Blau). Ist die Färbung grün, so filtriert man mehrmals durch dasselbe Filter und überzeugt sich, dass ein blauer Niederschlag zurückbleibt.

55. **Untersuchung organischer Stoffe auf Schwefelgehalt.** Der Schwefel kann in organischen Stoffen als locker gebundener oder als festgebundener vorkommen. Als locker gebundenen bezeichnet man den Schwefel, welcher beim Kochen mit starker Alkalilauge als Schwefelalkali abgespalten wird.

Nachweis des Schwefels. Man mischt die zu untersuchende (sulfatfreie) Substanz mit der vielfachen Menge eines Gemisches von 1 Tl. Soda und 2 Tl. Salpeter im Platinschälchen, glüht vorsichtig bis zum Verschwinden der Kohle, löst nach dem Erkalten in Wasser, säuert die event. filtrierte Lösung mit Salzsäure an und versetzt mit Chlorbariumlösung. Trübung oder Niederschlag ($BaSO_4$) beweisen das Vorhandensein von Schwefel. Bei sehr geringem Gehalt an Schwefel ist es nötig, vor dem Zusatz von Chlorbarium die Flüssigkeit wiederholt nach Zusatz von viel Salzsäure zur Trockne abzudampfen, um die Salpetersäure zu entfernen; auch ist es in diesem Falle zweckmässig, die Probe bis zum nächsten Tag stehen zu lassen.

Nachweis des locker gebundenen Schwefels. Man kocht die Substanz mit starker Natronlauge und etwas Bleiacetat längere Zeit. Braunfärbung bzw. schwarzer Niederschlag von Schwefelblei zeigen locker gebundenen Schwefel an.

56. **Untersuchung organischer Stoffe auf Phosphorgehalt.** Die (von Phosphaten freie) Substanz wird mit der vielfachen Menge einer Mischung von 1 Tl. Soda und 2 Tl. Salpeter gemengt in einer Platinschale bis zum Verschwinden der Kohle vorsichtig geglüht, die Masse nach dem Erkalten entweder

a) in überschüssiger verdünnter Salpetersäure gelöst, die Lösung zum Kochen erhitzt, etwas eingeengt und mit einer Lösung von molybdänsaurem Ammoniak (Anh.) im Ueberschuss versetzt. Bei Anwesenheit von Phosphor entsteht allmählich, schneller bei 40°, eine Gelbfärbung bzw. ein gelber Niederschlag von phosphormolybdänsaurem Ammoniak; oder

b) in Salzsäure gelöst, die Lösung mit Ammoniak übersättigt und mit Magnesiamischung (Anh.) versetzt. Bei Anwesenheit von Phosphor entsteht ein weisser Niederschlag von Ammoniummagnesiumphosphat.

57. **Untersuchung organischer Stoffe auf Eisengehalt.** Man verascht die (von organischen Eisenverbindungen freie) Substanz mit der vielfachen Menge eines Gemisches von 1 Tl. Soda und 2 Tl. Salpeter in einer Platinschale, löst die Schmelze in Salzsäure und prüft das Filtrat nach § 41 mit Rhodankalium oder Ferrocyankalium auf Eisen.

Die benutzten Reagentien müssen frei von Eisen sein.

58. **Untersuchung organischer Stoffe auf Jodgehalt.** Die Substanz wird in einem Nickeltiegel mit etwas Wasser übergossen und nach Zugabe von der doppelten Menge Aetznatron (jodfrei aus metall. Natrium hergestellt) bis zur völligen Verkohlung erhitzt, darauf die gleiche bis anderthalbfache Menge fein gepulverter Salpeter zugefügt und geglüht, die Schmelze nach dem Abkühlen in Wasser heiss gelöst und filtriert. Beim Schütteln des abgekühlten und mit Schwefelsäure angesäuerten Filtrats mit Chloroform färbt sich dieses violett, wenn Jod vorhanden war.

Bezüglich der Beschreibung der einzelnen organischen Verbindungen gilt dasselbe, was § 36 in Betreff der anorganischen gesagt wurde; sie nimmt in erster Linie Rücksicht auf die analytischen Zwecke dieses Buches.

Einbasische gesättigte und ungesättigte Fettsäuren.

59. Die in menschlichen und tierischen Organismen und ihren Excreten vorkommenden hierher gehörenden Glieder dieser einbasischen Säuregruppen sind:

		Spec. Gewicht	bei Temp.	Siedepunkt	b. Druck mm	Schmelzpunkt
Ameisensäure	CH_2O_2	1,2415	0°	100,8°	760	+ 8,6°
Essigsäure	$C_2H_4O_2$	1,0701	0°	118,1°	„	+ 16,5°
Propionsäure	$C_3H_6O_2$	1,0133	0°	140,9°	„	— 22,0°
Buttersäure	$C_4H_8O_2$	0,9781	0°	162,5°	„	— 7,9°
Isobuttersäure	$C_4H_8O_2$	0,9651	0°	154,0—154,2°	„	— 79,0°
Valeriansäure	$C_5H_{10}O_2$	0,956	0°	185°	„	— 58,5°
Isovaleriansäure	$C_5H_{10}O_2$	0,9467	0°	173,7°	„	— 51,0°
d-Valeriansäure	$C_5H_{10}O_2$	0,948	15°	173—174°	„	—
Capronsäure	$C_6H_{12}O_2$	0,9446	0°	204,5—205°	„	— 1,5°
d-Capronsäure	$C_6H_{12}O_2$	0,930	15°	196—198°	770	—
Caprylsäure	$C_8H_{16}O_2$	0,9270	0°	236—237°	„	+ 16,5°
Caprinsäure	$C_{10}H_{20}O_2$	0,930	37,0°	268—269°	„	+ 31,3 bis + 31,4°
Laurinsäure	$C_{12}H_{24}O_2$	0,8750	43,6°	225,0°	100	+ 43,6°
Myristinsäure	$C_{14}H_{28}O_2$	0,8622	53,8°	250,5°	„	+ 53,8°
Palmitinsäure	$C_{16}H_{32}O_2$	0,8527	62,0°	268,5°	„	+ 62,6°
Stearinsäure	$C_{18}H_{36}O_2$	0,8454	69,2°	291,0°	„	+ 69,2°
Arachinsäure	$C_{20}H_{40}O_2$	—	—	—	—	+ 75,0°
Hyaenasäure	$C_{25}H_{50}O_2$	—	—	—	—	+ 77—78°
Cerotinsäure	$C_{26}H_{52}O_2$	—	—	—	—	+ 78,5°
Oleinsäure	$C_{18}H_{34}O_2$	0,898	14°	223°	10	+ 14°
Gadoleinsäure	$C_{20}H_{38}O_2$	—	—	—	—	+ 24,5°
Erucasäure	$C_{22}H_{42}O_2$	—	—	254,5°	10	+ 34°

Säuren der Reihe $C_nH_{2n}O_2$.

Vergleicht man zwei in ihrer Zusammensetzung einander nahe stehende Glieder der Säurereihe $C_nH_{2n}O_2$ hinsichtlich ihrer chemischen Eigenschaften, so ist es nur bei einigen bis jetzt möglich, bestimmte Unterschiede beider aufzufinden, die nicht blos graduelle Differenzen wären, während die weit auseinander liegenden Glieder sich ziemlich leicht von einander trennen und in ihren physikalischen und chemischen Eigenschaften unterscheiden lassen. Die Schwierigkeit des Nachweises dieser Substanzen im Einzelnen wird

durch den Umstand noch wesentlich erhöht, dass gerade die in ihrer Zusammensetzung einander nahe stehenden Säuren in den Organismen zusammen in denselben Organen, in denselben Flüssigkeiten vorzukommen pflegen. So finden sich in dem menschlichen und tierischen Fett als wesentliche Bestandteile wohl überall Palmitinsäure, Stearinsäure und Oelsäure neben einander in verschiedenen Mengenverhältnissen in Verbindung mit Glycerin, während die Glyceride der Myristinsäure, Laurinsäure, Caprin-, Capryl-, Capron- und Buttersäure sich nicht konstant darin finden und wo sie überhaupt darin auftreten, nur in relativ geringen Mengen sich zeigen. Andererseits sind in tierischen Flüssigkeiten die niedrigen Homologen, wenn auch nur in geringer Menge, so doch reichlicher als die Fettsäuren von höherem Moleculargewicht vorhanden; letztere können auch ganz fehlen. Bei der bacteriellen Zersetzung der Kohlehydrate, Proteine bilden sich viele der obigen Säuren neben einander, ohne dass es erwiesen wäre, ob sie alle dabei entstehen können, zweifelhaft ist es besonders für die Säuren von der Laurinsäure bis zur Stearinsäure. Nur in den festen Excrementen, sowie im Dickdarminhalte sind fast alle obige Säuren enthalten, teils aus der Nahrung herrührend, teils im Darmkanale gebildet.

Allgemeine Eigenschaften.

Die niederen Glieder der Reihe $C_nH_{2n}O_2$ sind in Wasser leicht lösliche Flüssigkeiten von stechendem Geruch, die mittleren ölige in Wasser wenig lösliche Substanzen von unangenehmem, schweissartigem Geruch, die höheren feste in Wasser unlösliche Körper ohne Geruch. Alle sind in Alkohol und besonders in Aether löslich. Die niederen und mittleren bis zur Caprinsäure destillieren mit den Wasserdämpfen und auch für sich unzersetzt, die höheren gehen nur im luftverdünnten Raum ohne Zersetzung über. Zur Identificierung haben für die Säuren von niedrigerem Molecargewicht die Siedepunkte hohe Bedeutung, für die von hohem Molecargewicht die Schmelzpunkte. Wo keine Angaben über spec. Gewicht und Siedepunkt gemacht sind, fehlen noch zuverlässige Bestimmungen. Ueber die Methoden der Abscheidung und Trennung der Fettsäuren siehe § 73 A und B.

Wegen der grossen Aehnlichkeit unter einander kann die specielle Schilderung der einzelnen hierher gehörenden Säuren sich sehr kurz fassen.

Vorkommen. H—COOH

60. **Ameisensäure CH_2O_2.** In ziemlich concentrierter Lösung findet sich freie Ameisensäure in den Ameisen; auch in Raupen hat man sie nachgewiesen (Processionsraupe). Im menschlichen Körper soll sie in der Milzflüssigkeit vorhanden sein, auch vom Schweisse, Blute, Harne, von den Muskeln, dem Pancreas, der Thymus wird ihr Vorkommen angegeben. Sie entsteht bei Zersetzung des Blutfarbstoffes sowie eines im Harne häufig auftretenden, kaum gekannten Körpers durch Säuren, ferner bei der Oxydation von Eiweiss und Kohlehydraten mit Braunstein und Schwefelsäure, von Eiweiss und Leim mit Calciumpermanganat, sowie auch bei der hydrolytischen Spaltung der Hexosen (und solcher Kohlehydrate, die beim Kochen

mit verd. Säuren Hexosen liefern) neben Lävulinsäure und Huminsubstanzen, auch bei der Autolyse der Leber.

Künstlich dargestellt wird sie am besten durch Destillation von entwässerter Oxalsäure mit trocknem Glycerin. Darstellung.

Die Ameisensäure ist eine farblose Flüssigkeit von stechendem für sie charakteristischem Geruch. Smp. u. Sdp. siehe S. 55. Ihre Salze sind alle in Wasser leicht löslich, am schwersten das Quecksilberoxydulsalz, welches sich jedoch, wie weiter unten angegeben, leicht zerlegt. Das Bleisalz ist in 63 Teilen Wasser von 16° löslich; man benutzt es zweckmässig zur Analyse. Das Zinksalz ist in absol. Alkohol völlig unlöslich (Unterschied von essigsaurem und buttersaurem Zink Haberland[1]). Das Kalksalz krystallisiert wasserfrei. 100 Teile Wasser lösen bei 20° 16,60 Teile des Kalksalzes (Lumsden[2]). Eine neutrale Flüssigkeit, welche Ameisensäure enthält, gibt mit neutralem Eisenchlorid eine dunkelrote Färbung der Lösung und beim Kochen gelben Niederschlag eines basischen Salzes. Eigenschaften. Hg salz. Pb salz. Zn salz. Ca salz. Fe salz.

Die Ameisensäure unterscheidet sich von allen ihren Homologen durch ihre leichte Zerlegung. Sie zersetzt sich in Berührung mit feinverteiltem Rhodium zu Kohlensäure und Wasserstoff unter Freiwerden von Wärme; dieselbe Zersetzung bewirken Mikroorganismen, z. B. im Kloakenschlamm enthaltene. Durch Erhitzen mit concentrierter Schwefelsäure zerfällt sie in Kohlenoxyd und Wasser, durch Erhitzen mit Aetzkali oder besser Baryt bildet sie unter Wasserstoffentwickelung Oxalsäure. Salpetersaures Silber wird durch Ameisensäure beim Kochen schnell zu metallischem Silber reduciert, während Kohlensäure entweicht. Quecksilberoxydsalze, auch Quecksilberchlorid werden zunächst durch Erwärmen mit Ameisensäure in Oxydulsalze unter Kohlensäureentwickelung umgewandelt, beim fortgesetzten Erwärmen (allmählich bei gewöhnlicher Temperatur) tritt Reduction zu metallischem Quecksilber unter erneuter Entwickelung von Kohlensäure ein. Fügt man daher zu einer sauren Lösung von Ameisensäure Silberoxyd oder Quecksilberoxyd und kocht, so wird die Ameisensäure völlig zu Kohlensäure und Wasser zersetzt. Auf diese Weise lässt sich Ameisensäure aus Flüssigkeiten entfernen. Zersetzungen.

Zu ihrem Nachweis dient das Verhalten gegen salpetersaures Silber sowie gegen Eisenchlorid. Nachweis.

61. **Essigsäure $C_2H_4O_2$.** Freie Essigsäure findet sich normal in menschlichen Fäcalstoffen, pathologisch nicht selten im Mageninhalte (Erbrochenen) bei Störungen der Magenverdauung, auch ohne vorangegangenen Essiggenuss, durch eine daselbst verlaufende Gärung von Milch, Brot usw. entstanden, besonders häufig bei kleinen Kindern, zusammen mit freier Milchsäure. Nur in geringen Spuren sind essigsaure Salze im Safte verschiedener Vorkommen $\begin{matrix} CH_3 \\ | \\ COOH \end{matrix}$

1) Z. anal. Ch. **38**. 217. (1899.)
2) J. Ch. S. **81**. 350. (1902.)

Organe (Milz, Muskeln), im Blute bei Leukämie, im Schweisse, in der Galle, im Harn nachgewiesen. Sie entsteht bei der Fäulnis der Proteine, bei der Gärung von Kohlehydraten (daher ihr häufiges und reichliches Vorkommen im aufbewahrten, diabetischen Harn), bei der trocknen Destillation und Oxydation von Kohlehydraten, bei der Oxydation von Eiweissstoffen und Leim mit Calciumpermanganat, bei der hydrolytischen Spaltung der Mucine und anderer Substanzen, die bei dieser Behandlung Glukosamin liefern, bei der Autolyse der Leber.

Darstellung. Man stellt die Essigsäure durch Gärung von Wein oder Bier mit Essighefe (Mycoderma aceti) oder aus den Produkten der trocknen Destillation des Holzes dar; die concentrierte wird gewöhnlich durch Destillation von getrocknetem essigsauren Natron mit concentrierter Schwefelsäure erhalten.

Eigenschaften. Die Essigsäure besitzt einen bekannten, charakteristischen Geruch. Smp. u. Sdp. siehe S. 55. Sie mischt sich mit Wasser und Alkohol in jedem Verhältnisse, wird durch concentrierte Schwefelsäure beim Erhitzen kaum angegriffen (meist geringe Schwärzung unter Entwickelung von schwefliger Säure). Die neutralen Salze sind in Wasser löslich, schwer löslich bei gewöhnlicher

Ag salz. Temperatur das Silber- und das Mercurosalz. Salpetersaures Silber gibt mit hinreichend concentrierten Lösungen essigsaurer Salze weissen Niederschlag von essigsaurem Silber, das in heissem Wasser leichter löslich ist und sich beim Erkalten der heiss concentrierten Lösung in blätterigen Krystallnadeln, löslich bei 14° in 98 Tln. Wasser, ausscheidet; Reduction des Silbers tritt

Ca salz. beim Kochen nicht ein. Das Calciumsalz krystallisiert aus Wasser mit 2 Mol. H_2O, aus Wasser oberhalb 84° mit 1 Mol. H_2O. Seine Löslichkeit in Wasser nimmt mit steigender Temperatur etwas ab. 100 Tl. lösen bei

Fe salz. 0° 37,40, bei 100° 29,65 Tl. wasserfreies Salz (Lumsden). Gegen Eisenchlorid verhalten sich die neutralen Salzlösungen der Essigsäure wie die der Ameisensäure.

Nachweis. Zu ihrem Nachweis dient das Verhalten der neutralen Lösungen ihrer Salze gegen Eisenchlorid (Ameisensäure verhält sich ebenso), der Geruch nach Essigsäureäthylester, welcher beim Erwärmen ihrer Salze mit einem Gemisch gleicher Volumina conc. Schwefelsäure und Alkohol auftritt, sowie der Kakodylgeruch, der beim Erhitzen von trocknem Alkaliacetat mit Arsenigsäureanhydrid entsteht. Indessen verhalten sich andere Fettsäuren bei diesen Reaktionen ähnlich. Eine Entscheidung gibt die Analyse des Silbersalzes.

CH_3
|
CH_2
|
$COOH$

62. **Propionsäure $C_3H_6O_2$** soll sich im Schweisse, in der Galle und zuweilen auch im Mageninhalte finden. Sie entsteht leicht bei Gärungen von milchsaurem Kalk neben Essigsäure und Buttersäure. Man stellt sie durch Kochen von Propionnitril mit Kalilauge oder durch Reduktion von Milchsäure dar.

Die reine Propionsäure besitzt einen der Essigsäure ähnlichen Geruch. Smp. u. Sdp. siehe S. 55. Sie mischt sich in jedem Verhältnisse mit Wasser, wird aber durch viel Chlorcalcium oder andere leicht lösliche Salze aus der Lösung als ölige Flüssigkeit abgeschieden.

Ihre Salze sind gleichfalls denen der Essigsäure sehr ähnlich. Das Natronsalz ist leichter löslich in Wasser als das essigsaure Natron. Das basische Bleisalz, das sich in kaltem Wasser leicht löst, ist in kochendem Wasser fast unlöslich und unterscheidet sich dadurch von den Bleisalzen der Ameisensäure, Essigsäure, Buttersäure (Haberland[1]). Das Kalksalz krystallisiert mit 1 Mol. H_2O, das erst bei 100° entweicht. Die Löslichkeit in Wasser nimmt mit steigender Temperatur bis zu 55° ab, dann zu. Bei 20° lösen 100 Tl. Wasser 39,85 Tl. (Lumsden).

63. **Buttersäure $C_4H_8O_2$.** Die normale Buttersäure wurde zuerst in der Butter entdeckt, in welcher sie an Glycerin gebunden ist und beim Ranzigwerden der Butter zum Teil frei wird; sie findet sich als Glycerinverbindung auch im Frauenmilchfett und ist ausserdem im Schweisse, im Dickdarminhalte und den festen Excrementen, zuweilen im Mageninhalte und Harne aufgefunden. Auch im Blute, Safte der Milz, in Ovarialcystenflüssigkeiten und Muskeln ist sie nachgewiesen. Ferner ist sie in dem braunen Safte, den die Laufkäfer von sich geben, enthalten. Sie entsteht reichlich beim Schmelzen von Eiweiss mit Kali, wenig beim Erhitzen von milchsaurem Kalk mit Natronkalk, ferner bei der Fäulnis von Proteinen und ihrer Oxydation mit Braunstein und Schwefelsäure oder Chromsäure oder Calciumpermanganat, auch bei Oxydation von Leim mit Calciumpermanganat, bei der Gärung von Kohlehydraten, bei der Oxydation von Fett mit Salpetersäure, bei der Autolyse der Leber. Vorkommen. $\begin{matrix}CH_3\\|\\(CH_2)_2\\|\\COOH\end{matrix}$

Man stellt die Buttersäure durch Gärung von milchsaurem Kalk mit gewissen Spaltpilzen, wie sie sich z. B. in altem Käse finden, Fällung des gebildeten buttersauren Kalkes mit kohlensaurem Natron, Eindampfen der Lösung und Destillation der concentrierten Flüssigkeit mit verdünnter Schwefelsäure dar. Darstellung.

Sie ist in Wasser in jedem Verhältnisse löslich, ebenso in Alkohol oder Aether, besitzt einen ihr eigentümlichen, unangenehmen, durchdringenden Geruch (nach ranziger Butter). Smp. u. Sdp. siehe S. 55. Sie wird durch Chlorcalcium und ebenso durch manche andere Salze aus ihrer wässerigen Lösung ölartig abgeschieden. Die trockene ölige Säure vereinigt sich beim längeren Stehen mit Chlorcalcium zu einer festen krystallinischen Masse ebenso wie manche andere ihr homologe Säure. Das Barytsalz krystallisiert aus heisser wässeriger Lösung mit 2, aus kalter Lösung mit 4 Mol. H_2O, löst sich leichter in Wasser als das capronsaure Salz. Das Kalksalz mit 1 Mol. H_2O krystallisiert in zarten Nadeln, 100 Tl. Wasser lösen bei 20° 18,20 Tl. Die Löslichkeit nimmt mit steigender Temperatur bis 75° ab, dann wieder etwas zu (Lumsden). Beim Erhitzen der kalt gesättigten Lösungen scheidet sich also etwas Salz ab. Das Silbersalz wird aus concentrierter wässeriger Lösung eines Alkalisalzes durch Silbernitrat gefällt; es ist viel schwerer löslich als essigsaures Silber (1 Tl. in 200 Tl. Wasser von 14°). Buttersaures Guanidin liefert beim Eigenschaften. Ba salz. Ca salz. Ag salz.

1) Z. anal. Ch. **38**. 217. (1899.)

Erhitzen auf 230° buttersaures Guanamin, welches sich bei dieser Temperatur grösstenteils verflüchtigt, in Wasser leichter löslich ist als isobuttersaures Guanamin und in rechtwinkligen Tafeln krystallisiert.

Oxydationsprodukte. Von Chromsäure wird sie zu Kohlensäure und Essigsäure oxydiert, durch alkalische Permanganatlösung völlig verbrannt. Durch Wasserstoffsuperoxyd entstehen aus Buttersäure Acetessigsäure, Aceton, Propylaldehyd, Acetaldehyd, Essigsäure, Ameisensäure, Kohlensäure (Dakin[1]).

Vorkommen. $\begin{matrix} CH_3\ CH_3 \\ \diagdown\ \diagup \\ CH \\ | \\ COOH \end{matrix}$ **Isobuttersäure** $C_4H_8O_2$ findet sich in den Fäces, sowie unter den Fäulnisprodukten der Proteine. Sie wird aus Isopropylcyanid durch Kochen mit Kalilauge oder durch Oxydation von Isobutylalkohol erhalten.

Eigenschaften. Sie mischt sich nicht in allen Verhältnissen mit Wasser, sondern erfordert dazu 5 Teile bei 20° zur Lösung. Durch Eintragen von Calciumchlorid wird sie aus der wässerigen Lösung abgeschieden. Smp. u. Sdp. siehe S. 55. Das

Ca salz. Calciumsalz krystallisiert bei Temperaturen unter 62° mit 5 Mol. H_2O aus, bei Temperaturen über 80° mit 1 Mol. H_2O. Die Löslichkeit nimmt bis 62° zu (bei dieser Temperatur lösen 100 Tl. Wasser 28,70 Tl. des krystallwasserfreien Salzes), bei Temperaturen bis 100° nur ganz wenig ab

Ag salz. (guter Unterschied von der normalen Säure). Das Silbersalz ist leichter löslich in kaltem und heissem Wasser als das Salz der normalen Säure; es wird aus concentrierter Lösung eines Alkalisalzes durch Silbernitrat erhalten. Isobuttersaures Guanidin liefert beim Erhitzen auf 230° isobuttersaures Guanamin, welches in Wasser schwer löslich ist und in spitzen Rhomboedern krystallisiert.

Oxydationsprodukte. Durch Chromsäure wird sie zu Aceton, Essigsäure und Kohlensäure oxydiert, durch alkalische Permanganatlösung zu Oxyisobuttersäure (Meyer[2]).

Nachweis. Dieses verschiedene Verhalten der beiden Buttersäuren gegen alkalische Permanganatlösungen eignet sich zum Nachweis der Isobuttersäure neben Buttersäure besser als das verschiedene Verhalten der Kalksalze (siehe Hutzler und Meyer[3]).

$\begin{matrix} CH_3 \\ | \\ (CH_2)_3 \\ | \\ COOH \end{matrix}$ 64. **Valeriansäure** $C_5H_{10}O_2$. Die normale Valeriansäure wurde von Skraup u. Witt[4]) bei der Einwirkung von Bromlauge auf Casein erhalten. Sie scheint auch bei der Oxydation von (unreinem) Leucin aus Casein und Nackenband (Heckel[5]), Sąmec[6]) mit Kaliumpermanganat zu entstehen und ferner bei der Einwirkung eines in den Ascariden enthaltenen Fermentes auf Kohlehydrate (Weinland[7]). Sie wird aus milchsaurem Kalk durch Spaltpilze gebildet (Fitz[8]).

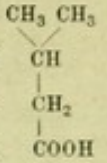
Der Buttersäure ähnlich riechende Flüssigkeit, die sich bei 16° in 27 Tl.

Ca salz. Wasser löst. Smp. u. Sdp. siehe S. 55. Das Calciumsalz krystallisiert

1) J. B. Ch. **4**. 77. (1908.)
2) A. **219**. 240. (1883.)
3) B. **30**. 2519. (1897.)
4) M. **28**. 605. (1907.)
5) M. **29**. 15. (1908.)
6) M. **29**. 55. (1908.)
7) Z. f. B. **42**. 55. (1901), **43**. 86. (1902.)
8) B. **13**. 1309. (1880), **14**. 1084. (1881.)

mit 1 Mol. H_2O. Seine Löslichkeit in Wasser nimmt mit steigender Temperatur etwas ab, dann wieder zu. 100 Tl. Wasser lösen bei 0° 9,82 Tl., bei 57° 7,75 Tl., bei 100° 8,78 Tl. (Lumsden).

Isovaleriansäure $C_5H_{10}O_2$ ist gefunden im Tran von Delphinus globiceps, in Fäces von Menschen, bildet sich reichlich bei Fäulnis von Eiweissstoffen, von Leucin (neben Ammoniak und Kohlensäure), bei der Oxydation von Eiweissstoffen und Leim mit Chromsäure. Man erhält sie aus Isobutylcarbinol durch Oxydation mit Chromsäure.

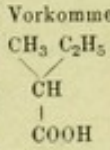


Sie ist in 26,6 Tl. Wasser bei 20° löslich und wird durch Salze aus dieser Lösung abgeschieden. Ueber Smp. u. Sdp. siehe S. 55. Das Calciumsalz krystallisiert mit 3 Mol. H_2O in dicken prismatischen Nadeln, aus heissem Wasser mit 1 Mol. H_2O in dünnen Platten. Die Löslichkeit nimmt mit steigender Temperatur ab. 100 Tl. Wasser lösen bei 20° 21,80 Tl. wasserfreies Salz (Lumsden). Auch das Bariumsalz ist in Wasser leicht löslich und gut krystallisierbar. Das Silbersalz ist in Wasser sehr schwer löslich.

Eigenschaften. Ca salz. Ba salz. Ag salz.

d-Valeriansäure (d-Methyläthylessigsäure) $C_5H_{10}O_2$ wurde von Neuberg und Rosenberg[1]) unter den Fäulnisprodukten von Casein und Leim nachgewiesen. Sie entsteht auch bei der Spaltung des Glykosides Convolvulin durch Erhitzen mit 0,5%iger Schwefelsäure (Taverne[2]). Man erhält sie durch Oxydation von d-Amylalkohol mit Chromsäure (Marckwald[3]) und aus der synthetisch gewonnenen dl-Methyläthylessigsäure (nach Abscheidung eines Teiles der l-Säure als Brucinsalz) als Silbersalz durch fraktionierte Krystallisation (Marckwald[4]).

Vorkommen.

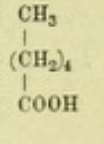


Smp. u. Sdp. siehe S. 55. Das Kalksalz krystallisiert mit 5 Mol. H_2O und ist ebenso wie das Zinksalz in heissem Wasser schwerer löslich als in kaltem. Das Silbersalz scheidet sich beim Vermischen von sehr verdünnter heisser Lösung des Natriumsalzes und Silbernitrat langsam in federförmig gruppierten glänzenden Nadeln ab, wasserfrei. 100 ccm wässeriger Lösung enthalten bei 20° 0,73 g Silbersalz, das Silbersalz der dl-Säure ist löslicher. $[\alpha]_D = +17{,}5°$ (Schütz u. Marckwald[5]), Marckwald), $[\alpha]_D = +17{,}30°$ (Taverne).

Ca salz. Zn salz. Ag salz.

65. **Capronsäure $C_6H_{12}O_2$.** Die normale Capronsäure findet sich in der Butter und im Frauenmilchfett als Glycerinverbindung, im Limburger Käse, in den Fäces, bildet sich oft sehr reichlich bei der bakteriellen Zersetzung besonders aus Milchsäure oder Glycerin.

Vorkommen.



Sie ist in Wasser kaum löslich. Smp. u. Sdp. siehe S. 55. Der capronsaure Baryt krystallisiert wasserfrei in radial gestellten feinen Nadeln; 100 Teile Wasser lösen bei 24° 10,2 Teile des Salzes nach Wein, bei 18,5° 8,5 Teile Salz nach Lieben und Rossi. In heissem Wasser viel reichlicher löslich. Das Calciumcapronat krystallisiert mit 1 Mol. H_2O in dünnen

Ba salz. Ca salz.

1) B. Z. **7**. 178. (1908.)
2) R. **13**. 187. (1894.)
3) B. **37**. 1045. (1904.)
4) B. **32**. 1089 (1899.)
5) B. **29**. 52. (1896.)

glänzenden Krystallblättchen oder langen verzweigten Nadeln, nicht leicht löslich in Wasser und in heissem ungefähr ebenso wie in kaltem Wasser,
Ag salz. bei 20° lösen 100 Teile Wasser 2,18 Teile (Lumsden). Das Silbersalz bildet eine käsige Masse, fast unlöslich in kaltem, schwer löslich in heissem Wasser, aus heisser, wässeriger Lösung in kleinen Nadeln krystallisierend.

Vorkommen. **d-Capronsäure (d-$\beta\beta_1$-Methyläthylpropionsäure) $C_6H_{12}O_2$.** Eine rechtsdrehende Hexonsäure (wahrscheinlich ein Gemisch von Isobutylessigsäure und d-$\beta\beta_1$-Methyläthylpropionsäure) wurde von Neuberg und Rosenberg[1]) unter den Fäulnisprodukten von Casein und Leim nachgewiesen. Die d-$\beta\beta_1$-Methyläthylpropionsäure wurde von v. Romburgh[2]) durch Oxydation des in römisch Kamillenöl enthaltenen d-Hexylalkohols mit Chromsäure gewonnen und von Neuberg und Rewald[3]) aus der synthetischen dl-Säure mit Hilfe des Brucinsalzes (wenn auch nicht ganz rein).

Farblose Flüssigkeit von schwachem, an den der Capronsäure er-
Ca salz. innernden Geruch. Smp. u. Sdp. siehe S. 55. Das Kalksalz krystallisiert in zu Bündeln vereinigten Nadeln und enthält 3 Mol. H_2O, welche aber
Ag salz. im Exsiccator entweichen. Das Silbersalz scheidet sich aus heissem Wasser in kleinen gekrümmten Nadeln ab. $\alpha_D = +8{,}92°$ (v. Romburgh).

66. **Caprylsäure $C_8H_{16}O_2$.** In der Butter als Glycerinverbindung enthalten, nach Lerch auch im Menschenfett und im Schweiss, ferner im Käse.

Ca salz. Sie löst sich nur sehr wenig in Wasser. Das Kalksalz krystallisiert mit 1 Mol. H_2O, bei 20° lösen 100 Teile Wasser 0,31 Teile
Ba salz. (Lumsden). Das Barytsalz krystallisiert wasserfrei, es lösen sich bei 10° 0,79 Teile (Fehling), bei 18° 0,76 Teile (Wein), bei 20° 0,62 Teile des Salzes in 100 Teilen Wasser.

67. **Caprinsäure $C_{10}H_{20}O_2$.** In der Butter, im Frauenmilchfett, auch in einem Lipom als Glycerinverbindung gefunden, kommt auch im Käse vor.

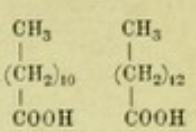
Sie bildet feine Nadeln, 1 Teil löst sich in etwa 1000 Teilen
Ba salz. kochendem Wasser. Das Barytsalz krystallisiert in fettglänzenden Blättchen, in kaltem Wasser kaum, in kochendem Alkohol oder Wasser etwas löslich.
Ca salz. Das Calciumsalz ist etwas leichter löslich, aber schwerer als das der
Ag salz. Caprylsäure. Das Silbersalz, aus der Lösung von Ammoniumcaprinat gefällt, stellt einen weissen, in heissem Wasser sehr wenig, in heissem Alkohol reichlicher löslichen, in kaltem Wasser unlöslichen Niederschlag dar.

Trennung der Butter-, Capron-, Caprylund Caprinsäure. Zur Trennung der Buttersäure, Capron-, Caprylund Caprinsäure von einander empfiehlt Wein[4]) die Barytsalze durch concentrierte Phosphorsäure zu zerlegen, die Oelschicht abzuheben und im Kohlensäurestrome fraktioniert zu destillieren, aus dem unter 220° übergehenden Teil Butter-

1) B. Z. **7**. 178. (1908.)
2) R. **5**. 221. (1886.)
3) B. Z. **9**. 403. (1908).
4) Sitzungsber. d. phys. med. Soc. in Erlangen 15. Jan. 1877 u. Diss. Erlangen 1876.

säure und Capronsäure, aus der Fraktion 220—260° die Caprylsäure zu gewinnen; der bei 260—280° übergehende Teil gibt die Caprinsäure. Die Capronsäure kann durch Waschen mit Wasser von Buttersäure befreit werden (vergl. § 73 A).

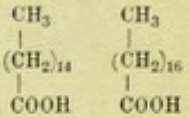
68. **Laurinsäure $C_{12}H_{24}O_2$, Myristinsäure $C_{14}H_{28}O_2$.** Diese Säuren finden sich in geringen Mengen wie es scheint im Wallrath, in der Butter, im Frauenmilchfett, vielleicht auch in den übrigen Fetten als Glycerinverbindungen. Myristinsäure wurde auch im verseiften Fett des Chylus (Erben[1]), der Dermoidcysten, im verseiften Wollfett der Schafe (Darmstaedter und Lifschütz[2]) und im verseiften Dorschleberöl (Bull[3]) nachgewiesen und auch aus der Rindergalle (Lassar-Cohn[4]) erhalten.



Beide sind fest, die Laurinsäure ist in heissem Wasser noch ein wenig löslich, die Myristinsäure nicht mehr. Die Laurinsäure lässt sich noch mit Wasserdämpfen destillieren, die Myristinsäure nur noch in Spuren. Charakteristische Reaktionen fehlen gänzlich.

Aus dem verseiften Aetherextrakt der Bürzeldrüse von Gänsen erhielt Röhmann[5]) ein Fettsäuregemisch, dessen Zusammensetzung, Siedepunkt usw. zu der Annahme stimmte, dass ein Gemisch von Laurin- und Myristinsäure vorlag. Indessen unterschied es sich insofern, als es bei Zimmertemperatur flüssig war und optisch aktiv. Für die Acetonlösung $[\alpha]_D = -25{,}9° - 26{,}3°$. Die Bariumsalze waren in Alhohol, die Blei- und Silbersalze in Aether löslich.

69. **Palmitinsäure $C_{16}H_{32}O_2$, Stearinsäure $C_{18}H_{36}O_2$.** Das im Unterhautbindegewebe, sowie an anderen Orten des menschlichen Körpers und bei Tieren abgelagerte Fett enthält ausser Oelsäure hauptsächlich Palmitinsäure und Stearinsäure in ihren Glycerinverbindungen, ebenso sind beide reichlich in der Butter, im Frauenmilchfett in Verbindung mit Glycerin, im Wallrath in Verbindung mit Cetylalkohol enthalten, in den Lecithinen und andern Phosphatiden in Verbindung mit Glycerinphosphorsäure und Cholin, im Wollfett in Verbindung mit Cholesterinen. Palmitinsäure kommt reichlich im Bienenwachs an Myristylalkohol gebunden vor. Sie finden sich in der Galle (Lassar-Cohn[6]), auch pathologische Fettbildungen enthalten beide. In Verbindung mit Kalk finden sich beide Säuren in den Fäces und im Leichenfette (Adipocire), wahrscheinlich in Verbindung mit Natron im Blutserum und den Transsudaten, auch im Eiter und im normalen Menschenharn (Hybbinette[7]) in ganz geringer Menge. Stearinsaurer Kalk wurde auch einmal als hauptsächlichster Bestandteil eines menschlichen Gallensteines gefunden (Fouquet[8]). Im freien Zustande treten sie in zersetztem Eiter, zerfallenen käsigen Tuberkelmassen auf. Vorkommen.



Beide Säuren sind geruch- und geschmacklose krystallinische Massen. Eigenschaften.

1) H.-S. **30**. 436. (1900.)
2) B. **29**. 618. (1896.)
3) B. **39**. 3570. (1906.)
4) H.-S. **17**. 67. (1893.)
5) B. Ph. P. **5**. 110. (1904.)
6) H.-S. **17**. 67. (1893.)
7) Skand. A. Ph. **7**. 380. (1897.)
8) Ref. Maly's Jbr. 1896. 470.

Der Schmelzpunkt der Palmitinsäure liegt bei 62,6°, der der Stearinsäure bei 69,2°. Nach den Bestimmungen von Heintz zeigen die Gemische beider Säuren folgende Schmelz- und Erstarrungspunkte:

Ein Gemisch von

Stearinsäure	Palmitinsäure	schmilzt bei	erstarrt bei
90	10	67,2°	62,5°
80	20	65,3°	60,3°
70	30	62,9°	59,3°
60	40	60,3°	56,5°
50	50	56,6°	55,0°
40	60	56,3°	54,5°
30	70	55,1°	54,0°
20	80	57,5°	53,8°
10	90	60,1°	54,5°

Die Mischung gleicher Teile beider Säuren krystallisiert am schönsten grossblätterig, die reinen Säuren bilden dagegen schuppig krystallinische, perlmutterglänzende Massen, die bei der mikroskopischen Untersuchung als dünne, rhombische, biegsame Blättchen sich ergeben. Sie machen auf Papier Fettflecke, sind in Wasser ganz unlöslich, in kaltem Alkohol lösen sie sich schwer, die Stearinsäure noch schwerer als die Palmitinsäure. In kochenden Alkohol lösen sie sich. Sehr leicht sind sie löslich in Aether, Chloroform, Petroläther; auch Eisessig löst sie reichlich, besonders in der Wärme. Durch Wasser werden sie aus der Lösung in Eisessig oder Alkohol abgeschieden. Von Alkalien werden sie aufgelöst, und kocht man sie mit wässeriger Lösung kohlensaurer Alkalien und dampft das Gemenge zur Trockne ab, so treiben sie die Kohlensäure aus und bilden Salze. Diese Alkalisalze sind in Wasser sehr leicht löslich, werden aber durch Zusatz von viel Wasser in Alkali und saures palmitinsaures oder saures stearinsaures Alkali zerlegt, welche seidenartig glänzende, krystallinische, sich schwer absetzende Niederschläge bilden. Das palmitinsaure und stearinsaure Kali und Natron sind wesentliche Bestandteile der gewöhnlichen Seifen. Sie werden aus ihrer wässerigen Lösung durch Eintragen von Salzen z. B. Kochsalz ausgeschieden. In heissem Alkohol sind diese Alkalisalze ziemlich leicht löslich, scheiden sich aber aus der concentrierten Lösung beim Erkalten teilweise gallertig aus; die Gallerte wandelt sich allmählich in Krystalle um. Die Verbindungen der Palmitinsäure und der Stearinsäure mit alkalischen Erden oder mit den Oxyden der schweren Metalle sind in Wasser und Alkohol unlöslich. Die Bleisalze sind in heissem Benzol löslich, in kaltem so gut wie unlöslich, ebenso in Aether. Die Silbersalze scheiden sich ab, wenn man eine ammoniakalische Lösung, welche Fettsäure und Silbernitrat enthält, mit Wasser verdünnt. Die unlöslichen Salze zersetzen sich beim Waschen mit Wasser, am wenigsten ist das bei den Silbersalzen der Fall, weshalb diese sich für die Analyse besonders eignen.

Na- u. K salze.

Pb salze.

Ag salze.

Fügt man zu einer siedend heissen Lösung eines Gemisches von stearin- und palmitinsaurem Natrium in Alkohol in kleinen Portionen eine heisse gesättigte Lösung von essigsaurem Baryt, so fällt zuerst nur stearinsaurer Baryt aus, später ein Gemenge von stearin- und palmitinsaurem Salz und zuletzt reiner palmitinsaurer Baryt. Man erhält aus den Salzen die Säure, indem man sie in Wasser zerteilt, mit Salzsäure und dann mit Aether übergiesst, gut schüttelt, den Aether abgiesst, mit etwas Wasser wäscht und abdestilliert, es bleiben die reinen Säuren zurück. Trennung.

70. **Heptadekansäure** $C_{17}H_{34}O_2$. Säuren dieser Zusammensetzung wurden von Ebert[1]) aus Leichenwachs und von Kreis und Hafner[2]) aus Schweineschmalz dargestellt. Letztere ist indessen nicht einheitlich, sondern wohl ein Gemisch von Säuren mit paarer Atomzahl (Holde[3]) und dasselbe gilt jedenfalls von der Säure aus Leichenwachs.

Arachinsäure $C_{20}H_{40}O_2$ ist von Heintz in der verseiften Butter gefunden und durch fraktionierte Fällung isoliert. Sie wurde auch aus dem verseiften Fett der Dermoidcysten gewonnen (v. Zeynek[4]). Nach Pickard und Yates[5]) soll sie bei der Oxydation des Cholesterin entstehen. In kaltem Alkohol sehr schwer, in heissem leicht lösliche glänzende Blättchen. Smp. 75°. Beim Kochen ihrer alkoholischen Lösung geht sie zum Teil in den Aethylester über.

Carnaubasäure $C_{24}H_{48}O_2$. Die aus dem Carnaubawachs erhaltene Säure findet sich nach Darmstaedter und Lifschütz[6]) auch in verseiftem Wollfett. Nach Röhmann[7]) ist indessen die Säure von D. und L. vermutlich ein Gemenge.

Hyaenasäure $C_{25}H_{50}O_2$ ist eine Fettsäure von Carius[8]) genannt, die er in der Fettmasse an den Analdrüsen einer Hyäne neben Palmitinsäure und Oelsäure an Glycerin gebunden fand und die von Schulze[9]) in Verbindung mit Cholesterinen im Fett der Schafwolle nachgewiesen wurde. Sie ist schwer löslich in kaltem, leicht löslich in heissem Alkohol, scheidet sich beim Erkalten der heissen alkoholischen Lösung in Körnern mikroskopischer Nadeln aus. Smp. 77—78°. In den meisten Eigenschaften stimmt sie mit der Stearinsäure überein. Von den anderen Säuren wurde sie durch fraktionierte Fällung getrennt. Vergleiche indessen Holde[10]), welcher die Individualität der Hyaenasäure bezweifelt.

Cerotinsäure $C_{26}H_{52}O_2$ findet sich als freie Säure und als Cerylester in reichlicher Menge im Bienenwachs, an Cerylalkohol gebunden im chinesischen Wachs. Auch aus verseiftem Wollfett ist sie erhalten worden. Sie scheidet sich beim Erkalten ihrer heissen alkolkolischen Lösung krystallinisch aus. Smp. 78,5°.

---

1) B. **8**. 775. (1875.)
2) B. **36**. 2766. (1903.)
3) B. **38**. 1250. (1905.)
4) H.-S. **23**. 40. (1897.)
5) Ref. C. C. 1903. **2**. 21.
6) B. **29**. 618. (1896.)
7) Ref. C. f. Ph. **19**. 317. (1906.)
8) A. **129**. 168. (1864.)
9) J. pr. Ch. N. F. **7**. 162. (1873) u. **9**. 321 (1874). Journ. f. Landwirtsch. 1879. 125.
10) B. **38**. 1258. (1905.)

Psyllostearylsäure (Psyllasäure) $C_{33}H_{66}O_2$ findet sich im Psyllawachs in Verbindung mit Psyllastearylalkohol und wurde aus den Verseifungsprodukten isoliert (Sundwik[1]). Sie krystallisiert in viereckigen rautenförmigen Blättern mit Winkeln von je 74° und 106°, ist auch in heissem Aether und Petroläther schwer löslich. Smp. 94 bis 95°. (Siehe hierzu auch die Bemerkungen von Holde, Seite 65, Fussnote 10).

Säuren der Reihe $C_nH_{2n-2}O_2$.

Sie addieren Halogene. Sie verändern sich an der Luft. Die Veränderungen zeigen sich unter anderem in Dunklerwerden, Abnahme der Jodzahl und teilweisem Unlöslichwerden in Petroläther.

Säure $C_{16}H_{30}O_2$ wurde aus verseiftem Dorschleberöl (aber nicht ganz rein) von Bull[2]) erhalten. Eine Säure dieser Zusammensetzung findet sich auch im verseiften Pottwalfett (Physetölsäure) und nach Ljubarsky[3]) auch im verseiften Seehundsfett.

Vorkommen.

71. **Oleinsäure (Oelsäure)** $C_{18}H_{34}O_2$. Die Oelsäure findet sich gebunden an Glycerin in allen Fetten des tierischen Körpers, auch in der Butter und im Frauenmilchfett, ferner in Lecithinen und anderen Phosphatiden. Im freien Zustande oder als Alkalisalz kommt sie im Darminhalte vor, an anderen Orten höchstens in Spuren. Aus Galle wurde sie erhalten (Lassar-Cohn[4]) und in sehr geringer Menge aus normalem Menschenharn (Hybbinette[5]).

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ (CH_2)_7 \\ | \\ CH \\ \| \\ CH \\ | \\ (CH_2)_7 \\ | \\ COOH \end{array}$$

Eigenschaften.

Die reine Oelsäure bildet bei gewöhnlicher Temperatur eine farb-, geschmack- und geruchlose ölige Flüssigkeit, die, wenn sie vorher bei niederer Temperatur krystallinisch erstarrt ist, bei 14° schmilzt. Sdp. siehe S. 55. Sie ist unlöslich in Wasser, löslich in kaltem Alkohol, Aether oder Chloroform. Im Wasserdampfstrome von 250° destilliert die Oelsäure unzersetzt über. Die destillierte Säure verändert sich nur sehr langsam, die nicht destillierte schnell an der Luft unter Sauerstoffaufnahme und Bildung der sauren Substanzen, welche im alten Fette den ranzigen Geruch und Geschmack bewirken. Die

Na-, K salz.

Verbindungen der Oelsäure mit Alkali sind löslich in Wasser oder Alkohol, nicht löslich in concentrierter Alkalilauge oder Salzlösungen. Sie werden aus ihrer wässerigen Lösung durch Eintragen von Salz, z. B. Kochsalz, ausgeschieden. Die Natronverbindung ist bei gewöhnlicher Temperatur nicht zerfliesslich, wohl aber die Kaliverbindung; auf dieser Verschiedenheit der Eigenschaften beruht die Verschiedenheit der Kali- und Natronseifen.

Pb salz.

Die wässerige Lösung der Alkaliverbindungen wird durch essigsaures Blei gefällt; der weisse zähe Niederschlag, ölsaures Blei, welcher die zähe klebrige Beschaffenheit der Bleipflaster bedingt, ist löslich in Aether und

Ba salz.

in Benzol, weniger in Alkohol, unlöslich in Wasser. Oelsaures Barium, welches aus einer ammoniakalischen Lösung der Oelsäure durch Bariumchlorid ausgefällt wird, wird aus Alkohol krystallisiert erhalten. Es löst sich, auch beim Erwärmen, nur in Spuren in Benzol, wohl aber beim Erwärmen in 5 pCt. 95 proc. Alkohol enthaltendem Benzol, um sich beim Erkalten in

1) H.-S. **32.** 355. (1901.)
2) B. **39.** 3570 (1906.)
3) J. pr. Ch. N. F. **57.** 19. (1898.)
4) H.-S. **17.** 67. (1893.)
5) Skand. A. f. Ph. **7.** 380. (1897.)

silberglänzenden Nadeln oder Blättchen fast quantitativ abzuscheiden (Farnsteiner[1]). Oelsäure verbindet sich direkt mit Brom und Jod. Jodzahl 89,96.

Durch Einleiten von wenig salpetriger Säure wird die Oelsäure bald fest und krystallinisch unter Bildung der ihr isomeren bei 51° schmelzenden Elaidinsäure. Beim schnellen Erhitzen für sich oder mit einem Ueberschusse an Kali gibt die unzersetzte Oelsäure Sebacinsäure $C_{10}H_{18}O_4$, welche durch heisses Wasser aus dem Rückstande gelöst, heiss filtriert, nach dem Erkalten der concentrierten Lösung sich in seideglänzenden blättrigen Nadeln abscheidet, die sich in Alkalien leicht lösen. Mit Kalihydrat zum Schmelzen vorsichtig erhitzt, zerlegt sich Oelsäure in Palmitinsäure und Essigsäure. Mit Jodwasserstoff und rotem Phosphor auf 210° erhitzt, wird Oelsäure zu Stearinsäure reduciert. Bei der Oxydation mit Permanganat in alkalischer Lösung entsteht Dioxystearinsäure, unlöslich in kaltem und heissem Wasser, schwer löslich in Aether und kaltem Alkohol. Sie krystallisiert aus Alkohol in perlmutterglänzenden Blättchen. Smp. 136,5° (von anderen wird 130—131° angegeben). Ihr Bariumsalz ist in Wasser unlöslich. Bei der Bromierung entsteht Oelsäuredibromid (Dibromstearinsäure). Umwandlungen. Reduction. Oxydationen. Bromierung.

Zum Nachweis dient die Löslichkeit des Bleisalzes in Aether und Benzol, der Erstarrungspunkt, die Jodzahl, das Verhalten gegen salpetrige Säure und die rotviolette Farbe, welche auftritt, wenn man Oelsäure mit ein wenig Rohrzucker und conc. Schwefelsäure zusammenbringt. Nachweis.

Gadoleinsäure $C_{20}H_{38}O_2$ von Bull[2]) aus verseiftem Dorschleberöl, Heringsöl und Waltran erhalten. Smp. 24,5°. Bleisalz in Aether schwer löslich. Das saure und neutrale Kalisalz in kaltem Alkohol recht schwer löslich. Jodzahl 1,84.

Erucasäure $C_{22}H_{42}O_2$, welche als Glycerid in verschiedenen pflanzlichen Oelen vorkommt und aus Rüböl leicht erhalten werden kann, wurde von Bull[2]) aus verseiftem Dorschleberöl erhalten, krystallisiert aus Alkohol in Nadeln. Smp. 34°. Sdp. 254,5° (bei 10 mm). Das Bleisalz ist in kaltem Aether sehr schwer, in warmem leicht löslich, das neutrale und das saure Kalisalz nur wenig in kaltem Alkohol löslich. Jodzahl 75,06.

Säuren der Reihen $C_nH_{2n-4}O_2$, $C_nH_{2n-6}O_2$.

Sie addieren Halogene und verändern sich sehr leicht an der Luft. Sie sind bis jetzt wohl kaum rein dargestellt worden. Man hat sie nicht direkt aus den verseiften Fetten isolieren können, sondern in Form ihrer Oxydations- und Bromsubstitutionsprodukte. Aus den Bromprodukten wurden die Säuren durch Reduktion mit Zink und Salzsäure erhalten.

72. **Linolsäure** $C_{18}H_{32}O_2$ wurde von Hazura[3]) aus verseiftem Hanföl und anderen trocknenden Oelen nach dem Verseifen gewonnen. Cousin[4]) wies sie in verseiftem Eigelblecithin nach. Sie scheint auch in verseiftem Vorkommen.

1) Z. f. Unters. d. N. u. G. **2.** 1. (1899.)

2) B. **39.** 3570. (1906.)

3) M. **7.** 637. (1886), **8.** 147 u. 156. u. 260. (1887), **9.** 180 u. 469. (1888); auch Z. f. ang. Ch. 1888. 312 u. 696. — Peters, M. **7.** 552. (1886.)

4) J. de Ph. Ch. [6]. **18.** 102. (1903.)

Fett von Wels, Stör, grauem und weissem Hasen, kaspischem Seehund (Kurbatoff[1]) und in verseiftem Schweinefett und Rindertalg (Farnsteiner[2]), Fahrion[3]) und vielleicht auch unter den bei der Verseifung von Leber, Niere und Herzmuskel erhaltenen Fettsäuren (Hartley[4]) vorzukommen.

Eigenschaften. Ein in der Kälte nicht erstarrendes Oel, löslich in Alkohol und Aether. Jodzahl 181,22. Die Alkalisalze sind in Wasser löslich. Das Bariumsalz ist in Benzol, Aether, Petroläther löslich (Farnsteiner) und unterscheidet sich dadurch von den Bariumsalzen der Oelsäure, Palmitin- und Stearinsäure. Das Bleisalz ist in Aether und Benzol löslich.

Reduction. Bei der Reduction entsteht Stearinsäure (Peters), bei der Oxydation mit
Oxydation. Kaliumpermanganat in alkalischer Lösung Tetraoxystearinsäure (Sativinsäure). Die Sativinsäure krystallisiert, ist in kaltem Wasser fast unlöslich, unlöslich in Aether, löslich in heissem Alkohol, schmilzt bei 173°; ihr
Bromierung. Bariumsalz ist in Wasser unlöslich (Hazura). Bei der Einwirkung von Brom entsteht Linolsäuretetrabromid (Tetrabromstearinsäure). Es krystallisiert aus verdünnter alkoholischer Lösung in glänzenden Blättchen (Hazura), schmilzt bei 114—115°, ist sehr leicht in Alkohol, Aether, Eisessig löslich, dagegen wenig löslich in Petroläther. Aus einer heissen Petrolätherlösung scheidet es sich beim langsamen Abkühlen in sehr feinen langen glänzenden weissen Nadeln ab (Farnsteiner). Beim Erhitzen mit Zink und Salzsäure in alkoholischer Lösung geht es in Linolsäure über.

Linolensäure $C_{18}H_{30}O_2$ wurde von Hazura[5]) aus verseiftem Leinöl erhalten und kommt vielleicht auch unter den bei der Verseifung von Leber, Niere, Herzmuskel (Hartley), Fischtranen, Lecithin und anderen Phosphatiden entstehenden Produkten vor.

Jodzahl 273,80. Bariumsalz in Benzol, Petroläther, Aether löslich. Bei der Oxydation mit alkalischer Permanganatlösung entsteht Hexaoxystearinsäure, eine krystallisierte Säure, welche in heissem Wasser löslich, in kaltem schwer löslich, auch in Alkohol schwer löslich, in Aether unlöslich ist, bei 203° schmilzt und deren Bariumsalz in heissem Wasser leicht, in kaltem schwer löslich ist. Bei der Einwirkung von Brom entsteht Linolensäurehexabromid (Hexabromstearinsäure), in Alkohol, Aether, Eisessig schwer löslich, krystallisiert aus Alkohol in kleinen Nadeln, schmilzt bei 177° und geht bei der Reduction mit Zink und Salzsäure in Linolensäure über.

Eine Säure von der Zusammensetzung $C_{18}H_{28}O_2$ kommt nach Tsujimoto[6]) im Oel der japanischen Sardine, im Heringsfett und im Fett von Rhachianektes vor. Sie wurde als Octobromid isoliert und aus diesem durch Reduktion mit Zink und Salzsäure in alkoholischer Lösung erhalten. Auch bei der Verseifung von Schweineleber scheint eine so stark ungesättigte Säure frei zu werden (Hartley).

Abscheidung und Trennung der Fettsäuren.

Abscheidung. 73. **A) der niederen Fettsäuren bis zur Caprinsäure.** Die flüchtigen Fettsäuren von niedrigerem Moleculargewicht (§§ 60—67) lassen sich

1) Ref. Maly's Jbr. 1892. 32.
2) Z. f. Unters. d. N. u. G. **2**. 1. (1899.)
3) Ch. Z. **17**. 610. (1893.)
4) J. of Ph. **36**. 17. (1908.)
5) A. a. O.
6) Ref. B. C. **6**. 138. (1907.)

durch Destillation am besten im Wasserdampfstrom von den nicht flüchtigen Körpern trennen. Harn oder Schweiss kann man ohne Weiteres mit verdünnter Phosphorsäure versetzt behufs dieser Trennung der Destillation unterwerfen; allerdings können dabei im Harne durch Einwirkung der Säure auf gewisse Stoffe flüchtige Fettsäuren gebildet werden (Buliginsky[1]), auch kann es sich ereignen, dass Benzoesäure aus dem Harn in das Destillat übergeht, welche dann besonders die Gruppe der Capron-, Capryl-, Caprinsäure verunreinigen würde, wenn Glieder derselben vorhanden sind. Seröse Flüssigkeiten, die frei von Blutfarbstoff sind, werden am Einfachsten mit dem mindestens dreifachen Volumen Alkohol kalt gefällt, filtriert, das Filtrat nötigenfalls nach Zusatz von etwas kohlensaurem Natron durch Abdestillieren des Alkohols concentriert, dann auf dem Wasserbade auf ein kleines Volumen verdunstet und der Rückstand nach Zusatz von verdünnter Phosphorsäure destilliert. Blut, sowie bluthaltige Organe können erst dann auf flüchtige Säuren geprüft werden, nachdem nicht allein die Eiweissstoffe gefällt sind, sondern auch der Blutfarbstoff unzersetzt abgeschieden ist. Es würde sich dies auf zwei Wegen erreichen lassen, entweder kann man nach Mischung des Blutes mit verdünnter Lösung von schwefelsaurem Natron resp. nach Extraction der zerkleinerten Organe mit einer solchen Lösung die Blutkörperchen sich senken lassen, die abgegossene blutfarbstofffreie oder doch wenigstens blutfarbstoffarme Lösung eindampfen und nach Abfiltrieren der Eiweissstoffe mit verdünnter Phosphorsäure destillieren, oder das Blut bzw. die zerkleinerten Organe mit möglichst kaltem Alkohol schnell gut zusammenrühren unter Einsetzen in eine Kältemischung, kalt filtrieren und das Filtrat, wie es oben für seröse Flüssigkeiten angegeben ist, weiter behandeln. Fäces extrahiert man zunächst mit Alkohol, filtriert, neutralisiert mit kohlensaurem Natron, dampft zur Trockne ab und destilliert den Rückstand in Wasser verteilt mit verdünnter Phosphorsäure. Man setzt in allen Fällen die Destillation so lange fort, bis das Destillat nicht mehr sauer reagiert. Um das Destillat zu concentrieren, übersättigt man mit kohlensaurem Natron, dampft im Wasserbade auf ein kleines Volumen ein, fügt verdünnte Phosphorsäure im Ueberschuss hinzu und destilliert abermals.

Trennung.

Von dem Destillat prüft man eine Probe nach Sättigung mit Ammoniak durch Kochen mit Silbernitrat auf Ameisensäure (Reduktion von Silber). Das übrige Destillat sättigt man mit reinem Chlorcalcium und trennt im Scheidetrichter eine etwa abgeschiedene Oelschicht ab (ist ihre Quantität sehr gering, so filtriert man die Oeltropfen enthaltende Flüssigkeit durch ein mit Chlorcalciumlösung getränktes Papierfilter ab). Die ölig abgeschiedenen Säuren werden, wenn genügende Quantität zu Gebote

1) Med. chem. Untersuchungen, herausgeg. von Hoppe-Seyler, Heft 2. S. 240. (1867.)

steht, fractionierter Destillation unterworfen, wobei das längere Beharren einer Siedetemperatur sofort zu erkennen gibt, welche Säure hauptsächlich vorhanden ist. Die Fractionen, welche hauptsächlich Essigsäure und Propionsäure enthalten, werden nötigenfalls nach nochmaliger Fractionierung zweckmässig mit Ammoniak gesättigt und in hinreichend concentrierter wässeriger Lösung durch fractionierte Fällung mit Silbernitrat in Silbersalze verwandelt. Die Wägung und Analyse derselben ergibt die Menge und Zusammensetzung dieser Fettsäuren. Ameisensäure lässt sich auch durch die Unlöslichkeit ihres Zinksalzes in absol. Alkohol, Propionsäure durch die Unlöslichkeit ihres basischen Bleisalzes von diesen Säuren und der Buttersäure abtrennen (Haberland[1]). Die Fractionen, welche hauptsächlich Buttersäure, Isobuttersäure, Isovaleriansäure enthalten können, werden ebenso zu behandeln sein, wenn es sich nicht gerade um Entscheidung zwischen normaler und Isobuttersäure handelt, für welche die Schwerlöslichkeit des buttersauren Kalkes in heissem Wasser, die unvollständige Löslichkeit der freien Isobuttersäure in wenig Wasser und das verschiedene Verhalten der Guanaminverbindungen und beider Säuren zu alkalischer Permanganatlösung (§ 63) die Unterschiede ergeben. Capronsäure kann durch Waschen mit etwas Wasser von Buttersäure befreit werden. Capron-, Capryl- und Caprinsäure können durch fractionierte Fällung und Krystallisation der Barytsalze nach vorausgehender fractionierter Destillation (vergl. oben § 67 am Ende) getrennt werden. Die Barytsalze dieser Säuren bildet man durch Uebersättigen mit Barytwasser, Einleiten von Kohlensäure, Abdampfen zur Krystallisation, Extraction mit heissem Wasser, Filtrieren und Abdampfen zur Krystallisation. Die durch Chlorcalcium nicht abgeschiedene Ameisensäure und Essigsäure werden durch Destillation von Chlorcalcium befreit, das wässerige Destillat wird mit Barytwasser alkalisch gemacht und weiter, wie eben beschrieben, behandelt.

Die Baryt- und Kalksalze der fetten Säuren können für die Analyse ohne Nachteil bei 150° getrocknet, die Silbersalze dürfen nicht über 100° erhitzt werden. Den Silbergehalt erhält man durch Glühen gewogener Quantität des Salzes im Porzellantiegel, den Bariumgehalt nach Veraschung durch Lösen in Salzsäure, Fällung mit Schwefelsäure und Bestimmung des schwefelsauren Baryts, den Calciumgehalt durch Glühen im Gebläse oder Hempelschen Ofen und Wägung des Calciumoxyds.

Abscheidung. **B) der höheren Fettsäuren.** Bei der Destillation wässeriger Flüssigkeiten mit Phosphorsäure geht von den höheren Fettsäuren (§§ 68—72) nur die Laurinsäure in geringer Menge über. Da diese Säuren aber in Wasser und verdünnter Säure unlöslich, in Aether leicht löslich sind, so lassen sie sich bequem vom grössten Teile der mit ihnen in tierischen Flüssigkeiten und Geweben zusammen auftretenden Stoffe trennen. Man extra-

1) Z. anal. Ch. **38**. 217. (1899.)

hiert (§ 4) entweder, wenn man auf die freien Säuren untersuchen will, die hinreichend concentrierten Flüssigkeiten, breiigen Massen oder fein pulverisierten, festen Stoffe mit Aether, lässt einige Zeit stehen und giesst dann die Aetherlösung ab, oder man fügt, wenn man auf die an Basen gebundenen Säuren prüfen will, zunächst verdünnte Schwefelsäure zu der zu untersuchenden Masse und extrahiert nun mit Aether usw. Die klare Aetherlösung schüttelt man in einer Flasche mit etwas Natronlauge, giesst dann nach einiger Zeit den Aether ab, wäscht die Lauge noch einige Male zur Entfernung der Fette, die etwa im Aetherextrakte enthalten sind, mit etwas Aether und erwärmt dann die Lauge auf dem Wasserbade zur Entfernung des in derselben gelösten Aethers.

Trennung.

Nun leitet man Kohlensäure zur Sättigung des freien Alkalis in die Lauge ein, dampft zur Trockne ab, extrahiert den Rückstand mit heissem Alkohol, filtriert, dampft ein, löst den Rückstand in heissem Wasser und fällt mit heisser Bleizuckerlösung. Man filtriert nach dem Abkühlen die Bleisalze ab, wäscht mit Wasser aus, spritzt den Niederschlag in den Kolben, in welchem die Fällung vorgenommen wurde, mit Wasser zurück und bringt ihn durch Einstellung des Kolbens in ein siedendes Wasserbad zum Schmelzen. Nach Abgiessen des Wassers und vollständiger Entfernung des anhängenden Wassers durch Abtupfen mit Filterpapier löst man den Niederschlag in warmem Benzol, lässt bei Zimmertemperatur eine Zeit lang stehen und kühlt dann auf 8—12° ab. Nach 2 Stunden wird abfiltriert und der Rückstand noch zweimal in derselben Weise mit Benzol behandelt. Man erhält auf diese Weise einen in Benzol unlöslichen Rückstand (a) und drei Benzollösungen, welche vereinigt werden (b) und hat eine wenn auch keineswegs quantitative Trennung der gesättigten Fettsäuren (Palmitinsäure, Stearinsäure usw.), deren Bleisalze in kaltem Benzol unlöslich sind (a), von den ungesättigten Fettsäuren (Oelsäure usw.), deren Bleisalze in kaltem Benzol löslich sind (b), erreicht.

Früher benutzte man Aether statt Benzol, doch ist die Trennung der Bleisalze mit Hilfe von Benzol vorzuziehen (Farnsteiner[1]). Wegen technischer Einzelheiten bei Ausführung der Trennung und des weiteren Verfahrens siehe Farnsteiner.

a) Der in Benzol unlösliche Rückstand (Bleisalze der Palmitinsäure, Stearinsäure und anderer gesättigter Fettsäuren) wird in heissem Benzol gelöst und mit dem gleichen Volumen 10proc. Salzsäure am Rückflusskühler bis zur völligen Zersetzung der Bleisalze gekocht, die abgetrennte und mehrfach mit Wasser geschüttelte Benzollösung durch ein lockeres Wattefilter filtriert. Man destilliert das Benzol ab, löst den Rückstand in heissem Alkohol, dampft die alkoholische Lösung nach Zusatz von Soda zur Trockne, nimmt den Rückstand mit Wasser auf und fällt durch Ueber-

1) Z. f. Unters. d. N. u. G. **1**. 390. (1898), Jaeckle, H.-S. **36**. 53. (1902).

sättigen mit Salzsäure die freien Säuren aus. Um die Säuren gut abzuscheiden, erhitzt man die Flüssigkeit zum Kochen, lässt abkühlen und filtriert nach dem Erstarren des Säuregemisches. Zur Prüfung des Schmelzpunktes erwärmt man wieder bis zum Schmelzen, saugt etwas von dem Oel in ein Capillarrohr und verfährt nach § 24. Man ermittele ausser dem Schmelzpunkt auch den Erstarrungspunkt und vergleiche die erhaltenen Zahlen mit den in der Tabelle (§ 69) aufgeführten. Nunmehr löst man in heissem Alkohol, fügt zur Sättigung der Säuren hinreichende Lösung von kohlensaurem Natron hinzu und dampft auf dem Wasserbade zur Trockne ab, erhitzt noch im Luftbade auf 130°, extrahiert dann den fein gepulverten Rückstand mit kochendem absoluten Alkohol und filtriert heiss. Diese Lösung der Natronsalze wird nun fractioniert gefällt; man erhitzt sie zu dem Zweck wieder auf dem Wasserbade bis nahe zum Sieden, fügt dann zunächst 1—2 Tropfen Lösung von Chlorbarium oder von essigsaurem Baryt hinzu, filtriert schnell, erhitzt das Filtrat wieder zum Sieden, fügt eine neue kleine Portion Barytsalzlösung hinzu und filtriert heiss durch ein anderes Filterchen und fährt in dieser Weise fort, bis ein neuer Zusatz von Barytsalz zur alkoholischen Lösung keinen weiteren Niederschlag gibt. Der erste Barytniederschlag kann etwas kohlensauren Baryt enthalten; die übrigen Niederschläge untersucht man nach dem Waschen mit warmem Alkohol und Trocknen bei 120° in derselben Weise auf ihren Bariumgehalt, wie es im vorigen Paragraphen für die Barytsalze der anderen Glieder der Gruppe der Fettsäuren angegeben ist. Es enthalten

100 Gew.-Teile palmitinsaurer Baryt 21,21 Gew.-Teile Barium,
100 „ „ stearinsaurer „ 19,52 „ „ „

Zweckmässiger ist es offenbar, zur Analyse an Stelle der Bariumsalze nach Jaeckle[1]) die Silbersalze zu benutzen. Sie sind leichter rein und frei von basischen und sauren Salzen darzustellen, unterliegen weniger der hydrolytischen Zersetzung beim Auswaschen und lassen sich auch bequemer analysieren. Man stellt zu diesem Zweck aus den einzelnen Fractionen der Bariumsalze die freie Säure her, löst einige Decigramm in überschüssigem Ammoniak und setzt eine hinreichende Menge etwa 5proc. ammoniakalischer Silbernitratlösung hinzu. Nachdem eine etwa eintretende Abscheidung durch Ammoniakzusatz wieder in Lösung gebracht ist, wird die Flüssigkeit jetzt in so viel Wasser eingegossen oder soweit verdünnt, bis die über dem beim Umrühren sich rasch zusammenballenden Niederschlag stehende Flüssigkeit auf weiteren Wasserzusatz ganz klar bleibt. Der Niederschlag wird abfiltriert und bis zur Chlorfreiheit ausgewaschen. Nach dem Trocknen im Vacuumexsiccator unter Lichtabschluss wird eine gewogene Menge im Platintiegel verbrannt und das Silber gewogen. Palmitinsaures Silber enthält 29,72 pCt. Ag., stearinsaures Silber 27,59 pCt. Ag.

1) H.-S. **36**. 53. (1902.)

Eine Abtrennung chemischer Individuen mittelst dieser zuerst von Heintz angegebenen fractionierten Fällung mit Barium- oder Magnesiumsalzen, welche darauf beruht, dass sich zuerst die Salze der kohlenstoffreicheren, dann die der kohlenstoffärmeren Säuren abscheiden, ist sehr schwierig, wenn es sich um ein Gemenge von mehr als zwei Säuren handelt (wenn also ausser Palmitin- und Stearinsäure, auch noch Myristin- und Laurin- und andere höhere Fettsäuren zugegen sind) und erfordert eine nicht zu kleine Menge Ausgangsmaterial. Eine Isolierung einer einheitlichen Säure ist erst dann als erreicht anzusehen, wenn Barium- oder Silbergehalt einer Fraction und der Schmelzpunkt der aus dieser Fraction isolierten Säure auf eine bestimmte Säure deuten, und der Schmelzpunkt nach wiederholtem Umkrystallisieren unverändert bleibt. Vergl. dazu Holde[1]).

b) Die vereinigten Benzollösungen (Bleisalze der ungesättigten Fettsäuren) werden mit dem gleichen Volumen 10 proc. Salzsäure bis zur völligen Zersetzung der Bleisalze geschüttelt, die abgetrennte und mehrfach mit Wasser geschüttelte Benzollösung durch ein lockeres Wattefilter filtriert und im Wasserstoffstrom abdestilliert. Eine Probe des Rückstandes dient zur Bestimmung der Jodzahl, ist diese höher als 90, so sind vermutlich ausser der Oelsäure noch eine oder mehrere stärker ungesättigte Säuren vorhanden. Eine sicher zum Ziel führende Methode zur Trennung der ungesättigten Fettsäuren von einander ist nicht bekannt. Folgendes mag als Anhaltspunkt für die Untersuchung dienen:

1. Eine Abtrennung von Oelsäure aus einem Gemisch, welches reich an Oelsäure ist, lässt sich bewirken auf Grund der sehr geringen Löslichkeit des ölsauren Baryts in kaltem alkoholhaltigen Benzol, welches in der Wärme dieses Salz löst. Man löst die Bariumsalze in der Wärme in 5 pCt. 95proc. Alkohol enthaltendem Benzol, beim Abkühlen und längeren Stehen scheidet sich ölsaures Barium ab, während die anderen Bariumsalze in Lösung bleiben. Nach mehrfachem Umkrystallisieren aus demselben Lösungsmittel stellt man durch Schütteln mit Salzsäure und Aether und Verdunsten des abgeschiedenen Aethers die freie Säure dar (Farnsteiner[2]).

2. Zur Isolierung der Linolsäure kann die geringe Löslichkeit des Linolsäuretetrabromid in kaltem Petroläther dienen. Man entfernt nach 1. die Oelsäure als ölsaures Barium, bromiert dann die Lösung der freien Säuren in Chloroform, nimmt die Bromprodukte in heissem Petroläther auf und lässt stehen. Das Linolsäuretetrabromid scheidet sich ab. Zur Identifizierung dient der Schmelzpunkt und die Bestimmung des Moleculargewichts durch Titration der alkoholischen Lösung mit Phenolphtalein als Indicator.

Moleculargewicht	des Oelsäuredibromid . . .	442
„	„ Linolsäuretetrabromid .	600
„	„ Linolensäurehexabromid	758

Näheres bei Farnsteiner[2]).

3. Man oxydiert das Säuregemenge mit Kaliumpermanganat in alkalischer Lösung und sucht die einzelnen Oxydationsprodukte (Dioxystearinsäure, Sativinsäure) zu iso-

1) B. **38**. 1247. (1905.)

2) Z. f. Unters. d. N. u. G. **2**. 1. (1899) u. **6**. 161. (1903.)

lieren und zu identificieren. Für die Isolierung benutzt man die Unlöslichkeit der Bariumsalze beider Säuren auch in heissem Wasser (während die Bariumsalze der Oxydationsprodukte der Linolensäure in Lösung gehen) und die Löslichkeit der freien Dioxystearinsäure in viel Aether. Die Sativinsäure ist auch in viel Aether unlöslich. Auch das wiederholte Auskochen des Gemenges der freien Säuren kann man zur Trennung benutzen, indem dabei die Sativinsäure sich löst, um beim Erkalten sofort wieder auszufallen, während die Dioxystearinsäure ungelöst bleibt und sich durch Umkrystallisieren aus Alkohol weiter reinigen lässt.

Näheres siehe bei Hazura in den S. 67 Fussnote 3 citierten Arbeiten, auch bei Fahrion, Ch. Z. 17. 610. (1893.)

Oxyfettsäuren.

CH_3
$CH(OH)$
$COOH$

74. **Milchsäure $C_3H_6O_3$.** Von den 2 structurisomeren Oxypropionsäuren, der Aethylenmilchsäure (Hydracrylsäure) und der Aethylidenmilchsäure kommt nur die letztere in den Organismen vor. Von ihren drei Modificationen (d-, l-, und i-Milchsäure) findet sich

Vorkommen.

die i-Milchsäure („Gärungsmilchsäure") häufig, wenn nicht konstant, im Magen- und Darminhalt von Menschen und Säugetieren, nach Heintz[1]) auch in den Muskeln (neben d-Milchsäure). Sie entsteht beim Erhitzen von Rohr-, Milch-, Frucht- und Traubenzucker, Mannose, Galactose mit mässig verdünnter Alkalilauge und vor allem bei der sog. Milchsäuregärung, welche Kohlehydrate durch bestimmte Mikroorganismen erfahren. So bildet sie sich bei dem Sauerwerden der Milch aus Milchzucker, bei der Gärung des Sauerkohls, der Gurke usw. In der sauren Milch kommt auch häufig d-Milchsäure oder auch ein Gemisch beider vor. Sie fand sich auch in der autolysierten Leber (neben d-Milchsäure) (Magnus-Levy[2]).

Die d-Milchsäure („Fleischmilchsäure" oder „Paramilchsäure") findet sich in den Muskeln, also auch im Fleischextrakt und in den verschiedensten Organen, auch im Gehirn. Die Angabe, dass die Gehirnmilchsäure i-Milchsäure sei, hat sich nicht bestätigt (Thudichum[3]), Moriya[4]). Sie ist in Galle, Blut, Pericardialflüssigkeit, Humor aqueus, Darminhalt nachgewiesen. Im Harn kommt sie normaler Weise nicht vor, wird aber gefunden bei akuter gelber Leberatrophie und Phosphorvergiftung, zuweilen bei Lebercirrhose, ferner in solchen Zuständen, die mit Respirationsstörungen einhergehen, z. B. starken körperlichen Anstrengungen, nach epileptischen Anfällen, bei Eclampsie, kurz vor dem Tode bei verschiedenen Krankheiten. Aus pathologischen Transsudaten wird sie oft reichlich gewonnen. Die bei Osteomalacie in den Knochen, beim Puerperalfieber im Schweiss gefundene Milchsäure ist wahrscheinlich gleichfalls d-Milchsäure.

Die l-Milchsäure ist bisher im Körper nicht gefunden worden.

---

1) A. **157**. 320 (1871); vergl. auch Siegfried, B. **22**. 2711. (1889.)
2) B. Ph. P. **2**. 261. (1902.)
3) Grundzüge der anat. u. klin. Chemie. Berlin 1886. S. 183.
4) H.-S. **43**. 397. (1904/05.)

Auch diese beiden activen Modificationen entstehen durch die Einwirkung bestimmter Bakterien auf Kohlehydrate. l-Milchsäure wurde zuerst von Blachstein[1]) durch Einwirkung eines aus Wasser gezüchteten Bacillus auf Rohrzucker erhalten, sie bildet sich auch bei der Zersetzung von Zucker durch Typhusbacillen, Choleravibrionen usw. Andere Bacterien, z. B. ein regelmässig in saurer Milch vorkommendes, erzeugen d-Milchsäure.

Darstellung der inactiven Säure

Synthetisch erhält man die i-Milchsäure aus Aldehyd, Blausäure und Salzsäure, durch Einwirkung von salpetriger Säure auf i-Alanin, durch Behandlung von α-Jodpropionsäure mit Silberoxyd und auf andere Weise.

Zur Darstellung grösserer Mengen der i-Milchsäure versetzt man Rohrzuckerlösung mit saurer Milch und Zinkoxyd und lässt unter öfterem Umrühren bei warmer Temperatur einige Zeit stehen. Die abgesetzten Krusten von milchsaurem Zink werden in heissem Wasser gelöst. Die Lösung wird filtriert, noch heiss mit Schwefelwasserstoff behandelt, vom ausgeschiedenen Schwefelzink abfiltriert und auf dem Wasserbade verdunstet. Dem syrupartigen Rückstande entzieht man durch Schütteln mit Aether die freie Milchsäure, welche nach dem Verdunsten des Aethers zurückbleibt.

Isolierung.

Zur möglichst vollständigen Isolierung der Milchsäure aus Muskeln*), Galle, serösen Flüssigkeiten usw. dient das folgende Verfahren. Das Fleisch wird zerkleinert, mit kaltem Wasser mehrmals extrahiert, abcoliert und ausgepresst, das Extract oder die sonst zur Darstellung benutzte und wenn nötig vorher mit verdünnter Schwefelsäure schwach angesäuerte Flüssigkeit durch Kochen und Filtration von Eiweissstoffen befreit, mit Barytwasser versetzt, so lange Niederschlag erfolgt und nach Ausfällen des überschüssigen Baryts durch einen Kohlensäurestrom zum dünnen Syrup eingedampft. Um Braunfärbung zu vermeiden, erhitzt man zuletzt nicht über 70°. Den Syrup mischt man mit absolutem Alkohol, fügt allmählich mehr und mehr Alkohol hinzu bis mindestens zum zehnfachen Volumen des Syrup, rührt gut um, lässt kurze Zeit stehen und giesst dann ab. Der Rückstand wird in wenig Wasser wieder gelöst und abermals mit Alkohol in gleicher Weise behandelt. Von den abgegossenen und filtrierten alkoholischen Lösungen wird der Alkohol abdestilliert und der dünne syrupöse Rückstand auf dem Wasserbade bei mässiger Wärme zur Entfernung des Alkohols digeriert. Nach dem Erkalten fügt man zum rückständigen dicklichen Syrup ungefähr das gleiche Volumen mässig verdünnter Phosphorsäure, bringt diese Mischung in eine grosse Flasche und schüttelt darin mit grossen Mengen Aether, welche die Milchsäure bei häufiger Erneuerung der aufgegossenen Aethermengen allmählich vollständig, zugleich aber auch etwas Phosphorsäure aufnehmen. Von den klar abgegossenen und filtrierten Aetherauszügen wird der Aether abdestilliert. Den Rückstand löst man in Wasser, kocht

*) Am vollständigsten erhält man aus Muskeln nach Heffter (A. exp. P. u. Ph. **38**. 447 (1897) die Milchsäure mittelst Alkoholextraction.

1) M. **11**. 545. (1890.)

die Lösung einige Zeit mit überschüssigem Zinkcarbonat, filtriert, wäscht mit heissem Wasser aus, dampft das Filtrat auf ein kleines Volumen auf dem Wasserbad ein und lässt zur Krystallisation stehen; durch Zusatz von etwas Alkohol zur Mutterlauge und Stehenlassen werden weitere Krystalle erhalten. Aus der heissen wässerigen Lösung des Zinksalzes kann durch Schwefelwasserstoff das Zink als Sulfid ausgefällt und nach Filtration und Verdampfen auf dem Wasserbad zum Syrup die Milchsäure erhalten werden.

Darstellung der activen Säuren.

Aus der i-Milchsäure lassen sich die activen Säuren herstellen durch fractionierte Krystallisation des Strychninsalzes, indem das d-milchsaure Strychnin leichter löslich ist, als das l-milchsaure Salz (Purdie und Walker[1]) oder auch durch Eintragen einer kleinen Spur krystallisierten d- oder l-Zinkammoniumlactats in eine concentrierte, durch Abkühlen übersättigte wässerige Lösung des i-Doppelsalzes. Es scheidet sich dann das Doppelsalz der entsprechenden activen Säure ab (Purdie[2]). Manche Mikroorganismen assimilieren in einer Nährlösung, welche i-Milchsäure enthält, den einen Componenten schneller als den andern, so z. B. Penicillium glaucum die l-Säure schneller als die d-Säure, so dass auf diese Weise auch aus der i-Säure active erhalten werden kann (Lewkowitsch[3]).

Eigenschaften der Säuren.

Die inactive und die activen Milchsäuren stellen syrupöse Flüssigkeiten dar. Die käufliche, durch Destillation im Vacuum gereinigte Gärungsmilchsäure krystallisiert bei starker Kälte (Krafft und Dyes[4]). Entsprechende Versuche mit den activen Säuren liegen nicht vor. Sie mischen sich in allen Verhältnissen mit Wasser, Alkohol, Aether, besitzen stark saure Reaction und rein sauren Geschmack, verflüchtigen sich beim Kochen ihrer Lösungen nicht unerheblich mit den Wasserdämpfen und bilden mit Metallen wohl charakterisierte neutrale Salze. Durch längeres Erhitzen, auch schon bei langem Stehen über Schwefelsäure bei gewöhnlicher Temperatur verlieren sie allmählich Wasser, indem sich Anhydride bilden. Längere Zeit auf 150° in trockenem Luftstrom erhitzt, gehen sie in Lactid $C_6H_8O_4$ (Smp. 124,5°, Sdp. 255°) über, welches in Nadeln krystallisiert und beim Kochen mit Wasser und kohlensaurem Zink in i-Milchsäure übergeführt wird. Man kann also auf diesem von Strecker gefundenen Weg active Milchsäure in inactive umwandeln.

Eigenschaften der Salze. Li salze.

Die Alkalisalze sind leicht löslich in Wasser. Kali- und Natronsalze krystallisieren nicht. Die Lithionsalze krystallisieren sehr schön, wasserfrei; beim Eindampfen ihrer wässerigen Lösung scheiden sie sich unter eigentümlichem Spritzeln krystallinisch aus, beim langsamen Erkalten in grossen cholesterinartigen Krystallen (F. Hoppe-Seyler und Araki[5]). Die Baryt- und Bleisalze, welche nicht krystallisieren, sind leicht löslich und können

1) J. Ch. S. **61**. 754. (1892.)
2) J. Ch. S. **63**. 1143. (1893).
3) B. **16**. 2720. (1883.)
4) B. **28**. 2589. (1895.)
5) H.-S. **20**. 365. (1895.)

deshalb zur Trennung von den meisten andern organischen Säuren benutzt werden. Die Zink- und Calciumverbindungen sind hauptsächlich untersucht und von besonderer Wichtigkeit, weil auf ihrer Verschiedenheit die Unterscheidung der activen und inactiven Säuren vor allem beruht. Das Zinksalz der i-Milchsäure krystallisiert mit 18,16 pCt. H_2O und entspricht dann der Formel $(C_3H_5O_3)_2Zn + 3H_2O$. 1 Teil löst sich bei 15° in 53 Teilen Wasser, in Alkohol ist es unlöslich. Das Zinksalz der aktiven Säuren $(C_3H_5O_3)_2Zn + 2H_2O$ enthält nur 12,89 pCt. H_2O. 1 Teil löst sich in 17,5 Teilen Wasser oder 1109 Teilen Alkohol bei 14—15°. Beide verlieren das Krystallwasser bei 110°. Das Kalksalz der i-Säure $(C_3H_5O_3)_2Ca + 5H_2O$ ist gleichfalls verschieden durch Krystallwassergehalt und Löslichkeit vom Kalksalz der activen Säuren $(C_3H_5O_3)_2Ca + 4H_2O$, aber beide krystallisieren in blumenkohlähnlichen Kugeln von feinen mikroskopischen Nadeln. Das Zinkammoniumsalz der i-Säure $(C_3H_5O_3)_3ZnNH_4 + 3H_2O$ ist wenig beständig, das entsprechende Salz der activen Säuren $(C_3H_5O_3)_3ZnNH_4 + 2H_2O$ krystallisiert in kurzen Prismen, ist luftbeständig und in 3—4 Teilen kaltem Wasser löslich (Purdie). Wässerige Lösungen der Milchsäure und ihrer Salze färben eine kaum gefärbte verdünnte wässerige Eisenchloridlösung gelb, ebenso eine wässerige Phenollösung, die durch Zusatz von etwas Eisenchlorid violett gefärbt ist (Uffelmannsche Reaction). Zn salze. Ca salze.

Die d- und l-Milchsäure zeigen nur schwache Rechts- bzw. Linksdrehung. Die spec. Drehung der d-Säure steigt mit zunehmender Concentration (Wislicenus[1]). Hoppe-Seyler und Araki[2]) fanden bei einem Procentgehalt von 11,2 $[\alpha]_D$ im Mittel $= +1{,}71°$, doch war die benutzte Säure nicht krystallisiert, die Lösung also jedenfalls nicht frei von Anhydrid. Die Salze der d-Säure drehen links, die der l-Säure rechts und zwar bei gleicher Concentration gleich stark, die specifische Drehung steigt mit abnehmender Concentration. Hoppe-Seyler und Araki fanden für d-milchsaures Zink bei einem Procentgehalt von 4,18 $[\alpha]_D = -7{,}55°$, bei einem Procentgehalt von 9,08 $[\alpha]_D = -6{,}56°$. Die Lithionsalze zeigen die relativ stärkste specifische Drehung. Für 5,0—11,6 proc. Lösungen betrug $[\alpha]_D = -11{,}7$—$13{,}1°$. Weitere Angaben über die specifische Drehung der freien Säure, der Zink-, Kalk-, Lithion- und anderer Salze siehe bei Hoppe-Seyler und Araki und bei Purdie und Walker[3]). Eine Zusammenstellung der gefundenen Werte findet sich bei Landolt[4]). Optische Eigenschaften.

Beim Erhitzen mit mässig verdünnter Schwefelsäure in zugeschmolzenem Rohr auf 140° zerfällt Milchsäure in Aldehyd und Ameisensäure, bei der Umwandlungen.

1) A. **167**. 302. (1873.)
2) H.-S. **20**. 365. (1895.)
3) J. Ch. S. **67**. 616. (1896.)
4) Das optische Drehungsvermögen organischer Substanzen. 2. Aufl. Braunschweig 1898. S. 469.

Oxydation mit Wasserstoffhyperoxyd entsteht Acetaldehyd, Ameisensäure, Essigsäure (Dakin[1]).

Nachweis. Der Nachweis der Milchsäuren, welcher nur nach vorangegangener Isolierung möglich ist, gründet sich hauptsächlich auf die besprochenen Eigenschaften der Salze, namentlich der Zink- und Lithiumsalze, ferner auf die Umwandlung in Aldehyd und Ameisensäure. Es ist durchaus unzulässig, lediglich aus der Krystallform der Zinksalze oder aus dem positiven Ausfall der Uffelmann'schen Reaction auf Milchsäure zu schliessen.

Hopkins u. Fletcher[2]) empfehlen zur Prüfung folgende Reaction, welche für physiologisches Material specifisch zu sein scheint, so dass ihr positiver Ausfall wohl als beweisend für Milchsäure angesehen werden darf; aus einem negativen darf aber nicht auf ihre Abwesenheit geschlossen werden. Wenn Aether für die Extraction verwendet werden soll, so muss er zuerst gut mit Wasser gewaschen werden.

Man bringt zu ungefähr 5 ccm conc. Schwefelsäure in einem Reagensglas einen Tropfen einer gesättigten Kupfersulfatlösung und darauf einige Tropfen der zu prüfenden, am besten alkoholischen Lösung, schüttelt und stellt die Probe 1—2 Min. in ein stark siedendes Wasser enthaltendes Becherglas. Darauf wird das Reagensglas unter der Wasserleitung abgekühlt und nach Zufügen von 2 oder 3 Tropfen einer sehr verdünnten alkoholischen Lösung von Thiophen (10—20 Tropfen in 100 ccm) in das kochende Wasser zurückgebracht. Bei Anwesenheit von Milchsäure wird die Flüssigkeit schnell sherryrot. Die Farbe ist nur dann beständig, wenn das Reagensglas sofort nach ihrem Auftreten abgekühlt wird.

Vorkommen. 75. **β-Oxybuttersäure $C_4H_8O_3$.** Die l-β-Oxybuttersäure findet sich bei schweren Fällen von Diabetes im Harn (Külz[3]), Minkowski[3]) (selten mehr wie 1 pCt.), ist aber auch bei verschiedenen anderen Krankheiten, wie Masern, Scharlach, Diphtherie, Skorbut, ferner bei unzureichender Ernährung zuweilen im Harn gefunden, stets in Begleitung von Acetessigsäure. Hugounenq[4]) wies sie im Blut eines Diabetikers nach, Magnus-Levy[5]) in Blut und Organen im Coma gestorbener Diabetiker.

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CH(OH) \\ | \\ CH_2 \\ | \\ COOH \end{array}$$

Darstellung. Die synthetisch durch Einwirkung von Natriumamalgam auf Acetessigäther (Wislicenus[6]) erhaltene β-Oxybuttersäure ist inaktiv. Mit Hülfe der Strychninsalze kann man aus ihr die l- und d-Säure gewinnen (Mc Kenzie[7]).

Isolierung. Zur Darstellung aus Harn verfährt man nach einer der folgenden Vorschriften.

---

1) J. B. Ch. **4.** 91. (1908.) 2) J. of Ph. **35.** 308. (1907.)
3) E. Külz, Z. f. B. **20.** 165 (1884) und **23.** 329 (1887.)
Minkowski, A. exp. P. u. Ph. **18.** 35 u. 147 (1884.)
R. Külz, Ebendas. **18.** 291 (1884).
Deichmüller, Szymanski u. Tollens, A. **228.** 92 (1885.)
4) C. r. soc. biol. 1887. p. 161. 6) A. **149.** 205. (1869.)
5) A. exp. P. Ph. **42.** 188. (1899). 7) J. Ch. S. **81.** 2. 1492 (1902.)

1. Nach E. Külz[1]). Man vergärt, dampft zum dünnen Syrup ein, neutralisiert mit Natronlauge und concentriert weiter. Der Syrup wird mit dem dreifachen Volumen 95 proc. Alkohol gefällt und filtriert, das Filtrat destilliert, der Rückstand mit absolutem Alkohol gefällt und Filtration, Destillation und Fällung so oft wiederholt, bis absoluter Alkohol keinen Niederschlag mehr gibt. Nach dem Abdestillieren des Alkohols wird dreimal mit dem gleichen Volumen Aether ausgeschüttelt, der vom Aether nicht gelöste Rückstand mit Schwefelsäure übersättigt und so oft mit grossen Mengen Aether ausgeschüttelt, bis sich in dem Auszug keine Linksdrehung mehr nachweisen lässt. Die beim Abdestillieren des Aethers zurückbleibende Säure wird in Wasser gelöst, in das Barytsalz übergeführt und dieses durch eine concentrierte ammoniakalische Lösung von Silbersulfat in das Silbersalz umgewandelt. Die abfiltrierte Flüssigkeit, teils bei gelinder Wärme, teils im Vacuum über Schwefelsäure von überschüssigem Ammoniak befreit und concentriert, lässt oxybuttersaures Silber in wohl ausgebildeten Krystallen herauskommen. Durch mehrfaches Umkrystallisieren aus Wasser wird es gereinigt und durch Salzsäure in die freie Säure übergeführt.

2. Nach Magnus-Levy[2]). Etwa 500 ccm unvergorener Harn werden nach Zusatz von ca. 25 g Ammonsulfat auf etwa 100 ccm eingeengt, mit etwa 40 ccm verdünnter mit Ammonsulfat gesättigter Schwefelsäure versetzt und in einem Extraktionsapparat*) mit Aether erschöpft. Die abgetrennte ätherische Lösung wird (zur Entfernung von anorg. Säuren usw.) mit wenig Wasser geschüttelt, durch trocknes Filter filtriert und verdunstet, der Rückstand mit Wasser aufgenommen, die (zur Entfernung von Hippursäure) filtrierte Lösung zur Entfernung von flüchtigen Säuren destilliert und dann mit Tierkohle gekocht und eingeengt. Durch Impfung mit krystallisierter Oxybuttersäure gelingt es oft diesen Syrup zur Krystallisation zu bringen. Andernfalls neutralisiert man in wässeriger Lösung mit Natronlauge, dampft ein, entwässert den Rückstand mit Alkohol und krystallisiert aus absol. Alkohol (zuletzt unter Zuhülfenahme von Aether) um. Aus concentrierter Lösung des Natronsalzes kann man dann durch Versetzen mit Schwefelsäure und Ausschütteln mit Aether die freie Säure gewinnen.

3. Ein anderes Verfahren ist von Stadelmann[3]) angegeben.

Eigenschaften. Die Säure wird gewöhnlich syrupartig erhalten, krystallisiert aber auch. Der ziemlich wasserfreie Syrup kann (leichter nach Impfung mit einigen Krystallen) durch Reiben unter plötzlicher Temperaturerhöhung zur Krystallisation gebracht werden (Magnus-Levy[2]). Glashelle plattenförmige Krystalle (Krystallographie bei Magnus-Levy), die bei 47,5—48°

*) M.-L. schüttelt diese Menge sehr häufig (12—18 mal) im Schüttelapparat mit grosser Menge Aether aus.

1) Z. f. B. **23**. 329. (1887.)
2) A. exp. P. Ph. **45**. 389. (1901).
3) Z. f. B. **23**. 456. (1887.)

sintern und bei 49—50° schmelzen, leicht in Wasser, Alkohol, Aceton löslich. Die reine Säure verflüchtigt sich beim Erwärmen auf dem Wasserbad in Spuren, zersetzt sich aber nicht. Die Salze lösen sich leicht in Wasser, schwer in absolutem Alkohol. Die Kalium- und Natriumsalze krystallisieren in zerfliesslichen, die Zink- und Kadmiumsalze in wenig hygroskopischen Nadeln, das Silbersalz in feinen Nadeln oder Schuppen.

Optische Eigenschaften.

Die Säure und ihre Salze drehen links. Für 1—11 proc. Lösungen der freien Säure beträgt $[\alpha]_D = -24{,}12°$, für 2—12 proc. Lösungen des Na-Salzes*) $[\alpha]_D = -14{,}35°$ (Magnus-Levy). Für die synthetische l-Säure fand Mc Kenzie $[\alpha]_D^{20} = -24{,}8°$ und für ihr Natriumsalz $[\alpha]_D^{15} = -14{,}5°$. Angaben über die specifische Drehung anderer Salze finden sich in den oben citierten Arbeiten.

Umwandlungen.

Beim Erhitzen auf 100° geht sie teilweise in ihr Anhydrid über, welches etwas weniger links dreht (Mc Kenzie). Beim Erhitzen der wässerigen Lösung zerfällt die β-Oxybuttersäure in Wasser und α-Crotonsäure, welche überdestilliert, bei der Oxydation mit Kaliumbichromat und Schwefelsäure liefert sie Aceton, bei der Oxydation mit Wasserstoffhyperoxyd entstehen Aceton, Acetaldehyd, Ameisensäure, Essigsäure (Dakin[1]).

Nachweis.

Ueber den Nachweis im Harn siehe unter Harn.

CH_3
|
CH
||
CH
|
$COOH$

α-Crotonsäure, in Nadeln oder Prismen krystallisierend, schmilzt bei 72°, siedet bei 184°, löst sich bei 15° in 12 Teilen Wasser. Sie gibt bei der Oxydation mit Bromsäure Aldehyd und Essigsäure, beim Schmelzen mit Aetzkali 2 Mol. Essigsäure, wird durch Natriumamalgam nicht angegriffen. Die Salze krystallisieren gut, das Zinksalz mit 2 Mol. H_2O, das Silbersalz ist schwer löslich in Wasser.

76. **Lanopalmitinsäure** $C_{16}H_{32}O_3$ aus verseiftem Wollfett erhalten. Krystallinisch, unlöslich in Wasser und in wässerigen Alkalien, löslich in Alkohol. Smp. 87—88° (Darmstaedter u. Lifschütz[2]).

Säure $C_{18}H_{36}O_3$. Erben[3]) erhielt sie aus dem Harn eines Falles von Chylurie in folgender Weise. Der Rückstand des Aetherauszugs des Harns wurde zum Schmelzen erwärmt und filtriert. Der auf dem Filter bleibende braune Rückstand wurde mit verdünnter Sodalösung in der Wärme gelöst, die Lösung durch wiederholtes Ausschütteln mit Aether von Fett befreit, darauf mit Schwefelsäure angesäuert und abermals mit Aether ausgeschüttelt. Der Aether hinterliess beim Verdunsten die Säure.

Lichtbraun gefärbte, ziemlich harte undeutlich krystallinische Masse. Smp. ca. 50°. Bei der Destillation mit Wasserdampf ging eine geringe Menge einer weissen in Wasser unlöslichen, aus Aether krystallinisch sich abscheidenden, in Alkohol und Petrolaether löslichen Substanz vom Smp. 51,5° über. Erben hält diese Säure für ein Gemenge von Monoxystearinsäuren. Das Vorkommen der gleichen Substanz in einem Ascites wurde von Bernert[4]) wahrscheinlich gemacht.

Cerebronsäure $C_{25}H_{50}O_3$. Bei der Spaltung des Cerebron erhalten (Thierfelder[5]), in Aether und warmem Alkohol löslich, in Wasser unlöslich. Smp. 99°.

---

*) Gegenwart von Bleiacetat steigert die Linksdrehung sehr erheblich.

1) J. B. Ch. **4**. 91. (1908.)
2) B. **29**. 2890. (1896.)
3) H.-S. **30**. 436. (1900.)
4) A. exp. P. Ph. **49**. 40. (1903.)
5) H.-S. **43**. 21. (1904/05.)

Lanocerinsäure $C_{30}H_{60}O_4$ aus verseiftem Wollfett erhalten (Darmstaedter u. Lifschütz[1]). Fast unlöslich in Wasser, wässerigen Alkalien und kaltem Alkohol, leicht löslich in heissem, aus dem sie in mikroskopischen Blättchen krystallisiert. Smp. 104 bis 105°.

Nach Röhmann[2]) entsteht diese Säure beim Kochen mit alkoholischer Kalilauge aus dem im Wollfett vorgebildeten Lanocerin, welches als das innere Anhydrid der Säure zu betrachten ist. Man kann das L. leicht rein gewinnen, wenn man das Wollfett wiederholt mit der gleichen Menge absolutem Methylalkohol auskocht und den ungelösten Teil wiederholt in Aether löst und mit Alkohol fällt.

Ein dem Lanocerin ähnlicher Stoff, Pennacerin, ist nach R. auch im Secret der Bürzeldrüsen enthalten.

Mehrbasische Säuren.

77. **Oxalsäure** $C_2H_2O_4$ kommt bei Menschen und höheren Tieren wohl nur als Kalksalz vor. Im Harn, auch der Pferde, Schweine, Kaninchen, ist dieses Salz wohl stets in sehr geringer Menge vorhanden, reichlicher zuweilen bei Diabetes und Icterus. Beim Menschen scheidet es sich häufig krystallinisch ab, bildet auch oft feste Concremente im Nierenbecken oder in der Harnblase, auch bei Schweinen, oder nimmt Teil an der Steinbildung. In der Gallenblase oder den Fäces ist seltener Calciumoxalat gefunden. Salkowski[3]) fand Oxalsäure stets in der Leber (Kalbs-, Rindsleber) in kleinen Mengen, noch weniger in den Muskeln, nicht im Pancreas. Vorkommen. $\begin{matrix}COOH\\|\\COOH\end{matrix}$

Sie entsteht bei der Oxydation von Zucker mit Salpetersäure, bei der Einwirkung von schmelzenden Alkalien auf Cellulose (auf diesen Reactionen beruht ihre Darstellung), bei der Oxydation von Eiweissstoffen und Leim z. B. mit Calciumpermanganat. Darstellung.

Ueber das Verfahren zur Isolierung der Oxalsäure aus dem Harn, das auch zur quantitativen Bestimmung dient, siehe unter Harn. Um sie aus den Organen zu isolieren, wird das feinzerhackte Gewebe mit dem mehrfachen Volumen Wasser digeriert, die Masse aufgekocht, coliert, abgepresst, gewaschen, das Filtrat stark eingedampft und nach dem Ansäuern mit Salzsäure mit Aether ausgeschüttelt. Der Aetherrückstand wird in Wasser aufgenommen, die wässerige Lösung mit Ammoniak, dann mit Chlorcalcium und Essigsäure versetzt. Der Niederschlag ist mikroskopisch und in der unten beschriebenen Weise auf oxalsauren Kalk zu prüfen. Häufig entstehen bei der Ausfällung Trübungen, die von der Gegenwart von Fettsäuren herrühren. Die mikroskopische Untersuchung schützt vor Verwechselungen (Salkowski). Isolierung.

Die Oxalsäure krystallisiert mit 2 Mol. H_2O in feinen monoklinen Prismen, die in Wasser und Alkohol leicht, in Aether wenig löslich sind. Sie verflüchtigt sich beim Erhitzen ohne Kohlebildung und wird durch Eigenschaften.

1) B. **29**. 1474. (1896.)
2) Ref. C. f. Ph. **19**. 317. (1906.)
3) H.-S. **29**. 448. (1900.)

Oxydation mit Permanganat in Kohlensäure und Wasser zerlegt. Von den Salzen lösen sich nur die Alkalisalze in Wasser.

Der oxalsaure Kalk $C_2O_4Ca + 3\,H_2O$ bildet sehr harte, meist mikroskopische Krystalle in der Form tetragonaler Octaëder, deren eine Achse etwas kürzer ist als die beiden anderen; die Krystalle sind stets farblos, Ecken und Kanten scharf ausgebildet. Bei schneller Abscheidung krystallisiert er auch mit 1 Mol. H_2O in Plättchen. Zuweilen erscheint das Salz in der Form mikroskopischer rundlicher Knollen und Dumbbells. Das Salz ist unlöslich in Wasser, Alkohol, Aether, ebenso unlöslich in Ammoniak, kohlensauren Alkalien, fast unlöslich in Essigsäure, etwas löslich in verdünnter oder concentrierter Milchsäure, auch in Lösungen von phosphorsaurem oder harnsaurem Natron. In Salzsäure gelöst gibt der oxalsaure Kalk beim Verdunsten der Lösung ein Doppelsalz von Chlorcalcium mit oxalsaurem Kalk, welches in grossen rhombischen Tafeln krystallisiert und sich bei Zusatz von Wasser zerlegt. Beim schwachen Glühen wird oxalsaurer Kalk ohne Verkohlung in kohlensauren Kalk verwandelt.

Nachweis. Ueber den Nachweis in Geweben siehe das oben Gesagte, über den Nachweis in Concrementen und über den Nachweis und die Bestimmung im Harn siehe später.

Vorkommen. $\begin{matrix}CH_2-COOH\\|\\CH_2-COOH\end{matrix}$

78. **Bernsteinsäure $C_4H_6O_4$.** Die Bernsteinsäure ist in geringen Mengen in vielen tierischen Flüssigkeiten, im Saft verschiedener Organe (Milz, Thymus, Thyreoidea), zuweilen in Hydrocephalus- und Hydroceleflüssigkeiten, stets reichlich in Echinococcusflüssigkeiten gefunden, ferner im Wollschweiss. Sie bildet sich bei der bacteriellen Zersetzung der Eiweissstoffe und Kohlehydrate, findet sich z. B. häufig in saurer Milch, Käse, im Darminhalt, in jauchigem Eiter. Sie tritt auch bei der Autolyse von Leber, Muskeln, Hefe auf (Magnus-Levy[1]) und entsteht bei der alkoholischen Gärung des Zuckers. Die Angaben über das Vorkommen im Blut und normalen Harn, reichlicher im Harn von Hunden bei Fett- und Fleischnahrung (Meissner[2]), ferner reichlich im Menschenharn nach asparaginhaltigen Nahrungsmitteln (Hilger[3]) sind nicht bestätigt worden (Salkowski[4]), Longo[5]). Sie bildet sich bei der Oxydation von Eiweiss und Leim mit Calciumpermanganat (Seemann[6]).

Darstellung. Die Bernsteinsäure entsteht durch Verseifung von Aethylencyanid, ferner aus Aepfelsäure und Weinsäure durch Reduction mit Jodwasserstoff

---

1) B. Ph. P. **2**. 273. (1902.)

2) Meissner und Jolly, Z. rat. Med. (3.) **24**. 97.
Meissner und Shepard, Untersuchungen über das Entstehen der Hippursäure im tierischen Organismus. Hannover 1866.

3) A. **171**. 208. (1874.)

4) Pfl. A. **2**. 367 (1869.) u. **4**. 95. (1871.)

5) H.-S. **1**. 213. (1877/78.)

6) H.-S. **44**. 229. (1905.)

und durch bacterielle Zersetzung dieser beiden Säuren. Letztere Bildungsweise dient zu ihrer Darstellung.

Isolierung. Zu ihrer Isolierung aus Organen und Flüssigkeiten wird der wässerige Auszug der zerkleinerten Organe oder die Flüssigkeit nach Ansäuern aufgekocht, filtriert, eingeengt und mit Ammonsulfat gesättigt, das Filtrat nach Zusatz von Schwefelsäure mit Aether wiederholt (bis zur Erschöpfung) ausgeschüttelt, der Aetherauszug eingeengt. Zur Entfernung der gleichzeitig vorhandenen Milchsäure löst man nach Blumenthal[1]) den Rückstand in Wasser, fügt Bleihydroxyd hinzu, kocht, verdampft auf dem Wasserbad zur Trockne und übergiesst den Rückstand mit heissem Wasser. Das milchsaure Blei, welches dabei in Lösung geht, wird abfiltriert, der Rückstand mit Eisessig übergossen und erwärmt. Man filtriert ab, entbleit durch Schwefelwasserstoff und dampft das Filtrat zur Trockne ein. Ist der Rückstand nicht ganz rein, so kann man ihn in einem Gemisch gleicher Teile von absolutem Alkohol und Aether lösen, filtrieren und das Filtrat verdunsten. Bernsteinsäure scheidet sich krystallinisch aus.

Neubauer empfiehlt die wässerige Lösung des Aetherrückstandes zum Kochen zu erhitzen, tropfenweise mit Salpetersäure zu versetzen, bis nur noch gelbe Färbung vorhanden ist, und dann zur Krystallisation einzudampfen. Die ausgeschiedenen Krystalle sind auf Bernsteinsäure zu prüfen.

Eigenschaften. Die Bernsteinsäure bildet farblose vierseitige Nadeln oder sechsseitige Tafeln, die bei 182° schmelzen zu einer Flüssigkeit, die bei 235° unter teilweiser Zersetzung zu Anhydrid und Wasser siedet. Schon bei 120° entwickeln sich beim Erhitzen der Säure Nebel, welche eingeatmet heftig zum Husten reizen, eigentümlich schmecken und riechen (charakteristisches Verhalten). 1 Teil Bernsteinsäure löst sich in 14—15 Teilen Wasser von 20°, leichter in heissem, leicht in heissem Alkohol, sehr wenig in Aether, doch geht sie beim Schütteln ihrer wässerigen Lösung mit viel Aether in diesen über. Salze. Bernsteinsaure Alkalisalze sind in Wasser leicht löslich, in Alkohol unlöslich, ebenso in Aether. Kalk- und Barytsalz sind in Wasser schwer, Magnesia- und Manganosalz leicht löslich. Eine Lösung von bernsteinsauren Alkalien wird durch Silbernitrat fast quantitativ gefällt, ebenso durch Bariumchlorid in der Siedehitze. Eisenchlorid bringt in neutralen Lösungen bernsteinsaurer Salze einen in Wasser unlöslichen, braunen, flockigen Niederschlag hervor. Beim gelinden Erwärmen und Schütteln einer mit Bleizuckerlösung versetzten wässerigen Bernsteinsäurelösung scheidet sich bernsteinsaures Blei als schwerer, krystallinischer Niederschlag ab (charakteristisches Verhalten, welches Salkowski zum Nachweis empfiehlt.)

Umwandlungen. Durch Salpetersäure wird sie nicht zersetzt, mit Kalihydrat erhitzt

1) Virch. A. **137**. 550. (1894.)

gibt sie Oxalsäure, mit Braunstein und Schwefelsäure Essigsäure, mit Ammoniak und Zinkstaub geglüht Pyrrol. Bei Anwesenheit eines Uransalzes zerfällt sie in wässeriger Lösung, dem direkten Sonnenlichte ausgesetzt, in Propionsäure und Kohlensäure.

Nachweis. Dem Nachweis muss die Isolierung in der oben beschriebenen Weise vorangehen. Gelingt es nicht, aus dem Aetherrückstand die Bernsteinsäure krystallinisch zu erhalten und an ihren charakteristischen Eigenschaften zu erkennen, so glüht man nach Neuberg[1]) einen Teil des Rückstandes in einem Reagensglase mit Ammoniak und Zinkstaub und hält nach Vertreibung des überschüssigen Ammoniaks in die Oeffnung einen mit starker Salzsäure befeuchteten Fichtenspan (Streichholz). Eine Rotfärbung (Pyrrol) zeigt Bernsteinsäure an, doch nur dann, wenn die Substanz nicht aus dem Harn stammt (von Bestandteilen des Harns verhalten sich nämlich β-Oxybuttersäure, Acetessigsäure, Oxalsäure, Hippursäure ebenso) und die Anwesenheit von β-Oxybuttersäure auszuschliessen ist, denn die Bernsteinsäure und β-Oxybuttersäure sind die einzigen bekannten Substanzen der tierischen Organe und Gewebsflüssigkeiten, welche in Aether löslich sind und diese Reaktion geben.

$H_2\begin{matrix}CH_2-COOH\\CH_2-COOH\end{matrix}$ 79. **Glutarsäure $C_5H_8O_4$.** Die Glutarsäure oder normale Pyroweinsäure ist von Brieger[2]) neben Bernsteinsäure im jauchigen Eiter gefunden und auch im Wollschweiss vorhanden und im Rübensaft nachgewiesen. Sie wird synthetisch aus Propylencyanid durch Verseifung, ferner durch Reduction aus Oxyglutarsäure oder Glutaminsäure dargestellt, bildet grosse flache Tafeln, ist leicht löslich in Wasser, schmilzt bei 97,5°, siedet bei 302° fast ohne Zersetzung. Das Calciumsalz $C_5H_6O_4Ca + 2H_2O$ löst sich leicht in kaltem, schwer in heissem Wasser, krystallisiert schwer. Das Zinksalz löst sich bei 18° in 102 Tl. Wasser, in heissem Wasser noch schwerer.

Brieger säuerte jauchigen Eiter mit Schwefelsäure stark an und schüttelte mit Aether aus, entfernte dann durch Baryt die Schwefelsäure, versetzte das Filtrat mit Bleiessig, filtrierte, entfernte das Blei durch Schwefelwasserstoff, engte dann die Flüssigkeit auf dem Wasserbade ein, behandelte mit Barytwasser, entfernte den Bariumüberschuss durch Kohlensäure, und erhielt aus dem Filtrat Barytsalze, welche mehrmals mit Schwefelsäure zersetzt und wieder gebildet und hierdurch gereinigt wurden. Die freigemachten Säuren wurden mit Tierkohle entfärbt und in die Kalksalze verwandelt, diese durch Krystallisation in bernsteinsauren und glutarsauren Kalk getrennt. Die freigemachte Glutarsäure schmolz bei 98° und war unzersetzt flüchtig.

Vorkommen. $\begin{matrix}CH_2-COOH\\|\\C(OH)-COOH\\|\\CH_2-COOH\end{matrix}$ 80. **Citronensäure $C_6H_8O_7$.** Citronensäure, weit verbreitet in höheren und niederen Pflanzen, findet sich auch in der Milch von Menschen, Kühen, Ziegen als regelmässiger Bestandteil, der nicht aus der Nahrung herstammt (Henkel[3]). Auch im Käse ist sie nachgewiesen (Winterstein[4]).

---

1) H.-S. **31**. 574. (1900/01.) u. Salkowski-Festschrift. Berlin Hirschwald. 1904. S. 271.
2) H.-S. **5**. 366. (1881.)
3) Molkereizeitung. **2**. 259, Ref. C. C. 1888. S. 1561.
Die landwirtschaftl. Versuchsstationen. **39**. 143. (1891).
A. Scheibe, Ebendas. **39**. 153. (1891.)
4) H.-S- **41**. 485. (1904.)

Synthetisch erhält man die Citronensäure aus Acetondicarbonsäure und Blausäure und auf andere Weise. Dargestellt wird sie aus Citronensaft als Kalksalz oder auch aus Traubenzucker durch Einwirkung gewisser Schimmelpilze. Darstellung.

Zur Isolierung aus Milch bringt man Kuhmilch durch Zusatz einer Säure zur Gerinnung, filtriert, neutralisiert das Filtrat fast mit Aetzkalk, filtriert wieder und dampft ein. Es scheidet sich ein krystallinischer Niederschlag ab, der zu mehr als $^9/_{10}$ aus citronensaurem Kalk besteht. 1 Liter Kuhmilch enthält 0,9—1,0 g Citronensäure. Ueber ein quantitatives Bestimmungsverfahren siehe unter Milch. Isolierung.

Die Citronensäure krystallisiert mit 1 Mol. H_2O in rhombischen Prismen, die bei 100° schmelzen. Schmelzpunkt der wasserfreien Säure 153—154°. Die krystallisierte Säure löst sich sehr reichlich in kaltem Wasser, sie löst sich auch leicht in Alkohol, weniger reichlich in Aether. Eigenschaften.

Die Alkalisalze, auch das saure Kalisalz, sind in Wasser leicht löslich. Das neutrale Kalksalz ist in Kali- oder Natronlauge unlöslich, aber löslich in Chlorammoniumlösung; diese Lösung, zum Kochen erhitzt, scheidet das Calciumcitrat aus, welches jetzt in Chlorammoniumlösung sich nicht wieder löst. Eine wässerige Citronensäurelösung mit Kalkwasser übersättigt, gibt in der Kälte keinen Niederschlag, beim Kochen fällt das Kalksalz aus (charakteristisches Verhalten). Salze. Ca salz.

Erwärmt man das amorphe in Wasser schwer lösliche Barytsalz mit Bariumacetat oder Essigsäure längere Zeit, so löst es sich und beim Erkalten und Stehen scheidet sich $(C_6H_5O_7)_2Ba_3 + 3^1/_2H_2O$ in charakteristischen frei liegenden oder zu Bündeln vereinigten Büscheln ab. Ba salz.

Dem Nachweis muss die Isolierung vorangehen. Zur Erkennung dienen ausser den angegebenen Eigenschaften folgende Reactionen: Nachweis.

1. nach Sabanin und Laskowsky[1]). 1 Tl. Citronensäure wird mit 6 Tl. Ammoniak 6 Stunden lang auf 110—120° im zugeschmolzenen Glasrohr erhitzt, die Lösung dann in eine flache Schale ausgegossen und an der Luft im Licht stehen gelassen; sie färbt sich nach einigen Stunden blau, später grün. Die Reaction gelingt noch mit 10 mg Citronensäure.

2. nach Denigès[2]). Sie ist noch empfindlicher. Man versetzt die wässerige Lösung mit etwas Mercurisulfatlösung (5 g Mercurioxyd in 20 ccm Schwefelsäure und 100 ccm Wasser), kocht und fügt einige Tropfen einer 2 proc. Kaliumpermanganatlösung hinzu. Unter Entfärbung der Lösung bildet sich erst eine Trübung und dann ein weisser Niederschlag (Mercurisulfatverbindung der Acetondicarbonsäure).

Aceton und Ketonsäuren.

81. **Aceton C_3H_6O.** Zuerst im Destillat diabetischer Harne nachgewiesen und in diesen oft in reichlicher Menge vorhanden, auch in der Vorkommen.

$$\begin{matrix} CH_3 \\ | \\ CO \\ | \\ CH_3 \end{matrix}$$

1) Z. anal. Ch. **17**. 74. (1878.) 2) A. de Ch. Ph. [7] **18**. 413. (1899.)

Exspirationsluft und im Blut und in Organen Diabetischer gefunden, kommt es auch bei vielen anderen Krankheiten und Ernährungsstörungen (Inanition) im Harn und nach v. Jaksch in kleinen Mengen auch im Destillat normaler Harne vor. Es entsteht in kleiner Menge beim Erhitzen von Zucker mit Alkalien, bei der Oxydation von Gelatine (Blumenthal und Neuberg[1]) und Eieralbumin (Orgler[2]) mit käuflichem (d. h. Mineralsäure enthaltendem) Wasserstoffsuperoxyd und Eisensalz.

Darstellung. Es wird erhalten aus Isopropylalkohol und β-Oxybuttersäure durch Oxydation, aus Acetessigäther durch Einwirkung starker Säuren oder Alkalien neben Kohlensäure und Alkohol, aus Acetessigsäure durch einfaches Erhitzen und bildet sich reichlich bei der trockenen Destillation von essigsaurem Baryt, Holz, Zucker und Kalk.

Isolierung aus Harn. Zur Isolierung des Aceton aus Harn destilliert man grössere Mengen bis etwa der 10. Teil übergegangen ist, säuert das Destillat mit Salzsäure an, destilliert noch mehrmals und fängt stets nur den zuerst übergehenden Teil in stark gekühlter Vorlage auf.

Eigenschaften. Es ist eine mit Wasser, Alkohol oder Aether sich mischende Flüssigkeit von angenehmem, eigentümlichem Geruch, siedet bei 56,3° und hat das spec. Gewicht 0,814 bei 0°. Mit sauren, schwefligsauren Alkalien vereinigt es sich zu krystallisierenden Verbindungen. Aus schwach alkoholischer

Hydrazon. Lösung fällt es auf Zusatz von p-Nitrophenylhydrazin in essigsaurer Lösung als p-Nitrophenylhydrazonaceton, welches aus heissem Alkohol in langen goldgelben Nadeln (Smp. 148—148,5°) krystallisiert (Bamberger und Sternitzki[3]). Diese Verbindung ist auch in kaltem Wasser fast unlöslich und dient deshalb zur quantitativen Bestimmung des Aceton im

Dibenzalaceton. Harn (siehe Harn). Noch sehr verdünnte Lösungen (in wässerigem Methylalkohol) geben mit einigen Tropfen Benzaldehyd und 10 proc. Natronlauge während 24 stündigen Stehens krystallinische Abscheidung von Dibenzalaceton (Smp. 112°) (Vorländer und Hobohm[4]). Erhitzt man eine sehr verdünnte Acetonlösung mit dem gleichen Volumen einer Mercurisulfatlösung, welche aus 5 g Mercurioxyd, 20 ccm conc. Schwefelsäure und 100 g Wasser dargestellt ist, 10 Min. in verschlossener Flasche im siedenden Wasserbad, so erhält man einen weissen krystallinischen Niederschlag, welcher aus Aceton, Quecksilber und Schwefelsäure besteht (Denigès[5]).

---

1) D. m. W. 1901. S. 6. B. Ph. P. **2**. 238 (1902.)

2) B. Ph. P. **1**. 583. (1902.)

3) B. **26**. 1306. (1893.), van Ekenstein u. Blanksma R. **22**. 434. (1903.) u. u. **24**. 33. (1905.)

4) B. **29**. 1840. (1896.), vergl. auch Embden u. Kalberlah, B. Ph. P. **8**. 122. (1906.)

5) C. r. **126**. 1868 (1898.) u. **127**. 963. (1898.)

Mit Jod und Kalilauge behandelt gibt Aceton Jodoform, durch Natrium- Umwandlungen.
amalgam und Wasser wird es in Isopropylalkohol umgewandelt.

Zum Nachweis des Aceton dienen folgende Reactionen, welche mit Nachweis.
der wässerigen Lösung anzustellen sind.

1. Probe von Lieben: Auf Zusatz von etwas Jodjodkaliumlösung und wenig Natronlauge entsteht eine gelblich weisse Trübung und allmählich Abscheidung von sechsseitigen mikroskopischen Plättchen von Jodoform.

2. Probe von Legal: Frisch aufgelöstes Nitroprussidnatrium und Natronlauge geben Rotfärbung, die bald in Gelb übergeht. Fügt man jetzt Essigsäure hinzu, so entsteht Purpur- bis Carminrot-Farbe; ähnlich aber langsamer mit Ammoniak statt Natronlauge.

3. Probe von Gunning: Man fügt Sublimat oder Mercurinitrat, dann alkoholische Kalilauge bis zur stark alkalischen Reaction hinzu, schüttelt stark um und filtriert. Schichtet man über das klare Filtrat etwas Schwefelammonium ohne Umschütteln, so zeigt sich an der Grenze der Flüssigkeiten Schwarzfärbung, wenn Aceton zugegen ist, da dasselbe unter diesen Verhältnissen etwas Quecksilber löst. Bei geringem Acetongehalt tritt die Schwarzfärbung unter Umständen nur ein, wenn vor dem Zusatz des Schwefelammoniums mit Salzsäure schwach angesäuert ist.

Die erste Reaction gibt auch Alkohol, alle drei auch Aldehyd. Wenn aber das Aceton durch Destillation in der oben beschriebenen Weise isoliert worden ist, so ist ein Vorhandensein von Aldehyd im Destillat ausgeschlossen.

Ueber den Nachweis des Aceton im Harn siehe unter Harn.

82. **Brenztraubensäure** $C_3H_4O_3$ wurde von K. A. H. Mörner[1]) in sehr geringer Vorkommen.
Menge unter den hydrolytischen Zersetzungsprodukten verschiedener Proteinsubstanzen
(Rinderhorn, Haare, Bluteiweiss, Casein) nachgewiesen. Da sie bei der Hydrolyse erst
spät auftritt und beim längeren Kochen immer weiter gebildet wird, ist sie als ein secun-
däres Zersetzungsproduct anzusehen.

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CO \\ | \\ COOH \end{array}$$

Zur Gewinnung wurde die Substanz mit der etwa 3fachen Menge verdünnter Isolierung.
Salzsäure (bis zu 15 pCt.) in verschlossenem Kolben auf dem kochenden Wasserbad etwa eine Woche lang erhitzt, die Flüssigkeit ausgeäthert, die Aetherlösung nach Waschen mit wenig Wasser verdunstet und aus der wässerigen Lösung des Aetherrückstandes das Hydrazon dargestellt. Dasselbe wurde in einigen Fällen völlig rein erhalten, in anderen Fällen liess sich ein anderes Hydrazon (wahrscheinlich das der Propionylameisensäure) nicht abtrennen.

Brenztraubensäure ist eine in Wasser, Alkohol, Aether leicht lösliche Flüssigkeit, in Eigenschaften.
der Kälte krystallinisch werdend, siedet ziemlich unzersetzt bei 165—170°. Aus ihrer
schwach mit Salzsäure angesäuerten Lösung scheidet sich auch noch bei starker Hydrazon.
Verdünnung auf Zusatz von salzsaurem Phenylhydrazin das Hydrazon als schwach gelblicher krystallinischer Niederschlag ab, der beim Umkrystallisieren aus heissem Wasser oder heissem Alkohol sich in langen, haarfeinen gelben Nadeln abscheidet (E. Fischer u. Jourdan[2]). Smp. beim raschen Erhitzen unter Zersetzung bei 192°, beim langsamen erheblich niedriger (E. Fischer[3]).

---

1) H.-S. **42**. 121. (1904.)
2) B. **16**. 2241 (1883.) u. **17**. 572. (1884.)
3) B. **41**. 76. (1908.)

Nachweis. Zum Nachweis dient dieses Hydrazon. Ferner die Ausscheidung von Jodoform auf Zusatz von Natronlauge und Jodjodkaliumlösung zu einer wässerigen Lösung schon in der Kälte.

Vorkommen.

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CO \\ | \\ CH_2 \\ | \\ COOH \end{array}$$

83. **Acetessigsäure $C_4H_6O_3$.** Acetessigsäure[1]) findet sich nicht selten in schweren Fällen von Diabetes und bei anderen pathologischen Zuständen im Harn, normaler Weise nicht. Im Allgemeinen tritt sie unter denselben Bedingungen auf wie das Aceton.

Darstellung und Eigenschaften. Die Acetessigsäure, erhalten durch vierundzwanzigstündiges Stehenlassen ihres Aethylesters mit etwas mehr als der berechneten Menge 2,5 proc. Kalilauge, Ansäuern mit Schwefelsäure, Ausschütteln mit Aether und vorsichtiges Verdunsten des Aethers, stellt eine stark sauer reagierende syrupöse Flüssigkeit dar, die mit Wasser sich gut mischt und mit Barium und Kupfer amorphe Salze bildet. Mit Eisenchlorid geben die freie Säure, ihre Salze und Ester weinrote Färbung. Die Salze zerfallen ebenso wie die freie Säure beim Erhitzen ihrer wässerigen Lösungen in Aceton und Carbonate bezw. Kohlensäure. Diese Spaltung der Salze erfolgt auch bei der Digestion der Salze mit Eiweiss, Aminosäuren (Pollak[2]). Bei der Behandlung von Acetessigester mit Natriumamalgam bei niedriger Temperatur bildet sich i-β-Oxybuttersäure (§ 75).

Nachweis. Ueber den Nachweis der Acetessigsäure im Harn siehe Harn.

Vorkommen.

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CO \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ COOH \end{array}$$

84. **Laevulinsäure $C_5H_8O_3$,** welche aus Hexosen und solchen Polysacchariden, die bei der hydrolytischen Spaltung Hexosen liefern, durch Kochen mit Säuren neben Ameisensäure und Huminsubstanzen entsteht (Tollens), wurde von Kossel und Neumann[3]) auch unter den hydrolytischen Zersetzungsproducten der Thymusnucleinsäure aufgefunden und ist seitdem auch als Spaltungsproduct vieler anderer Nucleinsäuren nachgewiesen worden. Auch bei der hydrolytischen Spaltung des Pseudomucin wurde sie erhalten (Otori[4]).

Isolierung. Zur Isolierung wurde die Nucleinsäure mit etwa 30 proc. Schwefelsäure 2 Stunden auf 150° erhitzt, die Flüssigkeit ausgeäthert und der Aetherauszug verdunstet. Aus dem Aetherrückstand lässt sich die Laevulinsäure durch Destillation oder als Silbersalz gewinnen.

Eigenschaften. Laevulinsäure ist in Wasser, Alkohol, Aether leicht löslich, erstarrt zu blättriger Krystallmasse vom Smp. 33,5°, siedet unter geringer Zersetzung bei 250°. Aus ihrer mit Ammoniak neutralisierten wässerigen Lösung scheidet salpetersaures Silber krystallinischen Niederschlag von laevulinsaurem Silber ab, der sich aus heissem Wasser umkrystallisieren lässt. Auf Zusatz von essigsaurem Phenylhydrazin scheidet sich das Hydrazon vom Smp. 108° ab.

Nachweis. Zum Nachweis dienen die genannten Verbindungen, ferner folgende Reactionen. Eine wässerige Lösung gibt

1. auf Zusatz von Natronlauge und Jodjodkalium einen Niederschlag von Jodoform schon in der Kälte,

---

1) Gerhardt, Wien. med. Presse. 1865. S. 673.
Tollens und Deichmüller, A. **209**. 22. u. 30. (1881.)
v. Jaksch, H.-S. **7**. 487. (1882/83.)

2) B. Ph. P. **10**. 232. (1907).

3) B. **27**. 2215. (1894.)

4) H.-S. **42**. 453. (1904.)

2. mit Nitroprussidnatriumlösung und Natronlauge dunkelkirschrote Färbung, die auf Zusatz von Essigsäure in eine Himbeerfarbe übergeht.

Schwefelhaltige Körper.

85. **Methylmercaptan CH_4S** fanden Nencki und Sieber[1]) regelmässig unter den Gasen, welche sich bei der Zersetzung von Eiweiss und Leim durch die verschiedensten Bacterien bilden. Wohlgemuth[2]) erhielt es bei der bacteriellen Zersetzung von Cystin. L. Nencki[3]) konnte es in den menschlichen Excrementen nachweisen und M. Nencki[4]) im menschlichen Harn nach Spargelgenuss. Auch nach Genuss von Blumenkohl, Rotkohl tritt es im Harn auf (Rubner[5]). Es entsteht auch, wie Nencki und Schoubenko[6]) feststellten, wenn man Eiweiss und Leim (20 g) mit Aetzkali (200 g) $^3/_4$ bis 1 Stunde auf 250—280° erhitzt. Auch der beim Erhitzen von Hornspänen mit Wasser in geschlossenem Rohr auf 150° entstehende lauchartig riechende Körper ist höchstwahrscheinlich Methylmercaptan (Bauer[7]). Vorkommen. $CH_3(SH)$

Um es aus der Kalischmelze zu gewinnen, löst man dieselbe in Wasser, säuert mit Oxalsäure an (in betreff der genauen Beschreibung siehe die Originalarbeit), erwärmt und fängt die übergehenden Gase in 3 proc. Quecksilbercyanidlösung auf. Den entstehenden Niederschlag von Schwefelquecksilber und Methylmercaptanquecksilber filtriert man ab, wäscht ihn und löst in Salzsäure. Das freigewordene Methylmercaptan destilliert man in eine 3 proc. Lösung von essigsaurem Blei, es scheidet sich Methylmercaptanblei in Form eines gelben Niederschlags von mikroskopischen Tafeln und Prismen ab. In derselben Weise lässt es sich aus dem Harn isolieren. Isolierung.

Das Methylmercaptan stellt eine leichte, auf Wasser schwimmende Flüssigkeit dar, welche bei 5,8° siedet und einen charakteristischen unangenehmen Geruch (nach faulem Kohl) besitzt. Es bildet mit Blei, Quecksilber, Platin, Gold in Wasser unlösliche Verbindungen und färbt Isatinschwefelsäure grün. Mit dieser Reaction lassen sich ausserordentlich kleine Mengen erkennen, noch empfindlicher ist der Nachweis mit Hülfe von Platin- oder Goldchlorid (Rubner). Eigenschaften. Nachweis.

86. **Aethylsulfid $C_4H_{10}S$** ist nach Abel[8]) die flüchtige, stark nach Knoblauch riechende Verbindung, welche sich aus Hundeharn beim Versetzen mit Kalkmilch oder Alkali aus einer Muttersubstanz entwickelt. Vorkommen.

$$\begin{matrix} C_2H_5 \\ | \\ S \\ | \\ C_2H_5 \end{matrix}$$

1) M. **10**. 526. (1889.)
2) H.-S. **43**. 469. (1904/05.)
3) M. **10**. 862. (1889.)
4) A. exp. P. u. Ph. **28**. 206. (1891.)
5) A. f. H. **19**. 136. (1893.)
6) Archives des scienc. biologiq. publiées par l'institut impérial de médec. expériment. à St. Petersbourg. **1**. 315. (1892.)
7) H.-S. **35**. 343. (1902.)
8) H.-S. **20**. 253. (1895.)

Diese Muttersubstanz ist nach Neuberg und Grosser[1]) eine Diaethylmethylsulfiniumbase $(C_2H_5)_2S(CH_3)OH$, welche aus dem Harn durch Phosphorwolframsäure gefällt und nach Zersetzung der Niederschlags mit Schwefelsäure oder Salzsäure durch Wismuthkaliumjodid abgeschieden werden kann.

Nach Drechsel[2]) entsteht eine flüchtige, dem Aethylsulfid sehr ähnlich riechende Substanz bei der Zersetzung der Eiweisskörper durch Salzsäure. Wohlgemuth[3]) erhielt es bei der bacteriellen Zersetzung des Cystin.

Isolierung. Um das Aethylsulfid aus Hundeharn zu erhalten (die Reindarstellung ist noch nicht gelungen), macht man ihn alkalisch und leitet einen langsamen Luftstrom hindurch. Derselbe passiert nach einander mit Salzsäure, mit Natronlauge, mit Kalistückchen und mit granuliertem Chlorcalcium gefüllte Waschflaschen, bezw. U-Röhren und tritt schliesslich durch concentrierte Schwefelsäure, welche das Aethylsulfid zurückhält.

Eigenschaften. Es ist eine farblose, bei 92° siedende Flüssigkeit, löst sich in Alkohol und Aether, nur wenig in Wasser, wohl aber in concentrierter Schwefelsäure unter Verschwinden des Geruchs und beim Verdünnen mit Wasser sich wieder abscheidend. Sublimat ruft in seinen Lösungen einen Niederschlag hervor, der abfiltriert und mit Wasser gewaschen aus heissem Alkohol in langen, glänzenden Prismen krystallisiert $(C_2H_5)_2 S HgCl_2$, Smp. 119°. Mit Bromessigsäure bildet es ein schön krystallisierendes Bromid der Diaethylsulfinessigsäure $Br(C_2H_5)_2 S . CH_2COOH$. Auf Zusatz von Jodjodkalium entsteht in wässeriger oder schwefelsaurer Lösung ein schwarzbrauner Niederschlag $(C_2H_5)_2 SJ_2$, der sich nur sehr allmählich in schwarzbraunen Oeltröpfchen abscheidet. Sehr empfindliche Reaction, da noch in sehr verdünnten Lösungen wolkenartige Trübungen entstehen. Sehr vorsichtiger Zusatz von salpetrigsaurem Salz zu einer Lösung von Aethylsulfid in Schwefelsäure ruft eine Grünfärbung hervor, welche aber beim Stehen und bei überschüssigem Zusatz des Reagens verschwindet (weniger empfindliche Reaction).

Nachweis. Zum Nachweis dienen die beiden eben genannten Reactionen, doch ist zu bemerken, dass auch Methylamin, welches sich aus mit Kalkmilch versetztem Hundeharn entwickeln kann, mit Jod eine ähnliche Reaction gibt (Huppert[4]).

Alkohole.

Vorkommen. 87. **Aethylalkohol C_2H_6O.** Spuren von Alkohol finden sich in den menschlichen Organen, wie Gehirn, Muskeln, Leber, nicht allein nach Alkoholgenuss, sondern sie scheinen auch ohne letzteren stets vorhanden zu sein. Rajewski[5]) fand in ganz frischem Muskelfleisch und Gehirn von Kaninchen, Pferd und Rind, Leber vom Hunde bei Destillation mit Wasser

CH_3
|
$CH_2(OH)$

1) Ref. C. f. Ph. **19**. 316. (1906.)
2) C. f. Ph. **10**. 529. (1897.)
3) H.-S. **43**. 469. (1904/05.)
4) Analyse des Harns. 10. Aufl. 1898. S. 54.
5) Pfl. A. **11**. 122. (1875.)

im Destillat geringe mit Kalilauge und Jod durch Jodoformbildung nachweisbare Mengen und stellte aus frischem Pferdefleisch Alkohol dar, den er mit Platinmohr in Aldehyd und Essigsäure überführte. Béchamp fand gleichfalls Alkohol in der Leber. Diese Angaben sind neuerdings von Landsberg[1]) bestätigt worden, welcher auch feststellte (wie schon Béchamp), dass bei bacterieller Zersetzung die Alkoholmenge in den Geweben zunimmt und ferner, dass bei der Autolyse eine solche Vermehrung nicht erfolgt. Im Harn tritt er nur nach sehr reichlichem Genuss von Alkohol auf, im diabetischen kann er beim Stehen durch Vergären des Zuckers sich bilden.

Isolierung.

Zur Isolierung sehr geringer Mengen von Alkohol aus tierischen Organen destilliert man das schnell zerkleinerte Organ mit Wasser, bis etwa $^2/_5$ übergegangen ist, destilliert das Destillat wieder usw., indem man immer etwa $^2/_5$ übergehen lässt. Schliesslich sättigt man das Destillat fast mit Kaliumcarbonat, destilliert abermals und sättigt nun völlig mit diesem Salz. Sind irgend erhebliche Mengen von Alkohol vorhanden, so scheiden sie sich in Tropfen ab.

Eigenschaften.

Farblose Flüssigkeit, leicht brennbar. Sdp. 78°. Beim Behandeln mit p-Nitrobenzoylchlorid geht er quantitativ in p-Nitrobenzoesäureäthylester über, welcher aus Methylalkohol umkrystallisiert werden kann und bei 57° schmilzt. Durch Oxydationsmittel wird er in Aldehyd und Essigsäure umgewandelt. Benetzt man mit einigen Tropfen Alkohol Platinmohr, am besten mit Asbest gemengt, in einem Schälchen bei gutem Luftzutritt, so erhält man den Geruch nach Aldehyd. Extrahiert man nun mit etwas Wasser, fügt zur Lösung einen Tropfen Silbernitrat und erwärmt, so scheidet sich metallisches Silber ab. Lässt man einige Tropfen auf Platinmohr einige Zeit stehen, so werden sie stark sauer; filtriert man dann, fügt ein wenig Silberoxyd hinzu, erwärmt und filtriert, so enthält die Lösung essigsaures Silber.

Nachweis.

Zum Nachweis isoliert man den Alkohol in der oben beschriebenen Weise und identificiert die abgeschiedenen Tropfen am besten durch Darstellung des p-Nitrobenzoesäureäthylesters (Buchner und Meisenheimer[2]). Gelingt die Abscheidung in Form von öligen Tropfen nicht, so prüft man das Destillat mit folgenden empfindlichen Proben:

1. Jodoformprobe siehe § 81, 1. Es ist zweckmässig, ein wenig zu erwärmen. Die Abscheidung erfolgt viel langsamer als bei Aceton. Die Reaction ist nicht beweisend für Aethylalkohol, da eine Reihe anderer Verbindungen (Aldehyd, Aceton, andere Alkohole) sie auch geben.

2. Beim Erhitzen mit einer sehr verdünnten Lösung von Kaliumbichromat und Schwefelsäure tritt Grünfärbung und Aldehydgeruch auf. Viele andere Stoffe geben dieselbe Reaction.

---

1) H.-S. 41. 505. (1904.) 2) B. **38**. 624. (1905.)

3. Beim Erhitzen mit conc. Schwefelsäure und etwas Natriumacetat gibt sich der charakteristische Geruch nach Essigäther zu erkennen.

4. Beim Schütteln mit einigen Tropfen Benzoylchlorid und einigen Cubikcentimetern 10 proc. Natronlauge entsteht der eigentümliche Geruch nach Benzoesäureäthylester. Andere Alkohole geben übrigens Ester mit ähnlichem Geruch.

Ueber den Nachweis und die Bestimmung in Organen siehe auch später.

CH_3
|
$(CH_2)_{14}$
|
CH_2OH

88. **Cetylalkohol $C_{16}H_{34}O$.** Im Walrat findet sich Cetylalkohol in Verbindung mit fetten Säuren, hauptsächlich mit Palmitinsäure. Palmitinsäure-Cetylester, der Hauptbestandteil des Walrats, schmilzt bei 53,5°. Man stellt den Cetylalkohol aus dem Rückstande des Aetherextractes durch Verseifung mit alkoholischer Kalilauge, Fällen des Alkohols mit Wasser und öfteres Umkrystallisieren aus Aether oder Eisessig dar.

Der reine Cetylalkohol krystallisiert in dünnen, blätterigen Tafeln, die bei 50° schmelzen zu einer Flüssigkeit vom spec. Gew. 0,8105 bei 60°, welche bei 344° unzersetzt destilliert. Er ist unlöslich in Wasser, löslich in Alkohol, Aether, Eisessig. Beim andauernden Erhitzen mit Säuren verbindet er sich mit denselben zu Aetherarten und geht mit Kalihydrat auf 220 bis 275° erhitzt in Palmitinsäure über.

Octadekylalkohol $C_{18}H_{38}O$ findet sich nach Röhmann[1]) in reichlicher Menge im Extract und Secret der Bürzeldrüse von Gänsen (wurde von de Jonge[2]) irrtümlich für Cetylalkohol gehalten) an Fettsäuren gebunden. Auch im Walrat ist er an Säuren gebunden vorhanden (Krafft[3]) und wahrscheinlich auch in Dermoidcysten (Ameseder[4]).

Man erhält ihn durch Ausschütteln des verseiften Aetherauszugs der Bürzeldrüse mit Petroläther, Waschen des Petrolätherrückstandes mit heissem Wasser und Umkrystallisieren aus Petroläther und Alkohol.

Er ist unlöslich in Wasser und krystallisiert aus Petroläther in atlasglänzenden, dünnen fettigen Plättchen, aus wasserhaltigem Alkohol in feinen zu radiär gestreiften Kugeln vereinigten Nadeln. Smp. 59°. Durch Erhitzen mit Natronkalk auf 270—280° wird er in Stearinsäure übergeführt.

Eikosylalkohol $C_{20}H_{42}O$. Als primärer gesättigter Alkohol dieser Zusammensetzung ist wahrscheinlich die bei der Verseifung des Dermoidcystenätherauszuges auftretende früher für Cetylalkohol gehaltene Substanz anzusehen (Ameseder[5]).

Er wurde durch Ausschütteln des verseiften Aetherauszugs der Dermoidcysten mit Aether und Umkrystallisieren des Aetherrückstandes aus Alkohol gewonnen und mittelst fractionierter Destillation seines Essigsäureesters gereinigt.

Smp. 70°. Smp. des Essigsäureesters 44°. Bei der Oxydation mit Chromsäureanhydrid in eisessigsaurer Lösung entsteht Arachinsäure.

Carnaubylalkohol $C_{24}H_{50}O$ von Darmstätter u. Lifschütz[6]) aus verseiftem Wollfett erhalten. Smp. 68—69°. Er liefert bei der Oxydation mit Chromsäure Carnaubasäure. Siehe indessen Röhmann[7]).

Cerylalkohol $C_{26}H_{54}O$ findet sich als Cerotinsäureester im chinesischen Insektenwachs und auch im Bienenwachs, ferner ist er aus Wollfett erhalten worden (Darm-

1) B. Ph. P. **5**. 110. (1904.)
2) H.-S. **3**. 225. (1879.)
3) B. **17**. 1627. (1884.)
4) H.-S. **52**. 121. (1907.)
5) H.-S. **52**. 121. (1907.)
6) B. **29**. 2890. (1896.)
7) Ref. C. f. Ph. **19**. 317. (1906.)

städter u. Lifschütz[1]). Weisse krystallinische Masse. Smp. 76—79°. Beim Schmelzen mit Kali oder Erhitzen mit Natronkalk geht er in Cerotinsäure über.

Myricylalkohol $C_{30}H_{62}O$ als Palmitinsäureester im Bienenwachs enthalten. Smp. 86°.

Psyllaalkohol $C_{33}H_{68}O$ wurde von Sundwik[2]) im Secret der Blattlaus Psylla alni aufgefunden, in dem er sich als Ester in Verbindung mit Psyllasäure $C_{32}H_{65}COOH$ (S. 66) findet. Der Ester ist unlöslich in kaltem oder heissem Aether, löslich in heissem Chloroform, aus dem er sich beim Erkalten in feinen mikroskopischen Nadeln abscheidet. Smp. 96°. Psyllaalkohol findet sich auch im Hummelwachs (Sundwik[3]). Der Alkohol ist unlöslich oder schwer löslich in Aether, leicht löslich in Benzol und Essigäther, sehr leicht in heissem, schwer in kaltem Aceton und bildet eine lockere blendend weisse Krystallmasse (Smp. 69—69,5°); er krystallisiert (mit Wasser) in schrägen Tafeln. Beide (Ester und Alkohol) haben die Fähigkeit reichliche Mengen Wasser zu binden, das über 100° entweicht.

89. **Glycerin** $C_3H_8O_3$. Das Glycerin kommt im freien Zustande wohl nur in Spuren im Inhalt des Dünndarms vor. In kleinen Mengen ist es auch im Blutplasma nachgewiesen (Tangl und Weiser[4]). In Verbindung mit Fettsäuren findet es sich in den Fetten, in Verbindung mit Fettsäuren, Phosphorsäure und stickstoffhaltigen Substanzen in Lecithin und anderen Phosphatiden. Es bildet sich in geringer Menge bei der alkoholischen Gärung des Zuckers. Vorkommen.

$$\begin{matrix} CH_2(OH) \\ | \\ CH(OH) \\ | \\ CH_2(OH) \end{matrix}$$

Synthetisch lässt es sich auf verschiedene Weise darstellen. Um es aus Fetten zu gewinnen, verseift man diese durch Kochen mit Bleioxyd und Wasser, filtriert von fettsaurem Blei ab, befreit das Filtrat durch Schwefelwasserstoff von gelöstem Bleioxyd und dampft die von Schwefelblei abfiltrierte Flüssigkeit ein. Darstellung.

Das Glycerin stellt in reinem Zustande eine farb- und geruchlose, süss schmeckende, sehr hygroskopische, in Wasser oder Alkohol in jedem Verhältnis lösliche, in Aether unlösliche, syrupöse Flüssigkeit dar, welche bei 0° allmählich krystallisiert. Es siedet im luftverdünnten Raum bei 50 mm Druck bei 210° und verflüchtigt sich in geringer Menge schon beim Kochen seiner wässerigen Lösung mit den Wasserdämpfen. Seine Lösungen reagieren neutral. Als dreiwertiger Alkohol kann es sich mit 1, 2 oder 3 Molekülen einbasischer Säuren zu Estern verbinden. Diese Verbindungen nennt man Glyceride. Zu ihnen gehören die Glycerinphosphorsäure und die Fette, welche durch Erhitzen von trockenem Glycerin mit wasserfreier Phosphorsäure bezw. trockenen Fettsäuren erhalten werden können. Beim Schütteln von Glycerin mit Benzoylchlorid und Natronlauge bilden sich in Wasser unlösliche Benzoe- Eigenschaften. Benzoesäureester

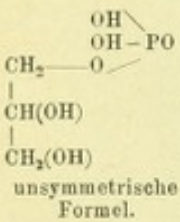
1) B. **31**. 97. (1898.)
2) H.-S. **17**. 425. (1893.) **25**. 116. (1898.) **32**. 355. (1901.)
3) H.-S. **26**. 56. (1898/99.) **53**. 365. (1907.)
4) Pfl. A. **115**. 152. (1906.)

säureester (Diez[1]). Es löst Kalk, Baryt, Kupferoxyd, Bleioxyd und andere Metalloxyde unter Bildung von Alkoholaten auf, auch Fettsäuren, wie Palmitinsäure, Stearinsäure, Oelsäure sind etwas löslich in ihm. Mit Kupfersulfat und Alkali gibt es eine dunkelblaue Flüssigkeit, die beim Kochen nicht reduciert wird. Durch kochenden Jodwasserstoff entsteht aus Glycerin Isopropyljodid. Auf dieser Reaction beruht ein Verfahren zur quantitativen Bestimmung des Glycerins im Blut (siehe später).

Umwandlungen. Erhitzt man Glycerin mit wasserfreier Phosphorsäure oder saurem schwefelsauren Kali, so bildet sich durch Zerlegung des Glycerins Wasser und Acroleïn C_3H_4O, eine äusserst stechend riechende, leicht flüchtige und sich an der Luft schnell oxydierende Flüssigkeit, welche auch Silber in ammoniakalischer Lösung schnell reduciert. Ein in die Dämpfe gehaltener Papierstreifen, der mit einer natronlauge- und ammoniakhaltigen Silberlösung getränkt ist, wird sofort schwarz. Beim Schmelzen mit Alkalien bildet das Glycerin zunächst Wasserstoff und Milchsäure, durch weitere Einwirkung auf die Milchsäure entstehen Buttersäure, Essigsäure, Ameisensäure usw. Auch durch Bacterien wird es unter Bildung von Alkoholen und Säuren zersetzt.

Nachweis. Zum Nachweis des Glycerins dient vor allem das Auftreten von Acroleïn bei seiner Zersetzung und die Grünfärbung, welche sich zeigt, wenn man etwas Glycerin mit Borax am Platindraht in die Flamme bringt (Senier u. Lowe[2]), ferner sind die Mischbarkeit mit Wasser und Alkohol, der süsse Geschmack, die Fähigkeit, Kupferoxyd in alkalischer Lösung mit schön blauer Farbe zu lösen und die Unfähigkeit, es beim Erwärmen zu reducieren, für die Erkennung zu verwerten.

Vorkommen. 90. **Glycerinphosphorsäure $C_3H_9PO_6$.** Sie findet sich in sehr geringer Menge im normalen Harn, ferner im Blut, leukämischen Harn, in Transsudaten, Colostrum, Muskeln, Nerven, im Gehirn, Eidotter, Eiter usw. Sie entsteht bei der Spaltung von Lecithin, Kephalin, Cruorin, einem Diamidomonophosphatid aus dem Herzmuskel und wahrscheinlich noch anderen Phosphatiden mit Bariumhydroxyd. Auch bei der Steapsinspaltung des Lecithins tritt sie auf (P. Mayer[3]). Die frei vorkommende ist wohl überall als Zersetzungsproduct von Phosphatiden aufzufassen.



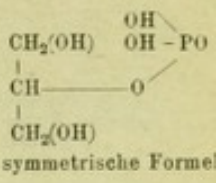
unsymmetrische Formel.

Synthetisch ist die unsymmetrische α-Glycerinphosphorsäure (aus β-Dichlorhydrin) und die symmetrische β-Glycerinphosphorsäure (aus α-Dichlorhydrin) dargestellt worden (Tutin u. Hann[4]) Ferner entsteht Glycerinphosphor-

1) H.-S. **II.** 472. (1887.)
2) J. Ch. S. **33.** 438. (1878.)
3) B. Z. **I.** 49. (1906.)
4) J. Ch. S. **89.** 2. 1749. (1906.)

säure beim 24 stündigen Erhitzen molekularer Mengen von Glycerin und Phosphorsäure auf 105—110° (Carré[1]), Power u. Tutin[2]).

Die natürliche Glycerinphosphorsäure zeigt Linksdrehung und muss deshalb der unsymmetrischen Formel entsprechen (Willstätter u. Lüdecke[3]). Nach Tutin und Hann stellt sie indessen, ebenso wie die aus Glycerin und Phosphorsäure synthetisch erhaltene Säure ein Gemisch der unsymmetrischen und symmetrischen dar. Sie schliessen das aus einem Vergleich*) der Barium- und Brucinsalze der drei synthetischen Glycerinphosphorsäuren und der natürlichen (aus Lecithin gewonnenen) durch Kochen mit Barytwasser racemisierten.



symmetrische Formel

Darstellung.

Man erhält Glycerinphosphorsäure aus Lecithin in Form ihres Bariumsalzes durch Erhitzen mit Barytwasser, Filtrieren, Einleiten von Kohlensäure, Filtrieren und Fällen des Filtrates mit Alkohol. Zur Reinigung wird der Niederschlag in Wasser gelöst, die Lösung wieder mit Alkohol gefällt und Lösung und Fällung häufig wiederholt.

Eigenschaften.

Die freie Säure ist eine syrupöse Flüssigkeit. Ihre Kalk- und Barytsalze sind unlöslich in absolutem Alkohol, löslich in Wasser (das Barytsalz löslicher als das Kalksalz) und schwerer in heissem als in kaltem. Das Kalksalz scheidet sich beim Erwärmen der kalt gesättigten Lösung in glänzenden Blättchen ab. Im Vacuum über Schwefelsäure hält es $^3/_4$ Mol. Wasser zurück, welches in der Wärme (130°) abgegeben wird. Das Barytsalz scheidet sich beim Sieden als Haut ab und ist schwer zu filtrieren, da

*)

	Bariumsalze			
	α-Glycerinphosphorsäure	β-Glycerinphosphorsäure	Lecithin-Glycerinphosphorsäure	Glycerinphosphorsäure (a. Glyc. u. Phphs.)
Aussehen	Gut ausgebildete Plättchen	amorph	Plättchen, aber weniger gut entwickelt	Körniges Pulver
Wassergehalt d. lufttrockenen Salzes in pCt.	1,0	5,1	2,4	2,5
Löslichkeit in Wasser bei 17°	1 : 26,6	1 : 36,8	1 : 13,9	1 : 53,7
	Brucinsalze			
Aussehen	Nadeln	Nadeln	Nadeln	Nadeln
Krystallwasser	9 Mol.	$11^1/_2$ Mol.	$6^1/_2$ Mol.	7 Mol.
Schmelzpunkt des trockenen Salzes	157—158°	157—158°	158—159°	158—159°
Drehung in Wasser $[\alpha]_D$	— 25,3	— 23,9	— 23,9	— 24,6
„ in Alkohol $[\alpha]_D$	— 32,5	— 28,1	— 27,9	— 28,2

1) C. r. **137**. 1070. (1903.)
2) J. Ch. S. **87**. 1. 249. (1905.)
3) B. **37**. 3753. (1904.)

es bei geringer Temperaturerniedrigung wieder in Lösung geht. Durch Alkohol wird es aus verdünnter Lösung als schleimiger Niederschlag, aus concentrierter in compacten Flocken gefällt. Bei 105° getrocknet entspricht es der Formel $C_3H_7O_6\,PBa + {}^1/_2\,H_2O$.

Optische Eigenschaften.

Beide Salze zeigen eine schwache Linksdrehung. Die Stärke der Ablenkung ist nicht genau zu bestimmen, da sich eine partielle Racemisierung bei der Darstellung nicht vermeiden lässt. Am stärksten drehten Präparate, welche durch Verseifung von bei gewöhnlicher Temperatur gewonnenem Lecithin in der Kälte (stundenlanges Schütteln mit 10 proc. Barytwasser) gewonnen worden waren (Willstätter und Lüdecke).

Beim Erwärmen zerlegt sich die freie Säure allmählich in ihre Componenten.

Nachweis.

Zum Nachweis der Glycerinphosphorsäure in Flüssigkeiten dampft man die von Eiweissstoffen befreite, mit Barytwasser alkalisch gemachte, durch Kohlensäure von überschüssigem Baryt befreite und nach Aufkochen abfiltrierte Flüssigkeit auf ein kleines Volumen ein, lässt einige Zeit stehen, um Kreatin und dergleichen sich ausscheiden zu lassen, dampft im Vacuum über Schwefelsäure möglichst ein, extrahiert den Rückstand mit absolutem Alkohol, löst das Zurückbleibende in wenig Wasser, filtriert und prüft nach Verdunsten der Flüssigkeit zur Trockne den Rückstand nach § 56 auf Phosphor. Statt dessen kann man auch diese letztere Flüssigkeit mit Salzsäure ansäuern, einige Zeit im Kochen erhalten, zur Trockne abdampfen, den Rückstand mit Wasser ausziehen, filtrieren und das Filtrat mit ammoniakalischer Magnesialösung oder mit molybdänsaurem Ammoniak auf Phosphorsäure prüfen (§ 50).

Fette.

Vorkommen.

91. Fette sind in allen Geweben und Organen enthalten, in wechselnden, oft nur ganz geringen Mengen, reichlich im Knochenmark, im subcutanen Bindegewebe, in der Bauchhöhle, zwischen den Muskeln und an vielen anderen Orten (Fettgewebe). Pathologischer Weise kann sich das Fett in jedem Organ anhäufen, es handelt sich in diesen Fällen um dasselbe Fett, wie man es im normalen Zustande z. B. im Panniculus adiposus usw. findet. Auch fast alle Flüssigkeiten enthalten Fett in geringer Menge gelöst. Im Harn findet es sich nur bei Chylurie und in sehr seltenen Fällen in Concrementen, die im Wesentlichen aus Fettsäuren und Fett bestehen. Fein verteilt ist es reichlich in der Milch und im Chylus bei Fettfütterung vorhanden.

Die Fette sind Glycerinfettsäureester, und zwar Triglyceride. Das tierische Fett ist ein Gemenge von Tripalmitin, Tristearin und Triolein in wechselnden Verhältnissen, im menschlichen Fett überwiegt das Triolein. Daneben finden sich in kleiner Menge Trilaurin, Trimyristin, Triarachin und

im Milchfett auch die Glyceride der Buttersäure, Capronsäure, Caprylsäure, Caprinsäure. Mono- und Diglyceride scheinen nicht vorzukommen, dagegen sind gemischte Triglyceride nachgewiesen worden, in tierischen Fetten mit Bestimmtheit bis jetzt allerdings nur eines, α-Palmitodistearin.

Synthetisch können die Fette durch Erhitzen von Glycerin mit den betreffenden Fettsäuren unter stark vermindertem Druck auf 200—220° erhalten werden. In derselben Weise gewinnt man auch die gemischten Glyceride, z. B. das α-Palmitodistearin durch Erhitzen von α-Monopalmitin und Stearinsäure (Guth[1], Kreis u. Hafner[2]). Darstellung.

Aus fettreichem wasserarmem Gewebe (Fettgewebe) lässt sich das Fett nach möglichster mechanischer Zerkleinerung durch Kochen mit Alkohol, Verdunsten des alkoholischen Filtrats und Aufnahme des Rückstandes mit Aether isolieren. Statt dessen kann man auch das Fettgewebe bei möglichst niedriger Temperatur ausschmelzen, die Gewebsrückstände auspressen und das flüssige Fett durch Dekantieren und Filtrieren oder auch durch Aufnahme in Aether von Wasser und festen Gewebsteilen befreien. Fettarme Gewebe (Muskeln, drüsige Organe) zerkleinert man mit der Maschine, bringt den Brei in dünner Schicht auf Glasplatten, welche auf 40—50° warmem Sand liegen, lässt einen mit einem Ventilator erzeugten starken Luftstrom darüber streichen und sorgt durch häufiges Umrühren der Masse, dass immer wieder neue Teile an die Oberfläche gelangen. Die auf diese Weise in verhältnissmässig kurzer Zeit getrocknete Masse wird pulverisiert und mit Aether extrahiert. Isolierung.

Statt dessen kann man die zerkleinerten Organe mit Alkohol verrühren bis die Masse krümelig wird, filtrieren, den Filterrückstand bei möglichst grosser Oberfläche und unter häufigem Umrühren auf dem Wasserbad bei etwa 70° trocknen, pulverisieren und mit Aether extrahieren.

In Flüssigkeiten suspendierte Fette kann man durch Schütteln mit Aether oder Extraction mit einem Aetherextractionsapparat (§ 4) aufnehmen, aus Emulsionen, z. B. Milch, erhält man sie in gleicher Weise, nachdem man etwas Natronlauge zugefügt hat.

Der nach Verdunsten des Aethers hinterbleibende Rückstand enthält ausser dem Fett noch Phosphatide und Cholesterin; auch Cholesterinester, Fettsäuren, Farbstoffe und andere stickstoffhaltige Substanzen können in ihm enthalten sein. Die Anwesenheit von Fettsäuren gibt sich dadurch zu erkennen, dass die alkoholisch-ätherische Lösung einer Probe des Rückstandes tropfenweise hinzugefügte alkoholische Lösung von Phenolphtalein, welche durch Zufügen einer minimalen Menge Alkali rot gefärbt ist, entfärbt. Um sie zu entfernen zerreibt man den Aetherrückstand mit verdünnter Sodalösung, dampft auf dem Wasserbade ein, nimmt mit Wasser Nachweis und Entfernung von Beimengungen.

1) Z. f. B. **44**. 78. (1903.) 2) B. **36**. 1123. (1903.)

auf und schüttelt mit Aether. Zum Nachweis der Phosphatide prüft man eine Probe des Aetherrückstandes nach § 56 auf Phosphor. Ihre Entfernung wird unter Umständen, wenigstens teilweise, in folgender Weise gelingen: man fällt die ätherische Lösung mit Aceton, filtriert nach längerem Stehen von ausgefallenen Phosphatiden ab, verdunstet das Filtrat und behandelt den Rückstand mit Alkohol, in dem sich das Fett nur wenig löst, während Phosphatide in Lösung gehen. Eine Entfernung des Cholesterins ist nur möglich nach vorausgegangener Verseifung (§ 94).

Eigenschaften. Manche Fette sind flüssig (reicher Gehalt an Olein), andere bei gewöhnlicher Temperatur krystallisiert; sie reagieren, wenn völlig rein, neutral, so dass ihre ätherische Lösung eine alkoholische, durch eine Spur Alkali rot gefärbte Phenolphtaleinlösung nicht entfärbt. Sie sind an sich farb-, geschmack- und geruchlos, lösen aber viel Farbstoff und erscheinen im Tierkörper wohl immer gefärbt. Sie durchtränken Papier und machen es durchscheinend (Fettflecke), beim Erhitzen verflüchtigen sie sich nicht unzersetzt. Sie sind unlöslich in Wasser, leichter als dieses, in flüssigem Zustand auf ihm schwimmend (Fettaugen), meist auch ziemlich unlöslich in kaltem, leicht löslich in kochendem Alkohol. Alle lösen sich leicht in Aether, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Benzol, Petroläther und flüchtigen Oelen; sie lösen sich auch gegenseitig auf, so stellen die gewöhnlichen Oele, wie Olivenöl, eine Lösung von Stearin und Palmitin in Olein dar. Etwas löslich sind Fette auch in Seifen-, Eiweiss- oder Leimlösungen und besonders in Flüssigkeiten, welche Gallensäuren enthalten. Schüttelt man flüssige Fette mit schleimigen oder Eiweisslösungen, so gehen sie in feine Zerteilung über, aus welcher sie sich nur langsam wieder zu einer Masse vereinigen (Emulsion). Eine haltbare Emulsion entsteht auch, wenn man gewöhnliches, nicht gereinigtes, flüssiges Fett (das in Folge von Zersetzungen stets kleine Mengen freier Fettsäuren enthält) mit schwacher Sodalösung zusammenbringt; vollkommen neutrales Fett tut dies nicht, da sich in diesem Falle keine Seifen, auf deren Anwesenheit die Emulsionierung beruht, bilden können.

Spaltung. Durch Kochen mit Wasser werden die Fette kaum angegriffen, dagegen durch Erhitzen mit Alkalien, besonders in alkoholischer Lösung schnell in Glycerin und Fettsäuren gespalten (Verseifung); dieselbe Zerlegung bewirken conc. Schwefelsäure oder Wasserdampf in das auf 220° erhitzte Fett eingeleitet, ferner Fermente z. B. das im Pancreas- und Magensaft enthaltene Steapsin, eine Reihe von Mikroorganismen, sowie auch Toxine, wie die Schlangengifte, auch Crotin, Ricin. Alkalien in der Kälte verseifen nicht, ebenso wenig kohlensaure Alkalien in der Wärme.

Beim Stehen der Fette in Berührung mit atmosphärischer Luft werden sie allmählich zerlegt und die freigewordenen Fettsäuren zu unangenehm riechenden Stoffen oxydiert (Ranzigwerden der Fette). Erhitzt man Fette, zweckmässig nach inniger Vermischung mit gepulvertem Kaliumbisulfat in

trocknem Reagensglas, so gehen Fettsäuren und Acroleïn über, dessen Nase und Augen stark reizende Dämpfe sich schon in geringen Mengen leicht kenntlich machen und das auch in der § 89 angegebenen Weise nachgewiesen werden kann.

Zum Nachweis der Fette dient besonders die letzte Reaction. Ausser Fetten und hochmolecularen fetthaltigen Verbindungen wie Lecithin sind keine Stoffe bekannt, welche in Aether löslich sind und diese Reaction geben. Speciell geben auch die hohen Fettsäuren, welche dieselben Löslichkeitsverhältnisse zeigen wie die Fette und auch „Fettflecke" im Papier erzeugen, diese Reaction nicht. Zur Unterscheidung von Fett- und Fettsäuren kann auch die Reaction ihrer ätherischen Lösung dienen, die man in der eben beschriebenen Weise mit einer rot gefärbten alkalischen Phenolphtaleinlösung prüft. Nachweis.

Stearin (Tristearin) $C_{57}H_{110}O_6$. Das Stearin ist das festeste, am schwersten schmelzbare unter den bekannten Fetten. Es ist in heissem Alkohol oder Aether schwerer löslich als die übrigen Fette und wird beim Erkalten ihrer Lösungen zuerst ausgeschieden, gewöhnlich in rectangulären Tafeln, seltener in rhombischen Prismen. Reines krystallisiertes Stearin schmilzt bei 71,5°. Aus dem Schmelzfluss erstarrt, schmilzt es bei 55°, wird dann gleich wieder fest und schmilzt bei 71,5° aufs Neue (Guth). Es ist aus tierischen Fetten kaum rein zu erhalten. Das unreine Stearin ist bei 53°—66° schmelzbar.

$$\begin{array}{l} CH_2-O-C_{18}H_{35}O \\ | \\ CH-O-C_{18}H_{35}O \\ | \\ CH_2-O-C_{18}H_{35}O \end{array}$$

Palmitin (Tripalmitin) $C_{51}H_{98}O_6$. Das Palmitin ist wenig löslich in kaltem, leicht löslich in heissem Alkohol oder Aether. Beim Erkalten der heiss gesättigten Lösung scheiden sich feine Nadeln von Palmitin aus. Ist es mit Stearin gemischt, so scheiden sich aus den heissen Lösungen beim Erkalten Gemische (oder Verbindungen) von Palmitin und Stearin in Kugeln aus, welche aus radial um einen Punkt gestellten Blättchen oder Nadeln, die oft grashalmartig gewunden erscheinen, bestehen. Diese Gemenge hielt man früher für ein besonderes Fett, welches Margarin genannt wurde. Reines krystallisirtes Palmitin schmilzt bei 65,5°. Aus dem Schmelzfluss erstarrt schmilzt es bei 50°, wird dann gleich wieder fest und schmilzt nun wieder bei 65,5° (Guth). Geringe Beimengungen verändern den Schmelzpunkt.

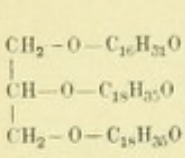
$$\begin{array}{l} CH_2-O-C_{16}H_{31}O \\ | \\ CH-O-C_{16}H_{31}O \\ | \\ CH_2-O-C_{16}H_{31}O \end{array}$$

Olein (Triolein) $C_{57}H_{104}O_6$. In reinem Zustande ein farbloses, flüssiges Oel bei gewöhnlicher Temperatur, erstarrt bei —6° krystallinisch. Es wird leicht ranzig und färbt sich dabei gelb, ist ziemlich löslich in absolutem Alkohol, weniger in verdünntem, leicht löslich in Aether. Das Olein löst Stearin und Palmitin reichlich auf und stellt in dieser Mischung die Hauptmasse der natürlichen Fette dar. Bei der trockenen Destillation gibt es ausser den Producten, welche auch andere Fette liefern, noch Sebacinsäure. Im Vacuum destilliert reines Olein unzersetzt. Jodzahl 86,098.

$$\begin{array}{l} CH_2-O-C_{18}H_{33}O \\ | \\ CH-O-C_{18}H_{33}O \\ | \\ CH_2-O-C_{18}H_{33}O \end{array}$$

Butyrin, Capronin, Caprylin und die anderen derartigen Fette sind noch nicht hinreichend untersucht; man hat keine Methode, sie von den übrigen Fetten ohne

Zerlegung zu trennen. Trilaurin Schmelzpunkt 45°. Trimyristin Schmelzpunkt 55°. Triarachin Schmelzpunkt 72°.



α-Palmitodistearin $C_{55}H_{106}O_6$ wurde aus Rinder- und Hammelfett isoliert und ist mit dem synthetisch dargestellten identisch. Es krystallisiert aus Aether oder Ligroin in mikroskopischen, zu Büscheln vereinigten Nadeln. Smp. 63,2°. Die aus dem Schmelzfluss erstarrte Masse schmilzt bei 52° und dann von Neuem bei 63,2° (Kreis und Hafner).

Die chemische Individualität anderer von Hansen[1]) aus Hammeltalg isolierter gemischter Glyceride ist noch nicht sicher erwiesen.

92. **Untersuchung eines Fettgemenges auf seine Bestandteile.** Eine für manche Zwecke genügende Trennung, die aber nur bei grösseren Mengen ausführbar ist, erreicht man, wenn man die Fette einige Zeit bei einer Temperatur erhält, bei der ein Teil des gelösten Stearins und Palmitins auskrystallisiert; diese Temperatur würde für Butter etwa 20°, für Leberthran, Knochenöl etwa 0° sein, und so für jedes Fett verschieden. Man filtriert durch Papier das flüssige Oel ab, presst die ausgeschiedenen Krystallmassen aus und lässt nun das Oel bei einer niedrigeren Temperatur stehen, bei welcher wieder ein Teil sich ausscheidet, filtriert usw. (Man kann auch eine Trennung der krystallisierten von den flüssigen Fetten durch Aufstreichen auf Tonplatten bewirken. Die flüssigen Fette lassen sich den zerkleinerten Platten durch Extraction mit Aether wieder entziehen.) Spült man die Krystallmasse mit kaltem Alkohol ab, so erhält man von Olein ziemlich freie Gemische von Stearin und Palmitin, und löst man diese in viel heissem Alkohol und lässt allmählich erkalten, so scheidet sich zuerst wesentlich Stearin, dann dies mit Palmitin gemischt, zuletzt nur Palmitin mit Spuren von Olein aus. Durch wiederholtes Umkrystallisieren der einzelnen Fractionen aus Alkohol, Aether und anderen Lösungsmitteln gelingt es wohl zu chemischen Individuen zu gelangen. Eine rationelle auch für kleine Fettmengen anwendbare Methode der Trennung der einzelnen Fette von einander existiert indessen nicht. Gewisse Anhaltspunkte zur Beurteilung der Zusammensetzung eines Fettes erhält man durch die Ermittelung einer Reihe sogenannter „Zahlen“ (§ 93); einen sicheren Aufschluss gewinnt man nur durch Verseifung (§ 94) und Untersuchung der abgespaltenen Fettsäuren.

93. **Ermittelung der Säurezahl und anderer „Zahlen“.** 1. Säurezahl, d. h. die mg KOH, welche zur Neutralisation der in 1 g Fett enthaltenen freien Fettsäuren nötig sind.

Man löst eine abgewogene Menge Fett (zweckmässig 5—10 g) in neutralem Alkohol unter Erwärmen und titriert unter Zusatz von Phenolphtalein mit $n/_{10}$ Lauge.

Zur Erhaltung genauer Resultate ist es nötig, dass der Gehalt der

1) A. f. H. **42**. 1. (1902.)

Titrierflüssigkeit an Alkohol bei Feststellung der Endreaction (bleibende Rosafärbung) mindestens 40—50 pCt. beträgt (Kanitz[1]).

2. Verseifungszahl (Köttstorfer'sche Zahl) d. h. die mg KOH, welche nötig sind, um die in 1 g Fett enthaltenen und bei der Verseifung abgespaltenen Fettsäuren zu neutralisieren. Je höher die Verseifungszahl, desto höher der Gehalt des Fettes an Glyceriden niedriger Fettsäuren.

Man kocht eine abgewogene Menge Fett (1—2 g) mit 10 ccm einer $n/_2$ Kalilauge und 50 ccm Alkohol in einem Kölbchen mit Steigrohr etwa $^1/_4$ Stunde auf dem Wasserbad und titriert nach Zusatz von Phenolphtalein mit $n/_2$ Säure zurück.

3. Esterzahl, d. h. die mg KOH, welche nötig sind, um die bei der Verseifung von 1 g Fett abgespaltenen Fettsäuren zu neutralisieren.

Man erhält sie durch Subtraction der Säurezahl von der Verseifungszahl. Bei neutralen Fetten fällt sie mit der Verseifungszahl zusammen. Sie wird um so grösser sein, je mehr Ester niedriger Fettsäuren von kleinem Moleculargewicht in dem Fett enthalten sind.

4. Reichert-Meissl'sche Zahl, d. h. die Anzahl ccm $n/_{10}$ Lauge, welche zur Neutralisation der aus 5 g Fett nach der Verseifung erhaltenen flüchtigen Fettsäuren erforderlich sind.

Man verseift in einem ca. 200 ccm fassenden Kolben 5 g Fett mit ca. 2 g festem Aetzkali und 50 ccm 70 proc. Alkohols unter Schütteln auf dem Wasserbad, dampft bis zur völligen Entfernung des Alkohols ein, löst den Rückstand in 100 ccm Wasser, fügt 40 ccm Schwefelsäure (1 : 10) und einige hanfkorngrosse Bimsteinstücke hinzu und destilliert unter Benutzung eines Kugelrohrs (zur Vermeidung des Uebers pritzens) und eines Liebig-schen Kühlers genau 110 ccm ab. Von dem gut gemischten Destillat filtriert man 100 ccm ab und titriert diese mit $n/_{10}$ Lauge. Zu der verbrauchten Anzahl ccm addiert man noch den zehnten Teil hinzu.

5. Die Hehner'sche Zahl, d. h. die Menge in Wasser unlöslicher Fettsäuren, welche aus 100 g Fett nach der Verseifung erhalten werden.

Man verseift eine abgewogene Menge Fett (3—4 g) mit etwa 1,5—2 g festem Aetzkali und 50 ccm Alkohol in einer kleinen Schale im Wasserbad, verjagt den Alkohol, löst den Rückstand in etwa 150 ccm heissem Wasser und säuert mit verdünnter Schwefelsäure an. Jetzt füllt man ein vorher bei 100° getrocknetes und gewogenes Filter aus dichtem Papier halb mit heissem Wasser und giesst nun den Inhalt der Schale, welche man bis zum Schmelzen der Fettsäuren erhitzt hat, darauf. Wenn alle Fettsäuren auf das Filter gebracht sind, wäscht man mit heissem Wasser nach, bis das Filtrat nicht mehr sauer reagiert. Dazu sind manchmal 2—3 Liter Wasser erforderlich. Nun trocknet man bei 100°, wägt nach 2 Stunden und dann wieder nach $2^1/_2$ Stunden. Die Differenz ist dann

1) B. **36**. 400. (1903.)

meist kleiner als 1 mg. Eine völlige Constanz ist nicht zu erreichen, längeres Trocknen unzweckmässig.

6. Hübl'sche Zahl, d. h. die g Jod, welche von 100 g Fett aufgenommen werden.

Da nur die Fette mit ungesättigten Fettsäuren Jod binden, so gibt die Hübl'sche Zahl einen Anhaltspunkt zur Beurteilung ihrer Menge. Etwa vorhandenes Cholesterin bindet auch Jod.

Erforderliche Lösungen. 1. Jodlösung. Es werden einerseits 25 g Jod, andererseits 30 g Quecksilberchlorid in je 500 ccm 95proc. reinem Alkohol gelöst. Nachdem letztere Lösung filtriert, vereinigt man beide. Eine Benutzung ist erst nach 24stündigem Stehen erlaubt, der Titer ist bei jedem Versuch festzustellen.

2. 10proc. Jodkaliumlösung.

3. Stärkelösung (§ 20).

4. Reines Chloroform.

5. Natriumthiosulfatlösung, welche in einem Liter etwa 25 g des Salzes enthält.

6. Kaliumbichromatlösung, welche in 1 Liter 3,8657 g reines Salz enthält. 20 ccm dieser Lösung machen 0,2 g Jod frei. Sie ist beliebig lange haltbar und dient zur Titerstellung der sich beim Stehen allmählich verändernden Thiosulfatlösung.

Titerstellung der Thiosulfatlösung nach Volhard. Man bringt 15 ccm der Jodkalilösung in eine Stöpselflasche, fügt 5 ccm Salzsäure hinzu, darauf 20 ccm der Kaliumbichromatlösung und dann aus der Bürette die Thiosulfatlösung, bis die Flüssigkeit nur noch weingelb ist. Jetzt gibt man etwas Stärkelösung hinzu und dann unter beständigem Umschütteln vorsichtig weitere Mengen Thiosulfatlösung, bis die Blaufärbung eben verschwindet. Die Anzahl der verbrauchten Cubikcentimeter der Thiosulfatlösung entsprechen genau 0,2 g Jod.

Ausführung der Bestimmung. Man bringt die zuvor abgewogene Fettmenge (etwa 0,5 g) in eine 5—800 ccm fassende trockne mit eingeriebenem Glasstopfen versehene Flasche, löst sie in etwa 15 ccm Chloroform und lässt 25 ccm Jodlösung zufliessen. Wenn die Flüssigkeit nach dem Umschwenken nicht völlig klar ist, so wird noch etwas Chloroform hinzugefügt. Tritt in kurzer Zeit fast völlige Entfärbung ein, so sind noch 25 ccm Jodlösung zuzufügen. Die Flüssigkeit muss nach 2 Stunden noch stark braun gefärbt sein. Am besten lässt man 6 Stunden stehen. Nun fügt man 20 ccm Jodkaliumlösung hinzu und nach dem Umschwenken 150 ccm Wasser. Scheidet sich jetzt ein roter Niederschlag von Quecksilberjodid ab, so ist noch mehr Jodkaliumlösung zuzusetzen. Man lässt nun unter häufigem Umschwenken so lange Thiosulfatlösung zufliessen, bis die wässerige Flüssigkeit und die Chloroformlösung nur noch schwach gefärbt erscheinen, gibt etwas Stärkelösung hinzu und titriert zu Ende.

Unmittelbar vor oder nach der Titration ist der Versuch ganz in derselben Weise nur unter Weglassung des Fettes zu wiederholen, um den Titer der Jodlösung festzustellen.

94. Verseifung des Fettes und Isolierung der Spaltungsproducte. Die Verseifung geschieht in der Regel entweder mit alkoholischer Kalilauge oder mit Natriumalkoholat.

1. Verseifung mit alkoholischer Kalilauge nach E. Salkowski[1]). Man löst 50 g Fett im Kolben unter Erwärmen in 50 ccm Alkohol von 90 Vol.-pCt., andererseits in einer Schale unter Erwärmen etwa 15 g Aetzkali in 10 ccm Wasser, giesst letztere Lösung in einen Kolben und spült mit 50 ccm Alkohol von 90 Vol.-pCt. nach. Man erhitzt nun beide Lösungen zum beginnenden Sieden, vereinigt sie, schüttelt gut durch und erhitzt nochmals zum Sieden. Das Fett ist jetzt völlig verseift. Die alkoholische Lösung wird eingedampft.

2. Verseifung mit Natriumalkoholat nach Kossel, Obermüller und Krüger[2]). 5 g Fett werden in einem geräumigen Kolben mit 10—20 ccm absolutem Alkohol übergossen, auf dem Wasserbad erwärmt bis das Fett geschmolzen, 10—15 ccm Alkoholatlösung*) zugefügt, auf stark siedendem Wasserbad der Alkohol verdunstet und der Rückstand noch kurze Zeit erhitzt.

Der nach der einen oder anderen Weise erhaltene Rückstand wird in viel Wasser gelöst und die Lösung zur Entfernung des Cholesterins mit Aether ausgeschüttelt.

Der Aetherrückstand enthält ausser Cholesterin noch etwas Seife, welche durch Waschen mit wässerigem kaltem Alkohol unter Zusatz eines Tropfens Salzsäure entfernt werden kann.

Die wässerige Lösung wird mit Schwefelsäure angesäuert und mit Aether ausgeschüttelt. Man erhält so eine ätherische Lösung (1), welche die Fettsäuren enthält und eine wässerige schwefelsaure (2), welche das Glycerin enthält.

1. Die ätherische Lösung. Ihre weitere Behandlung zur Isolierung der einzelnen höheren Fettsäuren**) geschieht nach S. 71, 6. Zeile von oben.

Enthält das untersuchte Fett auch Triglyceride niedriger Fettsäuren, so wird die ätherische Lösung verdunstet, der Rückstand im Dampfstrom destilliert, das Destillat nach S. 69, 2. Abs. auf niedere Fettsäuren, die ätherische Lösung des Rückstandes nach S. 71, 6. Zeile von oben auf höhere Fettsäuren untersucht.

---

*) Jedesmal frisch zu bereiten, indem man 5 g blankes metallisches Natrium in 100 ccm absolutem Alkohol ohne Abkühlen auflöst und den verdunsteten Alkohol wieder ersetzt.

**) Beabsichtigt man nur eine Abtrennung der Hauptmenge der festen Fettsäuren (Stearinsäure, Palmitinsäure) von den bei gewöhnlicher Temperatur flüssigen, so löst man den Aetherrückstand in heissem Alkohol, filtriert und lässt erkalten. Die Abscheidung besteht aus festen Fettsäuren, während die flüssigen Säuren und ein Teil der festen Säuren in Lösung bleiben.

1) C. f. m. W. 1893. S. 467.

2) H.-S. **14**. 599. (1890), **15**. 321. (1891.)

2. Die wässerige schwefelsaure Lösung wird mit Bariumcarbonat neutralisiert, auf dem Wasserbad zu sehr kleinem Volumen eingedampft und mit Alkohol behandelt. Das alkoholische Filtrat wird eingedampft, der Rückstand durch mehrmaliges Aufnehmen mit Alkohol, Filtrieren und Eindampfen gereinigt. Zuletzt versetzt man die alkoholische Lösung mit dem gleichem Volumen Aether, lässt eine Zeit lang stehen, filtriert und verdunstet. Es bleibt Glycerin zurück, dessen Prüfung nach § 89 geschieht.

Walrat.

95. Die aus dem im Kopf verschiedener Wale enthaltenem Walratöl beim Abkühlen auskrystallisirende, die Löslichkeitsverhältnisse der Fette zeigende Substanz besteht hauptsächlich aus Palmitinsäurecetylester (Smp. 53,5), enthält aber ausserdem Ester anderer Fettsäuren mit höheren Alkoholen. Beim Erhitzen mit alkoholischer Kalilauge wird es verseift.

Kohlehydrat von der Formel $C_7H_{14}O_7$ (Heptose).

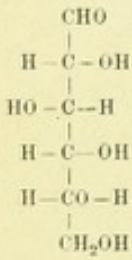
96. Rosenberger[1]) erhielt aus dem Harn einer Patientin ein schwerlösliches Osazon, dessen Analyse auf Heptosazon $C_{19}H_{24}N_4O_5$ stimmte. Es bräunte sich bei 190° und schmolz bei 195 bis 196° (das gleiche Verhalten gibt E. Fischer[2]) für das Osazon der synthetisch dargestellten Glukoheptose an). Der aus dem Osazon wiedergewonnene Zucker reducierte Kupferoxyd bei alkalischer Reaction ohne es vorher zu lösen, war optisch inactiv, gärte nicht und gab wieder ein Osazon von denselben Eigenschaften. Auch der aus der Benzoylverbindung durch Verseifen zurück gewonnene Zucker lieferte wieder dasselbe Osazon.

Rosenberger macht auf weitgehende Aehnlichkeit dieses Zuckers mit dem Leoschen Zucker (S. 113) aufmerksam. Das Nähere siehe in der Originalarbeit.

Kohlehydrate von der Formel $C_6H_{12}O_6$ (Hexosen).

Vorkommen.

97. **Traubenzucker (d-Glukose, Dextrose) $C_6H_{12}O_6$.** Unter allen Zuckerarten hat die Glukose bei Menschen und Tieren das ausgebreitetste Vorkommen. Abgesehen vom Darminhalte, in welchem sie je nach der Nahrung in sehr wechselnder Quantität vorhanden sein, zeitweise auch fehlen kann, findet sie sich bei gesunden Tieren häufig in geringer Menge in dem Safte der Leber, regelmässig im Blute, in der Lymphe, in der Cerebrospinalflüssigkeit. Ebenso findet sich Traubenzucker stets in sehr geringer Menge im normalen menschlichen Harn (Baumann[3]). Bei Diabetes wird er im Harn in vermehrter, oft sehr reichlicher Menge ausgeschieden. Aus Glykogen, Amylum, Dextrinen, Maltose, Milchzucker und Rohrzucker entsteht er durch hydrolytische Spaltung, aus den drei genannten Zuckern auch durch invertierende Enzyme.



---

1) H.-S. **49**. 202. (1906.) 2) A. **270**. 64. (1892.)
3) B. **19**. 3218. (1886.) Wedenski, H.-S. **13**. 122. (1889.) Baisch, H.-S. **18**. 193. (1894), **19**. 339. (1894), **20**. 249. (1895.) Lemaire, H.-S. **21**. 442. (1895/96.)

Die Synthese der Glukose ist von E. Fischer[1]) ausgeführt. Um sie aus diabetischem Harn darzustellen, dampft man denselben bei mässiger Temperatur auf dem Wasserbad zum dünnen Syrup ein. Nach einigen Tagen oder Wochen ist alles krystallisiert. Die körnige Masse wird nun mit wenig Alkohol zerrieben und gewaschen, um den Harnstoff zu entfernen, dann in siedendem Alkohol gelöst und heiss filtriert. Die beim Stehen allmählich ausgeschiedenen Krystallkörner und Kugeln werden dann noch mehrmals aus heissem Alkohol, nach Soxhlet besser aus Methylalkohol umkrystallisiert. Darstellung aus diabetischem Harn.

Um aus zuckerarmen, wässerigen, eiweissfreien Flüssigkeiten Glukose zu isolieren, bedient man sich mit Vorteil ihrer Fällbarkeit durch essigsaures Bleioxyd und Ammoniak. Zerteilt man den Niederschlag in Alkohol und leitet Schwefelwasserstoff hindurch, filtriert und dampft zum Syrupe ab, so erhält man den Zucker von einem grossen Teile anderer Stoffe getrennt. Löst man den Rückstand in absolutem Alkohol und fügt alkoholische Kalilösung hinzu, so lange ein Niederschlag entsteht, so erhält man Traubenzucker-Kali als in Alkohol unlöslichen Niederschlag. Man filtriert, löst den Niederschlag in wenig Wasser, leitet schnell Kohlensäure bis zur Sättigung des Kalis hindurch, fällt die Lösung mit viel absolutem Alkohol, filtriert, verdunstet bei möglichst niedriger Temperatur zum Syrupe und lässt einige Wochen zur Krystallisation stehen. Diese Darstellung des Traubenzuckers führt nur dann zu einem guten Resultate, wenn man den Zucker nur sehr kurze Zeit mit dem Kali in Verbindung lässt, also schnell Kohlensäure einleitet und mit Alkohol fällt; ganz entgeht der Zucker trotz aller Geschwindigkeit und auch bei niedriger Temperatur der Zersetzung durch das Kali nicht. Isolierung.

Ferner kann man nach Baumann Glukose aus wässerigen Lösungen als Benzoesäureester abscheiden, wenn man mit Benzoylchlorid und Natronlauge in den weiter unten angeführten Verhältnissen bis zum Verschwinden des Geruchs nach Benzoylchlorid schüttelt. Aus dem Estergemenge lässt sich der Traubenzucker durch Verseifen mit Natriumalkoholat gewinnen (Kueny[2]). Es werden aber bei diesem Verfahren auch die übrigen Kohlehydrate und viele andere Körper abgeschieden.

Die Isolierung kann auch mit Hülfe von Benzylphenylhydrazin versucht werden[3]). Fügt man dieses in der molecularen Menge Eisessig gelöste Reagens zu der heissen von Eiweiss und Stickstoffverbindungen[4]) möglichst befreiten Lösung hinzu und zwar in einer Menge, welche der in Lösung

1) B. **23**. 799. (1890.)
2) H.-S. **14**. 341. (1890.)
3) van Ekenstein u. Lobry de Bruyn, R. **15**. 225. (1896.) Ruff u. Ollendorff, B. **32**. 3234. (1899.)
4) Neuberg, H.-S. **29**. 274. (1900.)

befindlichen Zuckermenge aequivalent ist, so entsteht langsam ein hellgelber krystallinischer Niederschlag von Glukosebenzylphenylhydrazon. Spaltet man diese Verbindung durch einstündiges Erhitzen im Wasserbad mit Formaldehyd, entfernt das gebildete Formaldehydhydrazon durch Ausschütteln mit Aether und das überschüssige Formaldehyd durch wiederholtes Abdampfen, so hinterbleibt schliesslich ein allmählich krystallisierender Syrup von Traubenzucker. Andere Zucker (Galactose, Milchzucker) werden durch dieses Reagens ebenfalls abgeschieden.

Eigenschaften. Der durch Umkrystallisieren aus Alkohol erhaltene wasserfreie Traubenzucker $C_6H_{12}O_6$ ist völlig farblos, bildet vierseitige Prismen mit schräger oder gerader Endfläche; die Krystallflächen sind meist uneben an grösseren Individuen; sie gruppieren sich beim Krystallisieren strahlig zu Kugeln und Knollen. Die Krystalle sind hart, luftbeständig bei gewöhnlicher Temperatur (Smp. 146°). In Wasser lösen sie sich nicht sehr schnell. Die wässerige Lösung kann zur Trockne abgedampft werden, ohne dass sich ein Krystall bildet, während eine dünne, syrupöse Lösung binnen einiger Zeit ruhigen Stehens krystallinisch erstarrt und zwar krystallisiert aus concentrierten wässerigen Lösungen bei 30—35° ebenfalls wasserfreier Traubenzucker, aus wässerigen Lösungen in der Kälte dagegen wasserhaltiger $C_6H_{12}O_6+H_2O$. Die Krystalle schnell auf 100° erhitzt schmelzen unter Bräunung, beim sehr langsamen Trocknen wird Wasser ohne Schmelzen ausgetrieben; es hinterbleibt eine weisse, undurchsichtige Masse von der Form der Krystalle, welche ohne Zerlegung auf 120° und darüber erhitzt werden kann. Der Traubenzucker ist schwer löslich in kaltem, leicht in heissem Alkohol, langsam aber reichlich in Methylalkohol, unlöslich in Aether. Aus wässerigen Lösungen wird er durch essigsaures Blei nur bei Gegenwart von Ammoniak gefällt. Aus Harn soll er nach R. und O. Adler[1]) durch Bleiessig zum Teil gefällt werden. Aus den kochsalzhaltigen Lösungen des Traubenzuckers scheiden sich beim Stehen grosse sechsseitige Doppelpyramiden oder Rhomboëder aus, welche aus $2\ C_6H_{12}O_6 + NaCl + H_2O$ bestehen und 13,50 pCt. NaCl enthalten.

Verhalten zu Alkalien und alkalischen Erden. Wie alle Alkohole lässt sich auch die Glukose mit Basen und mit Säuren verbinden. Die Verbindung mit Basen vollzieht sich leicht und schnell schon bei gewöhnlicher Temperatur, so z. B. mit Kali ($C_6H_{11}KO_6$), Natron, Kalk, Baryt ($C_6H_{12}O_6 \cdot BaO$); eine wässerige Lösung von Traubenzucker löst reichlich Aetzkalk auf. Die Verbindungen sind in absolutem Alkohol unlöslich, eine Lösung von Glukose in Methylalkohol wird durch methylalkoholische Barytlösung quantitativ gefällt[2]). In wässeriger alkalischer, erdalkalischer oder ammoniakalischer Lösung geht Glukose zum Teil

1) Pfl. A. **110**. 99. (1905.)
2) Scheibler bei Leo, Virch. A. **107**. 109. (1887.)

in Laevulose und Mannose über[1]; weiterhin zersetzt sie sich schon bei gewöhnlicher Temperatur, viel schneller in der Wärme unter Gelb- und Braunfärbung der Lösung. Dabei tritt Milchsäure unter Umständen in grossen Mengen auf, daneben sind Brenzkatechin und Ameisensäure nachgewiesen worden. Wird ein lebhafter Luftstrom durch die alkalische Flüssigkeit geleitet (Framm[2]) oder ist Wasserstoffhyperoxyd zugegen (Schade[3]), so findet keine Braunfärbung statt. Unter diesen Bedingungen tritt als eigentliches charakteristisches Produkt Erythronsäure auf, auch Ameisensäure und Glykolsäure sind immer beobachtet worden, aber keine Milchsäure (Buchner, Meisenheimer und Schade[4]). Kohlensaure Alkalien wirken wie Aetzalkalien, nur schwächer. Auch andere alkalisch reagierende Salze, wie Natriumphosphat, Natriumacetat zersetzen in der Wärme den Traubenzucker, sodass Traubenzuckerlösungen bei auch nur schwach alkalischer Reaction nicht ohne Verlust gekocht oder eingedampft werden können. Durch Zinkhydroxyd-Ammoniak entsteht aus Traubenzucker Methylimidazol (Windaus und Knoop[5]).

Verhalten zu Schwermetallen, Reductionsvermögen.

Der Traubenzucker verbindet sich mit Kupferoxyd. Die Verbindung löst sich leicht in Alkalilauge zu dunkelblauer Flüssigkeit, kann aber auch als Niederschlag $C_6H_{12}O_6 . 5\,Cu(OH)_2$ erhalten werden, wenn man zu einer Lösung, die 1 Mol. Traubenzucker enthält (die Lösung muss mindestens 0,5 proc. sein), 5 Mol. Kupfersulfat und 11 Mol. Natronhydrat fügt. Die nach einiger Zeit abfiltrierte Flüssigkeit ist dann zuckerfrei (Salkowski[6]). Die alkalische Kupferoxydtraubenzuckerlösung ist sehr zersetzlich, schon nach kurzem Stehen scheidet sich gelbes Kupferoxydulhydrat oder rotes Kupferoxydul aus, während die Flüssigkeit sich entfärbt (über die quantitativen Verhältnisse siehe bei Harn); in der Wärme geht diese Reaction augenblicklich vor sich: der Zucker wird oxydiert. Ebenso erfährt auch das Wismuthoxydhydrat beim Kochen mit alkalischer Traubenzuckerlösung Reduction zu metallischem Wismuth, auch Gold-, Platin-, Silber-, Quecksilbersalze werden durch dieselbe reduciert, Ferricyankalium in Ferrocyankalium umgewandelt und Indigo zu Indigoweiss reduciert.

Verhalten zu Säuren.

In sauren Lösungen ist der Traubenzucker beständig, auch beim Kochen oder Abdampfen seiner mit Essigsäure oder Salzsäure angesäuerten Lösungen (Bickel[7]), mit verdünnten Mineralsäuren erhitzt liefert er Huminsubstanzen,

---

1) Lobry de Bruyn u. van Ekenstein, B. **28**. 3078. (1895.)
2) Pfl. A. **64**. 575. (1896.)
3) Z. physik. Ch. **57**. 1. (1906.)
4) B. **39**. 4217. (1906.)
5) B. **38**. 1166. (1905), B. Ph. P. **6**. 392. (1905.)
6) Salkowski, H.-S. **3**. 79. (1879.)
7) Pfl. A. **75**. 248. (1899.)

Ameisensäure, Lävulinsäure[1]) und wenig Furfurol[2]). Durch concentrierte Salpetersäure in der Wärme wird er in Zuckersäure und Oxalsäure übergeführt.

Verbindungen: mit Benzoesäure

Mit den verschiedensten anorganischen und organischen Säuren bildet er unter geeigneten Bedingungen esterartige Verbindungen, unter denen die Benzoesäureester besondere Bedeutung erlangt haben[3]). Schüttelt man Traubenzucker (5 g in 0,5 proc. Lösung) mit Benzoylchlorid (40 g) und Natronlauge (300 ccm 10 proc. Lösung) bis zum Verschwinden des Geruches nach Benzoylchlorid, so erhält man in Wasser unlösliche, in Alkohol, Aether, Benzol lösliche Niederschläge, welche Gemenge mehrfach benzoylierter Glukose darstellen[4]). Aus ihnen kann durch Verseifen mit Natriumäthylat der Zucker wieder gewonnen werden.

mit Harnstoff

Mit Harnstoff vereinigt er sich bei Gegenwart von verdünnter Schwefelsäure zu einer in Wasser leicht löslichen krystallisierenden Verbindung $C_6H_{12}O_5 . NCO . NH_2$ (Smp. 207°), die links dreht (für 10 proc. Lösungen $[\alpha]_D^{15} = -23{,}5°$), Fehling'sche Lösung nur nach längerem Kochen reduciert und durch Kochen mit verdünnter Säure zerlegt wird[5]).

Der Traubenzucker verbindet sich auch mit einer Reihe von aromatischen Aminen:

t Phenylhydrazin.

d-Phenylglukosazon $C_{18}H_{22}N_4O_4$ scheidet sich beim Erwärmen einer Traubenzuckerlösung mit einem Gemisch von 2 Tl. salzsaurem Phenylhydrazin*) und 3 Tl. wasserhaltigem Natriumacetat auf dem Wasserbade in gelben zu Büscheln vereinigten Nadeln ab. Die Reaction verläuft nach der Gleichung $C_6H_{12}O_6 + 2\,C_6H_5N_2H_3 = C_{18}H_{22}N_4O_4 + 2\,H_2O + 2\,H$. Dasselbe Osazon entsteht aus Fructose. Es ist in Wasser fast unlöslich, in heissem absoluten Alkohol schwer, in heissem verdünnten (60 proc.) leichter löslich, schmilzt bei raschem Erhitzen gegen 205° unter Zersetzung (E. Fischer[6]). Es dreht in Eisessig gelöst links. In Pyridin löst sich das Osazon leicht (0,25 g in 1 g); auf Zusatz von Benzol, Ligroïn, Aether scheidet es sich aus dieser Lösung wieder krystallinisch ab. Dieses Verhalten kann zur Reinigung benutzt werden. Eine Lösung von 0,2 g in 4 ccm reinem Pyridin und 6 ccm absolutem Alkohol dreht in 10 cm langer Schicht bei Natriumlicht $-1°30'$ (Neuberg[7]).

H=N–NH–C_6H_5
=N–NH–C_6H_5
(HOH)$_3$
H_2(OH)

t Benzylphenylhydrazin

d-Glukosebenzylphenylhydrazon $C_{19}H_{24}N_2O_5$ (Gewinnung siehe S. 105),

*) Ist es gefärbt, so muss es aus heissem Alkohol umkrystallisiert werden, bis es ganz farblos geworden ist.

1) Tollens, A. **206**. 207. (1881.) Conrad u. Guthzeit, B. **19**. 2569. (1886.)
2) Emmet, J. f. p. Ch. N. F. **12**. 120. (1875.)
3) Baumann, B. **19**. 3220. (1886.)
4) Kueny, H.-S. **14**. 330. (1890.)
Skraup, M. **10**. 389. (1889.)
5) Schoorl, R. **19**. 398. (1901) u. **22**. 31. (1903).
6) B. **17**. 579. (1884), **20**. 821. (1887), **41**. 75. (1908.)
7) B. **32**. 3384. (1899.)

in Wasser und Alkohol wenig löslich. Smp. 165°. Es spaltet beim Kochen mit Formaldehyd Traubenzucker ab.

mit Methylphenylhydrazin.

d-Glukosemethylphenylosazon $C_{20}H_{26}N_4O_4$. Es entsteht durch Einwirkung von Methylphenylhydrazin (asym.) auf Traubenzucker (Ofner[1]), sehr viel leichter und schneller durch die Einwirkung dieses Hydrazins auf Fructose (§ 99). Daher zur Unterscheidung von Glukose und Fructose empfohlen.

Optische Eigenschaften.

Der Traubenzucker dreht in wässeriger Lösung die Ebene des polarisierten Lichtes nach rechts und zwar ergibt sich die specifische Drehung für Lösungen, welche erhitzt waren oder längere Zeit gestanden hatten, aus folgenden Formeln: für den wasserfreien Traubenzucker $[\alpha]_D = 52{,}50° + 0{,}018796\ p + 0{,}00051683\ p^2$, für den wasserhaltigen $[\alpha]_D = 47{,}73° + 0{,}015534\ p + 0{,}0003883\ p^2$, wobei p den Procentgehalt der Lösung an Traubenzucker bezeichnet[2]). Darnach ist die specifische Drehung sehr verdünnter Lösungen am geringsten, sie nimmt allmählich zu, ist bei 10 proc. Lösungen 52,74° resp. 47,92° und bei 100 proc. Lösungen 59,5° resp. 53,17°. Der in kaltem Wasser gelöste, krystallisierte Traubenzucker besitzt gleich nach dem Auflösen eine höhere Rechtsdrehung, die sich beim Stehen allmählich, schnell beim Erhitzen vermindert, bis sie schliesslich constant wird (Mehrdrehung).

Gärungen.

Mit Bierhefe in Berührung geht der Traubenzucker in wässeriger Lösung, wenn die Temperatur zwischen 10—40° beträgt, sofort die alkoholische Gärung ein, welche im Wesentlichen nach der Formel $C_6H_{12}O_6 = 2\ C_2H_6O + 2\ CO_2$ verläuft. Die Gärung geht am besten bei etwa 34° vor sich[3]). Die Gärung zerlegt nur dann den ganzen vorhandenen Zucker, wenn die Lösung nicht über 15 pCt. davon enthält, da in concentrierteren Lösungen der gebildete Alkohol die Gärung endlich inhibiert. Durch zahlreiche Bacterien wird der Traubenzucker in Milchsäure übergeführt, solche Bacterien finden sich regelmässig in saurer Milch und im Käse. Diese Gärung verläuft langsamer als die alkoholische.

Nachweis.

98. Nachweis des Traubenzuckers. Zum Nachweis des Traubenzuckers in wässeriger (eiweissfreier) Lösung dienen eine Reihe von Reactionen, welche in folgender Weise auszuführen sind:

1. Polarisationsprobe. Man untersucht die Flüssigkeit im Polarisationsapparate, ob sie eine Rechtsdrehung besitzt, welche unverkennbar sein wird, wenn die Flüssigkeit nicht etwa nur Spuren von Traubenzucker enthält.

2. Gärungsprobe. Man verteilt in der mit Weinsäure schwach angesäuerten Flüssigkeit etwas frische Hefe, und bringt die Flüssigkeit entweder in ein Gärkölbchen, dessen langer Schenkel völlig mit ihr an-

1) B. **37**. 3362 u. 4399. (1904).
2) Tollens, B. **17**. 2238. (1884) u. Handb. der Kohlehydrate. S. 44.
3) Jodlbauer, Z. d. Vereins f. Rübenzuckerindustrie. 1888. S. 309.

gefüllt und durch Eingiessen von etwas Quecksilber abgeschlossen wird oder auch in ein Reagensglas, das völlig mit ihr angefüllt, durch Aufsetzen des Fingers verschlossen und umgekehrt in eine mit Quecksilber gefüllte Schale gesetzt wird. Bei Zimmertemperatur, schneller bei 30—35°, erfolgt eine Gasentwickelung (Kohlensäure), welche am nächsten Tage beendet ist. Beim Schütteln mit starker Kalilauge wird das Gas fast völlig absorbiert. Um sich vor Irrtum zu hüten, ist es zweckmässig, in einem Controllversuch, den man mit Wasser und Hefe in derselben Weise anstellt, die Hefe auf etwaige Beimengung von gärungsfähigem Zucker zu prüfen. Auch ist zu berücksichtigen, dass Hefe auch in völlig zuckerfreien Lösungen geringe Menge von Gas liefert (Selbstgärung der Hefe).

3. Moore's Probe: Man versetzt eine Probe der zu untersuchenden Flüssigkeit im Probierglase mit Alkali bis zur stark alkalischen Reaction und erhitzt allmählich das Gemisch zum Sieden. Ist Zucker vorhanden, so wird die Flüssigkeit erst gelb, dann braunrot, endlich dunkelbraun bis schwarz gefärbt. Ist wenig Zucker vorhanden, so tritt nur gelbe oder rötliche Farbe ein. Geruch nach Caramel, welcher nach dem Ansäuern noch deutlicher wird.

4. Trommer's Probe: Man versetzt eine Probe mit überschüssigem Alkali und fügt dann unter gutem Umschütteln so lange tropfenweise eine verdünnte Lösung von schwefelsaurem Kupferoxyd hinzu, als der entstehende Niederschlag sich in der Flüssigkeit wieder auflöst und erhitzt dann allmählich bis zum Sieden. Enthält die Flüssigkeit Traubenzucker, so löst sie reichlich Kupferoxydhydrat zur dunkelblauen Flüssigkeit und es scheidet sich beim Kochen reichlich der gelbe oder rote Niederschlag von Kupferoxydul aus. Ist mehr Zucker in der Flüssigkeit, als das zugefügte Kupferoxyd zu oxydieren vermag, so wirkt das freie Alkali auf den übrigen Zucker ein und die Flüssigkeit färbt sich allmählich beim Sieden gelb bis braunrot. Hat man dagegen mehr Kupferoxyd hinzugefügt, als der Zucker zu reducieren vermag, so scheidet sich beim Kochen auch schwarzes Kupferoxyd aus und dies verdeckt dann leicht das gleichzeitig ausgeschiedene Kupferoxydul. Man hat sich deshalb wohl in Acht zu nehmen vor zu grossem Ueberschuss der Kupferlösung, während Alkali in grossem Ueberschusse angewendet der Reaction keinen Eintrag tut.

5. Barfoed's Probe: Man kocht eine Probe mit einer 1 proc. Lösung von essigsaurem Kupfer, der eine Spur Essigsäure zugesetzt ist: es scheidet sich Kupferoxydul ab.

6. Boettger's Probe: Man fügt zu einer Probe etwa den 10. Teil des Reagens von Almén-Nylander[1]) (dargestellt durch Lösen von 4 g Seignettesalz in 100 g 8 pCt. Na_2O enthaltender Natronlauge, Behandeln dieser Lösung mit 2 g Bismuthum subnitricum auf dem Wasserbad und

1) H.-S. **8**. 175. (1883/84.)

Abfiltrieren des nicht in Lösung gehenden Wismuthsalzes) und kocht zwei Minuten. Die Flüssigkeit färbt sich gelb, gelbbraun und schwarz und es scheidet sich ein schwarzer Niederschlag ab.

7. Rubner's Probe[1]). Versetzt man Traubenzuckerlösungen mit einer grösseren Menge gepulverten Bleiacetats, kocht einige Zeit, träufelt dann in die siedende Lösung Ammoniak, bis eben ein dauernder Niederschlag entsteht, so färbt sich fast unmittelbar die ganze Lösung gelb und je nach der Concentration dann rot; es setzt sich ein ebenso gefärbter flockiger Niederschlag ab, der aber bald in eine an Bleioxyd erinnernde gelbe Farbe übergeht.

8. Phenylhydrazinprobe von E. Fischer[2]). Man versetzt eine Probe mit einem Gemisch von 2 Teilen salzsaurem Phenylhydrazin (das meist stark gefärbte käufliche Präparat ist aus heissem Alkohol umzukrystallisieren, bis es ganz farblos ist) und 3 Teilen wasserhaltigem Natriumacetat und erwärmt auf dem Wasserbade. Dabei scheiden sich allmählich gelbe Nadeln von d-Phenylglukosazon ab.

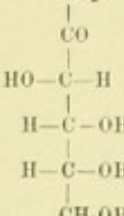
9. Reaction von Molisch[3]) und v. Udránszky[4]). Man versetzt einen Tropfen der Traubenzuckerlösung in einem Reagensglas mit 1 Tropfen einer 10 proc. Lösung von α-Naphtol in acetonfreiem Methylalkohol und genau $^1/_2$ ccm Wasser, lässt dann vorsichtig unter das Gemisch genau 1 ccm reine conc. Schwefelsäure fliessen und schüttelt um. Es tritt violette bis himbeerrote Farbe auf. Der entstandene Farbstoff zeigt Spectralerscheinungen.

Was nun die Beweiskraft der einzelnen Proben betrifft, so kann die zuletzt aufgeführte Reaction, welche eine allgemeine und äusserst empfindliche Kohlehydratreaction ist, keine Entscheidung über die Anwesenheit von Traubenzucker geben, ebenso wenig die Trommer'sche Probe, denn es gibt eine ganze Reihe anderer Stoffe, welche ebenfalls Kupferoxyd reducieren. Die Barfoed'sche Probe geben Maltose und Milchzucker nicht, die Rubner'sche gibt Milchzucker nicht. Die Rechtsdrehung schützt nicht vor der Verwechselung mit Maltose, Galactose, Dextrin; die Gärfähigkeit nicht vor der Verwechselung mit Maltose, Fructose (Laevulose). Dasselbe Osazon wie Traubenzucker geben auch Fructose und Glukosamin. Die Osazone anderer Zucker geben ähnliche mikroskopische Bilder, unterscheiden sich aber im Schmelzpunkt. Zuweilen ist der sichere Nachweis der Anwesenheit der Glukose nur durch Identificierung der isolierten Krystalle zu führen.

Ueber Nachweis und Bestimmung des Traubenzuckers im Harn und in serösen Flüssigkeiten siehe später.

1) Z. f. B. **20**. 397. (1884.)
2) B. **17**. 579. (1884) u. **22**. 90. Anm. (1889).
3) M. **7**. 198. (1886.)
4) H.-S. **12**. 355 u. 377. (1888).

Vorkommen.



99. **Fruchtzucker (d¹-Fructose, Laevulose)** $C_6H_{12}O_6$ ist in einzelnen Fällen als einziger Zucker im Harn gefunden worden. Sein Vorkommen im Harn von Diabetikern ist nicht erwiesen (Borchardt[12]). Dagegen scheint er im Harn neugeborener Kälber (Langstein u. Neuberg[1]), im Fruchtwasser verschiedener Tiere (nicht im menschlichen) (Gürber u. Grünbaum[2]), mehrfach auch im Blutserum und anderen menschlichen Gewebsflüssigkeiten (Neuberg u. Strauss[3]) nachgewiesen.

Eigenschaften.

Er krystallisiert schwieriger als Traubenzucker, löst sich leicht in Wasser, in Alkohol leichter als Traubenzucker. Durch Bleizucker und Bleiessig wird er aus wässerigen Lösungen nicht gefällt; aus Harn wird er nach O. u. R. Adler[4]) durch Bleiessig zum Teil gefällt, während er nach Külz[5]) durch dieses Reagens nicht gefällt wird. Mit Natrium und Kalium gibt er in Alkohol unlösliche Verbindungen. In alkalischer oder erdalkalischer Lösung geht er zum Teil in Glukose und Mannose über (Lobry de Bruyn u. v. Ekenstein[6]). Beim Erwärmen mit Phenylhydrazin und Essigsäure entsteht dasselbe Osazon wie aus Traubenzucker. Auch mit Methylphenylhydrazin entsteht dasselbe Osazon, wie aus Traubenzucker (S. 109), aber sehr viel schneller, so dass diese Reaction zum Nachweis des Fruchtzuckers dienen kann. Um es zu erhalten, fügt man zu einer Lösung von 1,8 g Laevulose in 10 ccm Wasser 4 g Methylphenylhydrazin und so viel Alkohol, dass eine klare Lösung entsteht, darauf 4 ccm 50 proc. Essigsäure und erwärmt 5 bis 10 Min. auf dem Wasserbad. Innerhalb $^1/_4$ Stunde beginnt die Krystallisation gelbroter Nädelchen, welche aus heissem 10proc. Alkohol leicht umkrystallisiert werden können. Smp. 153°. Aus einem Gemisch von Chloroform und Petroläther oder aus heissem Wasser unter Zusatz von etwas Pyridin umkrystallisiert, bildet es feine hellgelbe Nadeln von Smp. 158—160°. Löslich in heissem Alkohol, Aceton, Chloroform. Eine Lösung von 0,2 g in 4 ccm reinem Pyridin und 6 ccm absolutem Alkohol dreht in 10 cm langer Schicht bei Natriumlicht + 1°, 40′ (Neuberg[7]).

Verbindungen m. Phenylhydrazin, mit Methylphenylhydrazin.

Fruchtzucker verhält sich in vielen Beziehungen wie Traubenzucker, er gärt mit Hefe, gibt die Moore'sche Probe, die Molisch'sche Probe und alle auf Reduction beruhenden Reactionen. Das Reductionsvermögen gegen Kupferoxyd ist etwas geringer als das des Traubenzuckers, verhält sich unter gleichen Verhältnissen wie 100 : 92,8. Durch Zinkhydroxyd-Ammoniak entsteht Methylimidazol (Windaus[8]).

Optische Eigenschaften.

Er dreht die Ebene des polarisierten Lichtes nach links und zwar beträgt $[\alpha]_D^{20°} = -(91{,}90 + 0{,}111\ p)$, wo p Gramm Zucker in 100 g Lösung bedeutet (Ost[9]). Mit steigender Temperatur nimmt die Drehung ab. Die Lösungen zeigen Multirotation.

Nachweis.

Zur Unterscheidung des Fruchtzuckers von dem Traubenzucker, mit dem er in vielen Reactionen übereinstimmt, dienen die Linksdrehung, das Methylphenylosazon und die Seliwanoff'sche Reaction[10]): beim Erwärmen einer Fruchtzuckerlösung mit etwas Resorcin und conc. Salzsäure entsteht Rotfärbung und roter Niederschlag. Um eine Verwechselung mit Traubenzucker und andern Aldosen auszuschliessen, soll man nach Ofner[11]) und Borchardt[12]) nur soviel Salzsäure hinzusetzen, dass die Flüssigkeit 12 pCt. Salzsäure enthält und nur 20 Sek. kochen.

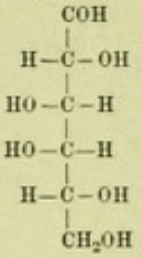
1) B. Z. **4**. 292. (1907.)
2) M. m. W. 1904. 377.
3) H.-S. **36**. 227. (1902.)
4) Pfl. A. **110**. 99. (1905.)
5) Z. f. B. **27**. 228. (1891.)
6) B. **28**. 3078. (1895.)
7) B. **35**. 959. (1902) u. **37**. 4616 (1904.)
8) B. **40**. 799. (1907.)
9) B. **24**. 1636. (1891.)
10) B. **20**. 181. (1887.)
11) M. **25**. 611. (1904.)
12) H.-S. **55**. 241. (1908.)

Ueber den Nachweis der Laevulose im Harn und in serösen Flüssigkeiten siehe später.

Leo'scher Zucker $C_6H_{12}O_6$ wurde von Leo[1]) aus drei diabetischen Harnen dargestellt. Vom gleichzeitig vorhandenen Traubenzucker lässt er sich durch Ausfällen der methylalkoholischen Lösung mit methylalkoholischer Barytlösung trennen, durch welche der Leo'sche Zucker nicht niedergeschlagen wird.

Er stellt einen nicht süss, sondern scharf und salzartig schmeckenden, nicht krystallisierenden Syrup dar, welcher in Wasser leicht, in Methylalkohol weniger leicht, in Aether, Chloroform unlöslich ist; er wird durch Bleiessig nur bei Gegenwart von Ammoniak gefällt. Mit Phenylhydrazin gibt er nur eine ölige Verbindung. Er löst Kupferoxyd in alkalischer Lösung (es entsteht dabei aber keine lazurblaue Färbung) und reduciert dasselbe, nachdem einige Sekunden gekocht ist. Das Reductionsvermögen beträgt nur 0,4024 von dem des Traubenzuckers; er dreht die Ebene des polarisirten Lichtes nach links und zwar ist $[\alpha]_D = -26{,}07^0$. Mit Hefe gärt er nicht. Nach Rosenberger[2]) liegt wahrscheinlich eine Heptose vor (§ 96).

100. **d-Galactose** $C_6H_{12}O_6$. Galactose findet sich als solche nicht im Organismus, sie entsteht beim Erhitzen von Milchzucker, Cerebrosiden (Thierfelder[3]) und der schleimigen Umhüllung der Froscheier (Van Ekenstein u. Blanksma[4]) mit verdünnten Säuren, im ersteren Fall neben Glukose; bei schwer magendarmkranken Säuglingen kann sie sich im Harn finden (Langstein u. Steinitz[5]). Sie lässt sich auch aus zahlreichen Gummiarten und Schleimstoffen des Pflanzenreichs durch Spaltung mit Säuren erhalten[6]), ebenso aus pflanzlichen Phosphatiden (Hiestand[7]). Vorkommen.



Ueber ihre Darstellung aus den hydrolytischen Spaltungsprodukten des Milchzuckers siehe Kent u. Tollens[8]). Ein Verfahren zur Trennung von Galactose und Glukose siehe auch bei Votocek u. Vondracek[9]). Darstellung.

Sie krystallisiert in zu Warzen vereinigten Nadeln oder Blättchen, die bei 168° schmelzen, ist in Wasser schwerer löslich als Glukose; sie reduciert alkalische Kupferoxydlösung etwas schwächer als Glukose (1 ccm unverdünnter Fehling'scher Lösung entspricht nach Soxhlet[10]) 0,00511 g Galactose in 1 proc. Lösung). Sie gibt auch die Reactionen von Moore, Böttger und Molisch (§ 98). Mit Phenylhydrazin bildet sie ein bei raschem Erhitzen in der Nähe von 186° unter Zersetzung schmelzendes Osazon (E. Fischer[11]), welches in heissem Wasser fast unlöslich, in Alkohol etwas leichter löslich ist als das Glukosazon und in eisessigsaurer Lösung keine Eigenschaften. Verbindungen: mit Phenylhydrazin.

1) Virch. A. **107**. 99. (1887.)
2) H.-S. **49**. 202. (1906.)
3) H.-S. **14**. 209. (1890.)
4) Ref. C. C. 1907. 2. 1001.
5) B. Ph. P. **7**. 575. (1906.)
6) Müntz, C. r. **102**. 624 und 681. (1886.) v. Lippmann, B. **20**. 1001 (1887), hier auch weitere Literaturangaben.
7) Diss. Zürich. 1906. Winterstein u. Hiestand. H.-S. **54**. 288. (1907/08.)
8) A. **227**. 221. (1885.)
9) B. **37**. 3854. (1904.)
10) J. pr. Ch. N. F. **21**. 271. (1880.)
11) B. **20**. 826 (1887), **23**. 385 und 2119. (1890), **41**. 76. (1908.)

wahrnehmbare Drehung zeigt. In Pyridin löst es sich leicht und wird durch Zusatz von Benzol, Ligroin, Aether wieder krystallinisch ausgeschieden. Eine Lösung von 0,2 g in 4 ccm reinem Pyridin und 6 ccm absolutem Alkohol dreht in 10 cm langer Schicht bei Natriumlicht + 0°48′ (Neuberg[1]). Mit Benzylphenylhydrazin reagiert die Galactose wie der Traubenzucker, nur mit dem Unterschied, dass der Niederschlag fast augenblicklich entsteht. Smp. 154°. Mit Methylphenylhydrazin gibt sie ein in Wasser und Alkohol schwer lösliches Hydrazon vom Smp. 180° (Van Ekenstein u. Lobry de Bruin[2]). Mit Benzoylchlorid erhält man fünffach benzoylierte Galactose (Skraup[3]), bei der Oxydation mit Salpetersäure Schleimsäure.

mit Benzylphenylhydrazin. m. Methylphenylhydrazin. mit Benzoesäure.

Sie zeigt rechtsseitige Circumpolarisation und zwar ist $[\alpha]_D = 83{,}883° + 0{,}0785\ p - 0{,}209\ .\ t$, wobei p Procentgehalt und t Temperatur bedeutet (Meissl[4]), sie zeigt auch Mehrdrehung wie der Traubenzucker (S. 109). Sie wird durch eine grosse Anzahl von Hefearten bei Gegenwart von Hefedekokt vergoren. Mit gewöhnlicher Bierhefe gärt sie ohne Hefedekokt nicht.

Optische Eigenschaften. Gärung.

Kohlehydrate von der Formel $C_{12}H_{22}O_{11}$.

101. **Maltose** $C_{12}H_{22}O_{11}$ entsteht aus Glykogen und Amylum durch Einwirkung diastatischer Fermente und als Zwischenproduct beim Kochen mit verdünnter Salz- oder Schwefelsäure.

Auf rein chemischem Wege ist sie noch nicht synthetisch erhalten worden; unter dem Einfluss von Emulsin scheint sie aber aus Traubenzucker durch Condensation entstehen zu können (Frankland Armstrong). Ueber ihre Darstellung siehe bei Herzfeld[5]).

Sie krystallisiert in feinen, weissen zu Warzen vereinigten Nadeln mit 1 Mol. Krystallwasser, das bei 135° entweicht, ist leicht löslich in Wasser, auch ziemlich leicht löslich in Alkohol (aber schwerer wie Glukose) und wird aus der alkoholischen Lösung durch Aether in weissen nadelförmigen Krystallen ausgefällt, während zugleich vorhandene Glukose gelöst bleibt. Sie löst Kupferoxyd in alkalischer Lösung und reduciert es, aber schwächer als Traubenzucker und zwar wird 1 ccm unverdünnte Fehling'sche Lösung bei 4 Minuten langem Sieden reduciert von 0,00778 g wasserfreier Maltose in annähernd 1 proc. Lösung (Soxhlet[6]); sie reduciert essigsaures Kupferoxyd (Barfoed's Reagens) nicht, während Glukose dasselbe reduciert. Die Maltose gibt in wässeriger Lösung mit Hefe alkoholische Gärung. Manche Hefen, welche Traubenzucker vergären, vergären Maltose nicht, was zur Isolierung der Maltose benutzt werden kann.

Eigenschaften.

---

1) B. **32**. 3384. (1899.)
2) R. **15**. 225. (1896.)
3) M. **10**. 389. (1889.)
4) J. pr. Ch. N. F. **22**. 97. (1880.)
5) A. **220**. 209. (1883.)
6) J. pr. Ch. N. F. **21**. 285. (1880.)

Die Maltose verbindet sich mit Phenylhydrazin bei $1^1/_2$ stündigem Erwärmen auf dem Wasserbad mit einem Gemisch von 2 Tl. (farblosem) salzsaurem Phenylhydrazin und 3 Tl. wasserhaltigem Natriumacetat zu Phenylmaltosazon $C_{24}H_{32}N_4O_9$, das sich beim Erkalten in gelben, nicht zu Aggregaten vereinigten Nadeln abscheidet, sich in etwa 75 Teilen heissem Wasser löst und bei raschem Erhitzen gegen 205° unter Zersetzung schmilzt (E. Fischer[1]). In Pyridin ist es leicht löslich und wird durch Benzol, Ligroïn, Aether krystallinisch ausgeschieden. Eine Lösung von 0,2 g in 4 ccm reinem Pyridrin und 6 ccm abolutem Alkohol dreht in 10 cm langer Schicht bei Natriumlicht + 1°30′ (Neuberg a. a. O.). Mit Benzoylchlorid und Natronlauge liefert sie fünffach und sechsfach benzoylierte Maltose (Skraup[2]). Verbindungen: mit Phenylhydrazin. mit Benzoesäure.

Durch Alkalien wird sie unter Bildung von Milchsäure leicht zersetzt. Durch Zinkhydroxydammoniak entsteht aus ihr Methylimidazol, aber weniger als aus Glukose (Windaus[3]). Durch Kochen mit verdünnten Säuren wird sie in Glukose übergeführt. Die Spaltung erfolgt langsamer wie die des Rohrzuckers. Die beste Ausbeute erhält man bei dreistündigem Kochen von Maltose mit 3 proc. Schwefelsäure, indem aus 100 g wasserhaltiger Maltose 98,3—98,9 g wasserfreie Glukose entstehen (Meissl[4]). In derselben Weise spaltend, wenn auch langsamer, wirken invertierende Fermente (Maltase), wie sie im Speichel, Blutserum, in der Dünndarmschleimhaut, Pancreasdrüse und in vielen anderen Organen vorkommen. Bei längerem Kochen mit Säuren entstehen Laevulinsäure und wenig Furfurol, ebenso wie aus Glukose. Umwandlungen.

Bei der Oxydation entsteht Glukonsäure resp. Zuckersäure, durch vorsichtige Oxydation mit Brom Maltobionsäure, welche beim Erwärmen mit verdünnter Schwefelsäure in Glukose und Glukonsäure zerfällt (E. Fischer u. Meyer[5]). Oxydation.

Das specifische Rotationsvermögen ist nach Meissl[6]) veränderlich, wird mit steigender Concentration der Lösung, ebenso mit steigender Temperatur geringer und lässt sich im Allgemeinen ausdrücken durch die Formel $[\alpha]_D = + 140{,}375^0 - 0{,}01837\ p - 0{,}095\ t$, in welcher p den Procentgehalt an wasserfreier Maltose und t die Temperatur bezeichnet. Bei Anwendung einer 20 cm langen Beobachtungsröhre gibt, bei 17,5° und einem Gehalt zwischen 5 und 40 g Maltose in 100 ccm Lösung, die Anzahl der abgelesenen Grade der Rotation multipliciert mit 0,362 den Gehalt an wasserfreier Maltose in Grammen für 100 ccm Lösung und zwar bis auf Optische Eigenschaften.

1) B. **17**. 583 (1884), **20**. 831. (1887), **23**. 2119 (1890), **41**. 76. (1908.)
2) M. **10**. 389. (1889.)
Kueny, H.-S. **14**. 349. (1890.)
3) B. **40**. 799. (1907.)
4) J. pr. Ch. N. F. **25**. 126. (1882.)
5) B. **22**. 1941. (1889.)
6) J. f. pr. Ch. N. F. **25**. 120. (1882.)

+ 0,05 genau. Kalt frisch bereitete, wässerige Maltoselösungen steigern allmählich beim Stehen ihr Drehungsvermögen, bis sie nach 10—12 Stunden, sofort beim Erhitzen, die obige Grösse erreicht haben (Wenigerdrehung).

Isomaltose wurde von Baisch[1]) und Lemaire[2]) in kleinen Mengen in normalem Harn, von Pavy und Slau[3]) in Blut und Muskeln gefunden. Sie entsteht bei der Spaltung von Stärke und Glykogen durch Säuren (Scheibler und Mittelmeier[4]), Lintner, Cremer[5]) und durch im Speichel, Pancreassaft, Malz enthaltene diastatische Fermente (Külz und Vogel[6]), Röhmann[7]), Lintner und Düll[8]). Ihre Isolierung geschah in allen Fällen als Osazon. Vergleiche indessen dazu Brown und Morris[9]), wonach die Möglichkeit nicht ausgeschlossen erscheint, dass die aus den Spaltungsproducten der Stärke isolierte Isomaltose verunreinigte Maltose ist.

Sie wurde von E. Fischer[10]) erhalten durch 15stündiges Stehenlassen einer bei Zimmertemperatur hergestellten Lösung von Glukose in dem vierfachen Gewicht Salzsäure (spec. Gew. 1,19) bei 15 bis 10°, Fällen mit Alkohol und Aether, Lösen des Niederschlags, welcher aus Glukose, Isomaltose und anderen unbekannten Stoffen besteht, in Wasser, Vergärung und Isolierung der Isomaltose als Osazon. Auch bei der Einwirkung von Hefemaltase auf conc. Traubenzuckerlösung entsteht Isomaltose, wie Emmerling[11]) fand, während Croft Hill[12]), welcher diese Synthese zuerst beobachtete, den Zucker für Maltose hielt. In reinem Zustand ist sie bisher nicht dargestellt. Das Isomaltosazon $C_{24}H_{32}N_4O_9$ bildet feine gelbe, meist zu kugeligen Aggregaten vereinigte biegsame Nadeln, löst sich in 4 Tl. heissem Wasser und ist auch in heissem Alkohol viel löslicher als das Maltosazon. Es beginnt gegen 140° zu sintern und schmilzt zwischen 150 und 153° oder etwas höher.

Vorkommen.

102. **Milchzucker (Lactose)** $C_{12}H_{22}O_{11}$. Der Milchzucker ist bis jetzt allein in der Milch des Menschen und der Säugetiere (in der Walfischmilch fehlt er nach Scheibe[13]) aufgefunden und der einzige Zucker, der in diesem Secret nachgewiesen ist; aus der Milchdrüse stammend, erscheint er regelmässig in kleiner Menge auch im Harn von Wöchnerinnen und im Kuhharn einige Tage vor und nach der Geburt. Auch im Harn eines neugeborenen Kalbes wurde er gefunden (Langstein u. Neuberg[14]) und ebenso im Harn schwer magendarmkranker Säuglinge (Langstein u. Steinitz[15]).

Darstellung.

Man stellt ihn aus der Kuhmilch durch Ansäuern derselben mit Essigsäure bis zur Gerinnung des Caseïns oder Ausscheiden des Caseïns durch Lab, Colieren durch ein leinenes Tuch, Erhitzen des Filtrats zum Kochen, Abfiltrieren des coagulierten Eiweiss, Abdampfen der Molken zur Krystallisation, Abgiessen der Mutterlauge von den in einigen Tagen beim Stehen

1) H.-S. **20**. 249. (1895.)
2) H.-S. **21**. 442. (1895/96.)
3) J. of Ph. **26**. 282. (1900/01.)
4) B. **23**. 3075. (1890).
5) Z. f. B. **31**. 181. (1894.)
6) Z. f. B. **31**. 108. (1894.)
7) C. f. d. med. W. 1893. S. 849.
8) B. **26**. 2533. (1893.)
9) J. Ch. S. **67**. 709. (1895.)
10) B. **23**. 3687 (1890), **28**. 3024. (1895.)
11) B. **34**. 600 u. 2206. (1901.)
12) J. Ch. S. **73**. 634. (1898.)
13) M. m. W. 1908. 795.
14) B. Z. **4**. 292. (1907.)
15) B. Ph. P. **7**. 575. (1906.)

ausgeschiedenen Krystallen dar. Man reinigt ihn durch Umkrystallisieren aus warmem Wasser.

Zur Isolierung des Milchzuckers aus Harn dient das Verfahren von Hofmeister[1]).

Eigenschaften

Der Milchzucker bildet farblose, harte, glänzende, oft ziemlich grosse Krystalle, welche 1 Mol. Krystallwasser enthalten, zum rhombischen Systeme gehören und sehr ausgeprägt hemiëdrisch sind (achtseitige Prismen mit stärkerer Ausbildung von 4 Seiten gegen ihre benachbarten schmaleren, schräge Endfläche unten und oben am Prisma). Vorsichtig, allmählich auf 150° erhitzt, verliert er sein Krystallwasser ohne wesentliche weitere Zersetzung. Wird eine wässerige Lösung von Milchzucker in einem Metallgefäss schnell eingekocht, so erstarrt fast plötzlich die ganze Lösung zu einer porösen, nur aus kleinen wasserfreien Krystallen bestehenden Masse. Der Milchzucker löst sich in 6 Teilen kaltem und $2^1/_2$ Teilen kochendem Wasser (der wasserfrei krystallisierte leichter), ist unlöslich in Alkohol oder Aether. Seine wässerige Lösung hat einen schwach süssen Geschmack und färbt sich beim Erhitzen über 100° braun. Durch essigsaures Blei und Ammoniak wird Milchzucker, ebenso wie Traubenzucker aus seinen wässerigen Lösungen völlig ausgefällt, während er durch Kochen mit neutralem essigsaurem Blei weder gefällt, noch verändert wird.

Reductionsvermögen.

Mit Basen verbindet sich der Milchzucker zu amorphen Körpern. Er löst auch Kupferoxyd in alkalischer Lösung und reduciert dasselbe zu Oxydul und zwar wird 1 ccm Fehling'scher Lösung (gleichgültig ob verdünnt oder nicht) bei 6 Minuten langem Kochen von 0,00676 g Milchzucker (in 0,5—1,5 proc. Lösung) reduciert (Soxhlet[2]). Ebenso reduciert Milchzucker Wismuthoxyd, Silberoxyd und Indigo in alkalischer Lösung, nicht aber das Barfoed'sche Reagens (S. 110).

Verbindungen: mit Benzoesäure.

Schüttelt man eine wässerige Lösung von Milchzucker mit Benzoylchlorid und Natronlauge, so scheidet sich ein Gemenge von 6 und 7 resp. 8fach benzoylierter Lactose ab (Skraup[3]), erwärmt man sie auf dem Wasserbade mit einem Gemisch von 2 T. (farblosem) salzsaurem Phenylhydrazin und 3 T. wasserhaltigem Natriumacetat, so bildet sich Phenyllactosazon, welches beim Erkalten in gelben, zu kugeligen Aggregaten vereinigten Nadeln sich abscheidet und in heissem Wasser ziemlich leicht löslich ist. Es beginnt bei raschem Erhitzen gegen 200° zu schmelzen, ist aber erst bei 210—212° und zwar unter Zersetzung vollständig geschmolzen (E. Fischer[4]). Es löst sich auch leicht in Pyridin und scheidet sich auf Zusatz von Benzol, Ligroin oder Aether wieder ab. Eine Lösung von 0,2 g in 4 ccm reinem

mit Phenylhydrazin.

1) H.-S. **1**. 105. (1877/78.)
2) J. f. pr. Ch. N. F. **21**. 261. (1880.)
3) M. **10**. 389. (1889.), Kueny, H.-S. **14**. 349. (1890.)
4) B. **17**. 583. (1884.), **20**. 830. (1887.), **41**. 76. (1908.)

Pyridin und 6 ccm absolutem Alkohol ist in 10 cm langer Schicht inactiv. Hierdurch unterscheidet sich das Lactosazon von den Osazonen anderer Zucker, die unter denselben Bedingungen activ sind (Neuberg a. a. O.).

mit Benzylphenylhydrazin.

Auf Zusatz der äquivalenten Menge Benzylphenylhydrazin, in der molecularen Menge Eisessig gelöst, scheidet sich aus heissen Milchzuckerlösungen langsam ein hellgelber krystallinischer Niederschlag von Lactosebenzylphenylhydrazon (Smp. 128°) ab (van Ekenstein und Lobry de Bruyn[1]).

Umwandlung: durch Alkalien.

Alkalische Lösungen zersetzen sich ebenso wie alkalische Traubenzuckerlösungen schon bei gewöhnlicher Temperatur allmählich, schneller beim Erhitzen, gleichfalls unter Braunfärbung und Bildung von Milchsäure und Brenzcatechin. Durch Einwirkung von Zinkhydroxydammoniak auf Milchzucker entsteht Methylimidazol (aber sehr viel weniger als aus Glukose) (Windaus[2]). In saurer Lösung in der Kälte und bei gelindem Erwärmen

durch Säuren und Fermente.

ist der Milchzucker beständig. Wird er aber mit verdünnter Schwefelsäure oder Salzsäure längere Zeit gekocht, so zerfällt er in Glukose und Galactose; durch Enzyme, welche in der Dünndarmschleimhaut des neugeborenen Menschen und mancher Tiere, in Kephirkörnern und in manchen Hefen enthalten sind, sowie durch Emulsin erfährt er dieselbe Spaltung. Bei stärkerer Einwirkung von Säuren entstehen Ameisensäure, Laevulinsäure,

durch Oxydationsmittel.

Huminsubstanzen, Furfurol. Bei der Oxydation mit Salpetersäure bilden sich Schleimsäure, Zuckersäure, weiterhin Weinsäure, Traubensäure, Oxalsäure u. s. w.; bei vorsichtiger Oxydation mit Brom bei gewöhnlicher Temperatur erhält man Lactobionsäure $C_{12}H_{22}O_{12}$, welche beim Kochen mit Säuren in Glukonsäure und Galactose zerfällt (E. Fischer u. Meyer[3]).

durch Hefen und Bakterien.

Durch die sog. Milchzuckerhefen (nicht durch die gewöhnliche Bierhefe) wird Milchzucker zu Alkohol und Kohlensäure vergoren und durch verschiedene Arten von Bacterien, welche in saurer Milch und in Käse sich finden, besonders bei Gegenwart von Kreide oder Zinkoxyd sehr schnell in Milchsäuregärung versetzt (vergl. § 74).

Optisches Verhalten.

Der krystallwasserhaltige Milchzucker zeigt in heissem Wasser gelöst die specifische Drehung $[\alpha]_D = + 52{,}4°$ (Milchzucker aus menschlicher Milch Makris[4]) und $[\alpha]_D = + 52{,}53°$ (Milchzucker aus Kuhmilch Schmöger[5]) bei 20° und berechnet für $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$. Diese specifische Drehung ist constant bei verschiedener Concentration der Lösung bis zur Concentration von 36 g in 100 ccm Flüssigkeit, ändert sich aber mit der Temperatur in der Weise, dass in der Nähe von 20° die specifische Drehung mit Erhöhung der

1) R. **15**. 225. (1896.)
2) B. **40**. 799. (1907.)
3) B. **22**. 361. (1889.)
4) Studien über die Eiweisskörper der Frauen- und Kuhmilch. Dissert. Strassburg 1876.
5) B. **13**. 1922. (1880.)

Temperatur abnimmt und zwar ungefähr um 0,055 . $[a]_D$, wenn die Aenderung der Ausdehnung der Flüssigkeit u. s. w. durch die Wärme berücksichtigt wird. Frisch bereitet dreht die Lösung stärker als nach dem Stehen resp. Aufkochen (Mehrdrehung). Der krystallisierte wasserfreie Milchzucker zeigt frisch in Wasser gelöst geringe rechtsseitige Drehung, die beim Stehen zunimmt (Wenigerdrehung), verhält sich also umgekehrt, wie der wasserhaltige (Erdmann[1]). Schmöger beschreibt noch eine dritte Modifikation des Milchzuckers, welche man erhält, wenn man nicht mehr als 7 ccm einer 10 proc. Lösung eindampft, und welche nur ganz schwache Mehrdrehung, vielleicht constante Drehung zeigt (Schmöger[2]).

103. Nachweis des Milchzuckers. Eine Milchzucker enthaltende (eiweissfreie) wässerige Lösung muss folgendes Verhalten zeigen. Nachweis.

1. Sämtliche auf Reduction beruhenden, beim Traubenzucker (§ 98) besprochenen Reactionen, mit Ausnahme der Barfoed'schen, ebenso die Reaction von Molisch (§ 98, 9) müssen positiv ausfallen.

2. Die Flüssigkeit muss rechtsseitige Circumpolarisation zeigen und diese Rechtsdrehung muss stärker sein, wenn man die Lösung mit verdünnter Salzsäure $^1/_2$ Stunde lang kocht und wieder auf das frühere Volumen bringt.

3. Sie darf erst nach einstündigem Kochen mit verdünnter Schwefelsäure und Neutralisation mit Calciumcarbonat auf Zusatz von Bierhefe alkoholische Gärung zeigen.

4. Sie muss mit Salpetersäure oxydiert Schleimsäure liefern. Die Darstellung gelingt noch mit ziemlich kleinen Quantitäten Milchzucker, am Besten in der von Kent und Tollens[3]) beschriebenen Weise.

5. Sie muss mit salzsaurem Phenylhydrazin und Natriumacetat behandelt ein Osazon von den oben beschriebenen Eigenschaften geben.

6. Sie muss mit viel Bleizucker 3—4 Minuten gekocht sich gelb bis bräunlich, auf Zusatz von Ammoniak, so lange sich der Niederschlag noch löst, ziegelrot färben und weiterhin einen kirschroten bis kupferfarbenen Niederschlag absetzen (Rubner's Probe[4]).

Kohlehydrate von der Formel $(C_6H_{10}O)_5n$.

104. **Glykogen** $(C_6H_{10}O_5)n$[5]). In den Lebern von gut genährten Fleisch- und Pflanzenfressern, wie es scheint bei allen Wirbeltieren, auch in der Leber von Krebsen, Mollusken, Gastropoden findet sich Glykogen reichlich, Vorkommen.

1) B. **13**. 2180. (1880.)

2) B. **14**. 2121 (1881) und **25**. 1455 (1892). Vergl. auch Tanret, Bull. soc. chim. (3.) **13**. 625. (1895.)

3) A. **227**. 224. (1885.) 4) Z. f. B. **20**. 397. (1894.)

5) Zusammenfassende Darstellungen: Cremer, Ergebn. d. Phys. **1**. 1. 803. (1902.) Pflüger, Das Glykogen. 2. Aufl. Bonn, Martin Hager 1905.

so lange sie sich wohl befinden. Herz und Muskeln enthalten im frischen Zustande stets Glykogen. Dasselbe findet sich überhaupt in allen tierischen entwickelungsfähigen Zellen, normalen wie pathologischen, reichlich in solchen normalen und pathologischen Geweben (Geschwülsten), die eine lebhafte Zellentwickelung und -neubildung zeigen, demgemäss auch im embryonalen Gewebe. Beim Hungern, bei der Arbeitsleistung nimmt der Glykogengehalt in Leber und Muskeln ab, um schliesslich ganz zu verschwinden. In den Lebern kranker Tiere findet es sich nur in geringer Menge oder fehlt ganz. In vielen niedern Tieren ist Glykogen nachgewiesen. Besonders reichlich fand G. Bizio[1]) Glykogen in verschiedenen Muscheln, besonders Ostrea edulis, Cardium edule. Ferner ist es in Pflanzen mehrfach nachgewiesen, besonders in vielen Pilzen, in der Hefe.

Den tierischen Organen lässt sich das Glykogen durch Kochen mit Wasser entziehen, durch sehr langes (viele Tage) fortgesetztes Kochen vollständig.

Darstellung reinen Glykogens.

Zur Gewinnung eines völlig reinen Glykogens verfuhr Gutin-Gruzewska[2]) unter Benutzung der Erfahrungen von Pflüger-Nerking[3]) und Claude Bernard[4]) in folgender Weise:

Die ganz frische Leber eines (am besten auf Glykogen gemästeten*) Tieres wird gewogen, nach Zerkleinerung in einer Fleischhackmaschine in einen Kolben mit siedendem Wasser (auf 200 Wasser 100 Gewebe) gebracht, 5—6 St. auf stark kochendem Wasserbad erhitzt und nach Abkühlen durch Glaswolle und dann durch Papier filtriert. Jetzt fügt man auf je 800 ccm Lösung 80 g Jodkalium, 40 ccm 60 proc. Kalilauge und 400 ccm Alkohol von 96 Vol.-Procent, giesst nach einigen Stunden die klare überstehende Flüssigkeit ab, filtriert den feinpulverigen Niederschlag durch ein schwedisches Filter und wäscht ihn nacheinander je zweimal mit einer Lösung, welche aus 1000 ccm Wasser, 100 g Jodkalium, 50 ccm 60 proc. Kalilauge und 500 ccm Alkohol von 96 Vol.-Procent hergestellt ist, mit 66 proc. und mit 96 proc. Alkohol. Nach Auflösen des Glykogens auf dem Filter mit heissem Wasser und Wiederholung der eben beschriebenen Fällung und Waschung wird wieder in Wasser gelöst und zur Entfernung des Jodkaliums und Kaliumhydroxyds mit dem gleichen Vol. 96 proc. Alkohols

*) Zur Mästung erhält ein Hund von 6—8 K nach achttägigem Hungern 3 Tage lang täglich 200 g Fleisch, 100 g Reis und 100 g Kartoffeln, darauf 4 Tage lang ausserdem noch eine Zulage von 150—200 g Rohrzucker und am Abend vor dem Tage, an dem morgens die Tötung stattfinden soll, nochmals eine reichliche solche Mahlzeit. Die Trockensubstanz der Leber besteht dann zu ungefähr $^2/_3$ aus Glykogen (Schöndorff[5]).

1) Atti dell' Istituto veneto di scienze etc. Vol. XI. Ser. 3. 1866.
2) Pfl. A. **102**. 569 (1904.) u. Pflüger, Glykogen. 2. Aufl. 1905. S. 29.
3) Pfl. A. **76**. 531. (1899.)
4) C. r. **44**. 578 (1857.)
5) Pfl. A. **99**. 201. (1903.)

gefällt, der Niederschlag filtriert und mit 66 proc. und 96 proc. Alkohol gewaschen. Man löst nun zur Entfernung stickstoffhaltiger Beimengungen in kleiner Menge heisser 30 proc. Kalilauge (aus bestem KOH hergestellt), erhitzt im Kolben eine Stunde auf kochendem Wasserbad, verdünnt nach dem Abkühlen mit gleichem Vol. Wasser und fällt mit dem gleichen Vol. 96 proc. Alkohol. Das nach wenigen Stunden flockig abgesetzte Glykogen wird durch gut gewaschenes Filter filtriert und nacheinander je zweimal mit einer Lösung, die aus 1 Tl. 15 proc. Kalilauge und 1 Tl. 96 proc. Alkohol besteht, mit 66 proc., mit 96 proc. Alkohol, absolutem Alkohol und Aether gewaschen. Es folgen nun zur Entfernung des Aetzkalis 5—6 Fällungen aus wässeriger Lösung mit 1 höchstens 2 Tl. 96 proc. Alkohols (der abtropfende Alkohol darf sich zuletzt mit Rosolsäure nicht mehr rot färben), darauf zur Entfernung von anorganischen Bestandteilen 3 Fällungen aus der mit ein wenig Essigsäure angesäuerten wässerigen Lösung mit dem gleichen Vol. 96 proc. Alkohol und schliesslich zur Entfernung der Essigsäure 3—4 Fällungen aus wässeriger Lösung mit 96 proc. ganz säurefreiem Alkohol. Weil das Glykogen mit zunehmender Reinheit immer schwerer durch Alkohol gefällt wird, muss man nicht zu verdünnte Lösungen anwenden und zur Erzielung der Vollständigkeit der Fällung etwas Aether hinzufügen. Zuletzt wäscht man das Glycogen noch einige Tage mit absolutem Alkohol und einige Tage mit Aether, indem man ein an das Trichterrohr angefügtes Schlauchstück mit einer Klemme verschliesst, so dass der aufgegossene Alkohol und Aether einige Stunden auf dem Glykogen stehen bleibt, dann die Klemme öffnet, ablaufen lässt, neue Waschflüssigkeit aufgiesst usw. Es wird im evacuierten Exsiccator über Chlorcalcium oder Phosphorsäureanhydrid (nicht über Schwefelsäure) getrocknet.

Darstellung nach Brücke.

Die Darstellung nach Brücke[1]), welche aber zu einem etwas veränderten Glykogen führt, geschieht folgendermassen: Das unmittelbar nach dem Tode entnommene und schnell zerkleinerte Organ wird in kochendes Wasser gebracht (auf 100 g Organ etwa 400 g Wasser) und einige Stunden gekocht, das Filtrat nach dem Erkalten mit Salzsäure und Brücke's Reagens (Anh.) in der Weise ausgefällt, dass man unter Umrühren abwechselnd Salzsäure und das Reagens zufügt, bis kein Niederschlag mehr entsteht. Man filtriert, fügt zum Filtrat unter Umrühren zwei Vol. Alkohol von 96 Vol.-Procent hinzu und filtriert das ausgeschiedene Glycogen ab. Der Niederschlag wird in wenig warmem Wasser gelöst, die Lösung nach dem Erkalten nochmals mit einigen Tropfen Salzsäure und Reagens versetzt, um etwaige kleine Reste von Eiweiss zu entfernen, filtriert und das Filtrat wieder mit Alkohol unter Umrühren gefällt. Das auf einem Filter gesammelte Glykogen wird zuerst mit Alkohol von 66 Vol.-Procent, dann mit Alkohol von 96 Vol.-Procent, darauf mit Aether und nochmals mit

1) Sitzungsber. d. Wiener Akad. **53**. II. 3. Febr. 1871.

Alkohol gewaschen und schliesslich im Exsiccator über Chlorcalcium oder Phosphorsäureanhydrid getrocknet.

Eigenschaften. Das Glykogen stellt eine amorphe, farb- und geschmacklose, in Wasser lösliche, in Alkohol oder Aether unlösliche Substanz dar, die sehr hygroskopisch ist und sich bei 110—120° unter Dunkelfärbung zersetzt. Bei 100° getrocknet, hat es die Zusammensetzung $(C_6H_{10}O_5)n$ (Nerking[1]). Aus einer dünnen wässerigen mit absolutem Alkohol bis zum Auftreten einer undurchsichtigen Trübung und dann tropfenweise mit Wasser bis zum Verschwinden dieser Trübung versetzten Lösung reinen Glykogens scheidet es sich beim ruhigen Stehen allmählich in Form von Kugeln und Stäbchen ab (Gatin-Gruzewska[2]). Die wässerige Lösung zeigt eine starke, weisse Opalescenz, nach einigem Stehen findet man die unteren Schichten reicher an Glykogen als die oberen (Gatin-Gruzewska).

Fällungsmittel. Sie wird durch Alkohol gefällt (vollständig durch das doppelte Vol.), eine ganz aschefreie Lösung aber erst nach Zusatz einer Spur von Chlornatrium oder essigsaurem Alkali oder von Aether. Eine 4 pCt. Aetzkali enthaltende wässerige Lösung wird durch das gleiche Vol. Alkohol von 96 Vol.-Procent vollständig gefällt, eine durch Aetzkali stark alkalische schon durch das halbe Vol. (Pflüger). Eine wässerige Lösung scheidet, mit Ammonsulfat bei gewöhnlicher Temperatur oder mit Natriumsulfat bei 33° gesättigt, das Glykogen ab, nicht aber bei der halben Sättigung mit Ammonsulfat (Young[3]). Sie wird ferner gefällt durch Aetzbarytlösung und zwar entsteht bei unvollständiger Ausfällung ein Niederschlag von der Formel $5\,(C_6H_{10}O_5)\,.\,Ba\,(OH)_2$, bei vollständiger Ausfällung wechselt die Menge des Baryts im Niederschlage mit der Concentration des Barytwassers bis zu einem maximalen Gehalt, welcher der Formel $5\,(C_6H_{10}O_5)\,.\,2\,Ba\,(OH)_2$ entspricht (O. Nasse[4]). Die Niederschläge lösen sich in reinem Wasser und werden durch Kohlensäure in Glykogen und Bariumcarbonat zerlegt. Ferner entstehen Niederschläge mit Gerbsäure, Bleiessig, schwefelsaurem Kupferoxydammoniak, Eisenchlorid, Phosphorwolframsäure bei Gegenwart von starker Salzsäure. Bleizucker bewirkt nur Trübung; leitet man Schwefelwasserstoff durch die Lösung, so bleibt das Schwefelblei (wie in Lösungen von Eiweissstoffen oder Leim) suspendiert, fällt aber auf Zusatz von Alkali nieder. In concentrierten Lösungen rufen starke Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure Niederschläge hervor, die aber beim Erwärmen sich lösen, also wohl keine Verbindungen darstellen. Beim Schütteln von Glykogenlösung mit Benzoylchlorid und Natronlauge fällt ein weisses, körniges Pulver aus, das aus benzoyliertem Glykogen besteht (Wedenski[5]). Kupferoxydhydrat wird durch Glykogen in alkalischer Lösung aufgelöst, aber auch beim

---

1) Pfl. A. **85**. 320. (1901.)
2) Pfl. A. **102**. 569. (1904.)
3) J. of. Ph. **22**. 401. (1897/98.)
4) Pfl. A. **37**. 582. (1883.)
5) H.-S. **13**. 125. (1889.) Kueny, H.-S. **14**. 352. (1890.)

Kochen nicht reduciert. Jod färbt eine Glykogenlösung je nach ihrer Concentration gelbbraun bis rotbraun bis rot unter Bildung von Jodglykogen; diese Reaction wird durch Zusatz von Kochsalz, Chlorammonium oder anderen Salzen verstärkt, man benutzt deshalb am besten eine mit Kochsalz gesättigte Jodjodkalilösung (Nasse). Beim Erhitzen dissociiert die Verbindung und die Flüssigkeit nimmt die dem vorhandenen freien Jod entsprechende Farbe an. Verhalten zu Jod.

Auch durch stundenlanges Kochen mit starker Kalilauge (z. B. 30 proc.) wird es nicht angegriffen. Durch Kochen mit verdünnter (2 proc.) Kalilauge erleidet es eine geringe Veränderung, welche sich in grösserer Löslichkeit in Weingeist ausspricht und wahrscheinlich auch mit Zerstörung einer kleinen Menge Glykogen verbunden ist. Eine sehr viel erheblichere Zersetzung beim Kochen mit 2 proc. Kalilauge erfährt das nach Brücke und Külz dargestellte Glykogen (Pflüger). Beim Kochen mit verdünnter Salz- oder Schwefelsäure wandelt es sich zunächst in Dextrine, dann in Maltose, schliesslich in Glukose um. Am vollständigsten erfolgt die Umwandlung in Glukose bei dreistündigem Erhitzen in siedendem Wasserbad mit 2,2 proc. Salzsäure. Es werden dann 97 pCt. Glykogen in Glukose umgewandelt (Nerking, Grebe[1]). Dieselbe Umwandlung (bis zur Maltose) erleidet es durch die im Speichel, Pancreassaft, Blutserum, in der Lebersubstanz enthaltenen diastatischen Enzyme. Durch Einwirkung von Brom und Wasser auf Glykogen entsteht Glukonsäure (Chittenden[2]), Niebel[3]). Mit schwacher Salpetersäure gekocht gibt es Oxalsäure. Verhalten zu Alkalien, Säuren u. Fermenten. Oxydationen.

Das Glykogen zeigt in wässeriger Lösung sehr starke rechtsseitige Circumpolarisation, die mit wünschenswerter Genauigkeit sich schwer bestimmen lässt wegen der starken Lichtdispersion, welche die Glykogenlösungen zeigen. Für ganz reines aschefreies Glykogen (1—2 proc. Lösungen) fand Gatin-Gruzewska im Mittel mehrerer Bestimmungen, die nur um 2,5° von einander abwichen $[\alpha]_D = + 196{,}57°$. Külz fand die Drehung unabhängig von der Concentration der Lösungen, auch unbeeinflusst durch Zusatz von Salzsäure, Kali- oder Natronlauge, Jodquecksilberjodkalium in der Kälte. Optische Eigenschaften.

Zum Nachweis des Glykogens dient die Opalescenz seiner wässerigen Lösung, das Reductionsvermögen nach der Spaltung durch Säuren oder Fermente und besonders die Jodreaction, soweit nicht Verwechselung mit Amyloid zu befürchten ist. Da das letztere in Wasser nicht löslich ist und durch Fermente nicht in Zucker umgewandelt wird, so ist es leicht beide Körper gut von einander zu unterscheiden. Da aber das Glykogen an den Orten, wo es abgelagert ist, gewöhnlich zugleich Ferment zu seiner Nachweis.

1) Pfl. A. **121**. 604. (1908.)
2) American. Journ. of sciences and arts. XI. Mai 1876.
3) H.-S. **29**. 482. (1900.)

Umwandlung in Traubenzucker vorfindet, so müssen die Untersuchungen auf Glykogen in Organen oder Flüssigkeiten so schnell wie möglich begonnen oder es muss durch Zusatz von Alkohol bis zur Fällung die Einwirkung des Ferments unmöglich gemacht werden.

Bei der directen Prüfung der Organauszüge auf Glykogen mit der Jodreaction ist zu berücksichtigen, dass sich in solchen Auszügen andere jodbindende Substanzen befinden. Infolgedessen verschwindet die zunächst auftretende rotbraune Färbung beim Stehen oder schneller beim Erhitzen und wird erst dann beständig, wenn die andern jodbindenden Substanzen mit Jod gesättigt sind (Pflüger).

Paraglykogen. Unter diesem Namen beschreibt Bütschli[1]) einen dem Glykogen verwandten Körper, aus dem die Körner aus dem Entoplasma der Gregarinen bestehen. Diese Körner färben sich mit Jod braunrot bis braunviolett und lösen sich in heissem Wasser zu einer meist opalescierenden Flüssigkeit. Dieselbe färbt sich mit Jod weinrot bis purpurrot. Durch Behandeln mit Speichel wird der Körper rasch verändert, so dass die Jodreaction verschwindet, jedoch nicht oder höchstens spurenweise in reducierenden Zucker übergeführt. Durch mehrstündiges Kochen mit verdünnter Schwefelsäure gelingt die Ueberführung in reducierenden Zucker gewöhnlich leicht. Ein in dem Verhalten gegen Jod entsprechender Körper kommt nach Bütschli auch in dem Leibe anderer Protozoen (Nyctotherus ovalis, Strombidium) in ansehnlicher Menge vor.

Achrooglykogen. Aus dem Mucin, welches durch Extraction der Schnecken mit Wasser, Filtration und Fällung mit Essigsäure dargestellt war, hat Landwehr[2]) durch Behandeln mit verdünnter Kalilauge, Abscheidung der Eiweissstoffe mittelst Jodquecksilberjodkalium, Filtration und Fällung mit Alkohol einen Körper erhalten, den er Achrooglykogen genannt hat, weil er mit dem Glykogen in den Reactionen im Uebrigen übereinstimmt, aber durch Jod nicht gefärbt wird. Eine Analyse dieses Körpers, den übrigens Hammarsten[3]) nicht auffinden konnte, liegt nicht vor.

Paramylum nannte Gottlieb[4]) die Substanz der stärkeartigen Körnchen in Euglena viridis. Sie löst sich in Kalilauge und ist aus der Lösung durch Salzsäure wieder fällbar. Sie löst sich auch in Formalin (Kutscher[5]). Sie färbt sich nicht mit Jod und ist gegen verdünnte Säuren und Fermente widerstandsfähig. Durch Kochen mit Säure entsteht ein reducierender und mit Hefe vergärender Körper (Kutscher).

Von Schmiedeberg[6]) wurde aus der Substanz der Wohnröhren von Onuphis tubicola durch 24stündiges Erhitzen mit Wasser auf 120—130° ein dextrin- oder glykogenartiges Spaltungsprodukt erhalten, welches in Wasser löslich ist, durch Alkohol in Flocken, die sich gummiartig zusammenballen, gefällt und getrocknet leicht als gelbliches Pulver erhalten wird. Diese Substanz reduciert Kupferoxyd nicht in alkalischer Lösung, wohl aber nach dem Kochen mit Säuren, und wird durch Jod nicht gefärbt. Durch Kalilösung wird sie schwer angegriffen.

105. **Dextrine** $(C_6H_{10}O_5)n$. Dextrine nennt man Stoffe, welche bei der Spaltung von Amylum und Glykogen durch diastatische Fermente oder verdünnte Säure in der Hitze als Zwischenglieder auftreten, um weiterhin in Isomaltose (S. 116) und Maltose und, (wenn die Spaltung durch Säurewirkung erfolgt), in Traubenzucker zu zerfallen. Es sind in Wasser

1) Z. f. B. **21**. 603. (1885.)
2) H.-S. **6**. 74. (1882.)
3) Pfl. A. **36**. 383. (1885.)
4) A. **75**. 51. (1850.)
5) H.-S. **24**. 360. (1898.)
6) Mitteil. a. d. zool. Station z. Neapel. 1882. S. 373.

lösliche, in absolutem Alkohol unlösliche Körper, welche in conc. Lösung in Wasser dick gummiartige Beschaffenheit zeigen, beim Erhitzen mit Alkalien sich gelb und braun färben und nicht krystallisieren. Man unterscheidet Amylodextrin (Amidulin, lösliche Stärke), die Gruppe der Erythrodextrine und die Gruppe der Achroodextrine, welche durch fortgesetzte Spaltung aus einander entstehen und auch in ihrem Verhalten Uebergänge zwischen der Stärke (Glykogen) einerseits und dem Zucker andererseits darstellen. Alle drehen rechts u. z. ungefähr $[\alpha]_D = +195^0$, sie gären nicht. Amylodextrin reduciert Fehling'sche Lösung nicht, färbt sich mit Jod blau, Erythrodextrine und Achroodextrine reducieren. Moreau[1]) gelang es indessen, Erythro- und Achroodextrin darzustellen, welche kein Reductionsvermögen zeigen. Das von andern beobachtete Reductionsvermögen beruht nach ihm auf Verunreinigungen mit Maltose und Glukose. Die Erythrodextrine färben sich mit Jod rotviolett, Achroodextrine gar nicht. Mittelst der Jodreaction lassen sich bei gleichzeitiger Anwesenheit von Amylo- und Erythrodextrin beide nebeneinander nachweisen, wenn man sich einer sehr verdünnten Jodjodkalilösung bedient nnd diese nur tropfenweise zusetzt: es entsteht zunächst Blaufärbung, bei weiterem Zusatz Rotfärbung. Die sehr schwierige Trennung geschieht mit Hülfe von Alkohol (Lintner und Düll[2]) oder besser mit Hülfe von Ammonsulfat und anderen Neutralsalzen nach Young[3]). Die besten Resultate scheint die fractionierte Fällung mit Bariumhydrat zuerst in wässeriger, dann in alkoholischer Lösung nach Moreau zu geben.

Nach Scheibler und Mittelmeier[4]) lösen sich die reducierenden Dextrine allmählich in Phenylhydrazin auf und werden durch Alkohol als rein weisses Dextrinphenylhydrazin (mit 1 pCt. Stickstoff) abgeschieden. Diese Verbindung verhält sich gegen Lösungsmittel wie Dextrin und wird durch Speichel und Diastase saccharificiert. Auf dem Wasserbad mit Phenylhydrazin und Essigsäure behandelt, verwandelt sie (resp. Dextrin selbst) sich, wenigstens zum Teil, in Osazon, welches in Wasser löslich ist und durch Alkohol als hellgelbgefärbter Niederschlag erhalten wird. Durch Reduction mit Natriumamalgam entsteht aus dem Dextrin ein Alkohol, von Scheibler und Mittelmeier Dextrit genannt, und durch Einwirkung von Brom in der Kälte eine Säure.

Tierisches Dextran. Unter diesem Namen beschreibt L. Liebermann[5]) einen gummiartigen Körper, den er aus dem wässerigen Auszug der Excremente einer Blattlaus (Schizoneura lanuginosa) durch Fällen mit Alkohol erhielt. Die Substanz, deren Analyse keine scharfen Zahlen gab (am besten passt sie zu der Formel $C_6H_{10}O_5$), verhält sich ganz wie Gummi, ist in kaltem Wasser schwer löslich, dreht stark rechts $[\alpha]_D = +156{,}7^0$; nach längerem Kochen mit Säuren reduciert sie alkalische Kupferoxydlösung.

106. **Tierisches Sinistrin** $2(C_{12}H_{20}O_{10}) + H_2O$ nennt Hammarsten[6]) ein Kohlehydrat, welches bei der Zersetzung des Glukoproteids der Eiweissdrüse von Helix

1) Ref. in B. C. **3**. 648. (1904/05.)
2) B. **26**. 2533 (1893) und **28**. 1522. (1895.)
3) J. of Ph. **22**. 401. (1897/98.)
4) B. **23**. 3060. (1890.)
5) Pfl. A. **40**. 454. (1887.)
6) Pfl. A. **36**. 442. (1885.)

pomatia mit 5 bis 10 proc. Kalilauge in der Kälte sich abspaltet und mit Hülfe der Brücke'schen (S. 121) oder Landwehr'schen Methode[1]) isoliert werden kann. Es löst sich leicht in Wasser zu einer schwach bläulichweiss opalescierenden Flüssigkeit, welche linksdrehend ist, durch Jod nicht gefärbt und durch Speichel nicht angegriffen wird. Beim Erhitzen mit Säure wird das Sinistrin in einen süss schmeckenden Zucker übergeführt, welcher Fehling'sche Lösung reduciert, gärungsfähig ist und ziemlich stark rechts dreht; krystallisiert wurde derselbe nicht erhalten.

107. **Cellulose (Tunicin) $(C_6H_{10}O_5)n$.** Im Mantel der Ascidien ist von C. Schmidt[2]) eine Substanz aufgefunden, die gegen starke Säuren und Alkalien sich auch beim Kochen sehr resistent verhält und die Zusammensetzung der Cellulose besitzt. Berthelot[3]), der ihr den Namen Tunicin gab, hielt sie für eine von der Cellulose verschiedene Substanz. Nach den Untersuchungen von Schäfer[4]) u. a., besonders nach den Ergebnissen von Winterstein[5]) ist sie als echte Cellulose anzusehen. Sie ist unlöslich in verdünnten Säuren und Alkalien, löslich in Kupferoxydammoniak, färbt sich mit Jod und Schwefelsäure oder Jod und Chlorzink blau oder blauviolett, wird von rauchender Salpetersäure in ein Nitroprodukt, ähnlich der Schiessbaumwolle, übergeführt und gibt beim Zusammenreiben mit conc. Schwefelsäure, Eintragen der Masse in das 100fache Volumen Wasser und Kochen eine Lösung, aus der sich krystallisierter Traubenzucker gewinnen lässt. Das Verhalten stimmt also vollkommen mit dem der Cellulose überein.

Nach Halliburton[6]) besteht die schleimige Umhüllung, welche die Colonien oder Stöcke des Protozoon Ophrydium versatile umgibt, aus Cellulose. Die von Freund[7]) u. a. im Blut und in den Organen von Phthisikern gefundene Cellulose ist auf in den Tuberkelbacillen vorhandene Cellulose zu beziehen (Dreyfuss[8]), Nishimura[9]).

Kohlehydrate von der Formel $C_5H_{10}O_5$ (Pentosen).

Vorkommen.

108. Die Pentosen, früher nur als Spaltungsproducte im Pflanzenreich vorkommender Kohlehydrate (bes. Gummiarten) bekannt, sind zuerst von E. Salkowski[10]) in kleinen Mengen in einigen Fällen im menschlichen Harn, dann von Külz und Vogel[11]) sehr häufig im diabetischen Harn, auch im Harn von Hunden nach Pancreasexstirpation oder nach Phloridzingaben nachgewiesen. Inzwischen ist Pentose in einer ganzen Reihe von Fällen im menschlichen Harn gefunden worden (Pentosurie). Nach Neuberg[12]) kommt sie nur zum Teil in freiem Zustande, zum Teil als Harnstoffverbindung im Harne vor. Bei manchen Menschen tritt nach Zufuhr von viel pentosenhaltiger Nahrung Pentose im Harn vorübergehend auf.

Pentose ist unter den hydrolytischen Spaltungsproducten des Pancreasnucleoproteids, des Lebernucleoproteids und der Inosinsäure mit Sicherheit

---

1) H.-S. **8**. 122. (1883/84.)
2) A. **54**. 318. (1845.)
3) A. de Ch. Ph. **56**. 149 (1859), B. **5**. 587. (1872.)
4) A. **160**. 312. (1871.)
5) H.-S. **18**. 43. (1894.)
6) Quart. J. Mic. Science. July 1885.
7) Wien. med. Jahrb. 1886. S. 335.
8) H.-S. **18**. 358. (1894.)
9) A. f. H. **21**. 52. (1894).
10) C. f. d. med. W. 1892. S. 337 u. 593, besonders H.-S. **27**. 507. (1899))
11) Z. f. B. **32**. 185. (1895.)
12) Ergebnisse der Physiol. **3**. 1. 408. (1904.)

nachgewiesen. In vielen anderen Nucleoproteiden und Nucleinsäuren ist ihre Anwesenheit auf Grund von Reactionen und der aus ihren Spaltungsproducten gewonnenen Osazone wahrscheinlich gemacht worden (Kossel[1]), Blumenthal[2]), Neumann[3]) u. viele andere[4]), wenn auch der Beweis noch nicht erbracht ist.

Eigenschaften.

Die Pentosen, von denen bisher zwei (§§ 109 u. 110) als Producte des tierischen Körpers nachgewiesen worden sind, geben die Reaction von Molisch (§ 98, 9), die auf Reduction beruhenden Proben des Traubenzuckers, mit Hydrazinen charakteristische Verbindungen, gären nicht mit Hefe und liefern beim Erhitzen mit Salzsäure keine Lävulinsäure, aber reichliche Mengen Furfurol. Durch Zinkhydroxydammoniak entsteht aus ihnen Methylimidazol (Windaus[5]). Sie geben, ebenso wie die Glukuronsäure (§ 111) folgende beiden Reactionen:

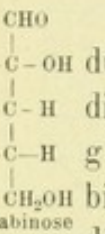
1. Orcin-Salzsäurereaction[6]). Man versetzt die zu untersuchende Flüssigkeit mit dem gleichen Volumen conc. Salzsäure bezw. übergiesst, wenn es sich um eine feste Substanz handelt, eine kleine Probe derselben mit Wasser und dem gleichen Vol. conc. Salzsäure, fügt eine kleine Menge Orcin hinzu und erhitzt. Bei Anwesenheit von Pentosen (oder Glukuronsäure) färbt sich die Flüssigkeit rötlich blau und zeigt einen scharfen Absorptionsstreifen zwischen C und D nahe an D. Es entsteht bald eine bläuliche Färbung, deren zunächst rote, später schön grüne, amylalkoholische Lösung denselben Streifen erkennen lässt.

2. Phloroglucin-Salzsäurereaction[7]). Man verfährt ebenso wie bei der Orcinprobe, nimmt nur statt des Orcins Phloroglucin. Die Flüssigkeit färbt sich kirschrot und zeigt bei schneller Untersuchung einen Streifen zwischen D und E. Da nach kurzer Zeit Trübung eintritt, ist es zweckmässig die Probe schnell abzukühlen, mit Amylalkohol gelinde zu schütteln und nun die amylalkoholische Lösung, welche den Farbstoff aufgenommen hat, spectroskopisch zu prüfen.

Ueber Farben- und Spektralerscheinungen bei Ausführung dieser Probe in alkoholischer Lösung siehe Pinoff[8]). Modifikationen beider Reactionen sind von A. Neumann[9]) und von R. u. O. Adler[10]) angegeben worden.

---

1) A. f. A. u. Ph. Ph. A. 1893. 159.
2) B. k. W. 1897. 245, Z. f. kl. M. **34**. 166. (1899.)
3) A. f. A. u. Ph. Ph. A. 1898. 377.
4) Siehe Lit. bei Neuberg, Ergebnisse a. a. O. S. 400ff.
5) B. **40**. 799. (1907.)
6) Allen u. Tollens, A. **260**. 305. (1890.)
Salkowski, H.-S. **27**. 514. (1899.)
7) Tollens u. Mitarbeiter, A. **254**. 333 (1889) u. **260**. 304. (1890.)
B. **29**. 1202. (1896.), Salkowski, H.-S. **27**. 509. (1899.)
8) B. **38**. 766. (1905.)
9) B. k. W. 1904. 1073.
10) Pfl. A. **106**. 323. (1905.)


l-Arabinose

109. **Arabinose $C_5H_{10}O_5$.** Von den drei Modifikationen ist die l-Arabinose durch Hydrolyse von arabischem oder Kirschgummi (Kiliani u. Koehler[1]) die d-Arabinose auf synthetischem Wege (Wohl[2]), Neuberg u. Wohlgemuth[3]), die i-Arabinose durch Vereinigung gleicher Mengen d- u. l-Arabinose erhalten worden. Ein Verfahren zur Zerlegung der i-Arabinose in die beiden optisch aktiven ist von Neuberg und Federer[4]) angegeben worden.

Vorkommen. Die im Harn bei Pentosurie vorkommende Pentose, welche von E. Salkowski[5]) entdeckt worden ist, ist die i-Arabinose (Neuberg[6]); nur einmal ist l-Arabinose gefunden worden (Luzzatto[7]).

Darstellung. Zur Isolierung dampft man nach Neuberg*) eine grössere Menge Pentoseharn im Vacuum bei etwa 36° auf ein kleines Volumen ein, entfernt durch Zusatz von viel Alkohol die Hauptmenge der anorganischen Salze, wiederholt mit der alkoholischen Lösung diese Operation, bis schliesslich eine Flüssigkeit erhalten wird, die ausser Pentose nur noch reichliche Mengen von Harnstoff und Kreatinin enthält. Aus dieser Lösung scheidet sich auf Zusatz von Diphenylhydrazin beim Erwärmen ein Krystallbrei aus, der abfiltriert, mit wenig kaltem Alkohol gewaschen und portionsweise aus viel 50 proc., wässerigen Pyridin unter Zusatz von etwas Tierkohle umkrystallisiert wird. Aus diesem Diphenylhydrazon wird durch Spaltung mittelst Formaldehyd der Zucker regeneriert, zunächst als Syrup, der allmählich im Vacuum krystallinisch wird.

Eigenschaften. Arabinose krystallisiert in farblosen Prismen von süssem Geschmack, in Wasser löslich, und zwar löst sich bei 10° die active wie 1 : 1,7, die inaktive wie 1 : 5,9 (Ruff[8]), in absolutem Alkohol fast unlöslich. Nach demTrocknen im Vacuum über Phosphorpentoxyd bei ca. 70° schmilzt die active bei 156—157, die inactive bei 161—162 (Ruff). Aus wässeriger Lösung wird sie durch Bleiessig und Ammoniak gefällt, aus Harn nach R. u. O. Adler[9]) zum Teil auch durch Bleiessig. Sie reduciert Fehling'sche Lösung ein wenig schwächer als Glukose. Genauere Angaben bei Weiser und Zaitschek[10]).

Die Arabinose verbindet sich mit aromatischen Aminen:

Verbindungen: mit Phenylhydrazin. Arabinosephenylosazon $C_{17}H_{20}N_4O_3$ scheidet sich aus einer Lösung, welche Arabinose und ein Gemisch von 2 Teilen (farblosem) salzsaurem Phenylhydrazin und 3 Teilen wasserhaltigem Natriumacetat enthält, nach längerem Erhitzen beim Erkalten in gelben Nadeln ab. Das Osazon der activen A. schmilzt bei

*) Einzelheiten siehe im Original.

1) B. **37**. 1210. (1904.)
2) B. **26**. 730. (1894.)
3) H.-S. **35**. 31. (1902.)
4) B. **38**. 868. (1905.)
5) C. f. d. med. W. 1892. S. 337 und 593. H.-S. **27**. 507. (1899.)
6) B. **33**. 2243. (1900.)
7) B. Ph. P. **6**. 87. (1905.)
8) B. **32**. 550. (1899.)
9) Pfl. A. **110**. 99. (1905.)
10) Pfl. A. **93**. 98. (1902.)

159—160° (Wohl), das der inactiven (rasch erhitzt) bei 166—167° (E. Fischer[1]). Es löst sich leicht in heissem Wasser und lässt sich dadurch auch zu einem gewissen Grade von andern Osazonen z. B. dem Glukosazon trennen. 0,2 g l-Arabinosazon gelöst in 6 ccm absolutem Alkohol + 4 ccm gereinigtem Pyridin dreht im Decimeterrohr + 1° 10′ (Neuberg[2]).

mit p-Bromphenylhydrazin.

Arabinose-p-Bromphenylosazon $C_{17}H_{18}N_4O_3Br_2$ entsteht unter denselben Bedingungen wie das Phenylosazon und scheidet sich zum Teil schon in der Wärme ab. Smp. für das aus activer und inactiver A. gewonnene Osazon um 200° (Neuberg[3]).

Arabinose-p-Bromphenylhydrazon $C_{11}H_{15}N_2O_4Br$ scheidet sich in feinen farblosen Nadeln ab, wenn Arabinose und p-Bromphenylhydrazin in molecularen Mengen in essigsaurer oder alkoholischer Lösung aufeinander einwirken (E. Fischer, Neuberg[4]). Es löst sich in heissem Wasser, schwerer in heissem Alkohol. Smp. für das aus activer und inaktiver Arabinose gewonnene Hydrazon bei 160—162°.

mit Diphenylhydrazin.

Arabinose-Diphenylhydrazon $C_{17}H_{20}N_2O_4$ scheidet sich in feinen farblosen Nadeln ab, beim Erwärmen molekularer Mengen von Arabinose und Diphenylhydrazin in alkoholischer Lösung auf dem Wasserbad (Neuberg[4]), Neuberg u. Wohlgemuth[5]), in kaltem Wasser und kaltem Alkohol unlöslich, in heissem Wasser und heissem Alkohol nur schwer löslich. Beim schnellen Erhitzen schmilzt das aus activer A. gewonnene Hydrazon bei 216—218° (nach Tollens[6]) bei 204—205°), das aus inactiver gewonnene bei 206°. Wegen seiner Schwerlöslichkeit ist es für die Isolierung und Unterscheidung der Arabinose von Xylose sehr geeignet. Aus ihm lässt sich mittelst Formaldehyd (Ruff u. Ollendorff[7]) oder mittelst Benzaldehyd (Herzfeld[8]) die Arabinose wieder gewinnen.

Optische Eigenschaften.

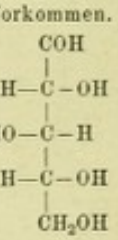
Bei Benutzung von etwa 10 proc. Lösungen fand v. Lippmann[9]) (in Uebereinstimmung mit andern) für l-Arabinose $[\alpha]_D^{20} = + 105{,}4°$, Ruff für d-Arabinose $[\alpha]_D^{20} = - 105{,}1°$, Wohl für d-Arabinose $[\alpha]_D^{20} = - 104{,}1°$. Beide zeigen Multirotation.

Weitere Angaben und Reaktionen siehe § 108.

Ueber Nachweis der Arabinose im Harn siehe Harn.

110. l¹-Xylose $C_5H_{10}O_5$. Von den drei Modificationen ist bisher nur die l-Xylose bekannt. Sie entsteht bei der Hydrolyse des Holzgummi und ist auch im Pancreas- und Lebernucleoproteid und in der Inosinsäure enthalten, aus denen sie bei der hydrolytischen Spaltung mit Säuren und — wenigstens was das Pancreasnucleoproteid betrifft — auch bei der Autolyse (Neuberg

Vorkommen.



1) B. **27**. 2486. (1894.)
2) B. **32**. 3386. (1899.)
3) B. **32**. 3387. (1899), **33**. 2243. (1900.)
4) B. **33**. 2243. (1900.)
5) H.-S. **35**. 31. (1902.)
6) B. **37**. 311. (1904), **38**. 500. (1905.)
7) B. **32**. 3234. (1899.)
8) B. **28**. 442. (1895.),
9) B. **17**. 2239. (1884.)

und Milchner[1]), nicht aber bei der tryptischen Verdauung (Umber[2]), Neuberg und Milchner) frei wird. Die Darstellung aus diesen tierischen Substanzen ist bis jetzt nur als Osazon geglückt (Hammarsten[3]), Bang[4]), Salkowski[5]). Dass dieses Osazon l-Xylosazon ist, hat Neuberg[6]) zuerst für das Pancreasnucleoproteid dadurch bewiesen, dass er die abgespaltene Pentose durch Oxydation mit Brom in die Säure überführte, diese als Brucinsalz isolierte und das Salz mit l-xylonsaurem Brucin identificierte. In derselben Weise hat dann Wohlgemuth[7]) den Nachweis geführt, dass auch die Pentose des Lebernucleoproteids l-Xylose ist. Die Pentose der Inosinsäure wurde durch Neuberg und Brahn[8]) und durch Bauer[9]) als l-Xylose festgestellt.

Eigenschaften. l-Xylose krystallisiert in Prismen, welche in Wasser sehr leicht, in Alkohol schwer löslich sind. Sie reduciert Fehling'sche Lösung ein wenig stärker als Glukose. Genauere Angaben bei Weiser und Zaitschek[10]).

Verbindungen: mit Phenylhydrazin. l-Xylosephenylosazon $C_{17}H_{20}N_4O_3$ in derselben Weise wie das Arabinosazon (§ 109) erhalten, ist diesem sehr ähnlich, schmilzt bei 160°. 0,2 g gelöst in 6 ccm absolutem Alkohol + 4 ccm gereinigtem Pyridin dreht im Decimeterrohr — 0° 15′ (Neuberg[11]).

mit p-Bromphenylhydrazin. l-Xylose-p-Bromphenylosazon $C_{17}H_{18}N_4O_3Br_2$. p-Bromphenylxylosazon, gelbe Nadeln vom Smp. 208°, leicht in heissem, kaum in kaltem Wasser löslich (Neuberg[12]).

mit Diphenylhydrazin. l-Xylose-Diphenylhydrazon $C_{17}H_{20}N_2O_4$ (Neuberg und Wohlgemuth[13]) eignet sich nicht für Nachweis und Isolierung.

Für die Identifizierung ist sehr geeignet die Umwandlung in Xylonsäure durch Oxydation mit Brom, welche auch in unreiner Lösung erfolgt. Die Xylonsäure kann durch basisches Bleiacetat und Ammoniak abgeschieden und als schön krystallisierendes Brucinsalz (Smp. 172—174°) isoliert werden (Neuberg[14]).

Optische Eigenschaften. Für 3—34 proc. Lösungen beträgt $[\alpha]_D^{20} = +18{,}095 + 0{,}06986\ p$ (Schulze und Tollens[15]). Die Lösungen zeigen Multirotation.

Weitere Angaben und Reactionen siehe § 108.

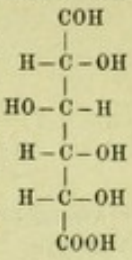
Rhamnose $C_6H_{12}O_5$ oder eine ihr isomere Methylpentose wurde nur einmal in tierischem Gewebe gefunden und zwar im Hühnereiweiss. Sie wurde in freiem Zustand und als Osazon isoliert und stimmt in allen Punkten mit der Rhamnose überein.

1) B. k. W. 1904. S. 1081.
2) Z. f. k. M. **43**. 282. (1901.)
3) H.-S. **19**. 28. (1894.)
4) H.-S. **26**. 146. (1898/99.)
5) H.-S. **27**. 535. (1899.)
6) B. **35**. 1467. (1902.)
7) B. k. W. 1900. S. 745. H.-S. **37**. 475. (1902/03.)
8) B. Z. **5**. 438. (1907.)
9) B. Ph. P. **10**. 345. (1907.)
10) Pfl. A. **93**. 98. (1902.)
11) B. **32**. 3386. (1899.)
12) B. **32**. 3387. (1899.)
13) H.-S. **35**. 40. (1902.)
14) B. **35**. 1467. (1902.)
15) A. **271**. 40. (1892.)

Der Befund, welcher nicht regelmässig erhoben wurde, hängt jedenfalls mit der Ernährung mit rhamnosehaltigem Futter zusammen (O. Weiss[1])

Glukuronsäure $C_6H_{10}O_7$.

111. Die einbasische Glukuronsäure, welche, soweit bekannt, im Körper nicht im freien Zustande, sondern nur in gebundener Form als sogenannte gepaarte Glukuronsäure vorkommt, wurde im freien Zustande zuerst von Schmiedeberg und H. Meyer[2]) aus Camphoglukuronsäure, die im Harn nach Eingabe von Campher auftritt, dann von v. Mering[3]) aus Urochloralsäure (Trichloraethylalkoholglukuronsäure) und Urobutylchloralsäure, welche nach Aufnahme von Chloral- resp. Butylchloralhydrat im Harn erscheinen, durch Erhitzen mit verdünnten Säuren gewonnen. In Verbindung mit Phenol (Kresol) und Indoxyl (Skatoxyl) findet sie sich regelmässig in kleinen Mengen im normalen Harn (Mayer und Neuberg[4]), in grösseren nach Eingabe einer sehr grossen Anzahl Körper aus der aromatischen und fetten Reihe. Glukuronsäureverbindungen sind von P. Mayer[5]) auch im Rinderblut nachgewiesen worden und nach Lépine und Boulud[6]) sollen sie sich in der Leber finden. Die Angaben von Schmiedeberg[7]), dass Glukuronsäure in dem Chondrosin, einem Zersetzungsproduct der Chondroitinschwefelsäure (siehe diese) enthalten ist, konnten von Orgler und Neuberg[8]) nicht bestätigt werden. Vorkommen.



E. Fischer und Piloty[9]) gelang die synthetische Darstellung der Glukuronsäure durch Reduction der Zuckerlactonsäure mit Natriumamalgam in saurer Lösung. Am besten eignet sich zur Darstellung der Glukuronsäure die Euxanthinsäure[10]) (Euxanthonglukuronsäure), welche beim einstündigen Erhitzen mit Wasser auf 120° in Euxanthon und Glukuronsäure zerfällt; aus der vom unlöslichen Euxanthon abfiltrierten Flüssigkeit scheiden sich nach entsprechender Concentration grosse, glänzende, harte Krystalle ab, welche das Lacton der Glukuronsäure darstellen. Darstellung.

Das Lacton schmilzt, langsam erhitzt, zwischen 160 und 170° unter Zersetzung. Die freie Säure ist syrupförmig; sie bildet gut krystallisierende Alkalisalze, ferner ein ebenfalls krystallisierendes Bleisalz und ein sehr leicht krystallisierendes Cinchoninsalz (schwach gelbe Nadeln), das (bei Abwesenheit von Mineralsäuren und grösseren Mengen Essigsäure) zur Isolierung der Glukuronsäure dienen kann (Neuberg[11]). Sie wird aus neutraler oder schwach essigsaurer Lösung durch basisches Bleiacetat ge- Eigenschaften.

1) Jaffe-Festschrift S. 455. Braunschweig 1902.
2) H.-S. **3**. 422. (1879.)
3) H.-S. **6**. 480. (1882.)
4) H.-S. **29**. 256. (1900.)
5) H.-S. **32**. 518. (1901.)
6) Ref. Maly's Jbr. 1901. 531.
7) A. exp. P. u. Ph. **28**. 355. (1891.)
8) H.-S. **37**. 407. (1902/03.)
9) B. **24**. 521. (1891.)
10) Spiegel, B. **15**. 1964. (1882.) Külz, Z. f. B. **23**. 475. (1887.) Thierfelder, H.-S. **11**. 388 (1887), **13**. 275 (1889), **15**. 71. (1891.)
11) B. **33**. 3315. (1900.)

fällt (u. z. in der Wärme vollständig, Salkowski und Neuberg[1]), ebenso wird sie durch Barytwasser im Ueberschuss gefällt: dabei entsteht ein charakteristischer, feinflockiger Niederschlag des basischen Barytsalzes. Die Glukuronsäure gärt nicht mit Hefe. Sie löst Kupferoxydhydrat in alkalischer Lösung, reduciert es beim Erwärmen und gibt sämtliche für Glukose charakteristische Reductionsproben, ebenso die Moore'sche Probe (§ 98,3), die Reaction von Molisch (§ 98,9), die Phloroglucin-Salzsäure- und die Orcin-Salzsäurereaction (§ 108).

Verbindungen: mit Phenylhydrazin.

Beim Erwärmen mit Phenylhydrazin in essigsaurer Lösung entstehen je nach den Mengenverhältnissen zwischen Glukuronsäure und Phenylhydrazin verschiedene krystallisierende Verbindungen unbekannter Constitution, die für die Erkennung der Glukuronsäure nicht zu verwerten, insofern aber von Bedeutung sind, als der Schmelzpunkt der einen (159 bis 164°) demjenigen der Pentosazone, der einer andern (199—205°) demjenigen mancher Hexosazone nahe liegt (Thierfelder, P. Mayer[2]).

mit p-Bromphenylhydrazin.

Beim Erwärmen mit salzsaurem p-Bromphenylhydrazin und Natriumacetat liefert sie hellgelbe Nadeln von glukuronsaurem p-Bromphenylhydrazin $C_{12}H_{17}O_7N_2Br$ (Smp. 236°), die sich in heissem Eisessig und 60 proc. Alkohol ziemlich leicht lösen. Ihre Abscheidung erfolgt unabhängig von der Concentration der Lösung und dem Mengenverhältnis von Glukuronsäure und p-Bromphenylhydrazin. Diese Verbindung unterscheidet sich von den p-Bromphenylosazonen der Kohlehydrate durch ihre völlige Unlöslichkeit in absolutem Alkohol, sie zeigt ferner in einem Gemisch von 4 ccm Pyridin und 6 ccm abs. Alkohol gelöst eine ausserordentlich starke Ablenkung des polarisierten Lichtes ($[\alpha]_D = -369°$), die erheblich grösser ist als die irgend einer andern Hydrazinverbindung der Kohlehydrate, also zur Erkennung der Glukuronsäure sehr geeignet (Neuberg[3]). Ueber eine Verbindung mit p-Nitrophenylhydrazin, die auch zur Abscheidung der Glukuronsäure benutzt worden ist, siehe Medwedew[4]). Beim Schütteln mit Benzoylchlorid und Natronlauge entsteht ein Niederschlag, der aus zweifach benzoylierter Glukuronsäure besteht. Bei der Einwirkung äquimolecularer Mengen von Glukuronsäure und Harnstoff in 5 proc. Schwefelsäure bei Bruttemperatur bildet sich allmählich Ureidoglukuronsäure, welche als Bariumsalz isoliert werden konnte (Neuberg und Neimann[5]). Weitere Angaben über diese Säure, deren Vorkommen im normalen Harn N. u. N. für sehr wahrscheinlich halten, siehe in der Originalarbeit. Ueber weitere Verbindungen und Verwandlungen der Glukuronsäure siehe bei Neuberg[6]), Giemsa[7]) und Neuberg und Neimann.

mit p-Nitrophenylhydrazin.

mit Benzoesäure.

mit Harnstoff.

---

1) H.-S. **36**. 264. (1902.)
2) H.-S. **29**. 59. (1900.)
3) B. **32**. 2395 u. 3384. (1899.)
4) B. **38**. 1646. (1905.)
5) H.-S. **44**. 97. (1905.)
6) B. **33**. 3315. (1900.)
7) B. **33**. 2996. (1900.)

Die Glukuronsäure ist rechtsdrehend und zwar beträgt für 8—14 proc. Lösungen des Lactons $[\alpha]_D^{18^0} = +19{,}25^0$. Mit der Verdünnung und mit ansteigender Wärme nimmt die specifische Drehung zu. Optische Eigenschaften.

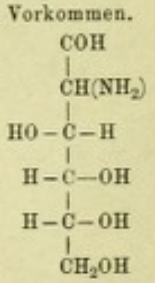
Sie zersetzt sich leicht in alkalischen Lösungen besonders beim Erwärmen unter Bildung von Brenzcatechin; beim anhaltenden Kochen mit Barytwasser entstehen zwei Säuren, vielleicht Tri- und Dioxyglutarsäure (Schmiedeberg). In sauren Lösungen ist sie beständiger. Beim Erhitzen mit Salzsäure liefert sie Kohlensäure (bei $3^1/_2$ stündigem mit Salzsäure 1,06 spez. Gew.) 25 pCt. Lefèbre und Tollens[1]) und reichliche Mengen von Furfurol (ungefähr 16 pCt., Tollens[2]). Bei der Oxydation mit Brom entsteht aus der Glukuronsäure Zuckersäure, bei der Reduction mit Natriumamalgam d-Gulonsäure. Durch Fäulnisbacterien wird sie in l-Xylose unter Kohlensäureabspaltung übergeführt (Salkowski und Neuberg[3]). Umwandlungen.

Zum Nachweis der Glukuronsäure dienen die oben angegebenen Reactionen und Eigenschaften, besonders charakteristisch ist das starke Drehungsvermögen ihrer p-Bromphenylhydrazinverbindung. Nachweis.

Nach Tollens[4]) lässt sich Glukuronsäure mit Hülfe folgender Reaktion von den andern Kohlehydraten, speziell auch von den Pentosen, mit denen sie in der Orcin- und Phloroglucinsalzsäurereaktion (§ 108) übereinstimmt, unterscheiden. Man mischt in 15—20 mm weitem Probierröhrchen ein hirsekorngrosses Stückchen der zu prüfenden Substanz mit 5—6 ccm Wasser, setzt 0,5—1 ccm einer 1 proc. Lösung von Naphtoresorcin in Alkohol und ein der Flüssigkeit im Röhrchen gleiches Volumen Salzsäure (spez. Gew. 1,19) hinzu, erwärmt langsam zum Kochen, lässt unter Bewegung des Röhrchens eine Minute gelinde kochen, setzt das Röhrchen beiseite, schüttelt es nach 4 Minuten unter einem Wasserstrahl bis zum Erkalten, giesst ein der Flüssigkeit gleiches Volumen Aether hinzu und schüttelt gut durch. Der Aether zeigt nach dem Absitzen eine blaue, blau- oder rotviolette Farbe und einen etwas rechts an und auf der D-Linie liegenden dunklen Absorptionsstreifen. Die Reaction ist noch sehr stark bei Benutzung von 5 ccm einer 0,1 proc. Lösung von Glukuronsäurelakton.

Glukosamin und Glukosamin enthaltende Verbindungen.

112. **d-Glukosamin $C_6H_{13}NO_5$.** Es wurde zuerst von Ledderhose[5]) aus Chitin durch Einwirkung rauchender Salzsäure in der Wärme erhalten. Unter denselben Bedingungen entsteht es aus Chitosan. Fr. Müller und seine Schüler[6]) erhielten es als Spaltungsproduct von Sputum- und Submaxillarmucin und von Ovomukoid. Steudel[7]) erhielt es als Spaltungs- Vorkommen.



1) B. **40**. 4513. (1907.)
2) A. **290**. 157. (1896.)
3) H.-S. **36**. 261. (1902.)
4) B. **41**. 1788. (1908.)
5) H.-S. **2**. 213. (1878/79.), **4**. 139. (1880.)
6) Z. f. B. **42**. 468. (1901.)
7) H.-S. **34**. 353. (1901/02.)

product des Paramucins und Neuberg und Heymann[1]) fanden es unter den Spaltungsproducten des Pseudomucins. Die Angabe von Schmiedeberg[2]), dass es in dem Chondrosin, einem Zersetzungsproduct der Chondroitinschwefelsäure enthalten sei, ist nach Orgler und Neuberg[3]) unzutreffend. Es entsteht auch bei der hydrolytischen Spaltung des Eieralbumins (Seemann[4]), Langstein[5]), des Serumalbumins (Langstein[6]), des Serumglobulins (Langstein[7]), des Eiweiss aus Eigelb (Neuberg[8]), des Lebereiweiss (Neuberg und Milchner[9]).

Darstellung. Synthetisch wurde es von E. Fischer und Leuchs[10]) erhalten durch Ueberführung der d-Arabinose mittelst Ammoniak und Blausäure in die d-Glukosaminsäure und Reduction der letzteren. Darnach ist das d-Glukosamin als ein Derivat des Traubenzuckers (oder der Mannose) anzusehen.

Zur Darstellung benutzt man am besten Hummerschalen. Dieselben werden durch verdünnte Salzsäure und gutes Auswaschen mit Wasser von Calciumcarbonat usw. befreit, in kleine Stücke zerschnitten und auf siedendem Wasserbade mit concentrierter Salzsäure bis zum Absatz krystallinischer Krusten an der Oberfläche abgedampft. Man lässt unter gutem Umrühren erkalten, filtriert durch Leinwand, saugt mit der Wasserstrahlpumpe ab, wäscht mit wenig Wasser und Alkohol, löst in Wasser, dampft ein, filtriert die concentrierte Lösung und lässt erkalten. Es krystallisiert salzsaures Glukosamin aus, das durch Auflösen in ca. 80 proc. Alkohol von beigemengtem Gyps befreit wird (Ledderhose). Zur Darstellung aus Sputum- oder Submaxillarmucin kocht man das Glukoproteid 3 Stunden mit 2,5 proc. Salzsäure, entfernt nach Zufügen von Eisenchloridlösung und genauem Neutralisieren mit Natronlauge durch Aufkochen und Filtrieren die Hauptmenge der Eiweissstoffe und schüttelt das Filtrat mit Benzoylchlorid und Natronlauge (auf 1 g reducierende Substanz als Traubenzucker berechnet 10 g Benzoylchlorid und 100 ccm 10 proc. Natronlauge). Die abgeschiedenen und abfiltrierten Ester werden in heissem Alkohol gelöst und durch Eingiessen der alkoholischen Lösung in viel destilliertes Wasser, Lösen des entstehenden Niederschlags in Alkohol, abermaliges Eintragen in Wasser und Wiederholung von Lösung und Fällung von Salzen befreit, dann durch 48 stündiges Erhitzen in geschlossenem Rohr mit Salzsäure von 1,1 spec. Gew. im kochenden Wasserbad gespalten. Aus der filtrierten und mit Aether ausgeschüttelten Lösung scheiden sich beim Verdunsten im Vacuumexsiccator Krystalle von salzsaurem Glukosamin ab (Fr. Müller).

---

1) B. Ph. P. **2**. 201. (1902.)
2) A. exp. P. u. Ph. **28**. 355. (1891.)
3) H.-S. **37**. 422. (1903.)
4) Dissert. Marburg. 1898.
5) H.-S. **31**. 49. (1901/02.)
6) B. Ph. P. **1**. 259. (1902.)
7) M. **26**. 531. (1905.)
8) B. **34**. 2963. (1901.)
9) B. k. W. 1904. S. 1081.
10) B. **36**. 24. (1903.)

Um die freie Base zu erhalten, übergiesst man das gepulverte salzsaure Salz mit etwas mehr als der äquivalenten Menge einer Lösung von Natriummethylat in absolutem Methylalkohol und fügt zu der Lösung trocknen Aether. Nach einiger Zeit scheidet sie sich in Krystallnadeln ab (Lobry de Bruyn[1]). Nach Breuer[2]) schüttelt man die in absol. Alkohol suspendierten Krystallflitter des salzsauren Salzes (erhalten durch Eingiessen einer heissen concentrierten wässerigen Chlorhydratlösung in absoluten Alkohol) anhaltend mit Diaethylamin. Die abfiltrierten feinen Nadeln stellen die freie Base dar.

Eigenschaften.

Glukosamin schmilzt unscharf bei 105—110°, ist in Wasser leicht löslich, löslich auch in heissem Methylalkohol. Die wässerige Lösung reagiert alkalisch und zersetzt sich unter Ammoniakentwickelung, dabei entsteht ein Ammoniakderivat der Fructose (Lobry de Bruyn und Van Ekenstein[3]), welches nach Stolte[4]) als 2,5-Ditetraoxybutylpyrazin aufzufassen ist. Das salzsaure Salz bildet farblose, harte, luftbeständige und wasserfreie Krystalle. Dieselben sind polymorph. Ueber die Krystallform siehe Ledderhose (a. a. O.) und Tanret[5]). Sie verändern sich beim vorsichtigen Erhitzen bis über 100° nicht und lösen sich sehr leicht in Wasser, sehr schwer in Alkohol, nicht in Aether. Das bromwasserstoffsaure Salz, aus Hummerpanzern in der oben beschriebenen Weise mit Hülfe von concentrierter Bromwasserstoffsäure dargestellt, ist mit der salzsauren Verbindung isomorph, aber in Alkohol löslicher als diese (Tiemann[6]). Mit salpetersaurem oder schwefelsaurem Silber erhält man aus dem salzsauren das salpetersaure oder schwefelsaure Glukosamin in guten Krystallen.

Verhalten zu Alkalien. Reductionsvermögen.

Auf Zusatz von Alkalien färbt sich die Lösung des salzsauren Glukosamins grün, dann braunrot, endlich braun bis schwarz; es bildet sich Milchsäure und ein wenig Brenzkatechin. Die alkalische Lösung reduciert Kupferoxyd ebenso wie Glukose, desgleichen Wismuthoxyd, Indigolösung und Silberoxyd.

Verbindungen: mit Phenylhydrazin. mit p-Bromphenylhydrazin.

Beim Erwärmen mit essigsaurem Phenylhydrazin entsteht ebenso wie aus Traubenzucker d-Phenylglukosazon (Tiemann), beim Erwärmen mit essigsaurem p-Bromphenylhydrazin nur allmählich und in mässiger Ausbeute p-Bromphenylglukosazon. Diese Verbindung schmilzt bei 222° und verhält sich im übrigen wie Phenylglukosazon (Neuberg[7]). Beim Schütteln mit Benzoylchlorid und Natronlauge bildet sich ein krystallinisches Estergemenge, aus dem das aus Alkohol in langen Nadeln krystallisierende, in Wasser unlösliche Tetrabenzoylglukosamin (Smp. 198°) isoliert werden kann (Baumann[8]). Schüttelt man die alkalische Lösung des Glukosamins

mit Benzoesäure.

mit Phenylisocyanat.

1) B. **31**. 2476. (1898.)
2) B. **31**. 2193. (1898.)
3) R. **18**. 77. (1899).
4) B. Ph. P. **11**. 19. (1908.)
5) Bl. s. ch. de Paris (3.) **17**. 802. (1897.)
6) B. **19**. 49 u. 156. (1886.)
7) B. **32**. 3387. (1899.), B. Ph. P. **2**. 210. (1902.)
8) B. **19**. 3220. (1886.) Kueny, H.-S. **14**. 330. (1890.)

mit tropfenweise zugesetztem Phenylisocyanat unter starker Abkühlung, so scheidet sich beim Stehen eine Verbindung von Glukosamin und Isocyanat als gallertige Masse ab, die sich leicht absaugen lässt und in Wasser nur sehr schwer löslich ist. Beim einstündigen Erhitzen mit 20 proc. Essigsäure auf kochendem Wasserbad, verliert sie ein Mol. Wasser und scheidet sich beim Abkühlen als Hydantoin $C_{13}H_{16}N_2O_5$ in schweren, grossen Krystallen ab. Es ist in kaltem Wasser und kaltem Alkohol wenig, in heissem Wasser und heissem Alkohol leicht löslich, reduciert Fehling'sche Lösung nicht und schmilzt bei 210°. Eine 0,65 proc. Lösung zeigte $[\alpha]_D = +76{,}9°$ (Steudel). Diese Verbindung ist für die Abscheidung des Glukosamins sehr geeignet, speciell auch für die Trennung von Aminosäuren, deren Additionsproducte mit Phenylisocyanat erst in saurer Lösung ausfallen.

Optische Eigenschaften.

Die specifische Drehung beträgt für das salzsaure Salz nach Ledderhose (16,5 proc. Lösung) $[\alpha]_D = +70{,}15°$, nach Hoppe-Seyler[1]) (4 bis 14 proc. Lösung) + 71,8—70,6°, nach Landolt (5 proc. Lösung) + 74,64°. Sie ist unabhängig von der Temperatur. Die Lösung zeigt Mehrdrehung. Für das bromwasserstoffsaure Salz beträgt $[\alpha]_D = +55{,}21° + 0{,}053053\ q$, wobei q die Procentmenge Wasser bedeutet, für die freie Base (1 bezw. 3 bis 4 proc. Lösung) $[\alpha]_D = +48{,}64°$ bezw. + 47,08° (Breuer). Lobry de Bruyn und Van Ekenstein geben für 0,4 proc. Lösungen $[\alpha]_D = +44°$ an.

Oxydationsprodukte.

Bei der Oxydation des Glukosamins mit Brom entsteht eine in Blättchen und Nadeln krystallisierende Säure, die d-Glukosaminsäure $C_6H_{13}NO_6$, die durch salpetrige Säure in Chitarsäure $C_6H_{10}O_6$ übergeht (E. Fischer und Tiemann[2]), durch Reduction in α-Amino-n-Capronsäure (Neuberg[3]). Bei der Behandlung von salzsaurem Glukosamin mit Salpetersäure in der Wärme entsteht Norisozuckersäure $C_6H_{10}O_8$ bezw. ihr inneres Anhydrid, die Isozuckersäure $C_6H_8O_7$, welche letztere krystallisiert erhalten worden ist, und bei 185° schmilzt (Tiemann[4]). Die Norisozuckersäure bezw. ein Gemisch von ihr und Isozuckersäure bildet mit Cinchonin und Chinin in heissem Wasser lösliche, in kaltem wenig lösliche, sehr schön krystallisierende norisozuckersaure Salze. (Norisozuckersaures Cinchonin Smp. 208°, $[\alpha]_D = +175°$). Sie lassen sich gut von den sehr viel leichter löslichen Alkaloidsalzen der Zucker- und Schleimsäure, die aus anderen Kohlehydraten bei der gleichen Behandlung entstehen, trennen und für den Nachweis des Glukosamins benutzen (Neuberg und Wolff[5]). Durch salpetrige Säure entsteht Chitose, ein zuckerähnliches Produkt, welches nicht gärt, kein schwer lösliches Osazon bildet und nicht krystallisiert erhalten werden konnte. Chitose gibt bei der Oxydation mit Brom Chitonsäure $C_6H_{10}O_6$,

1) H.-S. **20**. 507. (1895.)
2) B. **27**. 138. (1894.), E. Fischer u. Andreae, B. **36**. 2587. (1903.)
3) B. **35**. 4009. (1902.)
4) B. **17**. 241. (1884.), **19**. 1257. (1886.), **27**. 118. (1894.)
5) B. **34**. 3840. (1901.)

welche bei der Oxydation mit Salpetersäure in Isozuckersäure übergeht (E. Fischer und Tiemann, E. Fischer und Andreae).

Zum Nachweis des Glukosamins dient das gut charakterisierte salzsaure Salz. Um Glukosamin in Flüssigkeiten, die es neben anderen Stoffen enthalten, z. B. in hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeiten von Proteinkörpern aufzufinden, dient die Phenylisocyanatverbindung (siehe oben). Auch die durch Oxydation mit Salpetersäure aus dem Glukosamin entstehende Norisozuckersäure, welche als Bleisalz von manchen anderen gleichzeitig vorhandenen Stoffen abgetrennt werden kann und das charakteristische Cinchoninsalz bildet, leistet für die Erkennung gute Dienste. Nachweis.

Galactosamin wurde von Fr. N. Schulz u. Ditthorn[1]) als hydrolytisches Spaltungsprodukt des Glukoproteids aus der Eiweissdrüse des Frosches in noch nicht reinem Zustande als salzsaures Salz erhalten. Die Isolierung geschah mit Hülfe der Benzoylverbindung. Bei der Oxydation mit Salpetersäure liefert es Schleimsäure. Weitere Untersuchung ist nötig.

113. **Tierisches Gummi.** Unter diesem Namen beschreibt Landwehr[2]) ein Kohlehydrat von der Zusammensetzung $C_6H_{10}O_5$, welches er als Spaltungsprodukt aus Submaxillarmucin und Metalbumin erhalten haben will. Weiss, mehlartig, leicht Wasser anziehend und gummiartig werdend, in Wasser zu meist opalescierender Flüssigkeit sich lösend, in Alkohol und Aether unlöslich, durch Jod nicht färbbar, durch diastatische Fermente nicht angreifbar. Seine wässerige Lösung dreht schwach rechts, die alkalische löst Kupferoxyd mit hellblauer Farbe, beim Kochen scheiden sich bläulich weisse Flocken ab (charakteristische Reaction). Mit verdünnter Säure gekocht, liefert es einen nicht krystallisierenden Körper, welcher Fehling'sche Lösung reduciert, schwach süss schmeckt, nicht gärungsfähig ist.

Die von Ritthausen[3]) aus der Milch und die von Schützenberger[4]) aus Abkochungen von Milchdrüsen erhaltenen Kohlehydrate sollen nach Landwehr tierisches Gummi darstellen. Loebisch[5]) erhielt einen Körper von derselben Zusammensetzung und im Wesentlichen denselben Eigenschaften aus dem Sehnenmucin.

Nach neueren Untersuchungen (siehe besonders Folin[6]), Weydemann[7]), Müller[8]), Levene[9]), Leathes[10]) existiert indessen das tierische Gummi von Landwehr nicht, wohl aber sind stickstoffhaltige Körper, die im allgemeinen die von Landwehr beschriebenen Eigenschaften zeigen, aber unter sich nicht übereinstimmen, aus verschiedenen Glukoproteiden dargestellt, so von Weydemann und Müller aus Mucinen verschiedener Herkunft und aus Pseudomucin durch Behandeln mit Alkalien, durch Erhitzen mit Wasser im Papin'schen Topf und auch durch peptische und pancreatische Verdauung, von Folin aus Submaxillarmucin durch Erhitzen mit Wasser auf 110°, von Leathes aus Paramucin durch Verdauung mit Pepsinsalzsäure und Isolierung als Kupferkaliverbindung (siehe unten Paramucosin). Hierher gehören auch das von S. Fränkel[11]) aus ovomucoidfreiem Hühnereiweiss durch Kochen mit Barytwasser abgespaltene Albamin

1) H-S. **29**. 373. (1900), **32**. 428. (1901.)
2) H.-S. **8**. 122. (1883/84.) Pfl. A. **39**. 193. (1886.), **40**. 21. (1887.)
3) J. f. pr. Ch. N.F. **15**. 329. (1877.)
4) Gaz. méd. de Paris. 1879. No. 2.
5) H.-S. **10**. 71. (1886.)
6) H.-S. **23**. 347. (1897.)
7) Ueber das sog. tierische Gummi usw. Dissert. Marburg. 1896.
8) Z. f. B. **42**. 468. (1901.)
9) H.-S. **31**. 395. (1900/01.)
10) A. exp. P. u. Ph. **43**. 245. (1900.)
11) M. **19**. 819. (1898.)

(siehe unten) und die von Langstein durch langdauernde peptische Verdauung von Serumeiweissstoffen[1]) und krystallisiertem Ovalbumin[2]), durch Alkalibehandlung von Serumglobulin[3]) gewonnenen Substanzen.

Das bei der Hydrolyse dieser stickstoffhaltigen Polysaccharide auftretende Kohlehydrat ist, soweit die Untersuchungen reichen, Glukosamin. Manche z. B. ein aus Submaxillarismucin von Weydemann erhaltenes, ein durch peptische Verdauung von Ovalbumin gewonnenes (Langstein) gaben nach Behandlung mit Kalilauge oder Barytwasser die Ehrlich'sche Reaction (Rotfärbung beim Erwärmen mit p-Dimethylaminobenzaldehyd in salzsaurer Lösung), andere z. B. das durch Kaliwirkung aus Serumglobulin erhaltene (Langstein) nicht.

Ueber das Vorkommen von tierischem Gummi im Harn[4]) siehe die Arbeiten von Baisch[5]), Lemaire[6]), v. Alfthan[7]), über sein Vorkommen im Blut die Angaben von Freund[8]).

Albamin nennt S. Fränkel[9]) einen Körper, den er aus Ovalbumin darstellte und für ein stickstoffhaltiges Polysaccharid hält. Zu seiner Darstellung wird von Ovomukoid getrenntes Ovalbumin 6 Stunden mit der Hälfte seines Gewichts an Aetzbaryt und Wasser gekocht, die filtrierte Flüssigkeit durch Schwefelsäure von Baryt befreit, das Filtrat mit Bleiacetat gefällt, wieder filtriert und die bleiacetathaltige Flüssigkeit durch Ammoniak ausgefällt. Der mit ammoniakhaltigem Wasser geschüttelte Niederschlag wird mit Wasser ammoniakfrei gewaschen, mit Schwefelwasserstoff zerlegt und das Filtrat in absoluten Alkohol gegossen. Da der entstandene Niederschlag noch die Biuretreaction zeigt, so wird seine wässerige Lösung vorsichtig mit Tannin versetzt, das überschüssige Tannin aus dem Filtrat durch Bleiacetat und das Bleiacetat durch Schwefelwasserstoff entfernt. Dieses Verfahren wird bis zum Verschwinden der Biuretreaction wiederholt. Durch Fällen mit Alkohol erhielt Fränkel schliesslich eine weisse, in Wasser lösliche Substanz, die keine Phloroglucin-Salzsäurereaction (§ 108) gab, optisch activ war ($[\alpha]_D = +30{,}22^0$), der Formel $2(C_6H_9O_4 . NH_2) + H_2O$ entsprach und nach dem Kochen mit Säure reducierte. Aus den Produkten der hydrolytischen Spaltung liess sich Glukosamin als Tetrabenzoylverbindung erhalten.

Paramucosin. Leathes[10]) isolierte aus der klaren peptischen Verdauungsflüssigkeit des Paramucins als Kupferkalisalz einen eiweissfreien Körper, der durch Lösen in Salzsäure und Fällen mit Alkohol aschefrei erhalten werden konnte. Er stellte ein weisses, wasserlösliches, hygroskopisches Pulver dar. Diese Substanz, welche erst nach längerem Kochen mit Kalilauge Biuretreaction gibt, ist nach L. eine Verbindung einer wahrscheinlich protaminartigen Base mit Paramucosin, aus der sich durch 3—4 Minuten langes Kochen mit 5—6 proc. Salzsäure und weitere Behandlung (siehe das Original) das Paramucosin als salzsaure Kupferverbindung erhalten lässt. Leathes gibt dem Paramucosin die Formel $C_{12}H_{23}NO_{10}$ und ist geneigt, es für ein reduciertes Chondrosin d. h. für eine Verbindung einer Aminohexose und einer Hexose unter Wasseraustritt zu halten. (Die Aminohexose ist inzwischen von Steudel[11]) als Glukosamin festgestellt.) Indessen sind weder Constitution noch Formel dieses Körpers genügend begründet.

---

1) B. Ph. P. **1**. 507. (1902.)
2) B. Ph. P. **2**. 229. (1902.)
3) M. **24**. 445. (1903.), **25**. 453. (1904.)
4) Landwehr, C. f. med. W. 1885. S. 369.
5) H.-S. **19**. 362. (1894.)
6) H.-S. **21**. 451. (1895/96.)
7) Ueber dextrinartige Substanzen im diabetischen Harn. Helsingfors 1904.
8) C. f. Ph. 1892. S. 345.
9) M. **19**. 819. (1898.)
10) A. exp. P. Ph. **43**. 245. (1900.)
11) H.-S. **34**. 383. (1902.)

114. **Chitin.** Zusammensetzung und Moleculargewicht stehen noch nicht fest. Es sind verschiedene Formeln aufgestellt worden: $C_{18}H_{30}N_2O_{12}$ (Staedeler[1]), Araki[2]), $C_{15}H_{26}N_2O_{10}$ (Ledderhose[3]), $C_{60}H_{10}N_8O_{38} + nH_2O$, wo n zwischen 1 und 4 variieren kann (Sundwik[4]).

Vorkommen.

Es ist, wie es scheint, ein sämtlichen Gliedertieren eigener Gewebsbestandteil von grosser Resistenz und deshalb ziemlich leicht von anderen Stoffen trennbar. Es findet sich auch in Mollusken (so bildet es den organischen Hauptbestandteil der Rückenschulpe von Cephalopoden z. B. der Sepiaschulpe (Krukenberg[5]) und in Schmetterlingspuppen, deren Tegumente aus ihm bestehen (v. Fürth und Russo[6]), ferner besteht die Gerüstsubstanz von Velella spirans aus Chitin (Henze[7]). Chitin oder ein ihm sehr nahestehender Körper kommt auch in den Membranen einiger Pilze vor (Winterstein[8]), Gilson[9]).

Darstellung.

Zur Darstellung dienen am Besten die Panzer von grossen Krebsen oder Käfern (Maikäfern), deren organischen Hauptbestandteil es ausmacht. Dieselben werden zunächst durch Salzsäure und Wasser von anorganischen Salzen befreit und dann nach einander mit verdünnter Kalilauge, Wasser, Alkohol und Aether ausgekocht. Nach Behandlung mit Permanganatlösung, welche die letzten Spuren von Farbstoffen entfernt, bleibt das Chitin vollkommen weiss und von der Form, die ihm in den Tieren eigen war, zurück.

Nach Krawkow[10]) löst man es jetzt noch unter Benutzung einer Kältemischung in conc. Schwefelsäure und fällt es unter Ausschluss jeder Erwärmung mit Wasser wieder aus.

Eigenschaften.

Es verliert zwischen 100 und 130° allmählich Wasser, kann aber lange Zeit bei 132—135° ohne Zersetzung getrocknet werden. Hoch erhitzt schmilzt es nicht, sondern verkohlt. Es färbt sich mit Jodlösung braun, die Braunfärbung geht in manchen Fällen auf Zusatz von Chlorzinklösung in Violett über.

Umwandlungen.

Der Behandlung mit starken Alkalilaugen widersteht es lange. Mit dem zehnfachen Gewicht festen Aetzkalis und ein wenig Wasser einige Zeit im Oelbad bis auf 180° erhitzt zerfällt es in Chitosan (80%) (siehe unten) und Essigsäure (c. 25%) (Hoppe-Seyler[11]), Araki[2]). Bei der Einwirkung von etwa 70 proc. Schwefelsäure auf Chitin in der Kälte entstehen Spaltungsprodukte, von denen eines am Stickstoff acetyliertes Glukosamin $C_6H_{12}O_5N.COCH_3$ ist. Es krystallisiert, Smp. 190° unter Zersetzung, $[\alpha]_D = +41{,}86°$. (Fränkel und Kelly[12]). Andere werden als Acetyldiglukosamin und polymeres Diacetylglukosamin angesprochen (Fränkel und Kelly[12]), Offer[13]).

---

1) A. **111.** 21. (1859.)
2) H.-S. **20.** 498. (1895.)
3) H.-S. **2.** 213. (1878/79.)
4) H.-S. **5.** 384. (1881.)
5) B. **18.** 989. (1885.)
6) B. Ph. P. **8.** 163. (1906.)
7) H.-S. **51.** 445. (1908.)
8) H.-S. **21.** 134. (1895/96.)
9) Cellule T. 11. Fasc. 1. (1895.)
10) Z. f. B. **29.** 677. (1892.)
11) B. **27.** 3329. (1894.)
12) M. **23.** 123. (1902.)
13) B. Z. **7.** 117. (1908.)

Durch conc. Schwefelsäure sowie durch heisse starke Salzsäure entstehen aus Chitin Glukosamin (etwa 70—75pCt.) und Essigsäure, daneben Ameisensäure, Buttersäure als secundäre Zersetzungsprodukte (Ledderhose). Bei der Einwirkung von rauchender Salpetersäure entstehen aus Chitin Oxydationsprodukte, welche Salpetersäurereste enthalten (v. Fürth und Scholl[1]).

Chitosan. Zusammensetzung und Moleculargewicht stehen noch nicht fest. Araki[2]) gab ihm die Formel $C_{14}H_{26}N_2O_{10}$. Nach v. Fürth und Russo[3]) ist etwa $C_{13}H_{26}N_2O_{14}$ diejenige Formel, welche die prozentische Zusammensetzung krystallisierter Salze am einfachsten ausdrückt. Doch ist das Moleculargewicht nach ihnen mindestens doppelt so gross, als der Formel entspricht. Das freie Chitosan verändert sich nach ihnen leicht unter Sauerstoffabgabe.

Vorkommen. Es wurde zuerst von E. Gilson[4]) aus der Gerüstsubstanz von Pilzen und aus Chitin erhalten und als Mycosin beschrieben, dann von Hoppe-Seyler[5]) ebenfalls aus Chitin dargestellt. Es zeigt die unveränderte Form der Chitinstücke, ist völlig unlöslich in Wasser und verdünnten Alkalien, löst sich leicht in verdünnter Salzsäure oder in Essigsäure und wird aus diesen Lösungen durch Alkalien und überschüssige Salzsäure wieder als gelbliche amorphe Masse ausgefällt.

Eigenschaften. Salzsaures und bromwasserstoffsaures Chitosan (auf 1 Atom N 1 Mol. Halogenwasserstoff) krystallisiert in charakteristischen Formen, gibt aber schon beim Trocknen im Vacuum einen Teil der Säure ab (v. Fürth und Russo). Ch. gibt eine Benzoylverbindung, in der auf 1 At. Stickstoff eine Benzoylgruppe kommt (v. Fürth und Russo). Mit Essigsäureanhydrid im zugeschmolzenen Rohr auf 135° erhitzt, nimmt es Acetylgruppen auf und geht in einen dem Chitin nahestehenden Körper über. Mit sehr verdünnter Jodlösung färbt es sich intensiv violett und verliert diese Färbung auch beim Waschen mit Wasser nicht. Es gibt nicht die Ehrlich'sche Reaction (Rotfärbung beim Erwärmen mit p-Dimethylaminobenzaldehyd in salzsaurer Lösung), auch nicht nach Behandlung mit Alkali (Fr. Müller[6]).

Optische Eigenschaften. In essigsaurer Lösung dreht es links und zwar beträgt bei einer 1,34 proc. Lösung $[\alpha]_D = -17{,}7 - 17{,}9°$ (Araki). Von Fürth und Russo fanden für 1 proc. Lösung des Chlorhydrates $[\alpha]_D = -17°$.

Umwandlungen. Beim Kochen mit conc. Salzsäure entstehen Glukosamin (ca. 70pCt.) und Essigsäure, daneben etwas Ameisensäure (Hoppe-Seyler, Araki). Von Fürth und Russo erhielten dabei aus Chitosanchlorhydrat etwa 25 pCt. Essigsäure (flüchtige Säure titriert und als Essigsäure berechnet) und 60 pCt. Glukosamin (titrimetrisch bestimmt).

---

115. **Hyalin.** Von den Mutterblasen der Echinokokken sind die jüngeren, trübe durchscheinenden Blasen mit etwa 16 pCt. schwefelsauren, phosphorsauren und kohlensauren Salzen imprägniert, die älteren durchsichtigeren ziemlich aschefrei; die ersteren enthalten auch etwas Eiweissstoff. Die Zusammensetzung der jüngeren Blasen ist von Lücke[7]) zu C 44,1; H 6,7; N 4,5; O 44,7 pCt., die der älteren zu C 45,3; H 6,5; N 5,2; O 43,0 pCt. im Mittel gefunden. Obwohl die jüngeren Blasen wahrscheinlich wegen ihres Eiweissgehaltes etwas andere Reactionen geben als die älteren, ist doch der Hauptbestandteil derselben, der als Hyalin bezeichnet ist, identisch. Es ist dies eine opalisierend durchsichtige Substanz, welche in Wasser, Alkohol und Aether unlöslich ist, elastische leicht zerreissende Häute bildet, die sich im zugeschmolzenen Glasrohr in Wasser bei

---

1) B. Ph. P. **10**. 188. (1907.)
2) H.-S. **20**. 498. (1895.)
3) B. Ph. P. **8**. 163. (1906.)
4) a. a. O., Bull. soc. chim. Paris 1894. No. 23. Winterstein. a. a. O.
5) B. **27**. 3329. (1894.)
6) Z. f. B. **42**. 563. (1901.)
7) Virch. A. **19**. 189. (1860.)

150° lösen, wenn sie von den älteren Blasen herstammen. Diese Lösung wird durch Alkohol, neutrales oder basisches Bleiacetat und durch salpetersaures Quecksilberoxyd gefällt, während Chlorwasser, Gerbsäure, Ferrocyankalium und Essigsäure, Silbernitrat, Quecksilberchlorid keinen Niederschlag geben. In Kali- oder Natronlauge lösen sich die Häute nur ganz allmählich und unvollständig, in Essigsäure gar nicht, in verdünnten Mineralsäuren unvollständig, in conc. Salzsäure oder Salpetersäure beim Kochen. Sowohl beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure als auch beim Stehen in concentrierter und nachherigen Eintragen in kochendes Wasser geben die Häute Traubenzucker neben nicht weiter untersuchten stickstoffhaltigen Körpern. Man erhält aus den trockenen Häuten bis 50 pCt. rechtsdrehenden, mit Hefe gärenden Traubenzucker.

---

116. **Onuphin** $C_{24}H_{43}NO_{10}$. Diese Substanz fand Schmiedeberg[1]) zu 38,5 pCt. in den Wohnröhren von Onuphis tubicola. Sie enthalten ausserdem noch 3,8 pCt. eines eiweissartigen Stoffes und Calcium- und Magnesiumphosphat. Zu seiner Darstellung behandelt man die Röhren mit verdünnter Salzsäure, wäscht mit verdünnter Salzsäure aus (beim Waschen mit Wasser quillt die Substanz hoch auf), löst den Rückstand in verdünnter Kalilauge, filtriert und fällt das Filtrat mit 2—3 Vol. Alkohol. Es scheidet sich das Onuphin als weisse, flockige Masse ab, die nach Auswaschen mit Alkohol alsbald mit Wasser behandelt eine völlig klare, fadenziehende, bei grösserer Concentration fast gallertartige Flüssigkeit liefert. Das trockene Onuphin bildet eine an Tonerde erinnernde Masse, enthält 10—15 pCt. Asche (saures Kaliumphosphat) und gibt keine Eiweissreactionen. Es löst sich in conc. Schwefelsäure oder Salzsäure und diese Flüssigkeit reduciert nach Verdünnen mit Wasser und längerem Kochen Kupferoxyd bei Gegenwart von Alkali. Blosses Kochen mit verdünnter Säure liefert keine reducierende Flüssigkeit. Durch Gerbsäure oder Quecksilberchlorid wird Onuphin nicht gefällt, dagegen geben mehrere Metalloxyde und die Salze der alkalischen Erden in neutraler oder essigsaurer Lösung Niederschläge. Wenn die mit Salzsäure behandelten und gut ausgewaschenen Röhren im zugeschmolzenen Glasrohr mit Wasser 24 Stunden bei 120—130° erhitzt werden, bildet sich ein stickstofffreier, dextrinartiger Körper, der durch Alkohol fällbar ist und nach dem Kochen mit verdünnter Säure Kupferoxyd in alkalischer Lösung reduciert; neben dem dextrinartigen Körper scheint auch etwas Traubenzucker zu entstehen und ein Körper, der nach den Reactionen vielleicht eine Aminosäure ist. Nach Schmiedeberg ist das Onuphin als eine Verbindung eines Kohlehydrates mit einer stickstoffhaltigen Säure, wahrscheinlich einer Aminosäure, anzusehen.

Kohlensäure und Kohlensäurederivate.

117. **Kohlensäure** CO_2. Gasförmig tritt Kohlensäure in der Exspira- Vorkommen.
tionsluft, den Darmgasen, dem Blute auf. Locker gebunden (durch die Luftpumpe austreibbar), findet sie sich im Blut und allen anderen Flüssigkeiten des tierischen Körpers, festgebunden (an Alkalien) in den alkalisch reagierenden Flüssigkeiten (Blut, seröse Flüssigkeiten, Galle, Secrete). An Kalk oder andere Basen gebunden ist sie im Harn besonders der Pflanzenfresser enthalten, an Kalk gebunden in den Knochen und vielen pathologischen Concrementen. Bei der Verbrennung organischer Stoffe wird sie

---

1) Mitteilungen a. d. zool. Station zu Neapel. **3**. 373. (1882.)

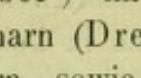
reichlich gebildet, ebenso bei der Fäulnis, so ist sie z. B. reichlich im faulen Harn vorhanden.

Eigenschaften. Die freie Kohlensäure ist bei gewöhnlicher Temperatur und einem vierzig Atmosphären nicht übersteigenden Drucke ein farbloses Gas von stechendem Geruch und Geschmack. Sie ist nicht weiter oxydierbar, also auch nicht brennbar. Bei 0° und 760 mm Druck absorbiert Wasser sein anderthalbfaches, bei 10 bis 12° etwa sein einfaches Volumen Kohlensäure. Sie ist eine sehr schwache, zweibasische Säure, welche feuchtes, blaues Lacmuspapier rötet, auch Kohlensäure enthaltendes Wasser färbt Lacmuspapier rot, die rote Farbe verliert sich aber bald beim Liegen des Papiers an der Luft.

Salze. Die neutralen kohlensauren Alkalien krystallisieren, sind löslich in Wasser, ihre Lösungen reagieren stark alkalisch. In Alkohol sind diese Salze unlöslich. Sie zerlegen sich nicht bei mässigem Glühen. Die neutralen kohlensauren Erden sind in kohlensäurefreiem Wasser fast ganz unlöslich, in viel kohlensäurehaltigem Wasser lösen sie sich dagegen auf. Kohlensaurer Kalk zerfällt beim starken Glühen in Calciumoxyd und Kohlensäure. Die sauren kohlensauren Alkalien sind gut krystallisierbar, werden jedoch leicht beim Erhitzen auf 100°, auch selbst beim Stehen in einer Luft, die weniger als 1 pCt. Kohlensäure bei gewöhnlichem Luftdrucke enthält, in neutrales Salz, Kohlensäure und Wasser zerlegt. Wird zu einer Lösung eines neutralen kohlensauren Alkalis allmählich eine ungenügende Menge einer Säure zugefügt, so verbindet sich diese mit der äquivalenten Menge des Alkalis und die freigewordene Kohlensäure wandelt eine entsprechende Menge des noch übrigen kohlensauren Salzes in das saure Salz um. Wird dagegen schnell eine starke Säure hinzugefügt, so zerfällt durch die Erhitzung das saure kohlensaure Salz und es entweicht Kohlensäure unter Aufbrausen.

Nachweis. Zum Nachweis der Carbonate dient hauptsächlich das Aufbrausen, welches sich einstellt, wenn sie selbst oder ihre wässerigen Lösungen mit einer starken Säure (verdünnter Schwefelsäure) im Ueberschusse versetzt werden; Erwärmen beschleunigt die Entwickelung des Gases, welches nur langsam völlig entweicht. Die freie oder aus Salzen frei gemachte gasförmige Kohlensäure kann an der schwachen Rötung von feuchtem Lacmuspapier, dem Geruch und der in klar filtriertem Kalk- oder Barytwasser durch das überfliessende Gas erzeugten weissen Trübung erkannt werden. Um in Flüssigkeiten gelöste Kohlensäure nachzuweisen, bringt man dieselben am Besten in einen Kolben mit doppelt durchbohrtem Kork. In der einen Bohrung steckt ein bis auf den Boden des Kolbens reichendes, in der anderen ein kurzes unter dem Stopfen abschneidendes Glasrohr. Ersteres ist mit einem Kalilauge enthaltenden, letzteres mit einem klares Kalk- oder Barytwasser enthaltenden Kugelapparat verbunden. Saugt man nun mittelst eines Aspirators atmosphärische Luft durch die

drei miteinander verbundenen Gefässe, so wird, falls die Flüssigkeit Kohlensäure enthält, im Kalk- oder Barytwasser Trübung oder Niederschlag durch Bildung von Calcium- oder Bariumcarbonat entstehen. Erwärmen der zu prüfenden Flüssigkeit im Kolben beschleunigt das Entweichen von Kohlensäure.

118. **Carbaminsäure** CH_3NO_2 ist von Drechsel[1]) im Blut nachgewiesen, sie findet sich auch im alkalischen Pferdeharn (Drechsel[2]) und, wenn auch nicht regelmässig, im sauren Pferdeharn, sowie im normalen Menschen- und Hundeharn, in reichlicher Menge im Hundeharn nach Anlegung der Eck'schen Fistel (Hahn und Nencki[3]). Abel und Muirhead[4]) fanden sie im Hunde- und Menschenharn nach Eingabe von Kalkmilch vermehrt. Ferner ist ihre Bildung bei der Einwirkung von übermangansaurem Kali auf verschiedene stickstoffhaltige organische Körper z. B. Eiweissstoffe erkannt worden. Vorkommen. 

Carbaminsäure ist in freiem Zustande nicht bekannt. Ihr Ammoniaksalz entsteht durch Einwirkung von trockenem Ammoniak auf trockene Kohlensäure. Carbaminsaurer Kalk wird dargestellt durch Einleiten von Kohlensäure in starkes wässeriges Ammoniak und Zusatz von Kalkmilch in kleinen Portionen, bis man auch bei heftigem Schütteln keine weitere Lösung mehr wahrnimmt, sondern eine Ausscheidung von Krystallen beginnt. Man lässt dann etwas absitzen, filtriert direkt in das etwa gleiche Volumen auf 0° abgekühlten, absoluten Alkohol. Sofort entsteht dabei ein dicker, amorpher Niederschlag, der nach einiger Zeit krystallinisch wird. Man bringt ihn dann in eine weite Glasröhre, in der sich ein Filter von Glaswolle und Quarzsand befindet, wäscht einmal mit einer Mischung von gleichen Volumina Alkohol und starker Ammoniaklösung, dann mit absolutem Alkohol, endlich mit absolutem Aether und trocknet zuletzt durch einen durchgeleiteten starken, trockenen Luftstrom. Das erhaltene krystallinische Pulver besteht aus meist mikroskopischen flachen Prismen, dem Gyps ähnlich. Auch carbaminsaures Kalium uud Natrium sind von Drechsel dargestellt worden. Darstellung.

Aus dem Harn ist die Carbaminsäure als Kalksalz isoliert nach einem dem eben beschriebenen sich anschliessenden Verfahren (Schütteln des Harns mit Kalkmilch u. s. w.), aber nicht in reinem Zustand. Indessen hat Nolf[5]) festgestellt, dass man aus Lösungen von neutralem und saurem Ammoniumcarbonat, aus Gemischen von Ammoniumchlorid und Natriumcarbonat und aus wässerigen Lösungen von Ammoniumchlorid und freier Kohlensäure nach dem gleichen Verfahren carbaminsauren Kalk in erheblicher Menge erhalten kann und zwar auch aus sehr verdünnten Lösungen, deren Procent- Isolierung.

1) J. f. pr. Ch. N. F. **16**. 180. (1877.)
2) A. f. A. u. Ph. Ph. A. 1891. S. 236.
3) A. exp. P. u. Ph. **32**. 185. (1893.)
4) A. exp. P. u. Ph. **31**. 15. (1893.)
5) H.-S. **23**. 505. (1897.)

gehalt an Kohlensäure und Ammoniak den physiologischen Verhältnissen entspricht. Darnach ist eine specielle physiologische Herkunft der Carbaminsäure fraglich, ihre Bildung vielmehr durch die allgemeinen Gesetze der Gleichgewichtszustände zu erklären.

Eigenschaften der Salze.

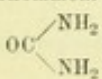
Carbaminsaures Ammoniak bildet eine weisse Krystallmasse, welche in Wasser leicht löslich ist, sich aber in dieser Lösung bald unter Wasseraufnahme teilweise in kohlensaures Ammoniak umwandelt. Carbaminsaurer Kalk hat die Zusammensetzung $2(NH_2COO)_2Ca + H_2O$. Beim Erhitzen zersetzt sich das Salz mit seinem Krystallwasser in Calciumcarbonat und carbaminsaures Ammoniak, während die Hälfte des carbaminsauren Kalks trocken übrig bleibt und beim weiteren Erhitzen erst in der Glühhitze in Calciumcyanamid, Wasser und Kohlensäure zerlegt wird $(NH_2COO)_2Ca = CN_2Ca + 2H_2O + CO_2$. Durch Säuren wird carbaminsaurer Kalk unter Aufbrausen schnell zersetzt. In Wasser löst sich das Calciumsalz klar auf, aber schon nach einer halben Minute erfolgt Trübung und es scheidet sich allmählich Calciumcarbonat aus. Ammoniakalische Lösung des Salzes erhält sich um so länger unzersetzt, je concentrierter die Ammoniaklösung ist. Aus einer gesättigten Lösung in warmem Ammoniak scheidet sich beim Erkalten das Salz in schönen, vierseitigen Prismen ab. Lässt man verdünnte Lösungen ruhig in der Kälte krystallisieren, so entstehen neben sternförmigen Conglomeraten regelmässige Kreuzformen, die aus einer Zusammensetzung von Prismen und Blättchen bestehen und leicht in amorphes Calciumcarbonat übergehen. Dieses charakteristische Verhalten des carbaminsauren Kalkes setzt allerdings die grösste Reinheit der Lösung voraus (Nolf). Die carbaminsauren Alkalien liefern trocken erhitzt cyansaures Alkali und Wasser $NH_2COONa = CNONa + H_2O$; dieselbe Umwandlung erleidet auch die Calciumverbindung, doch wird sie in der Glühhitze weiter zu $CN_2Ca + CO_2$ zerlegt.

Nachweis.

Der Nachweis der Carbaminsäure gründet sich im Wesentlichen auf die Eigenschaften des Calciumsalzes. Vergl. indessen das oben Gesagte.

Vorkommen.

119. **Harnstoff CH_4N_2O.** Der Harnstoff ist ein stets vorhandener



Bestandteil der Harne von Menschen, Säugetieren und nackten Amphibien. Im normalen Blute von Säugetieren, in Transsudaten, Lymphe, im Humor aqueus, Glaskörper, in der Milch, den Muskeln[1]), im Gehirn und in anderen Organen und Flüssigkeiten findet er sich in kleinen Mengen oder in Spuren und häuft sich bei gehinderter Ausscheidung durch die Nieren in diesen Flüssigkeiten und Geweben an. Bei den Selachiern kommt er sehr reichlich in Blut, Galle und Organen vor. Er entsteht bei der Spaltung von Purinkörpern, Kreatin, Arginin u. v. a. Auch in Bovisten verschiedener Herkunft ist Harnstoff gefunden worden (Bamberger und Landsiedl[2]).

---

1) Schöndorff. Pfl. A. **74**. 346. (1899.)

2) M. **24**. 218. (1903.)

Der Harnstoff wird künstlich dargestellt, indem man eine wässerige Lösung von cyansaurem Kali mit schwefelsaurem Ammoniak versetzt, zur Trockne abdampft, den Rückstand mit absolutem Alkohol auszieht, filtriert, zum Syrup abdampft und krystallisieren lässt. J. Williams[1]) empfiehlt zunächst cyansaures Blei darzustellen, und dies mit schwefelsaurem Ammoniak zu zerlegen. Darstellung.

Zur Darstellung von Harnstoff aus Hunde- resp. Menschenharn dampft man den Urin zunächst auf freiem Feuer, dann auf dem Wasserbade zum Syrup ein, zieht diesen mit Alkohol aus und verdunstet das alkoholische Filtrat auf dem Wasserbade zum Syrup. Aus dem Hundeharn scheidet sich alsbald der Harnstoff in Krystallen ab, welche durch Waschen mit wenig Alkohol und Auspressen von den Extractivstoffen befreit werden können. Handelt es sich um Menschenharn, so fällt man den erkalteten Syrup durch Salpetersäure (eine Mischung gleicher Teile conc. Salpetersäure und Wasser) in mässigem Ueberschuss, saugt den Niederschlag ab, wäscht mit verdünnter Salpetersäure aus, zerteilt ihn in nicht zuviel Wasser und fügt Bariumcarbonat hinzu, so lange Aufbrausen erfolgt. Jetzt dampft man auf dem Wasserbade zur Trockne, zieht den Rückstand mit absolutem Alkohol aus, filtriert und verdunstet das Filtrat zum Syrup. Der beim Stehen auskrystallisierende Harnstoff wird durch Umkrystallisieren aus Wasser unter Zusatz von Tierkohle gereinigt. Darstellung aus Harn.

Der Harnstoff bildet meist sehr dünne, lange, vierseitige, oft innen hohle Prismen mit sehr stumpfer Pyramide an den Enden, von der gewöhnlich nur eine oder zwei Flächen gut ausgebildet sind. Die Krystalle gehören dem tetragonalen Systeme zu. Sie sind wasserfrei, nicht hygroskopisch und können ohne Zersetzung auf 120° erhitzt werden; steigert man die Temperatur noch höher, so schmelzen sie und zersetzen sich unter Entwickelung von Ammoniak. Smp. 132°. In heissem Wasser löst sich der Harnstoff in jedem Verhältnisse. Ein Gewichtsteil Harnstoff löst sich in einem Gewichtsteile kalten Wassers oder siedenden Alkohols, nur in fünf Teilen kalten Alkohols; in Aether ist er unlöslich, entzieht aber demselben Wasser, wenn er wasserhaltig war, und zerfliesst damit. Durch Phosphorwolframsäure werden verdünnte Harnstofflösungen nicht gefällt. Eigenschaften.

Verbindungen des Harnstoffs. Der Harnstoff vereinigt sich mit vielen Säuren, einigen Metalloxyden z. B. Quecksilberoxyd, einer Reihe von Salzen und organischen Substanzen zu meist krystallisierenden Verbindungen. Verbindungen:

Salpetersaurer Harnstoff $CH_4N_2O \cdot HNO_3$ entsteht beim Versetzen einer mindestens 10 proc. abgekühlten, wässerigen Harnstofflösung mit überschüssiger conc. Salpetersäure als blättrig krystallinischer Niederschlag; bei schneller Ausscheidung bildet er mikroskopische, meist sehr dünne rhombische oder sechsseitige Tafeln, die in der Regel mehrfach zusammengehäuft er- mit Salpetersäure.

1) C. C. 1868. No. 36.

scheinen. Grosse und dicke Krystalle erhält man, wenn man Salpetersäure-Aethyläther durch Destillation von Alkohol mit starker Salpetersäure und Harnstoff darstellt und den Rückstand, welcher in der Retorte bleibt, aus Wasser umkrystallisiert. Er bildet dann dickere, bis 1,3 cm breite, sechsseitige Tafeln oder Säulen des rhombischen Systems. Die rhombischen Tafeln zeigen einen Kantenwinkel von 82°. Das Nitrat ist schwer löslich in kalter Salpetersäure, leichter löslich in kaltem, viel leichter in heissem Wasser, wenig löslich in Alkohol, unlöslich in Aether; schnell erhitzt verpufft es ohne Rückstand, allmählich auf 140° erwärmt zerlegt es sich in salpetersaures Ammoniak, Harnstoff, Stickoxydul, Kohlensäure, ebenso allmählich beim Kochen der wässerigen, stark sauer reagierenden Lösung. Oxal-

mit Oxalsäure. sauren Harnstoff $(CH_4N_2O)_2 . C_2H_2O_4$ erhält man durch Fällung einer conc. Harnstofflösung mit Oxalsäure. Er bildet rhombische Tafeln, die leichter gross und dick zu erhalten sind als die Krystalle des salpetersauren Salzes. Der oxalsaure Harnstoff ist löslich in kaltem Wasser (1 Teil in 23 Teilen), schwerer in kaltem Alkohol (1 Teil in 62 Teilen 90 proc. Alkohol), leicht löslich in kochendem Wasser, fast ganz unlöslich in reinem Aether.

mit Phosphorsäure. Phosphorsaurer Harnstoff $CH_4N_2O . H_3PO_4$ ist von J. Lehmann in grossen, glänzenden Krystallen des rhombischen Systems aus Phophorsäure und Harnstoff dargestellt und auch aus dem abgedampften Harne mit Kleie gefütterter Schweine erhalten worden. Die Krystalle sind in Wasser

mit Phosphorwolframsäure. sehr leicht löslich, aber nicht zerfliesslich. Phosphorwolframsaurer Harnstoff bildet meist nadelförmige in Wasser und Alkohol leicht lösliche Krystalle, die sich aus einer 5 proc. Harnstofflösung auf Zusatz von Salzsäure und Phosphorwolframsäure sofort, aus einer 3—4 proc. allmählich abscheiden (Mörner u. Sjöquist[1]).

mit Chlornatrium. Harnstoff-Chlornatrium $CH_4N_2O . NaCl + H_2O$ bildet rhombische Tafeln oder Prismen, die sich häufig nach dem Abdampfen von Harn zum Syrup beim Stehenlassen abscheiden; auch mit anderen Alkalisalzen krystallisiert Harnstoff gern aus Lösungen, die beide enthalten. Beim Umkrystallisieren

mit Palladiumchlorür. zerfallen diese Verbindungen leicht. Harnstoff-Palladiumchlorür $(CH_4N_2O)_2 . PdCl_2$ ist ein bräunlich gelber, krystallinischer Niederschlag, den säurefreie Palladiumchlorürlösung in Harnstofflösung erzeugt. Unlöslich in Alkohol, schwer löslich in Wasser (Drechsel[2]). Durch Mischung einer wässerigen

mit Mercurinitrat. Lösung von Harnstoff mit salpetersaurem Quecksilberoxyd kann man drei verschiedene Verbindungen darstellen, in denen Harnstoff und Salpetersäure stets zu gleichen Molecülen mit verschiedenen Mengen Quecksilberoxyd verbunden sind. Liebig hat diesen drei Verbindungen Formeln gegeben, nach denen die eine Verbindung 4, die zweite 3, die dritte nur 2 Aequivalente Quecksilber auf 1 Aequivalent Harnstoff enthält. Nach Liebig erhält man das

1) Skand. A. f. Ph. **2**. 466. (1891.)
2) J. f. pr. Ch. N. F. **20**. 469. (1879.)

4 Aequivalente Quecksilber enthaltende Salz $2\,CO(NH_2)_2 . Hg(NO_3)_2 . 3\,HgO$ durch Hinzufügen überschüssiger, sehr verdünnter Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd zur gleichfalls verdünnten Harnstofflösung als körniges Pulver, welches aus radial gestellten Nadeln besteht. Auf der Bildung dieses Niederschlages beruht das Liebig'sche Verfahren der Harnstofftitrierung. Die 3 Aequivalente Quecksilber enthaltende Verbindung $2\,CO(NH_2)_2 . Hg(NO_3)_2 . 2\,HgO$ erhält man durch Fällung einer Harnstofflösung mit verdünnter Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd, indem man die letztere so lange hinzufügt, wie sich noch ein Niederschlag bildet. Lässt man den Niederschlag an einem 40—50° warmen Orte stehen, so verwandelt er sich grösstenteils in sechsseitige Tafeln. Die Verbindung, welche zwei Aequivalente Quecksilber enthält $2\,CO(NH_2)_2 . Hg(NO_3)_2 . HgO$, scheidet sich in krystallinischen Krusten von kleinen, rechtwinkligen, zusammengehäuften Tafeln ab, wenn man eine Harnstofflösung mit einer Lösung von salpetersaurem Quecksilber bis zur beginnenden Trübung versetzt, abfiltriert und das Filtrat stehen lässt. Alle drei Verbindungen sind weisse Niederschläge, die in Wasser zerteilt durch einen anhaltenden Strom Schwefelwasserstoffgas in Schwefelquecksilber und salpetersauren Harnstoff zerlegt werden. Durch Verdunstenlassen der abfiltrierten Lösung kann man dies letztere Salz erhalten.

mit Phenylhydrazin.

Phenylsemicarbazid $H_2NCONH . NHC_6H_5$ scheidet sich in Form weisser, in heissem Alkohol und heissem Wasser leicht löslicher Tafeln oder Blättchen ab, wenn man eine nicht zu verdünnte (bis 2 proc.) Harnstofflösung mit Phenylhydrazin und Essigsäure einige Stunden auf dem Wasserbad erwärmt (Jaffe[1]).

mit Zucker.

Harnstoff verbindet sich in wässeriger Lösung bei Gegenwart von Schwefelsäure mit Traubenzucker und anderen reducierenden Zuckern mit Ausnahme der Fructose unter Wasseraustritt zu krystallisierenden Ureiden. Ueber Traubenzuckerureid $C_6H_{12}O_5 . NCO . NH_2$ siehe S. 108.

Zersetzungen.

Zersetzungen des Harnstoffs. Trocken erhitzt schmilzt der Harnstoff und liefert Biuret und Ammoniak $2\,CON_2H_4 = C_2H_5N_3O_2 + NH_3$, dann Cyanursäure; feucht erhitzt schmilzt er und zerlegt sich hauptsächlich zu Kohlensäure und Ammoniak. Wässerige Lösungen können bei 60—75° ohne merklichen Verlust eingedampft werden, beim Kochen geht ein kleiner Teil in cyansaures Ammoniak und weiter in kohlensaures Ammoniak über. Vollständig ist diese Umwandlung in kohlensaures Ammoniak beim Erhitzen einer wässerigen Lösung im zugeschmolzenen Rohr auf 180°, bei $4\frac{1}{2}$ stündigem Erhitzen von 15 ccm einer 0,2 proc. wässerigen Lösung mit 10 g kryst. Phosphorsäure auf 150° (Schöndorff[2]), beim Erhitzen mit Alkalien u. z. genügt nach Schöndorff ein $4\frac{1}{2}$ stündiges Erhitzen mit einer alkalischen Chlorbariumlösung im zugeschmolzenen Rohr auf

1) H.-S. **22**. 552. (1896/97.) 2) Pfl. A. **62**. 1. (1896.)

150°. Spaltpilze, wie sie sich z. B. im faulen Harn, im Harn bei Blasenkatarrh finden, zersetzen den Harnstoff in derselben Weise (ammoniakalische Harngärung). Kalkmilch wirkt beim Kochen nicht stark, in der Kälte gar nicht auf den Harnstoff ein. In conc. Lösung mit salpetersaurem Silber versetzt und stark eingedampft zersetzt sich Harnstoff unter Bildung von cyansaurem Silber und salpetersaurem Ammoniak. Durch salpetrige Säure wird Harnstoff in Kohlensäure, Wasser und Stickstoff ($CO\,N_2H_4 + N_2O_3 = CO_2 + 2\,N_2 + 2\,H_2O$) zersetzt, durch feuchtes Chlorgas sowie durch Lösungen unterchlorigsaurer oder unterbromigsaurer Salze in Kohlensäure, Chlor- bezw. Bromwasserstoff und Stickstoff ($CO\,N_2H_4 + 3\,NaBrO = CO_2 + N_2 + 3\,NaBr + 2\,H_2O$). Auf dieser Reaction beruht die Harnstoffbestimmung nach Knop-Hüfner.

Nachweis. Zum Nachweis können folgende Proben dienen:

1. Beim Versetzen eines Krystalls Harnstoff oder eines Tropfens hinreichend concentrierter Lösung desselben auf dem Objectträger mit ein oder zwei Tropfen mässig verdünnter Salpetersäure entstehen die rhombischen oder sechsseitigen Krystalltafeln des salpetersauren Harnstoffs.

2. Versetzt man eine Lösung von Natriumnitrit mit einigen Tropfen Schwefelsäure bei Gegenwart von Harnstoff, so entwickeln sich farblose Gase (Stickstoff und Kohlensäure), während bei Abwesenheit von Harnstoff gelbbraune Nitrosodämpfe entstehen.

3. Erhitzt man trockene Harnstoffkrystalle im trockenen Probierrohr über kleiner Flamme vorsichtig zum Schmelzen und weiter, bis die Masse wieder fest wird, so entsteht Biuret, welches nach dem Erkalten mit etwas Natronlauge und einer Spur Kupfersulfatlösung Rotviolettfärbung der Lösung bewirkt.

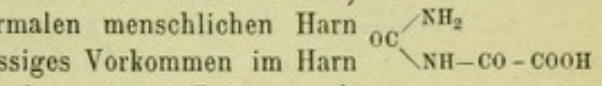
4. Fügt man zu einem Harnstoffkrystall einen Tropfen fast gesättigter Lösung von Furfurol und dann sogleich einen Tropfen Salzsäure von ungefähr 1,1 spec. Gewicht, so entsteht Farbenänderung von Gelb in Grün, Blau, Violett bis prachtvoll Purpurrot. Ein Tropfen einer 1 proc. Harnstofflösung mit $^1/_2$ ccm Furfurolwasser und drei Tropfen Salzsäure gibt nach fünf Minuten noch intensive Färbung. Im Harne ist die Färbung nicht rein. Allantoin gibt die gleiche Reaction, aber weniger intensiv und langsamer (Schiff[1]).

5. Eine alkoholische Harnstofflösung wird mit einer hinreichenden Menge einer alkoholischen Lösung von o-Nitrobenzaldehyd auf dem Wasserbad zur Trockne verdunstet, der Rückstand mit Alkohol übergossen, kurze Zeit erwärmt, der Alkohol abgegossen und dies so oft (zwei bis dreimal) wiederholt, bis alle in Alkohol löslichen Stoffe incl. des überschüssig zugesetzten Nitrobenzaldehyds entfernt sind d. h. bis der abgegossene Alkohol keine Farbenreaction mit Phenylhydrazin mehr zeigt. Es hinterbleibt das Condensationsprodukt — o-Nitrobenzylidendiureïd — als weisslicher, pulveriger Körper, fest an den Wandungen der Schale haftend. Uebergiesst man diesen Rückstand mit wenig verdünnter Lösung von salzsaurem Phenylhydrazin und fünf bis zehn Tropfen einer

1) B. **10**. 773. (1877.)

10 proc. Schwefelsäure und erhitzt zum Sieden, so färbt sich die Flüssigkeit sogleich rot durch Bildung des o-Nitrobenzaldehydphenylhydrazons (Lüdy[1]).

120. **Oxalursäure** $C_3H_4N_2O_4$. Oxalursaures Ammoniak ist von Schunk[2]) und später von Neubauer[3]) in sehr geringer Menge im normalen menschlichen Harn nachgewiesen worden. Auf ihr, wenn auch nicht regelmässiges Vorkommen im Harn von Menschen, Hunden, Kaninchen lassen auch die Untersuchungen von Luzzatto[4]) schliessen. Vorkommen.



Darstellung.

Oxalursaures Ammoniak wird erhalten durch Lösen von Harnsäure in warmer sehr verdünnter Salpetersäure, Uebersättigen nach dem Erkalten mit Ammoniak und Eindampfen zur Krystallisation, ferner durch Kochen einer wässerigen Lösung von Parabansäure mit Ammoniak.

Isolierung aus Harn.

Zu seiner Gewinnung aus Harn lässt man denselben auf gekörnte Tierkohle, wie sie in den Zuckerfabriken angewendet wird, auftropfen. Diese Tierkohle befindet sich in einer pipettenartig geformten, unten ausgezogenen Glasröhre und ist überdeckt mit einem Stück Leinwand, welches Epithelien, Schleim u. s. w. zurückhält und öfter gewechselt wird. Durch einen Quetschhahn reguliert man das Auftropfen in der Weise, dass in 24 Stunden etwa 20 Liter Harn die Kohle passieren. Hört die entfärbende Kraft der Kohle auf, so füllt man die Pipette mit neuer Kohle. Die Kohle wird dann mit destilliertem Wasser gewaschen, bis das Filtrat weder Chlor noch Phosphorsäure mehr enthält, an der Luft getrocknet und nun mit Alkohol ausgekocht, bis dieser sich nicht mehr gelb färbt. Von den alkoholischen Filtraten wird der grösste Teil des Alkohols abdestilliert und der Rest in einer Porzellanschale auf dem Wasserbade verdampft. Der zurückbleibende Syrup wird mit Wasser behandelt, filtriert, das Filtrat zum Syrup verdunstet und dieser zur Krystallisation stehen gelassen. Zweckmässig ist es, die Dialyse zur Reinigung zu benutzen, das Diffusat einzudampfen, die sich abscheidenden Krystalle von oxalursaurem Ammoniak mit abs. Alkohol abzuspülen und aus heissem Wasser mit sehr wenig reiner Tierkohle umzukrystallisieren. Aus 100 bis 150 Liter Harn erhielt Neubauer hinreichende Quantität, um die charakteristischen Eigenschaften des oxalursauren Ammoniaks an der Substanz zu prüfen; die Ausbeute ist also sehr gering.

Eigenschaften.

Oxalursaures Ammoniak krystallisiert in seideglänzenden Nadeln. Das unreine Salz bildet kleine Krystallbüschel oder kugelige Aggregate, an der Oberfläche mit feinen Krystallnadeln besetzt. Es ist in Wasser sehr schwer löslich, die heisse Lösung gibt mit salpetersaurem Silber einen nach dem Erkalten in seideglänzenden Nadeln sich ausscheidenden Niederschlag von oxalursaurem Silber, der in heissem Wasser oder Ammoniak löslich ist, ferner mit verdünnter Salpetersäure einen feinpulverigen krystallinischen Niederschlag von Oxalursäure. Versetzt man eine concentrierte Lösung von oxalursaurem Ammoniak mit Chlorcalcium oder Chlorzink, so scheiden sich beim längeren Stehen die Salze dieser Basen in charakteristischen, mikroskopischen Krystallen aus; desgleichen ruft essigsaures Blei nach kurzer Zeit Trübung und pulverig krystallinischen Niederschlag von oxalursaurem Blei hervor. Wird eine Lösung von oxalursaurem Ammoniak mit Chlorcalcium und Ammoniak erwärmt, so scheidet sich, schon ehe die Siedehitze erreicht ist, bei genügender Verdünnung der Lösung oxalsaurer Kalk in schönen mikroskopischen Octaedern aus. Wird die Oxalursäure mit verdünnter Säure gekocht, so spaltet sie sich in Harnstoff und Oxalsäure. Auch in der Kälte beginnt bei Anwesenheit von Salzsäure alsbald diese Spaltung.

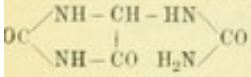
Der Ansicht von Schunk, dass die allmählich sich abscheidenden oxalsauren Kalksedimente im Harne ihre Entstehung der Zerspaltung von oxalursaurem Ammoniak

---

1) M. **10**. 310. (1889.)
2) Proc. roy. Soc. **16**. 140. (1866.)
3) Z. anal. Ch. **7**. 225. (1868.)
4) H.-S. **37**. 225. (1903.)

verdanken, trat Neubauer entgegen, weil er fand, dass letzteres Salz im Harne lange Zeit unverändert bestehen kann, bei der alkalischen Gärung aber die Oxalursäure verschwindet, ohne dass Oxalsäure nachzuweisen ist.

Nachweis. Zum Nachweis dienen die obige von Neubauer beschriebene Darstellungsmethode aus dem Harne sowie die genannten Reactionen.

Vorkommen. 

121. **Allantoin** $C_4H_6N_4O_3$. Das Allantoin wurde zuerst in der Allantoisflüssigkeit des Kalbes, später auch im Harne des neugeborenen Kalbes, ferner im Fruchtwasser und im Harne neugeborener Kinder innerhalb der ersten acht Tage nach der Geburt gefunden. Nach Gusserow und Hermann ist Allantoin im normalen menschlichen Harne in geringer Menge enthalten, reichlicher im Harne von Schwangeren. Dagegen konnte Wiechowski[1]) Allantoin im Menschenharn niemals mit Sicherheit nachweisen. In Ascitesflüssigkeit ist es bei der Lebercirrhose gefunden worden (Moscatelli[2]), ferner im Inhalt einer Ovarialcyste (Naunyn[3]). Im Hundeharn wurde es in manchen Fällen gefunden, in andern nicht (Meissner[4]), Salkowski[5]), im Kaninchenharn wurde es von Meissner[4]) gefunden, von Mendel und White[6]) nicht. Im Kuhharn ist es nachgewiesen (Salkowski[7]), ebenso im Harn des Steppenwolfs (Swain[8]). Nach neuen Untersuchungen von Wiechowski[1]) scheint in allen diesen Tierharnen regelmässig A. vorzukommen und negativer Befund auf der Methodik zu beruhen. Er fand es im Harn von Hunden, Kaninchen, Katzen und Affen; auch im Harn von hungernden Hunden und Kaninchen. In vermehrter Menge erscheint es im Hundeharn nach Einführung von Harnsäure (Salkowski[9]) Mendel und White[6]) u. a.), von Kalbsthymus (Minkowski[10]), Cohn[11]), von Pankreas (Salkowski[12]) und anderen nucleinsäurehaltigen Substanzen, von Hypoxanthin (Minkowski[13]), von Glykolyldiharnstoff (Eppinger[14]), nach Vergiftung mit Diamidsulfat (Borissow[15]), Pohl[16]) und Hydroxylamin (Pohl[16]). Auch im Katzenharn tritt nach Zufuhr von Thymus, Pankreas und Harnsäure vermehrte Ausscheidung auf (Mendel und Brown[17]) u. a.) Beim Kaninchen vermehrt Harnsäurezufuhr ebenfalls die Allantoinmenge im Harn, wie Wiechowski[1]) im Gegensatz zu früheren Untersuchern feststellte. Bei der Autolyse verschiedener Organe (Darmschleimhaut, Leber u. a.) findet eine Bildung von Allantoin statt (Pohl[16]). Ueberlebende Rinderniere und Hundeleber oxydieren Harnsäure zu Allantoin (Wiechowski[18]). Eingeführtes Allantoin

---

1) B. Ph. P. **11**. 109. (1908.)
2) H.-S. **13**. 202. (1889.)
3) A. f. A. u. Ph. 1865. S. 185.
4) Z. f. rat. Med. **31**. 303. (1868.)
5) B. **11**. 500. (1878.)
6) A. J. of Ph. **12**. 85. (1904.)
7) H.-S. **42**. 213. (1904.)
8) Citiert bei Mendel u. White.
9) B. **9**. 719. (1876.)
H.-S. **35**. 495. (1902.)
10) A. exp. P. u. Ph. **41**. 393. (1898.)
11) H.-S. **25**. 507. (1898.)
12) C. f. d. med. W. 1898. 929.
13) a. a. O. S. 405.
14) B. Ph. P. **6**. 287. (1905.)
15) H.-S. **19**. 499. (1894.)
16) A. exp. P. u. Ph. **48**. 367. (1902.)
17) A. J. of Ph. **3**. 261. (1900.)
18) B. Ph. P. **9**. 295. (1907.)

erscheint bei Hunden fast vollständig im Harn wieder, bei Menschen nur zum geringen Teil (Poduschka[1]).

Auch in Pflanzen ist es nachgewiesen in Sprossen von Platanen[2]) und Acerarten[3]), in der Rinde von Aesculus hippocastanum[3]), in Weizenkeimen[4]) und Rübensäften[5]).

Zur Darstellung von Allantoin nach Sundwik[6]) suspendiert man 100 g Harnsäure in $1^1/_2$ bis 2 Liter Wasser, bringt sie durch Zufügen von kleinen Portionen Natronlauge in Lösung und versetzt die alkalische Flüssigkeit mit 62 g Kaliumpermanganat in konzentrierter Lösung unter Umschütteln. Sobald sich die Flüssigkeit entfärbt hat (was sehr bald, spätestens nach einer Stunde der Fall ist und durch Abfiltrieren einer kleinen Probe festgestellt wird) filtriert man rasch ab, säuert mit Essigsäure an und dampft zur Krystallisation ein. Ausbeute fast in theoretischer Menge. Synthetisch ist Allantoin dargestellt von Grimaux[7]) durch längeres Erhitzen von Glyoxylsäure mit Harnstoff bei 100°. Darstellung.

Um Allantoin aus Flüssigkeiten zu isolieren, ist es zweckmässig, durch Kochen und Filtrieren erst die Eiweissstoffe zu entfernen, dann mit salpetersaurem Quecksilberoxyd zu fällen, den ausgewaschenen Niederschlag in Wasser zerteilt mit Schwefelwasserstoff zu zerlegen, zu filtrieren, nach Zusatz von etwas Ammoniak auf dem Wasserbade auf ein sehr kleines Volumen zu verdunsten und dann die klare Flüssigkeit mit ammoniakalischer Lösung von salpetersaurem Silberoxyd zu fällen. Der Niederschlag ist in überschüssigem Ammoniak löslich. Man lässt einige Zeit stehen, sammelt das ausgeschiedene Allantoinsilber auf dem Filter, wäscht gut aus, zerteilt es in Wasser und zerlegt es mit Schwefelwasserstoff. Aus dem eingedampften Filtrat krystallisiert Allantoin. Isolierung.

Für die Gewinnung und quantitative Bestimmung im Harn hat Loewy[8]) folgendes Verfahren, das auch von Swain[9]) empfohlen, aber von Dakin[10]) sehr ungünstig beurteilt wird, angegeben. Der schwach saure Harn wird mit Quecksilberoxydulnitrat (möglichst wenig saure, etwas metallisches Quecksilber enthaltende Lösung) ausgefällt, der Niederschlag abfiltriert und ausgewaschen, das Filtrat mit Schwefelwasserstoff behandelt, filtriert, durch Erwärmen von Schwefelwasserstoff befreit und nach Zufügen von Magnesiumoxyd mit Silbernitrat ausgefällt. Den Niederschlag filtriert man, wäscht

---

1) A. exp. P. u. Ph. **44**. 59. (1900.)
2) Schulze u. Barbieri, J. f. pr. Ch. N. F. **25**. 145. (1882.)
3) E. Schulze u. Bosshard, H.-S. **9**. 420. (1885.)
4) Richardson u. Crampton, B. **19**. 1180. (1886.)
5) v. Lippmann, B. **29**. 2645. (1896.)
6) H.-S. **41**. 343. (1904.)
7) C. r. **83**. 62. (1876.)
8) A. exp. P. u. Ph. **44**. 19. (1900.)
9) A. J. of Ph. **6**. 38. (1902.)
10) J. B. Ch. **3**. 57. (1907.)

aus, und zerlegt ihn nach Zerteilen in Wasser in der Wärme mit Schwefelwasserstoff. Das Filtrat wird zur Trockne eingedampft, der Rückstand mit heissem Wasser extrahiert und die erkaltete wässerige Lösung mit Quecksilberoxydnitrat gefällt. Den ausgewaschenen Niederschlag zerlegt man mit Schwefelwasserstoff; aus dem eingeengten Filtrat krystallisiert Allantoin aus. Ein anderes Verfahren ist von Poduschka mitgeteilt.

Wiechowski[1]) hat mit beiden Methoden keine guten Erfahrungen gemacht und empfiehlt ein Verfahren, welches auf der Beobachtung beruht, dass eine verdünnte Lösung von Mercuriacetat bei Gegenwart von viel Natriumacetat das Allantoin quantitativ als weissen Niederschlag ausfällt. Im Harn, der mit Phosphorwolframsäure, Blei- und Silberacetat gereinigt ist, fällt eine 0,5 proc. mit Natriumacetat versetzte Mercuriacetatlösung nur das Allantoin, dieses aber quantitativ aus. Aus dem gewaschenen und mit Schwefelwasserstoff zerlegten Niederschlage krystallisiert es beim Eindampfen sofort ganz rein aus. Die näheren Angaben siehe a. a. O. S. 129.

Bei reichlichem Gehalt scheidet sich Allantoin aus dem auf $^1/_8$—$^1/_{10}$ eingedampften und mit Essigsäure angesäuerten Harn beim längeren Stehen in der Kälte aus (Minkowski). Beim Fällen von eingedampftem Harn mit Alkohol geht stets ein Teil des Allantoins in die alkoholische Lösung über, durch Aether wird es aus derselben gefällt.

Eigenschaften. Das Allantoin krystallisiert in glänzenden, durchsichtigen, kleinen Prismen, ist geruch- und geschmacklos und ohne Reaction auf Lacmus, in 160 Tl. kaltem Wasser, viel leichter in heissem Wasser löslich, unlöslich in kaltem absolutem Alkohol oder Aether, in heissem Alkohol ziemlich löslich. Nach Poduschka ist es in Alkohol nicht unlöslich, und in Wasser von Zimmertemperatur nur zu 0,1 pCt. löslich; in kohlensauren Alkalien löst es sich leichter. Beim Erhitzen bräunt es sich oberhalb 220° und schmilzt unter Zersetzung und Gasentwicklung bei 231°. Durch Phosphorwolframsäure wird seine salzsaure Lösung nicht gefällt. Es verbindet sich nicht mit Säuren, wohl aber mit Metallen. Durch ammoniakalische Silberlösung wird es aus seinen concentrierten Lösungen gefällt, löst sich aber in überschüssigem Ammoniak wieder auf. Die niederfallenden weissen Flocken bestehen aus Allantoinsilber $C_4H_5AgN_4O_3$, beim Stehen wandeln sich dieselben in Körner um; trocknet man sie bei 100°, so tritt leicht Reduction von Silber ein. Auch Blei- und Kupferverbindungen des Allantoins sind leicht zu erhalten. Durch salpetersaures Quecksilberoxyd wird Allantoin gleichfalls gefällt, ebenso durch eine mit Natriumacetat neutralisierte oder schwach alkalisch gemachte Lösung von Mercuriacetat (siehe oben),

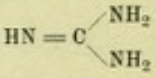
1) B. Ph. P. II. 109 (1908).

aber weder durch Kupfersulfat und Natriumbisulfit noch durch Bleiacetate. Fehling'sche Lösung wird bei längerem Kochen reduciert.

Durch Erhitzen mit concentrierter Schwefelsäure wird Allantoin in Ammoniak, Kohlensäure und Kohlenoxyd, durch Kochen mit Barytwasser in Kohlensäure, Ammoniak, Oxalsäure und Hydantoin, durch concentrierte Alkalilauge in Ammoniak, Kohlensäure, Essigsäure und Oxalsäure, durch kochende Salpetersäure in Harnstoff und Allantursäure verwandelt. Nach dem Kochen mit Kalilauge gibt es die Glyoxylsäurereaction d. h. es tritt ein roter Ring auf, wenn man nach Zusatz einer schwachen Indollösung mit conc. Schwefelsäure unterschichtet (Eppinger[1]). Durch unterbromigsaures Natron wird die Hälfte des Stickstoffgehaltes in Freiheit gesetzt (Malerba[2]). Zersetzungen.

Um Allantoin nachzuweisen ist seine Isolierung erforderlich. Zu seiner Identificierung dienen besonders das Verhalten der Lösung der erhaltenen Krystalle gegen ammoniakalische Silberlösung und die Analyse der Silberverbindung. Das gut ausgewaschene und im Vacuum über Schwefelsäure getrocknete Allantoinsilber liefert beim Glühen 40,73 pCt. Ag. Auch die Glyoxylsäurereaction nach Kochen mit Kalilauge (siehe oben) kann zur Feststellung dienen, sowie die Bildung von Oxalsäure und deren Nachweis. Letztere Reaction wird nach Salkowski am besten so vorgenommen, dass man eine kleine Menge der Krystalle im Reagensglas etwa 1—2 Min. mit Natronlauge (c. 15 pCt. NaOH) kocht, nach dem Erkalten mit Essigsäure schwach ansäuert und mit Calciumchlorid prüft. Nachweis.

122. **Guanidin CH_5N_3**, welches zuerst durch Oxydation des Guanins (Strecker) erhalten wurde, entsteht auch bei der Oxydation des Arginins mit Bariumpermanganat (Benech u. Kutscher[3]). Lossen[4]) erhielt es in geringer Menge bei der Oxydation von Hühnereiweiss mit Kaliumpermanganat. Es wurde ferner bei der Oxydation von Leim (Kutscher u. Zickgraf[5]), von Pseudomucin und Casein (Otori[6]), von Thymusnucleinsäure (Kutscher u. Schenk[7]) mit Calciumpermanganat erhalten und unter den Produkten der hydrolytischen Zersetzung (mit Schwefelsäure) des Pseudomucins und wohl auch anderer Proteine (Otori[8]) und unter den Produkten der Pancreasselbstverdauung (Kutscher u. Otori[9]) nachgewiesen. Vorkommen.



E. Schulze[10]) fand es in Wickenkeimlingen, v. Lippmann[11]) in Rübensäften.

---

1) B. Ph. P. **6**. 495. (1905.)
2) Gazz. chim. **15**. 531. (1885.)
3) H.-S. **32**. 278 u. 413. (1901.)
4) A. **201**. 369. (1880.)
5) Sitzb. d. pr. Ak. d. W. **28**. 624. (1903.) Zickgraf, H.-S. **41**. 259. (1904.)
6) H.-S. **43**. 86. (1905.)
7) H.-S. **44**. 309. (1905.)
8) H.-S. **42**. 453. (1904.)
9) H.-S. **43**. 93. (1905.)
10) H.-S. **17**. 193. (1893.)
11) B. **29**. 2645. (1896.)

Eigenschaften. Verbindungen: mit Kohlensäure. mit Pikrinsäure. mit Pikrolonsäure. mit Cadmiumchlorid. mit Silber. mit Benzolsulfosäure.

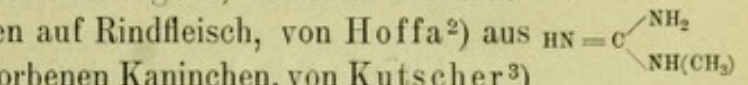
Es bildet in Wasser und Alkohol leicht lösliche Krystalle von stark alkalischer Reaction, zieht an der Luft Kohlensäure an und bildet ein schön krystallisierendes Carbonat $(CH_5N_3)_2 . H_2CO_3$, auch mit anderen Säuren gut krystallisierende Verbindungen. Pikrat $CH_5N_3 . C_6H_3N_3O_7$ zersetzt sich unter Aufschäumen beim langsamen Erhitzen bei 311—315° (Kutscher und Otori[1]). Es ist in Wasser (1 : 2630), Alkohol und Aether schwer löslich und eignet sich deshalb und auch wegen seiner charakteristischen Krystallform (hakenförmige oder gezähnte durch fortgesetzte Zwillingsbildung zu Stande kommende Platten) zur Isolierung und Erkennung des Guanidins (Emich[2]). Indessen verhindern manche Beimengungen z. B. Arginin die Fällung durch Pikrinsäure oder pikrinsaures Natron (Kutscher u. Otori). Pikrolonat scheidet sich aus concentrierten wässerigen Lösungen von Guadinincarbonat auf Zusatz von alkoholischer Pikrolonsäurelösung ab, löst sich aber in überschüssigem Alkohol auf (Unterschied von Histidin- und Argininpikrolonaten, die in Alkohol schwer löslich sind). Wässerige Pikrolonsäurelösung ruft noch in sehr verdünnten wässerigen Guanidincarbonatlösungen Fällung hervor, die sich aus heissem Wasser in, aus feinen Nadeln zusammengesetzten, Drusen abscheidet $CH_5N_3 . C_{10}H_8N_4O_5$. Zersetzungspunkt unter Aufschäumen 272—274° (Schenk[3]). Diese Verbindung ist wegen der Schwerlöslichkeit in kaltem Wasser ebenfalls für die Isolierung sehr geeignet. Guanidincadmiumchlorid $CH_5N_3 . HCl . 2CdCl_2$ scheidet sich beim Versetzen einer concentrierten alkoholischen Guanidinchloridlösung mit kalt gesättigter alkoholischer Cadmiumchloridlösung ab, in kaltem Alkohol fast unlöslich, in heissem und ebenso in kaltem Methylalkohol ziemlich leicht löslich (Schenk[4]). Guanidinsilber $CH_5N_3 . Ag_2O$, dem Argininsilber sehr ähnlich, fällt wie dieses aus einer Lösung, welche Guanidincarbonat und Silbernitrat enthält, durch Barytwasser, in Säure und Ammoniak löslich, in Wasser kaum löslich (Kutscher und Otori[5]). Benzolsulfoguanidin $CH_4N_3 . SO_2C_6H_5$, weisse Nadeln (Smp. 212°), in Wasser bei Zimmertemperatur löslich wie 0,02 : 100. Erwärmt man 3 g Guanidincarbonat mit 30 ccm Wasser, 6 ccm 33 proc. Natronlauge und 4 ccm Benzolsulfochlorid unter Schütteln, so scheidet es sich beim Abkühlen aus und kann aus kochendem Wasser und kochendem Alkohol umkrystallisiert werden. Arginin gibt bei gleicher Behandlung keine schwer lösliche Verbindung (Ackermann[6]). Durch Phosphorwolframsäure wird Guanidin gefällt (doch unter Umständen nur unvollständig), auch Nessler's Reagens fällt alle Guanidinsalze.

Beim Kochen mit Barytwasser zerfällt es in Ammoniak und Harnstoff.

---

1) H.-S. **43**. 98. (1905.)
2) M. **12**. 23. (1891.)
3) H.-S. **44**. 427. (1905.)
4) H.-S. **43**. 72. (1905.)
5) H.-S. **43**. 102. (1905.)
6) H.-S. **47**. 366. (1906.)

123. **Methylguanidin** $C_2H_7N_3$ wurde von Brieger[1]) aus faulem Pferdefleisch und aus Culturen von Kommabacillen auf Rindfleisch, von Hoffa[2]) aus mit Septicaemiebacillen geimpften und gestorbenen Kaninchen, von Kutscher[3]) und Gulewitsch[4]) aus Fleischextrakt, von Krimberg[5]) auch aus frischem Fleisch erhalten. Es findet sich regelmässig im Harn von Menschen, Hunden, Pferden (Achelis[6]), Kutscher u. Lohmann[7]). Vorkommen.

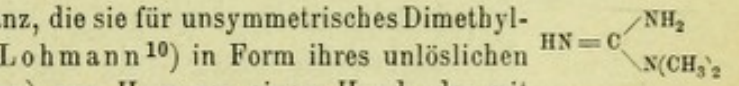


Man erhält es durch Kochen von Kreatinlösung mit Quecksilberoxyd oder Bleihyperoxyd und Schwefelsäure und aus Kreatinin durch Permanganat. Synthetisch wurde es von Erlenmeyer durch Vereinigung von salzsaurem Methylamin mit Cyanamid in alkoholischer Lösung bei 60—70° dargestellt. Darstellung.

Sehr hygroskopische Krystalle, stark alkalisch reagierend. Das Nitrat, rechtwinklige, rhombische Täfelchen, in absolutem Alkohol und kaltem Wasser schwer, in heissem Wasser leicht löslich. Smp. beim langsamen Erhitzen 150°. Näheres über Krystallform bei Gulewitsch. Platindoppelsalz krystallisiert in monoklinen Prismen und löst sich in 14,3 Tl. Wasser bei 18—19°. Golddoppelsalz bildet rhombische Krystalle, schwer löslich in Wasser und Alkohol, leicht löslich in Aether, sehr zersetzlich. Pikrat krystallisiert aus erkaltendem Wasser in 2 isomorphen Modifikationen vom Smp. 201,5° (Gulewitsch). Platinsulfocyanat $(C_2H_7N_3\,CNSH)_2\,.\,Pt\,(CNS)_4$ rote, durchsichtige Säulen, in kaltem Wasser schwer, in heissem und in Alkohol leicht löslich. Smp. der vom Krystallwasser befreiten Krystalle 175—180° (Kutscher). Benzolsulfomethylguanidin (wie die entsprechende Guanidinverbindung § 122 gewonnen), in Wasser schwer lösliche (0,04 : 100) Krystalle vom Smp. 184° (Ackermann[8]). Pikrolonat in kaltem Wasser sehr schwer löslich. Smp. bei etwa 270° (ungenau) (Kutscher u. Lohmann[9]), Achelis). Eigenschaften. Verbindungen: mit Salpetersäure. mit Platinchlorid. mit Goldchlorid. mit Pikrinsäure. mit Platinrhodanid. mit Benzolsulfosäure. mit Pikrolonsäure.

Methylguanidin wird durch Phosphorwolframsäure gefällt, ebenso durch Silbernitrat und Barytwasser, nicht durch Silbernitrat und Ammoniak (Kutscher), nicht durch Gerbsäure.

Dimethylguanidin $C_3H_9N_3$. Eine Substanz, die sie für unsymmetrisches Dimethylguanidin ansprachen, wurde von Kutscher u. Lohmann[10]) in Form ihres unlöslichen Pikrolonats (Smp. 275—278° unter Aufschäumen) aus Harn von einem Hund, der mit Liebig's Fleischextract gefüttert war, erhalten. Siehe auch Achelis[11]).



Die Identität mit dem unsymmetrischen Dimethylguanidin ist von Wheeler und

---

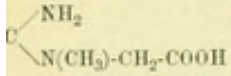
1) Brieger, Ptomaine III. S. 34. (1886.) u. B. k. W. 1887. 817.
2) Sitzb. d. phys. med. Ges. zu Würzburg. 1889. S. 96.
3) Z. f. Unters. N.- u. G. **10**. 528. (1903.)
4) H.-S. **47**. 471. (1906.)
5) H.-S. **48**. 412. (1906.)
6) H.-S. **50**. 10. (1906/07.)
7) H.-S. **49**. 81. (1906.)
8) H.-S. **48**. 382. 1906.)
9) H.-S. **48**. 424. (1906.)
10) H.-S. **48**. 422. (1906.)
11) H.-S. **50**. 10. (1906/07.)

Jamieson[1]) durch Vergleich mit dem Pikrolonat des synthetisch dargestellten festgestellt.

Vitiatin $C_5H_{14}N_6$ aus Liebig'schem Fleischextrakt[2]) und aus Menschenharn[3]) von Kutscher isoliert. Goldsalz $C_5H_{14}N_6 . 2HCl . 2AuCl_3$ breite glänzende Platten.

Vorkommen.

124. **Kreatin** $C_4H_9N_3O_2$. Das Kreatin findet sich besonders in dem Safte der willkürlichen und glatten Muskeln der Wirbeltiere und vieler Avertebraten (nicht im Krabbenextract) und ist in geringerer oder grösserer Menge in den verschiedenen Transsudaten, der Amniosflüssigkeit, dem Blute und auch im Gehirne nachgewiesen. Im normalen Harne findet sich wenig oder kein Kreatin.



Darstellung.

Synthetisch entsteht es nach Volhard[4]) durch directe Vereinigung von Sarkosin und Cyanamid; es wurde auch durch Erhitzen von Guanidincarbonat und Sarkosin auf 140—160° gewonnen (Horbaczewski[5]).

Isolierung.

Um es aus Organen z. B. Muskeln zu erhalten, extrahiert man das fein zerhackte Organ wiederholt mit Wasser, entfernt aus den vereinigten Auszügen durch Kochen die Eiweissstoffe, fällt das Filtrat mit Bleiessig unter Vermeidung eines Ueberschusses, filtriert, fällt aus dem Filtrate durch Schwefelwasserstoff das Blei, filtriert wieder und dampft bei mässiger Temperatur auf ein kleines Volumen ein. Man lässt dann die Lösung eine Woche an einem kühlen Orte stehen, filtriert die ausgeschiedenen Krystalle ab und wäscht sie mit etwas 88 proc. Alkohol.

Eigenschaften.

Das Kreatin krystallisiert aus seinen Lösungen in durchsichtigen farblosen, harten, rhombischen Prismen mit 1 Mol. Wasser; bei 100° getrocknet, auch schon auf dem Wasserbade werden die Krystalle weiss unter Verlust des Krystallwassers. Es besitzt einen bitteren, kratzenden Geschmack, löst sich in 74 Teilen kaltem, viel leichter in heissem Wasser, fast gar nicht in Alkohol, ist unlöslich in Aether. Die Lösungen reagieren neutral. Mit der äquivalenten Menge einer Säure in wässeriger Lösung versetzt und im Vacuum über Schwefelsäure verdunstet liefert es Salzverbindungen, die sehr unbeständig sind und sauer reagieren. Durch salpetersaures Quecksilberoxyd wird es in Flocken gefällt, aus concentrierter Lösung erhält man durch Chlorzink allmählich harte, warzige Krystalle, besonders nach Zusatz von Alkohol, auch mit Chlorcadmium gibt es eine entsprechende, aber sehr lösliche Verbindung. Durch Phosphorwolframsäure und Bleiessig wird es nicht gefällt. Beim Zusammenschmelzen mit Benzoesäure oder Phthalsäureanhydrid entsteht Benzoylkreatin oder Phthalyl-

---

1) J. B. Ch. **4**. 111. (1908.) Ref. C. C. 1908. 1. 1468.
2) C. f. Ph. **21**. 33 u. 586. (1908.)
3) H.-S. **51**. 462. (1907.)
4) Sitzungsber. d. bayerisch. Acad. 1868. H. 3. S. 472.
5) Wien. med. Jahrb. 1885. S. 459.

dikreatin (Urano[1]), durch Essigsäureanhydrid Diacetylkreatin (Erlenmeyer[2]). Beim Erhitzen seiner wässerigen Lösung mit Formaldehyd entsteht Dioxymethylenkreatinin (Jaffe[3]).

Umwandlung in Kreatinin.

Mit Säure erhitzt oder nur längere Zeit mit Wasser gekocht verliert es Wasser und geht dabei in Kreatinin über. Die günstigsten Bedingungen für eine vollkommene Umwandlung (85—100 pCt.) sind für eine ca. 0,1 proc. Kreatinlösung 3—4 stündiges Erhitzen auf dem Wasserbad mit der doppelten Menge nHCl. Bei stärkerer Concentration der Kreatinlösung oder bei stärkerer oder geringerer Concentration der Salzsäure ist die Umwandlung unvollkommen (Dorner[4]), Jaffe[5]), Folin[6]).

Zersetzungen.

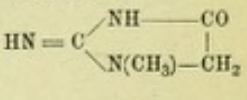
Beim Erhitzen über 100° wird es leicht zersetzt. Mit Quecksilberoxyd in wässeriger Lösung gekocht gibt es unter Abscheidung von metallischem Quecksilber oxalsaures Methylguanidin. Methylguanidin, Formaldehyd, Ameisensäure, Kohlensäure und reichliche Mengen von Glyoxylsäure entstehen auch bei der Einwirkung von Wasserstoffhyperoxyd und einer Spur Ferrosulfat (Dakin[7]). Mit Barytwasser gekocht liefert es Methylhydantoin, Sarkosin, Harnstoff, Ammoniak und Kohlensäure. Beim Erhitzen von Kreatin mit Natronkalk erhält man Methylamin. Ueber Umwandlung von Kreatin in Kreatinin und Zerstörung bei der Autolyse der Organe siehe Gottlieb und Stangassinger[8]). Nach Mellanby[9]) bleibt Kreatin bei der Autolyse unverändert.

Nachweis.

Zum Nachweis ist die Darstellung der Krystalle erforderlich. Man prüft, ob sie beim Trocknen auf dem Wasserbade weiss und undurchsichtig werden. Die Fällbarkeit der Lösung durch salpetersaures Quecksilberoxyd, Reduction von Quecksilberoxyd beim Kochen sind weitere, allerdings mangelhafte Reactionen. Am Besten kocht man die Lösung mit verdünnter Schwefelsäure und stellt mit der neutralisierten Lösung die Kreatininreactionen an (siehe folgenden Paragraphen).

Vorkommen.

125. **Kreatinin $C_4H_7N_3O$.** Das Kreatinin ist mit Sicherheit als constanter Bestandteil des Harns von Menschen und einigen Säugetieren nachgewiesen. In kleinen Mengen findet es sich auch in den Muskeln neben Kreatin (nach Mellanby ist das nicht der Fall, auch nicht nach der Arbeit), auch in der Milch ist es in geringer Menge vorhanden. Die Angaben von G. S. Johnson[10]), dass das aus dem Harn dargestellte Kreatinin von dem Muskelkreatinin verschieden sei, haben sich nicht bestätigt



1) B. Ph. P. **9**. 183. (1907.)
2) A. **284**. 49. (1905.)
3) B. **35**. 2896. (1902.)
4) H.-S. **52**. 229. (1907.)
5) H.-S. **48**. 435. (1906.)
6) Hammarsten-Festschrift. No. III. (1906.)
7) J. B. Ch. **1**. 271. (1906.)
8) H.-S. **52**. 1. (1907.)
9) J. of Ph. **36**. 447. (1908.)
10) Proc. roy. soc. **43**. 493. (1888.), **50**. 287. (1891.), Ch. News. **55**. 304. (1887.)

(Toppelius und Pommerehne[1]), Wörner[2]). Ebenso ist die Angabe von Thesen[3]), dass das aus dem Fleisch von Dorschen gewonnene Kreatinin (sog. Isokreatinin) in mehreren Punkten (gelbe Farbe usw.) von dem typischen abweiche, durch Poulsson[4]) und Korndörfer[5]) widerlegt worden.

Darstellung: aus Kreatin. Man stellt es aus Kreatin dar, indem man dieses mit sehr verdünnter Schwefelsäure kocht, dann durch Bariumcarbonat neutralisiert, filtriert, die Flüssigkeit auf dem Wasserbade zur Trockne verdunstet und den Rückstand mit Alkohol extrahiert. Der Alkoholauszug liefert beim Verdunsten Kreatininkrystalle.

aus Harn. Aus Menschenharn erhält man Kreatinin nach folgenden Verfahren.

1. Nach Maly[6]) werden mehrere Liter Harn auf $^1/_3$ oder $^1/_4$ Vol. abgedampft, von den ausgeschiedenen Salzen abgegossen und mit Bleizucker gefällt. Aus der abfiltrierten Lösung entfernt man das Blei mit Sodalösung oder Schwefelwasserstoff, filtriert, neutralisiert durch Essigsäure bezw. Soda und fällt mit concentrierter Quecksilberchloridlösung. Der Niederschlag wird in Wasser zerteilt und mit Schwefelwasserstoff zerlegt, die abfiltrierte Flüssigkeit mit Tierkohle entfärbt und die beim Abdampfen erhaltene Salzmasse aus starkem Alkohol ein oder zweimal umkrystallisiert. Aus der salzsauren Verbindung kann man dann durch Bleioxydhydrat leicht das Kreatinin abspalten und rein gewinnen.

2. Nach Hofmeister[7]) erhält man es durch Fällung des Harns mit Phosphorwolframsäure und Salzsäure, Zerlegung des Niederschlags mit Barytwasser, Entfernung des überschüssigen Baryts durch Kohlensäure, Abdampfen des Filtrats, Extraction des Rückstandes mit Alkohol und Verdunsten des Filtrats.

3. Nach Folin[8]) verfährt man am besten in folgender Weise: Je 1 Liter Harn wird mit einer heissen alkoholischen Pikrinsäurelösung (enthaltend in 45 ccm 18 g) unter starkem Umrühren versetzt. Man setzt das Umrühren einige Minuten fort (ohne die Gefässwand zu berühren), bis die Ausfällung des Pikrats beginnt. Nach $^1/_2$ bis $^3/_4$ Stunde wird die überstehende trübe Flüssigkeit abgehebert, der Bodensatz (Kaliumkreatininpikrat) auf ein Saugfilter gebracht und mit gesättigter Pikrinsäurelösung gründlich ausgewaschen. Der noch feuchte Niederschlag wird gewogen und mit seiner halben Gewichtsmenge Kaliumbicarbonat und ca. 150 ccm Wasser für je 4 Liter Harn eine Stunde lang in einer Reibschale verrieben. Nun wird abgesaugt und mit kleinen Mengen Kaliumbicarbonatlösung gewaschen. Das Filtrat, welches Kreatinin, Kaliumbicarbonat und kleine Mengen Verunreinigungen enthält, wird vorsichtig mit 20 proc. H_2SO_4 neutralisiert, mit 2 Vol. Alkohol vermischt,

1) A. d. Pharm. **234**. 380. (1896.)
2) H.-S. **27**. 1. (1899.)
3) H.-S. **24**. 1. (1898.)
4) A. exp. P. Ph. **51**. 227. (1904.)
5) A. d. Pharm. **242**. 373. (1904.)
6) A. **159**. 279. (1871.)
7) H.-S. **5**. 67. (1881.)
8) H.-S. **41**. 235. (1904.)

mit kleinen Mengen Tierkohle entfärbt, filtriert und am nächsten Tage nochmals filtriert. Aus dieser alkoholischen Lösung fällt man das Kreatinin mit alkoholischer Chlorzinklösung. Aus dem am nächsten Tage abfiltrierten Doppelsalz wird das Kreatinin durch Kochen mit Bleihydroxyd in Freiheit gesetzt. Aus dem Filtrat entfernt man das überschüssige Blei durch Schwefelwasserstoff. Um das in der Lösung neben dem Kreatinin vorhandene Kreatin in Kreatinin umzuwandeln, kocht man die Lösung nach Zufügen einer bestimmten Menge von Normalschwefelsäure ein, bis das Vol. der zugesetzten Schwefelsäure erreicht ist, und erhitzt dann noch 36—48 St. auf dem Wasserbad. Jetzt wird Barytwasser, titrimetrisch der zugesetzten Schwefelsäure entsprechend, zugefügt, nach einer halben Stunde filtriert und eingedampft. Das sich ausscheidende Kreatinin wird mit Alkohol gewaschen und ein- oder zweimal umkrystallisiert.

Eigenschaften.

Das Kreatinin scheidet sich aus heiss gesättigten Lösungen in farblosen, glänzenden, wasserfreien Prismen (monoklinoedrisch) von stark ätzendem Geschmacke ab; aus kalt gesättigten Lösungen krystallisiert es sehr häufig in grossen Tafeln oder Prismen mit 2 Mol. Krystallwasser, die sehr leicht verwittern (Wörner). Es reagiert sehr schwach alkalisch oder neutral (Salkowski[1]), ist nicht flüchtig und löst sich in 11,5 Teilen kaltem, sehr leicht in heissem Wasser, in 625 Teilen absolutem Alkohol, leichter in heissem, sehr wenig in Aether.

Verbindungen:

Es verhält sich wie ein kräftiges Alkali, treibt Ammoniak aus seinen Verbindungen aus, bildet mit Säuren sauer reagierende, gut krystallisierende Salze.

mit Salzsäure.

Salzsaures Kreatinin $C_4H_7N_3O$. HCl, durch Abdampfen von Kreatinin mit Salzsäure auf dem Wasserbade erhalten, bildet in Wasser leicht lösliche, durchsichtige Prismen oder rhombische Tafeln. Die beim Verdunsten kalt gesättigter wässeriger Lösungen sich ausscheidenden Krystalle enthalten 1 Mol. Wasser. Die Lösung dieses Salzes wird durch Chlorzink nicht gefällt, wohl aber nach Zusatz von essigsaurem Natron im Ueberschusse.

mit Platinchlorid.

Salzsaures Kreatinin-Platinchlorid $(C_4H_7N_3O . HCl)_2 . PtCl_4$ bildet in Wasser leicht (1 : 36), in Alkohol schwerer lösliche orangerote Prismen und Nadeln. Aus wässeriger Lösung krystallisiert es mit 2 Mol. Krystallwasser, aus alkoholischer wasserfrei.

mit Goldchlorid.

Salzsaures Kreatinin-Goldchlorid $C_4H_7N_3O . HCl . AuCl_3$ ist in Wasser oder Alkohol leicht löslich, in Aether unlöslich und scheidet sich in schönen, goldgelben Blättchen ab, wenn man bei 40—50° in möglichst wenig Wasser gelöstes salzsaures Kreatinin mit wenig mehr als der berechneten Menge Goldchlorid versetzt. Smp. der bei 100° getrockneten Substanz bei 170—174°.

mit Pikrinsäure.

Pikrinsaures Kreatinin $C_4H_7N_3O . C_6H_3N_3O_7$ scheide sich in Form langer gelber Nadeln aus, die in Wasser ziemlich schwer löslich sind, wenn wässerige Kreatininlösung mit wässeriger Pikrinsäure versetzt wird (Jaffe[2]). Smp. 212—213°. Pikrinsaures Kreatinin-Kali

1) H.-S. **12**. 211. (1888.) 2) H.-S. **10**. 391. (1886.)

$C_4H_7N_3O \cdot C_6H_3N_3O_7 + C_6H_2N_3O_7K$ scheidet sich aus normalem menschlichen Harne auf Zusatz von Pikrinsäure als gelbe Nadeln und Prismen ab, in heissem Wasser leicht, in kaltem schwer löslich (Jaffe[1]). Kynurensaures Kreatinin scheidet sich in Büscheln von farblosen, dünnen Prismen ab, wenn man gepulverte Kynurensäure in einer heissen verdünnten Lösung von Kreatinin auflöst. Sie sind in Wasser leicht löslich und zersetzen sich beim Umkrystallisieren[1]). Kreatininsilber fällt aus Kreatininsalzlösungen auf Zusatz von Silbernitrat und Barytwasser, sowie von Silbernitrat und Ammoniak aus (Kutscher[2]). Kreatinin-Chlorzink $(C_4H_7N_3O)_2 \cdot ZnCl_2$, die wichtigste Verbindung des Kreatinins, wird erhalten, wenn man zu einer alkoholischen oder nicht allzu verdünnten wässerigen Lösung von Kreatinin säurefreie, concentrierte Chlorzinklösung hinzutropft. Es entsteht entweder sofort ein sehr feinkörniger Niederschlag oder es bilden sich bei grösserer Verdünnung allmählich schöne Gruppen feiner Nadeln oder Prismen. Aus dem Harnextracte erhält man diese Verbindung nach Zusatz von Chlorzink meist in warzigen Krusten an den Wandungen des Gefässes, denen zahlreiche Büschel und Sterne von Nadeln beigemengt sind. In kaltem Wasser ist die Verbindung sehr wenig, in heissem Wasser leichter löslich, in Alkohol unlöslich, in Mineralsäuren leicht löslich. Durch Kochen mit Bleioxydhydrat wird Zinkoxyd, Chlorblei und freies Kreatinin erhalten. Beim Zusammenschmelzen mit Benzoesäureanhydrid oder Phthalsäureanhydrid entstehen dieselben Producte, wie aus Kreatin bei gleicher Behandlung (§ 124, Urano). Beim Erhitzen seiner wässerigen Lösung mit Formaldehyd entsteht Dioxymethylenkreatinin (Jaffe[3]). Aus nicht zu verdünnter wässeriger Lösung wird es gefällt: 1. durch Silbernitrat; der aus feinen Krystallnadeln bestehende Niederschlag löst sich in heissem Wasser und scheidet sich beim Erkalten wieder aus; 2. durch Sublimat in ähnlicher Weise; 3. durch Mercurinitrat und allmählichen Zusatz von Natriumcarbonat; 4. durch Phosphorwolframsäure.

mit Kynurensäure.

mit Silber.

mit Zinkchlorid.

mit Benzoesäure u. Phthalsäure.

Umwandlung in Kreatin.

In alkalischer Lösung findet besonders in der Wärme Umwandlung in Kreatin statt, aber auch Zersetzung. Kalt gesättigtes Barytwasser wandelt das Kreatinin teilweise in Kreatin um, dabei findet Ammoniakentwickelung statt (Folin[4]).

Zersetzungen.

Durch Kochen mit Quecksilberoxyd oder mit Bleihyperoxyd und Schwefelsäure oder durch übermangansaures Kali wird es ebenso wie Kreatin unter Bildung von Methylguanidin zerlegt. Methylguanidin, Formaldehyd, Ameisensäure, Kohlensäure und reichliche Mengen von Glyoxylsäure entstehen auch bei der Einwirkung von Wasserstoffsuperoxyd und einer Spur von Ferro-

1) H.-S. **10**. 391. (1886.)
2) Z. f. Unters. N. u. G. **10**. 528. (1905.)
3) B. **35**. 2896. (1902.)
4) Hammarsten-Festschrift No. III. (1906.)

sulfat (Dakin). Bei anhaltendem Kochen von Kreatinin mit Fehling'scher Lösung tritt allmählich Entfärbung ein, das Kupferoxyd wird reduciert, kann aber nur zur Ausscheidung kommen, wenn die Lösung längere Zeit auf 90—100° erhitzt wird. 1 Mol. Kreatinin reduciert bei hinreichend langem Kochen (½ Stunde) 4 Mol. Kupferoxyd[1]).

Zum Nachweis dienen folgende Reactionen:

Nachweis.

1. Reaction von Weyl[2]): Man versetzt die zu prüfende Lösung, z. B. Menschenharn, mit wenigen Tropfen einer sehr verdünnten wässerigen Lösung von Nitroprussidnatrium und fügt dann tropfenweise verdünnte Natronlauge hinzu. Ist Kreatinin vorhanden, so färbt sich die Flüssigkeit schön rubinrot, aber nur kurze Zeit, die Farbe geht dann in Gelb über*). Weder Kreatin noch andere ähnliche Körper geben diese Reaction, wohl aber Aceton, bei dessen Anwesenheit die rote Farbe auf Zusatz von Essigsäure in Violett übergeht (S. 87). Dasselbe lässt sich auch vor Anstellung der Probe durch Kochen entfernen. In einer wässerigen Lösung gibt 0,287 p. M. Kreatinin noch diese charakteristische Färbung, im Menschenharn gibt sie noch 0,66 p. M. Kreatinin. Salkowski[3]) fand, dass die gelb gewordene Flüssigkeit nach Zusatz von Eisessig und Erhitzen sich erst grünlich, dann blau färbt (Berliner Blau); Colasanti[4]) empfiehlt Ameisensäure statt Essigsäure. (War die Reaction nur durch Aceton bedingt, so bildet sich kein Berlinerblau.)

2. Reaction von Jaffe[5]). Man versetzt die zu prüfende Lösung, z. B. Harn, mit etwas wässeriger Pikrinsäurelösung und einigen Tropfen verdünnter Natronlauge. Bei Anwesenheit von Kreatinin tritt sofort Rotfärbung (rotorange bis dunkelblutrot) ein; dieselbe nimmt in den nächsten Minuten zu und bleibt stundenlang unverändert. Sie fällt noch positiv aus bei Verdünnung von 1 auf 5000 Tl. Nur das Aceton zeigt auf Zusatz der genannten Reagentien in der Kälte eine schwach rötlich-gelbe Färbung, die indes mit der viel intensiveren rein roten Färbung durch Kreatinin nicht verwechselt werden kann.

3. Reaction von Maschke[6]). Sättigt man eine wässerige Lösung von Kreatinin mit Natriumcarbonat und fügt Fehling'sche Lösung hinzu, so entsteht bei gewöhnlicher Temperatur allmählich, schneller beim Erhitzen, weissliche Trübung, dann flockiger Niederschlag, während die blaue Färbung der Lösung abnimmt. Der weisse Niederschlag besteht aus Krea-

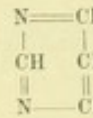
---

*) Kühlt man diese gelbe Flüssigkeit durch Eis, fügt Essigsäure bis zur neutralen oder schwach sauren Reaction hinzu und rührt tüchtig um, so scheidet sich ein weisser krystallinischer Niederschlag von der Zusammensetzung eines Nitrosokreatinins ab. Kramm, C. f. med. W. 1897. S. 785.

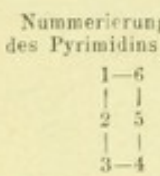
1) Worm-Müller, Pfl. A. **27**. 59. (1882.) Wörner a. a. O.
2) B. **11**. 2175. (1878.)
3) H.-S. **4**. 133. (1880.), **9**. 127. (1885.)
4) Gaz. chim. **17**. 133. (1887.)
5) H.-S. **10**. 399. (1886)
6) Z. f. anal. Ch. **17**. 134. (1878.)

tininkupferoxydul, ist leicht löslich in Wasser, verdünnter Salzsäure, auch in Ammoniak, schwer löslich in gesättigter Natriumcarbonatlösung. Eine Lösung, welche 0,01 g Kreatinin in 100 ccm enthält, gibt noch weisse Trübung. Kreatin gibt diese Reaction nicht.

Pyrimidinderivate.



126. Von Derivaten des Pyrimidins $C_4H_4N_2$ sind aus tierischen Geweben erhalten worden Uracil, Thymin und Cytosin, deren Constitution und Beziehungen zu einander sich aus folgenden Bezeichnungen ergeben:

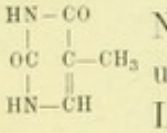


Uracil = 2. 6-Dioxypyrimidin
Thymin = 5-Methyluracil = 5-Methyl- „ „ „
Cytosin = 6-Amino- 2-Oxypyrimidin.

Sie sind nicht im freien Zustande vorhanden, sondern entstehen bei der Spaltung vieler Nucleinsäuren durch Säuren, auch bei der Autolyse der Organe. Das Uracil scheint erst sekundär aus Cytosin gebildet zu werden.

Sie haben eine Reihe gemeinsamer Eigenschaften. Sie sind alle in heissem Wasser leicht, in kaltem schwer löslich und zeigen das gleiche Verhalten gegen Silbernitrat und Ammoniak bezw. Barytwasser, d. h. sie werden aus ihrer silbernitrathaltigen Lösung durch Ammoniak und ebenso durch Barytwasser ausgefällt und dieser Niederschlag ist in überschüssigem Ammoniak löslich, in überschüssigem Barytwasser unlöslich. Dieses Verhalten, in dem sie mit dem Histidin übereinstimmen, dient zu ihrer Abscheidung. Die Trennung von Uracil und Thymin von Cytosin kann dadurch geschehen, dass letzteres im Gegensatz zu den beiden ersteren durch Phosphorwolframsäure gefällt wird.

Vorkommen.



127. **Thymin (5-Methyluracil)** $C_5H_6N_2O_2$ wurde zuerst von Kossel und Neumann[1]) bei der hydrolytischen Spaltung der Nucleinsäure aus Thymus und Milz dargestellt. Es ist ferner erhalten aus den Nucleinsäuren aus Lachsspermatozoen (Miescher-Schmiedeberg[2]), aus Störspermatozoen (Kossel[3]), Heringsspermatozoen (Gulewitsch[4]), aus Pankreas, Leber, Rinderhoden, Gehirn (Levene[5]), Darm (Inouye[6]), Milz, Milchdrüse, Niere (Mandel u. Levene[7]). Es liess sich nachweisen unter den Producten der Autolyse der Thymus (Kutscher[8]) und der Lymphdrüsen (Reh[9]), nicht unter denen der Pankreasautolyse (Kutscher u. Lohmann[10]).

Darstellung.

Synthetisch gewannen es E. Fischer und Röder[11]), indem sie aus Harnstoff und Methacrylsäure durch einstündiges Erhitzen auf 210—220°

1) B. **26**. 2753. (1893.), **27**. 2217. (1894.)
2) A. exp. P. u. Ph. **37**. 100. (1896.)
3) H.-S. **22**. 188. (1896/97.)
4) H.-S. **27**. 292. (1899.)
5) H.-S. **37**. 402. (1903), **39**. 4. (1903.), **39**. 133. (1903.), **39**. 479. (1903.)
6) H.-S. **46**. 201. (1905.)
7) H.-S. **46**. 155. (1905.), **47**. 140. (1906.)
8) H.-S. **34**. 114. (1902.)
9) B. Ph. P. **3**. 569. (1903.)
10) H.-S. **44**. 381. (1905.)
11) B. **34**. 3751. (1901.)

5-Methylhydrouracil darstellten und dieses durch Erhitzen mit Brom in Eisessig auf 100° in 5-Methylbromhydrouracil überführten. Aus letzterem entsteht durch verdünnte Natronlauge Thymin. Andere Synthesen sind von Wheeler u. Merriam[1]) und von Gerngross[2]) angegeben worden.

Darstellung aus Nucleinsäure.

Zur Darstellung aus Thymusnucleinsäure wird letztere 2 Stunden mit Wasser bei 170° erhitzt, die mit Schwefelsäure schwach angesäuerte Reactionsflüssigkeit mit Phosphorwolframsäure völlig ausgefällt (aus dem Niederschlag kann Cytosin erhalten werden, § 128), und das Filtrat mit Baryt stark alkalisch gemacht. Beim Eindampfen der durch Schwefelsäure vom Barytüberschuss befreiten und filtrierten Flüssigkeit scheidet sich das Thymin aus. Die Krystallisation wird durch Entfernung ätherlöslicher Spaltungsproducte begünstigt. Die Ausbeute beträgt ungefähr 8 pCt. (Kossel und Neumann[3]). Um sie aus Häringstestikeln zu gewinnen, werden je 250 g, schon vorher zur Entfernung des Protamins mit Säure extrahiert, mit 20 proc. Schwefelsäure versetzt, so dass ein dicker Brei entsteht und dann im Autoklaven 2 Stunden auf 150° erhitzt. Nach Verdünnen mit dem gleichen Vol. Wasser wird filtriert, mit fein pulverisiertem Baryt bis zur schwach, aber deutlich alkalischen Reaction versetzt, das Bariumsulfat abfiltriert, mit kochendem Wasser ausgewaschen und das Filtrat so mit Wasser verdünnt resp. eingeengt, dass das Vol. der Lösung für je 100 g trockner Testikel 500 ccm beträgt. Nachdem nun für eine kleine abgemessene Portion dieser Lösung nach schwachem Ansäuern mit Salpetersäure ermittelt ist, wie viel Cubikcentimeter einer 2 proc. Silbernitratlösung zugesetzt werden müssen, bis ein Tropfen der Flüssigkeit, in einen Ueberschuss von Barytlösung gebracht, keinen weissen, sondern einen gelben Niederschlag gibt, säuert man die ganze Menge mit Salpetersäure an und fügt zu je 500 ccm die berechnete Menge der 2 proc. Silbernitratlösung hinzu, filtriert ab, fügt Barytwasser bis zur schwach alkalischen Reaction hinzu, wäscht den entstandenen Niederschlag durch Dekantieren mit kaltem Wasser und saugt ihn ab. Jede Portion des Niederschlags zersetzt man sofort mit Schwefelwasserstoff unter Druck, filtriert, vereinigt die Filtrate, dampft zur Krystallisation ein und krystallisiert unter Zusatz von Tierkohle um (Jones[4]).

Eigenschaften.

Thymin ist in kaltem Wasser schwer (100 Tl. Wasser lösen bei 25° 0,404 Tl. Wheeler u. Merriam), in heissem leicht löslich, in Alkohol weniger leicht. Aus heissem Wasser krystallisiert es in sternförmig oder dendritisch gruppierten kleinen Blättchen, selten auch in kurzen Nadeln.

---

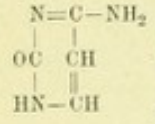
1) A. Ch. J. **29**. 478. (1903.)
2) B. **38**. 3408. (1905.)
3) B. **26**. 2753. (1893.), **27**. 2217. (1894.)
4) H.-S. **29**. 461. (1900.)
Ascoli, H.-S. **31**. 161. Anmkg. 4. (1900/01).

Ueber Krystallformen siehe Gulewitsch[1]). Trocken bildet es ein fettig seidenglänzendes Filzwerk. Bei vorsichtigem Erhitzen sublimiert es, ohne zu schmelzen, bei raschem Erhitzen schmilzt das ganz reine Präparat bei 321° unter Gasentwickelung (E. Fischer und Roeder). In heisser conc. Kalilauge gelöst, scheidet es sich beim Einengen als Thyminkalium $C_5H_7N_2O_3K$ aus. Mit Salzsäure und Salpetersäure gibt es keine Verbindungen. Bromthymin $C_5H_7N_2O_3Br$ krystallisiert und ist in Wasser viel leichter löslich als Thymin (Jones[2]). Dichlorthymin $C_5H_4N_2Cl_2$ bildet in Wasser fast unlösliche, in Alkohol, Aether leicht lösliche Krystalle (Steudel und Kossel[3]), Dimethylthymin in Chloroform, Aether, Alkohol lösliche Nadeln, Smp. 153° (Steudel[4]). Silbernitratlösung fällt Thymin nicht, aber nach vorsichtigem Zusatz von Ammoniak oder Barytwasser zu der Mischung entsteht ein in überschüssigem Ammoniak leicht löslicher, in überschüssigem Barytwasser unlöslicher, voluminöser Niederschlag. Quecksilbernitrat erzeugt voluminöse Fällung, durch Phosphorwolframsäure wird es nicht gefällt, kann aber unter Umständen mit in den Phosphorwolframsäureniederschlag hineingehen.

Umwandlungen. Durch Nitrierung des Thymins und nachfolgende Reduction mit Zinn und Salzsäure erhält man eine in feinen Nadeln krystallisierende Base, welche die Weidel'sche Reaction (S. 176) gibt. Durch Oxydation mit Bariumpermanganat entsteht Harnstoff (Steudel[5]).

Nachweis. Zum Nachweis benutzt man sein charakteristisches Verhalten gegen Silbernitrat und Ammoniak, seine Sublimierbarkeit und seine Fähigkeit Bromwasser zu entfärben. Eine Lösung von Thymin in Natronlauge färbt sich mit Diazobenzolsulfosäure rot (Steudel[6]).

Vorkommen. 128. **Cytosin (6-Amino-2-Oxypyrimidin) $C_4H_5N_3O$** wurde zuerst von Kossel und Neumann[7]) bei der hydrolytischen Spaltung der Nucleinsäure aus Thymus erhalten. Die richtige Formel wurde von Kossel und Steudel[8]) festgestellt. Es ist ferner erhalten worden aus den Nucleinsäuren aus Stör- und Heringstestikeln (Kossel und Steudel), aus Milz, Pankreas, Leber ,Rinderhoden, Gehirn (Levene[9]), Darm (Jnouye[10]), Milchdrüse, Niere (Mandel und Levene[11]), aus vegetabilischen Nucleinsäuren z. B. Hefenucleinsäure*) (Kossel und Steudel[12]).



*) Aus der Hefenucleinsäure isolierte Kutscher (H.-S. 38. 176) eine Base, welche vielleicht ein Diaminooxypyrimidin darstellt.

1) H.-S. **27**. 294. (1899.)
2) H.-S. **29**. 20. (1900.)
3) H.-S. **29**. 303. (1900.)
4) H.-S. **30**. 539. (1900.)
5) H.-S. **32**. 241. (1901.)
6) H.-S. **42**. 170. (1904.), **48**. 428. (1906.)
7) B. **27**. 2215. (1899.)
8) H.-S. **37**. 177 u. 377. (1903.)
9) H.-S. **37**. 402. (1903.), **39**. 4., **39**. 133, **39**. 479. (1903.)
10) H.-S. **46**. 201. (1905.)
11) H.-S. **46**. 155. (1905), **47**. 140. (1906.)
12) H.-S. **38**. 49. (1903.)

Synthetisch stellten Wheeler und Johnson[1]) das Cytosin dar, indem sie durch Condensation von Pseudoaethylthioharnstoffhydrobromid in alkalischer Lösung bei gewöhnlicher Temperatur mit Natriumformylessigester 2-Aethylmercapto-6-Oxypyrimidin erhielten und dieses über 2-Aethylmercapto-6-Chlorpyrimidin in 2-Aethylmercapto-6-Aminopyrimidin überführten, welches durch Kochen mit Bromwasserstoff (bromwasserstoffsaures) Cytosin gibt. Darstellung.

Zur Darstellung aus Nucleinsäuren z. B. Thymusnucleinsäure zersetzt man sie durch zweistündiges Kochen mit 20 proc. Schwefelsäure bei 150° und fällt mit Phosphorwolframsäure (aus dem Filtrat lässt sich Thymin gewinnen § 127). Der Niederschlag wird mit Baryt zersetzt und die von Barium befreite Flüssigkeit nach schwachem Ansäuern mit Salpetersäure mit starker Silbernitratlösung versetzt und die reichlich auftretende Fällung, welche Huminsubstanzen enthält, abfiltriert. Zu dem Filtrat setzt man weiter Silbernitratlösung, bis eine Probe in gesättigtem Barytwasser neben weissem Niederschlag braunes Silberoxyd fallen lässt. Darauf wird die ganze Flüssigkeit mit Baryt gesättigt, der Niederschlag abfiltriert, ausgewaschen und mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Aus der eingeengten Flüssigkeit krystallisiert Cytosin. Es kann auch als Platindoppelsalz isoliert werden (Kutscher[2]). Darstellung aus Nucleinsäure.

Statt dessen kann man auch nach der Hydrolyse die Schwefelsäure durch Baryt entfernen, das Ammoniak austreiben und nun bei schwach salpetersaurer Lösung mit Silbernitrat die Huminsubstanzen ausfällen und das Filtrat nach Zugabe genügender Menge Silbernitrat (siehe oben) mit Baryt sättigen. Die jetzt entstehende Fällung, die Cytosin, Thymin und Uracil enthalten kann, wird durch Schwefelwasserstoff bei Gegenwart von Schwefelsäure zersetzt und das Filtrat mit Phosphorwolframsäure ausgefällt. Die Fällung wird mit Baryt zersetzt und aus dem Filtrat die Base gewonnen (Kutscher[2]).

Kossel und Steudel[3]) verfuhren bei der Darstellung aus Störtestikeln in folgender Weise: Man kocht mit 20—30 proc. Schwefelsäure 12 Stunden, macht mit Baryt alkalisch, erhitzt zur Entfernung des Ammoniaks auf dem Wasserbad, filtriert, macht mit Schwefelsäure schwach sauer, dampft ein und versetzt bei Gegenwart von 3—4 pCt. freier Schwefelsäure mit Mercurisulfat in kleinen Mengen, solange eine sofortige Entstehung eines Niederschlags zu beobachten ist. Erfolgt in einer abfiltrierten Probe die Fällung auf weiteren Zusatz erst nach einigen Sekunden, so saugt man den ganzen Niederschlag schnell ab, versetzt das Filtrat mit einem Ueberschuss von Quecksilbersulfat und lässt 2—3 Tage stehen. Der jetzt auftretende zweite das Cytosin enthaltende Niederschlag wird durch Schwefelwasserstoff zerlegt und die Flüssigkeit nach Entfernung des Schwefelwasserstoffs durch

1) A. Ch. J. **29**. 492. (1903.)
2) H.-S. **38**. 170. (1903.)
3) H.-S. **38**. 49. (1903.)

Phosphorwolframsäure gefällt, der Niederschlag durch Baryt zerlegt, das Filtrat nach Entfernung des Bariums durch Kohlensäure eingedampft und der Rückstand mit kochendem Wasser aufgenommen. Zur weiteren Reinigung kann man nun das Silberverfahren von Kutscher (siehe oben) anwenden. Siehe auch die Originalarbeit.

Ein anderes Verfahren ist von Levene[1]) angegeben.

Eigenschaften. Cytosin krystallisiert in farblosen dünnen perlmutterglänzenden Plättchen mit 1 Mol. H_2O, das bei 100° entweicht. Bei 320—325° zersetzt es sich (Wheeler und Johnson). Er ist sehr schwer löslich in Wasser (1 in 129 bei 25° Wheeler und Johnson). Es bildet ein schwer lösliches basisches Sulfat $(C_4H_5N_3O)_2 . H_2SO_4$ und ein leicht lösliches saures $C_4H_5N_3O . H_2SO_4$, ferner $(C_4H_5N_3O)_4 . H_2SO_4$ (siehe auch Levene[2]) und Wheeler[3]). Pikrat $C_4H_5N_3O . C_6H_3N_3O_7$ hellgelbe glänzende Nadeln, die sich bei 255° bräunen, und bei 270° scharf schmelzen. (Nach Wheeler und Johnson[1]) ist der Schmelzpunkt des synthetischen C. nicht scharf, der Zersetzungspunkt bei etwa 300—305°.) Es ist schwer löslich, aber zur Isolierung aus unreinen Lösungen nicht geeignet. Pikrolonat $C_4H_5N_3O . C_{10}H_8N_4O_5$ entsteht beim Versetzen einer Lösung von 0,5 g C. in 100 ccm Wasser mit einer Lösung von 1 g Pikrolonsäure in ca. 350 ccm Wasser. Feine Nadeln oder Prismen Smp. c. 270—273° unter Aufbrausen, sehr wenig löslich in Alkohol (Wheeler und Johnson[4]). Platinchloriddoppelsalz $(C_4H_5N_3O)_2 . PtCl_4 . 2HCl$ sehr schwer löslich und zur Isolierung und Analyse geeignet. Weitere Salze und Derivate bei Kossel und Steudel[5]) und Wheeler und Johnson[6]).

Verbindungen: mit Schwefelsäure. mit Pikrinsäure. mit Pikrolonsäure. mit Platinchlorid.

mit Silber. Gegen Silbernitrat und Ammoniak sowie Barytwasser verhält es sich wie Thymin. Mischt man eine nicht zu verdünnte Lösung von Cytosin mit einigen Tropfen concentrierter neutraler Silbernitratlösung, dann beginnt nach einiger Zeit die Ausscheidung einer in schönen Nadeln krystallisierenden, in kaltem Wasser ziemlich schwer löslichen Doppelverbindung (Kutscher[7]).

Es wird aus schwefelsaurer Lösung langsam durch überschüssige Mercurisulfatlösung gefällt (Kossel und Steudel[8]), ebenso durch Phosphorwolframsäure (im Gegensatz zu Thymin und Uracil).

Umwandlungen. Durch salpetrige Säure wird es in Uracil umgewandelt, ebenso teilweise bei dreistündigem Erhitzen mit 20 proc. Schwefelsäure bei 150—170° (Wheeler und Johnson), durch Bariumpermangat zu Biuret und Oxalsäure oxydiert (Kossel und Steudel).

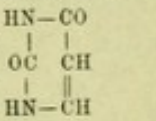
Nachweis. Es gibt die Weidelsche Reaction (S. 176). Wheeler und Johnson[9])

---

1) H.-S. **38**. 80. (1903.)
2) H.-S. **39**. 7. (1903.)
3) J. B. Ch. **3**. 285. Ref. C. C. 1907. 2. 1529.
4) J. B. Ch. **4**. 111., Ref. C. C. 1908. 1. 1467.
5) H.-S. **37**. 177 u. 377. (1903.)
6) A. Ch. J. **31**. 591. (1904.)
7) H.-S. **38**. 170. (1903.)
8) H.-S. **38**. 49. (1903)
9) J. B. Ch. **3**. 183. Ref. C. C. 1907. 2. 1087.

haben folgende Reaction angegeben: Versetzt man c. 5 ccm einer Lösung mit Bromwasser bis zur bleibenden Färbung (aber unter Vermeidung eines Ueberschusses), erwärmt, lässt abkühlen, fügt eventuell noch etwas Brom (so dass ein wenig überschüssiges Brom vorhanden ist) hinzu, und nun überschüssiges Barytwasser, so tritt fast augenblicklich Purpurfärbung auf. Sehr verdünnte Lösungen, welche die Probe nicht direkt geben, verdampft man zur Trockne, nimmt den Rückstand in etwas Bromwasser auf, entfernt das überschüssige Brom und setzt Barytwasser hinzu.

129. **Uracil (2,6-Dioxypyrimidin)** $C_4H_4N_2O_2$ wurde zuerst von Ascoli[1]) aus Hefenucleinsäure dargestellt. Es ist ferner erhalten aus Nucleinsäure aus Thymus und Heringsspermatozoen (Kossel und Steudel[2]), Pankreas (Levene[3]). Es bildet sich bei der Autolyse von Pankreas (Levene[4]), Lymphdrüsen (Reh[5]), Milz- und Thymusnucleoproteiden (Jones[6]). Es ist wohl in allen Fällen sekundär aus Cytosin entstanden. Vorkommen.



Synthetisch gewannen es E. Fischer und Röder[7]) aus Harnstoff und Acrylsäure nach dem § 127 beschriebenen Verfahren. Eine andere Synthese ist von Wheeler und Merriam[8]) angegeben. Zur Darstellung aus Hefenucleinsäure dient das Verfahren von Jones (§ 127). Darstellung.

Weisses krystallinisches Pulver von rosettenförmig angeordneten Nadeln, in heissem Wasser leicht, in kaltem schwer löslich, leicht löslich in Ammoniak, fast unlöslich in Alkohol und Aether. Vorsichtig erhitzt sublimiert es nur teilweise unzersetzt, z. Tl. entwickelt es rote Dämpfe oder es verkohlt. Gegen Silbernitrat und Barytwasser oder Ammoniak verhält es sich wie Thymin und Cytosin. Es wird durch Mercurinitrat gefällt, aber nicht durch Phosphorwolframsäure. Eigenschaften.

Die Weidelsche Reaction (S. 176) fällt positiv aus (Steudel), ebenso die Reaction von Wheeler und Johnson (§ 128), bei deren Ausführung aber eine Erwärmung nicht nötig ist. Noch 0,002 g geben eine deutliche rötlich blaue oder Lavendelfärbung. Nachweis.

130. **Orotsäure** $C_5H_4N_2O_4$, eine zweibasische Säure, wurde von Biscaro und Belloni[9]) aus den enteiweissten Molken durch basisches Bleiacetat ausgefällt und als krystallisierendes Mono-Kalisalz erhalten.

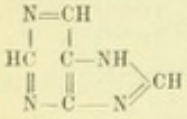
Während B. u. B. die Verbindung als ein Harnstoffderivat mit siebengliedrigem Ring ansehen, halten Wheeler, Johnson u. Johns[10]) für wahrscheinlicher, dass ein Pyrimidinderivat vorliegt. Die Formel ist die einer Uracilcarbonsäure. Die von W., J. u. J. dargestellte Uracil-5-Carbonsäure stimmt in einigen Eigenschaften mit der Orotsäure völlig überein, in andern weicht sie ab.

---

1) H.-S. **31**. 161. (1900/01.)
2) H.-S. **37**. 245. (1903.)
3) H.-S. **39**. 4. (1903.)
4) H.-S. **37**. 527. (1903.)
5) B. Ph. P. **3**. 569. (1903.)
6) H.-S. **42**. 35. (1904.)
7) B. **34**. 3751. (1901.)
8) A. Ch. J. **29**. 478. (1903.)
9) Ref. C. C. 1905. 2. 63 u. 64.
10) A. Ch. J. **37**. 392. Ref. C. C. 1907. 1. 1632.

Die freie Säure krystallisiert mit 1 Mol. H_2O, ist wenig löslich in Wasser, wenig löslich oder unlöslich in den organischen Lösungsmitteln, zersetzt sich bei 260°. Das ebenfalls krystallisierende Natronsalz ist in Wasser löslich, das Kalisalz $C_5H_3N_2O_4K$ ist wenig löslich in kaltem Wasser, unlöslich in Alkohol, Aether, Chloroform Das amorphe Silbersalz $C_5H_3N_2O_4Ag.H_2O$ ist in Wasser fast unlöslich. $C_5H_2N_2O_4Pb$, $(C_5H_3N_2O_4)_2Ba$, $C_5H_2N_2O_4Ba$ in Wasser wenig lösliche Salze. Monomethylester weisses in Wasser und Alkohol lösliches Krystallpulver, Smp. 248—250°, Monoaethylester Smp. 200°. Dichlorourotsäure $C_5H_4N_2O_3Cl_2 + H_2O$, aus siedendem Wasser als gelbe Nädelchen sich abscheidend, Smp. 115°. Bei der Oxydation mit Kaliumpermanganat entsteht Harnstoff.

Purinderivate.



131. Unter dem Namen Purinkörper fasst E. Fischer eine Gruppe von Verbindungen zusammen, die sich alle von dem Purin $C_5H_4N_4$ ableiten. Zu dieser Gruppe gehören von im tierischen Organismus gefundenen Stoffen die Harnsäure, die Nucleinbasen Xanthin, Hypoxanthin, Guanin und Adenin, das 1-Methylxanthin, Heteroxanthin, Paraxanthin, Epiguanin, Episarkin, Carnin, sowie die dem Pflanzenreich angehörenden Coffein, Theobromin, Theophyllin. Fast alle diese Körper können jetzt künstlich dargestellt werden. Die Synthese der meisten ist erst in neuerer Zeit von E. Fischer[1]) ausgeführt worden.

Nummerirung des Purins.

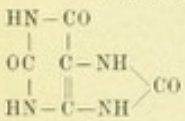
Die Constitution der genannten Purinkörper und ihre Beziehungen zu einander ergeben sich aus folgenden Bezeichnungen.

Harnsäure	=				2. 6. 8. Trioxypurin
Xanthin	=				2. 6. Dioxypurin
1. Methylxanthin	=			1. Methyl	„ „ „
Heteroxanthin	=	7. Methylxanthin	=	7. „	„ „ „
Theophyllin	=	1. 3. Dimethylxanthin	=	1. 3. Dimethyl	„ „ „
Paraxanthin	=	1. 7. „	=	1. 7. „	„ „ „
Theobromin	=	3. 7. „	=	3. 7. „	„ „ „
Coffein	=	1. 3. 7. Trimethylxanthin	=	1. 3. 7. Trimethyl	„ „ „
Hypoxanthin	=				6. Oxypurin
Guanin	=			2. Amino	„ „
Epiguanin	=	7. Methylguanin	=	7. Methyl	„ „ „
Adenin	=				6. Aminopurin.

Alle diese Verbindungen enthalten einen Alloxan- und einen Harnstoffkern und werden deshalb von Kossel und Krüger[2]) auch als Alloxurkörper (von Alloxan und Urea), die Basen als Alloxurbasen bezeichnet.

Harnsäure (2. 6. 8-Trioxypurin) $C_5H_4N_4O_3$.

Vorkommen.



132. Die Harnsäure ist besonders reichlich im Harne der Vögel, beschuppten Amphibien und der Insecten sowie anderer Avertebraten enthalten, in geringer Menge im Harne des Menschen und der meisten Säugetiere. Die Blasen- und Nierensteine bestehen oft fast ganz aus Harnsäure und harnsauren Salzen. Im normalen Hühnerblut ist Harnsäure von Meissner in Spuren nachgewiesen, reichlich findet sie sich nach Unterbindung der Ureteren im Blut, in den Lymphgefässen und auch in allen Organen von Vögeln und Schlangen. Im Blut der Säugetiere ist keine Harnsäure nachgewiesen. Im Blut gesunder Menschen wird sie meist vermisst, manchmal auch in geringer Menge gefunden. Fast immer findet sie sich im Blut bei Pneumonie, Nephritis,

1) Die Arbeiten finden sich zusammengestellt in: E. Fischer, Untersuchungen in der Puringruppe. Berlin, Springer 1907.

2) H.-S. **20**. 177. (1895.)

schwerer Anämie und Leukämie, schweren Herzfehlern, sowie bei Gicht. Bei letzterer Krankheit bildet sie oft Ablagerungen in den Gelenken und am Periost der Knochen, in den Nieren, der Leber und anderen Organen. In der Leber, Milz, den Lungen, dem Pancreas und Gehirn finden sich geringe Mengen davon beim Menschen und Rinde normal. In der Ascitesflüssigkeit bei Carcinom der Bauchhöhle wurde sie nachgewiesen. In menschlichen Faeces findet sie sich nicht, wohl aber im menschlichen Meconium. Bender fand Harnsäure im Gesichte, auf dem Magen und der Leber einer längere Zeit begraben gewesenen Leiche.

Darstellung: Synthetisch wurde sie erhalten aus Glykocoll und Harnstoff (Horbaczewski[1]) und aus Isodialursäure und Harnstoff (Behrend u. Roosen[2]), sowie am Einfachsten durch Erhitzen von Pseudoharnsäure mit Salzsäure (E. Fischer[3]).

aus Schlangenexcrementen. Man stellt die Harnsäure aus Guano, am Reinsten aus Schlangenexcrementen dar. Die letzteren werden mit verdünnter Natronlauge erhitzt, das Filtrat wird mit Kohlensäure gesättigt und das ausgeschiedene und abfiltrierte saure harnsaure Natron mit verdünnter Salzsäure gekocht. Die abgeschiedene Harnsäure filtriert man nach dem Erkalten ab und wäscht sie gut mit Wasser aus.

aus Harn. Zur Isolierung der Harnsäure aus dem Harn versetzt man ihn, wenn er frei von Eiweiss und nicht sehr verdünnt ist, mit Salzsäure und lässt 24 Stunden stehen; bei Gegenwart von Eiweiss bedient man sich besser der Essigsäure, doch ist es zweckmässiger, durch Kochen erst das Eiweiss zu coagulieren und die filtrierte, etwas eingedampfte Flüssigkeit dann mit Essigsäure zu versetzen. Verdünnte Harne werden vor dieser Behandlung zuerst auf ein kleines Volumen abgedampft und dann mit der Säure versetzt. Die Abscheidung ist keine quantitative, kann unter Umständen sogar ganz ausbleiben. Es ist wichtig, die etwa vorhandenen Sedimente zu beachten, häufig fällt im diabetischen Harne die ganze Harnsäure als sandiges, rotes Krystallpulver binnen kurzer Zeit aus und kann dann leicht übersehen werden. Wäscht man die nach 24 bis 48 stündigem Stehen abgeschiedenen Harnsäurekrystalle mit Wasser, dann mit Alkohol, so wird der Farbstoff möglichst entfernt und etwa beigemengte Benzoe- oder Hippursäure gelöst. Zur weiteren Reinigung kann man die Krystalle in wenig Natronlauge lösen und nun entweder mit Chlorammonium saures harnsaures Ammoniak fällen und dies nach dem Abfiltrieren mit Salzsäure zerlegen oder mit Tierkohle kochen und mit Salzsäure fällen. Auch durch alkoholische Pikrinsäurelösung (für 100 ccm Harn 25 ccm einer 5 proc. alkoh. Lösung) wird die Harnsäure zugleich mit Kreatinin (§ 158) aus dem Harn ziemlich vollständig gefällt. Der gewaschene und getrocknete Niederschlag wird mit verdünnter Salzsäure

1) M. **3**. 796. (1882.), **6**. 352. (1885.)
2) A. **251**. 235. (1888.) 3) B. **30**. 559. (1897.)

gekocht und der Lösung die Pikrinsäure durch Schütteln mit Aether entzogen; allmählich scheidet sich die Harnsäure aus (Jaffe[1]).

Krystallformen. Die Harnsäure bildet ein krystallinisches farbloses Pulver, wenn sie völlig rein ist; sie fällt jedoch aus allen durch Harnfarbstoff gefärbten Flüssigkeiten oder aus dem Extracte des Guano stets gelbrot bis braun gefärbt nieder, krystallisiert im unreinen Zustande besser als nach völliger Reinigung und wird durch Kohle sehr schwer entfärbt. Die Krystalle sind fast stets mikroskopische und zwar bilden sich durch Zusatz geringer Mengen Säure zur verdünnten Lösung z. B. zum menschlichen Harn, ebenso häufig beim Stehen des Harns allmählich rhombische Tafeln oder Säulen, oft mehrere in einander verwachsen, deren stumpfe Winkel meist stark abgerundet sind. Zuweilen zeigen sich spitzwetzsteinförmige, unvollkommene Krystalle. Ist die Harnsäure durch viel starke Säure schnell abgeschieden, so stellt sie vierseitige, gestreifte, oft treppenartig an einander gereihte Prismen mit ziemlich vertical zu den Prismenflächen aufgesetzter Endfläche dar.

Eigenschaften. Die Harnsäure, welche als zweibasische Säure auftritt, ist geschmack- und geruchlos, nicht flüchtig beim Erhitzen, sie löst sich bei 18° in reinem Wasser wie 1 : 39 500, noch weniger in normaler Salzsäure und normaler Schwefelsäure (His und Paul[2]), gar nicht in Alkohol oder Aether, sehr wenig in Ammoniak, aber leicht in Alkalilaugen, in wässerigen Lösungen einiger organischer Basen z. B. Diaethylendiamin (Piperazin). Sie löst sich ferner in wässerigen Lösungen neutraler borsaurer, phosphorsaurer, kohlensaurer, milchsaurer, selbst essigsaurer Alkalien (nicht in den Ammoniakverbindungen dieser Säuren), indem sie diesen Säuren einen Teil des Alkalis entzieht und saures harnsaures neben saurem borsaurem u. s. w. Alkali bildet. Durch Phosphorwolframsäure bei Gegenwart von Salzsäure wird die Harnsäure völlig gefällt, durch Bleiessig langsam. Die geringe Menge Harnsäure, welche in ammoniakalischer Flüssigkeit löslich ist, wird durch ammoniakalische Silberlösung nicht gefällt, wohl aber entstehen gelatinösflockige Niederschläge bei gleichzeitiger Gegenwart von Alkali oder Erdalkali- (z. B. Magnesia-)salzen. Dieselben sind Doppelverbindungen der Harnsäure mit Silber und diesen Metallen (Salkowski[3]). Auf diesem Verhalten beruht die quantitative Bestimmung der Harnsäure im Harn nach Ludwig-Salkowski (siehe „Untersuchung des Harns“). Versetzt man eine Lösung von Harnsäure in Natronlauge mit schwefelsaurem Kupferoxyd, so tritt besonders beim Erwärmen Reduction des Kupferoxyds zu Oxydul ein und es bildet sich ein weisser Niederschlag von harnsaurem Kupferoxydul, durch Zusatz von mehr Kupfersalz und Kochen erhält man freies Kupferoxydul. Beim

1) H.-S. **10**. 391. (1886.)
2) H.-S. **31**. 1 u. 64. (1900/01).
3) Pfl. A. **5**. 210. (1872.) Maly, Pfl. A. **6**. 201. (1872.)

Erhitzen ihrer Lösungen mit Kupfersulfat und Natriumbisulfit fällt Harnsäure ebenfalls als Kupferoxydulsalz aus; beim Erkalten wird die Abscheidung eine fast vollständige (Krüger[1]). Indigolösung wird durch Harnsäure in alkalischer Lösung schnell und reichlich entfärbt.

Salze:

Von den Salzen sind nur die neutralen Alkalisalze z. B. $C_5H_2K_2N_4O_3$ in Wasser leicht löslich, die sauren Alkalisalze und das (saure) Ammonsalz sind schwer löslich, die übrigen Salze sehr schwer löslich oder unlöslich. Eine Lösung von Harnsäure in Alkali wird durch anhaltendes Einleiten von Kohlensäure in der Kälte gefällt, der Niederschlag ist saures Alkalisalz. Diese Fällung durch Kohlensäure wird sehr behindert bezw. ganz aufgehoben bei Gegenwart von Thyminsäure oder Nucleinsäure (Goto[2]). Fügt man zu einer Lösung von Harnsäure in Alkalilauge einen Ueberschuss von Chlorammonium, so bildet sich alsbald oder nach einiger Zeit ein flockiger Niederschlag von harnsaurem Ammoniak.

saures harnsaures Ammoniak.

Saures harnsaures Ammoniak $C_5H_3(NH_4)N_4O_3$ ist häufig in Harnsedimenten, Blasen- und Nierensteinen enthalten, ebenso im Harne der Schlangen und Vögel. Dies Salz bildet entweder mikroskopische, an ihren Formen nicht erkennbare, jedoch eckig erscheinende Partikel oder Morgenstern-, Stechapfelformen, Kugel-, Keulen-, Rübenformen. Es löst sich in 1600 Teilen kaltem, viel leichter in warmem Wasser und ist in gesättigter Salmiaklösung völlig unlöslich.

saures harnsaures Natron.

Saures harnsaures Natron $C_5H_3NaN_4O_3$ bildet den Hauptbestandteil der meisten sogenannten Ziegelmehlsedimente (Sedimenta lateritia) und gleichfalls häufig den wesentlichen Bestandteil von Harnsteinen und Schlangenharn. Die weisse Masse des Harns der Vögel besteht dagegen nach Meissner in der Hauptsache aus freier Harnsäure. Die Formen dieses Salzes stimmen mit denen des harnsauren Ammoniaks völlig überein. Aus eingedampften Harnrückständen scheidet es sich stets in Kugeln und Knollen aus, welche denen des unreinen Leucins sehr ähnlich sind, aber dunklere Conturen haben. Es löst sich in 1100—1200 Teilen kaltem oder 125 Teilen kochendem Wasser und dieser bedeutende Unterschied in der Löslichkeit je nach der Temperatur bedingt die Ausscheidung des Salzes beim Erkalten des auch bei relativ grossem Gehalte davon klar gelassenen Harns. Die leichte Löslichkeit dieser Niederschläge beim Erwärmen des Harns dient zur Erkennung des sauren harnsauren Natrons.

saures harnsaures Kali.

Saures harnsaures Kali $C_5H_3KN_4O_3$, in jeder Beziehung dem Natronsalz ähnlich, findet sich gleichfalls meistens in Harnsedimenten, löst sich in etwa 800 Teilen kaltem und 70—80 Teilen kochendem Wasser. In den Harnsedimenten kommen auch harnsaure Alkalisalze vor, welche etwas mehr oder weniger Alkali als die oben beschriebenen haben[3]); ein Natronsalz, dem man die Formel

1) H.-S. **20**. 170. (1895.)
2) H.-S. **30**. 473. (1900.)
3) Bence Jones, C. C. 1862. S. 872, R. Maly, C. C. 1863. S. 581.

$C_5H_4N_4O_3 + C_5H_3NaN_4O_3$ geben könnte, findet sich in den arthritischen Ablagerungen auf den Gelenkknorpeln.

So wie die Harnsäure selbst haben auch ihre Salze grosse Neigung, Farbstoffe aus dem menschlichen Harne beim Ausfallen mit sich niederzureissen, während die Ablagerungen in den Gelenken schneeweiss erscheinen, ebenso sind die Ausscheidungen, wie sie im Harne und, nach Unterbindung der Ureteren, in den verschiedensten Organen der Vögel auftreten, schneeweiss.

Durch Essigsäure oder Salzsäure werden alle die erwähnten Salze leicht unter allmählichem Absatz krystallisierter Harnsäure zerlegt. Anwesenheit von Thyminsäure und Nucleinsäure behindert auch die Fällung durch Salzsäure (Goto, Minkowski[1]). Ueber Harnsäureverbindungen der Nucleinsäure siehe Seo[2]).

Umwandlungen. Beim Erhitzen zersetzt sich Harnsäure unter Bildung von Harnstoff, Cyanursäure, Ammoniumcarbonat, Blausäure und Hinterlassung von Kohle. Mit kaltgesättigter Jodwasserstoffsäure oder Salzsäure auf 170° erhitzt zerfällt sie zu Glykocoll, Ammoniak und Kohlensäure, mit conc. Schwefelsäure erhitzt liefert sie Ammoniak und Kohlensäure. Von heisser Salpetersäure wird sie unter Aufbrausen gelöst und zersetzt, mit verdünnter Salpetersäure oder Kaliumchlorat und Salzsäure abgedampft gibt sie beim Trocknen des Rückstandes einen roten Körper, welcher durch eine Spur Ammoniak schön purpurrot, durch Kali- oder Natronlauge prächtig violettblau gefärbt wird (purpursaures Ammoniak oder Murexid und purpursaures Kali oder Natron). Kalte, sehr starke Salpetersäure mit Harnsäure allmählich gesättigt gibt beim Stehen eine Krystallisation von Alloxan, verdünnte Salpetersäure bildet Alloxantin. Durch Kochen von Harnsäure mit viel Kali bildet sich Uroxansäure. Dieselbe Einwirkung erfolgt langsam in verdünnter Alkalilösung schon bei Bluttemperatur[3]). Bei der Oxydation von Harnsäure in alkalischer Lösung mit Kaliumpermanganat (ca. 62 pCt. der Harnsäure) erhält man, wenn sofort nach eingetretener Entfärbung abfiltriert und mit Essigsäure angesäuert wird, Allantoin, andernfalls Uroxansäure, die nach dem Eindampfen als Alkalisalz auskrystallisiert (Sundwik[4]). Die Zersetzung in Allantoin und Kohlensäure, welche unter Aufnahme von 1 Atom Sauerstoff und 1 Mol. Wasser vor sich geht, erfolgt durch Kaliumpermanganat auch bei Abwesenheit von Natronlauge (Claus[5]), sowie durch Einwirkung von Ferricyankalium, Kupferoxydhydrat und anderen oxydierenden Stoffen auf alkalische Lösung von Harnsäure; auch durch Eisenchlorid in höherer Temperatur wird wahrscheinlich unter Reduction des Eisenchlorids

1) Verhandl. d. 18. Congr. f. innere Med. Wiesbaden. 1900. S. 438.
2) A. exp. P. Ph. **58**. 75. (1908.)
3) Nencki und Sieber, J. f. pr. Ch. N. F. **24**. 498. (1881.)
4) H.-S. **20**. 335. (1895.), **41**. 343. (1904.)
5) B. **7**. 227. (1874.)

zunächst Allantoin, dann Harnstoff und Oxalsäure gebildet. Ebenso entsteht Harnstoff und Oxalsäure bei der Oxydation mit Kaliumpermanganat bei schwach alkalischer Reaction in der Wärme. Bei der Reduction der Harnsäure mit Chloroform und Natriumhydrat bildet sich Xanthin und Hypoxanthin (Sundwik[1]). Ein von Ulpiani[2]) isoliertes Bacterium zerlegt Harnsäure in Harnstoff und Kohlensäure. Eine Zersetzung der Harnsäure findet auch durch ein in manchen Organen (Niere, Leber, Muskel vom Rind, Leber vom Hund u. s. w.) vorhandenes (uricolytisches) Ferment statt (Schittenhelm[3]).

Dem Nachweis der Harnsäure muss ihre Isolierung vorangehen. Hat man nach einem der oben angegebenen Verfahren eine mehr oder weniger deutlich krystallinische Abscheidung erhalten, so prüft man sie in folgender Weise: Nachweis.

1. Form und Farbe der Krystalle unter dem Mikroskop. Die Harnsäurekrystalle sind fast immer gelb bis dunkelbraun gefärbt, ihre Formen dagegen sehr wechselnd, Wetzstein-, Tonnenformen, rhombische Tafeln, gestreifte Prismen u. s. w.

2. Murexidprobe. Man bringt ein wenig der Substanz auf einen Porzellantiegeldeckel oder in eine kleine Porzellanschale, fügt ein paar Tropfen Salpetersäure hinzu, erhitzt und verdampft dann bei mässiger Wärme unter Blasen zur völligen Trockne. Besteht die Masse aus Harnsäure, so löst sie sich in der Salpetersäure und gibt beim Abdampfen eine gelbliche, beim völligen Trocknen eine rote Masse, welche sich mit einem Tropfen Ammoniak prachtvoll purpurrot, mit einem Tropfen Alkalilauge blauviolett färbt. Jeder Ueberschuss von Ammoniak oder Alkalilauge ist ebenso zu vermeiden, wie zu starkes Erhitzen beim Abdampfen und Trocknen.

3. Probe von Denigès[4]). Man erhitzt einwenig mit wenig verdünnter Salpetersäure bis zum Aufbrausen (Bildung von Alloxan), verjagt vorsichtig die überschüssige Säure ohne bis zum Auftreten der Färbung zu trocknen und fügt zwei bis drei Tropfen conc. Schwefelsäure sowie einige Tropfen käuflichen (thiophenhaltigen) Benzols hinzu. Es entsteht blaue Färbung, welche nach Verdunsten des Benzols in Braun übergeht, dann auf Zusatz von Benzol wieder auftritt.

4. Zur Bestätigung lässt sich noch das Verhalten der Harnsäure gegen Natronlauge und gegen Ammoniak benutzen. Man löst eine nicht zu kleine Portion in wenig Natronlauge, filtriert, wenn etwas ungelöst blieb, versetzt das Filtrat mit Chlorammonium im Ueberschusse und lässt, wenn nicht sofort ein Niederschlag entsteht, einige Zeit stehen. Es wird sich, wenn

1) H.-S. **23**. 476. (1897.), **26**. 131. (1898/99.)
2) Gaz. chim. **33**. II. 93, Cingolani, **33**. 2. 98. (1903/04).
3) H.-S. **45**. 161. (1905.), wo auch ältere Literatur.
Schittenhelm u. Schmid, Z. exp. P. Th. **4**. 424 u. 432. (1907.)
4) J. de Ph. Ch. (5.) **18**. 161. (1888.)

die Flüssigkeit nicht ausserordentlich verdünnt ist, eine flockige Abscheidung von saurem harnsaurem Ammoniak bilden, die in Ammoniak nicht löslich ist und auf Zusatz von überschüssiger Salzsäure sich allmählich in Krystalle freier Harnsäure umwandelt.

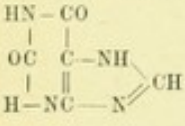
5. Auch das Verhalten der Harnsäure beim Erwärmen mit Natronlauge und wenig schwefelsaurem Kupferoxyd (siehe oben) kann man zur Bestätigung benutzen.

Nucleinbasen.

Vorkommen und allgemeine Reactionen.

133. Die Nucleinbasen (Xanthin, Guanin, Hypoxanthin, Adenin), deren Beziehungen zu den Nucleinstoffen von Kossel erkannt sind, zeigen eine allgemeine Verbreitung in den Geweben von Tieren und Pflanzen, werden aus allen entwickelungsfähigen Zellen, welche darauf untersucht sind, erhalten und sind zum Teil im freien Zustande in den Organen gefunden. Die Quantitäten, in denen sie präformiert gefunden werden, sind stets nur geringe, aber dieselben werden durch Behandlung der Organe in höherer Temperatur unter Einwirkung verdünnter Säuren gesteigert, indem durch Zerlegung der Nucleinsäuren weitere Mengen derselben frei werden. Hypoxanthin und Xanthin entstehen dabei in vielen Fällen erst sekundär aus Adenin und Guanin. Alle diese Nucleinbasen werden durch ammoniakalische Silberlösung als Silberverbindungen, durch Kochen mit Kupfersulfat und Natriumbisulfit als Kupferoxydulverbindungen (Drechsel, Krüger[1]), sowie durch Fällungsmittel für Basen z. B. Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdänsäure, Kaliumquecksilberjodid, Kaliumwismuthjodid, ferner durch Quecksilbersulfat in schwefelsaurer Lösung, durch Sublimat, Bleiessig und Ammoniak gefällt. Durch Oxydation mit Braunstein in essigsaurer Lösung werden sie nicht angegriffen im Gegensatz zu Harnsäure, welche dabei vollständig in das durch Kupfersulfat und Natriumbisulfit nicht mehr fällbare Allantoin übergeführt wird (Krüger und Schmid[2]).

Vorkommen.



134. **Xanthin (2. 6-Dioxypurin)** $C_5H_4N_4O_2$. Xanthin findet sich in weiter Verbreitung in den Geweben (§ 133). Zuerst in menschlichen Blasensteinen (die sehr selten, aber dann, wie es scheint, fast ausschliesslich aus Xanthin bestehen) aufgefunden, ist es in sehr kleiner Menge normalerweise im Harn vorhanden und in reinem Zustande zuerst von Krüger und Salomon[3]) aus ihm isoliert. Es findet sich auch in den Faeces.

Darstellung.

Synthetisch wurde es von E. Fischer[4]) aus Trichlorpurin*) entweder durch Verwandlung des Trichlorids mit Natriumaethylat in das 2. 6-Diäth-

*) Ueber die Darstellung des Trichlorpurins, das auch für die Synthese der andern Nucleinbasen dient, siehe E. Fischer, B. **30**. 2220 u. 2208. (1897.)

1) H.-S. **18**. 351. (1894.), **20**. 170. (1895.)

2) H.-S. **45**. 11. (1905.)

3) H.-S. **26**. 358. (1898/99.)

4) B. **30**. 2232. (1897.), **31**. 2562. (1898.)

oxy-8-chlorpurin, welches durch Jodwasserstoff in Xanthin übergeführt wird oder durch Ueberführung des Trichlorids in Dijodpurin mittelst Jodwasserstoff bei 0° und nachträgliche Verwandlung dieses Dijodkörpers in Xanthin durch Erhitzen mit Salzsäure dargestellt. Die Angabe von Gautier[1]), es neben Methylxanthin und anderen Stoffen beim Erhitzen von Blausäure mit Wasser und Essigsäure erhalten zu haben, bedarf sehr der Bestätigung. Man stellt es am Besten dar durch Einwirkung von Natriumnitrit auf Guanin in schwefelsaurer Lösung (Strecker, E. Fischer[2]). Ueber seine Isolierung aus Harn siehe § 144, aus Organen siehe „Untersuchung der Organe".

Eigenschaften.

Das Xanthin bildet in reinem Zustande ein farbloses Pulver, welches beim Reiben Wachsglanz annimmt; aus einer schwach alkalischen, sehr verdünnten, warmen Lösung scheidet es sich auf Zusatz von Essigsäure langsam in schönen, farblosen, makroskopischen Drusen ab, die mikroskopisch aus glänzenden rhombischen Blättchen bestehen. Die Krystalle enthalten 1 Mol. Wasser, das erst bei 125—130° entweicht (Horbaczewski[3]). In Wasser ist es sehr wenig löslich. Nach Almén[4]) löst sich 1 Teil bei 16° in 14 151 Teilen, bei 100° in 1300—1500 Teilen Wasser. In Alkohol oder Aether ist es unlöslich. In Alkalilauge, auch in Ammoniak löst es sich leicht, beim Verdunsten der ammoniakalischen Lösung scheidet sich das Xanthin in Gruppen von Krystallblättchen aus. In kalter, verdünnter Salpetersäure ist es schwer löslich, ebenso in kalter, verdünnter Salzsäure, in dieser etwas leichter beim Erwärmen. Das salzsaure Xanthin bildet kleine Prismen, die sich mit Wasser zersetzen, auch das schwefelsaure Salz verliert Schwefelsäure bei der Behandlung mit Wasser.

Verbindungen: mit Salz- und Schwefelsäure.

mit Silber.

Die concentrierte Lösung von Xanthin in Ammoniak wird von ammoniakalischer Lösung von salpetersaurem Silber gefällt; der gallertig flockige Niederschlag hat die Zusammensetzung $C_5H_4N_4O_2 . Ag_2O$. In heisser Salpetersäure löst sich dieser Niederschlag und beim Erkalten scheidet sich, wenn die Lösung verdünnt ist, nur sehr langsam das salpetersaure Xanthinsilberoxyd $C_5H_4N_4O_2 . AgNO_3$ in stark lichtbrechenden, kugligen Aggregaten kleiner Nadeln aus. Die Verbindung ist in Salpetersäure schwer löslich.

Andere Verbindungen.

Ueber die Verbindung mit Diazobenzolsulfosäure siehe Burian[5]). In der ammoniakalischen Lösung rufen Chlorzink oder Chlorcalcium Niederschläge hervor. Die wässerige wird durch essigsaures Kupferoxyd erst beim Kochen in gelbgrünen Flocken, durch Sublimat schon bei gewöhnlicher Temperatur gefällt, noch bei 30 000 facher Verdünnung entsteht Trübung. Vergl. auch § 133.

Methylierung.

Aus dem Xanthin entsteht durch Methylierung (Erhitzen von Xanthin-

---

1) B. s. ch. de Paris. **42**. 142. (1884.)
2) A. **215**. 309. (1882.)
3) H.-S. **23**. 226. (1897.)
4) J. pr. Ch. **96**. 98. (1865.)
5) B. **37**. 696. (1904.)

blei mit Jodmethyl auf 100°) Theobromin (E. Fischer[1]), aus dem Theobromin durch weitere Methylierung Coffein (Strecker[2]).

Umwandlungen. Beim Erwärmen mit chlorsaurem Kali und Salzsäure zerfällt es in Alloxan und Harnstoff (E. Fischer). Mit starker Salzsäure im geschlossenen Rohr über 200° erhitzt, zersetzt es sich in Ammoniak, Kohlensäure, Ameisensäure (resp. Kohlenoxyd und Wasser) und Glykocoll (E. Schmidt[3]). Ein in verschiedenen Organen vorhandenes Ferment vermag bei Gegenwart von Sauerstoff Xanthin zu Harnsäure zu oxydieren.

Nachweis. Zum Nachweis dienen folgende Reactionen:

1. Xanthinprobe. Mit Salpetersäure abgedampft gibt eine Probe Xanthin einen gelben Rückstand, der durch Natronlauge rot und dann beim Erhitzen purpurrot gefärbt wird.

2. Weidel'sche Probe*). Kocht man eine kleine Menge von Xanthin mit frischem Chlorwasser oder Salzsäure und wenig chlorsaurem Kali, verdunstet dann auf dem Wasserbad zur Trockne und bringt den weissen oder schwach gelben Rückstand unter einer Glasglocke in eine Ammoniakathmosphäre, so färbt er sich in kurzer Zeit dunkelrosenrot (Murexidreaction[4]).

3. Bringt man auf einem Uhrglase etwas Chlorkalk in Natronlauge, rührt um und trägt eine Probe Xanthin ein, so bildet sich um die Körnchen desselben zuerst ein dunkelgrüner, bald sich braun färbender Hof, der dann wieder verschwindet.

In zweifelhaften Fällen, besonders zur sichern Unterscheidung von synthetischen Producten empfiehlt E. Fischer[5]) die Umwandlung in Bromxanthin und Bromcoffein.

4. Eine Lösung in verdünnter Natronlauge färbt sich auf Zusatz von etwas Diazobenzolsulfosäure rot (Burian[6]).

Vorkommen. 135. **Guanin (2-Amino-6-Oxypurin) $C_5H_5N_5O$.** Guanin findet sich in weiter Verbreitung in den Geweben (§ 133). Ausserdem ist es der hauptsächliche Bestandteil der Excremente von Spinnen und in wechselnder, aber nicht bedeutender Menge im Peruguano vorhanden. Im menschlichen Harne ist es bis jetzt nicht mit Sicherheit nachgewiesen, aber in menschlichen Fäces. Häufig treten körnige Ablagerungen von Guanin in den Muskeln kranker Schweine, ebenso in ihren Gelenken und Bändern auf (Virchow[7]). Guanin findet sich als irisierende Krystalle in den Fischschuppen und der

*) Diese Reaction stammt, wie E. Fischer nachgewiesen hat, nicht von Weidel. B. **30**. 2236. (1897.)

1) A. **215**. 311. (1882.)
2) A. **118**. 170. (1861.)
3) A. **217**. 308. (1883.)
4) Kossel, H.-S. **6**. 426. (1882), E. Fischer a. a. O.
5) B. **31**. 2563. (1898.)
6) B. **37**. 696. (1904.)
7) Virch. A. **35**. 358. (1866.), **36**. 147. (1866.)

Fischblase (Voit[1]), auch im Retinaepithel von Fischen ist es reichlich gefunden. Die Ophthalmolithen von delle Chiaje in verschiedenen Fischen enthalten Guaninkalk wie die weissen Krystalle der Fischschuppen usw.[2]).

Darstellung. Die synthetische Darstellung gelang E. Fischer[3]) durch Umwandlung von Trichlorpurin durch Erhitzen mit Kalilauge in 6-Oxy-2 . 8-Dichlorpurin, Ueberführung dieses letzteren durch Erhitzen mit alkoholischem Ammoniak in Chlorguanin und Reduction des Chlorguanins durch Jodwasserstoff. Eine andere Synthese von der Cyanessigsäure aus hat Traube[4]) angegeben.

Darstellung aus Guano. Um aus dem Peruguano Guanin zu gewinnen, kocht man denselben mit verdünnter Kalkmilch aus, so lange die abfiltrierte Flüssigkeit noch gefärbt erscheint, und darauf mit Sodalösung, so lange diese etwas aufnimmt. Beim Uebersättigen der filtrierten Flüssigkeit mit Essigsäure scheidet sich das Guanin mit etwas Harnsäure aus. Der entstandene Niederschlag wird mit verdünnter Salzsäure zum Kochen erhitzt, filtriert und im Filtrate das Guanin durch Ammoniak gefällt. Auch die Schuppen von Alburnus lucidus sind ein geeignetes Material zur Darstellung von Guanin (Bethe, Burian u. Hall[5]). Ueber die Isolierung des Guanins aus Organen siehe „Untersuchung der Organe".

Eigenschaften. Das Guanin bildet ein farbloses, gewöhnlich amorphes, in Wasser, Alkohol, Aether unlösliches, in Ammoniak schwer lösliches Pulver. In Alkalien löst es sich leicht, ebenso in Mineralsäuren, auch in verdünnten. Versetzt man eine sehr verdünnte, warme Lösung von Guanin in Lauge mit ungefähr $^1/_3$ Volumen Alkohol und überschüssiger Essigsäure, so scheidet es sich in ziemlich grossen, makroskopischen, krystallwasserfreien Drusen (mikroskopisch den Kreatininchlorzinkkrystallen ähnlich) aus (Horbaczewki[6]). Es verbindet sich mit Basen, ebenso mit Säuren, und zwar mit einem oder zwei Aequivalenten. Die Salze zerlegen sich im Allgemeinen leicht in wässeriger Lösung.

Verbindungen: mit Platinchlorid. Das einfach salzsaure Salz bildet eine Doppelverbindung mit Platinchlorid. Das Sulfat $(C_5H_5N_5O)_2 . H_2SO_4$ krystallisiert mit 2 Mol. Wasser, mit Schwefelsäure. die bei 120° entweichen und unterscheidet sich dadurch von dem ihm sehr ähnlichen Sulfat des synthetischen 6-Amino-2-Oxypurins, das mit einem bei 120° nicht entweichenden Mol. Wasser krystallisiert (E. Fischer[7]). (Letzteres ist zwar bisher im Körper nicht gefunden, könnte aber als Oxydationsproduct des Adenins wohl vorkommen.) Durch Metaphosphorsäure m. Metaphosphorsäure.

1) Zeitschr. für wissenschaftl. Zool. **15**. 4. Heft. 1865 u. Bethe, H.-S. **20**. 472. (1895.)

2) Kühne und Sewall, Unters. a. d. physiol. Inst. zu Heidelberg. Tl. 3. S. 221. (1880.) Krukenberg und Ewald, Ebendas. Tl. 4. S. 253. (1881.)

3) B. **30**. 2251. (1897.)

4) B. **33**. 1371. (1900.)

5) H.-S. **38**. 385. (1903.)

6) H.-S. **23**. 226. (1897.)

7) B. **30**. 2247. (1897.)

wird Guanin fast quantitativ gefällt als $C_5H_5N_5O \cdot HPO_3 + xH_2O$. Diese Verbindung ist im Gegensatz zu den meisten anderen Salzen des Guanins, die leicht dissociieren, sehr beständig und in Wasser und verdünnten Säuren äusserst wenig löslich (Wulff[1]). (Hypoxanthin wird nicht gefällt, Adenin-

mit Pikrinsäure. metaphosphat löst sich im Ueberschuss des Fällungsmittels.) Pikrinsäure ruft auch in noch sehr verdünnten Lösungen von Guaninsalzen je nach der Verdünnung sofort oder allmählich einen Niederschlag goldgelber, in kaltem Wasser fast unlöslicher Krystalle $C_5H_5N_5O \cdot C_6H_3N_3O_7 + H_2O$ hervor (Capranica[2]), Wulff). (Adenin gibt eine ähnliche Fällung, Xanthin und Hypoxanthin geben leicht oder leichter lösliche Pikrate.) In einer Lösung

mit Pikrolonsäure. von Guanin in Normalnatronlauge ruft Pikrolonsäure einen Niederschlag hervor, der aus Wasser umkrystallisiert der Formel $C_5H_5N_5O \cdot 2\,C_{10}H_8N_4O_5$ entspricht (Levene[3]).

mit Silber. Versetzt man eine heisse mit Pikrinsäure versetzte Lösung eines Guaninsalzes, bevor sich das Guaninpikrat abscheidet, mit Silbernitrat, so bildet sich sofort ein citronengelber, amorpher Niederschlag $C_5H_4AgN_5O \cdot C_6H_3N_3O_7 + 1\,1/2\,H_2O$ (Wulff). Durch Silbernitrat wird Guanin in salpetersauren Lösungen gefällt als $C_5H_5N_5O \cdot AgNO_3$, in kalter Salpetersäure fast unlöslich, in kochender schwer löslich, sich beim Erkalten in Nadeln ausscheidend.

Andere Verbindungen. Ferricyankalium in conc. Lösung gibt mit sehr verdünnten Guaninsalzlösungen prismatische Krystalle von gelbbrauner Farbe, die in warmem Wasser löslich sind (Capranica, Wulff). (Xanthin und Hypoxanthin geben keinen Niederschlag.) Auf Zusatz von Kupfersulfat und Natriumhyposulfit fällt es schon in der Kälte als Kupferoxydulverbindung (Krüger[4]). Vergl. auch § 133. Ueber weitere Verbindungen des Guanins siehe Wulff a. a. O., über die Verbindung mit Diazobenzolsulfosäure Burian[5]).

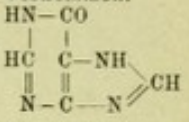
Umwandlungen. Salpetrige Säure wandelt es in Xanthin um, ebenso Fäulnis (Schindler[6]). Ein in verschiedenen Organen vorhandenes Ferment vermag Guanin in Xanthin überzuführen. Durch Salzsäure und Kaliumchlorat wird es zu Kohlensäure, Parabansäure und Guanidin umgewandelt. Mit starker Salzsäure im Rohr erhitzt, erfährt es die gleiche Zersetzung wie Xanthin (Wulff[7]).

Nachweis. Nachweis. Das Guanin gibt die Xanthinprobe (siehe S. 176), nur mit dem Unterschied, dass die Färbung braunrot und beim Erhitzen mehr blauviolett ist, ferner die Reaction mit Diazobenzolsulfosäure (S. 176). Zur Unterscheidung von Xanthin und Hypoxanthin dient das beschriebene Verhalten gegen Pikrinsäure und Ferricyankalium (Reactionen von Capranica),

1) H.-S. **17**. 468. (1893.)
2) H.-S. **4**. 233. (1880.)
3) B. Z. **4**. 320. (1907.)
4) H.-S. **18**. 355. (1894.)
5) B. **37**. 696. (1904.)
6) H.-S. **31**. 441. (1889.)
7) H.-S. **17**. 473. (1893.)

zur Unterscheidung von Hypoxanthin und Adenin das Verhalten gegen Metaphosphorsäure. Zur Erkennung unter dem Mikroskop eignet sich das salzsaure Salz, welches in langen, büschelförmig angeordneten Krystallen anschiesst, sowie das Verhalten dieser Krystalle in polarisiertem Licht[1]).

136. **Hypoxanthin (Sarkin, 6-Oxypurin)** $C_5H_4N_4O$. In den Geweben kommt es in weiter Verbreitung vor (§ 133). Im normalen Harn finden sich geringe Mengen (Salomon[2]), ebenso in den Fäces. Vorkommen.



Synthetisch wurde es von E. Fischer[3]) durch Ueberführung des Trichlorpurins mittelst Alkali in 6-Oxy-2 . 8-Dichlorpurin und Reduction dieses Körpers mit Jodwasserstoff erhalten. Man gewinnt es durch Einwirkung von Kaliumnitrit auf Adenin in schwefelsaurer Lösung (Kossel[4]). Ueber die Isolierung aus Harn siehe § 144, aus Organen siehe „Untersuchung der Organe". Darstellung.

Es bildet farblose, mikroskopische Krystalle, löst sich nach E. Fischer bei 19° in etwa 1400 Tl. Wasser, in etwa 70 Tl. kochendem Wasser, fast gar nicht in Alkohol. In selbst sehr verdünnter Alkalilauge, Ammoniak und verdünnten Mineralsäuren wird es leicht gelöst, auch in conc. Schwefel- oder Salpetersäure. Es verbindet sich mit Basen, Säuren oder Salzen zu teilweise gut krystallisierenden Körpern. Eigenschaften.

In verdünntem Barytwasser gelöst gibt es bei Zusatz von conc. Barytlösung einen krystallinischen Niederschlag $C_5H_4N_4O \,.\, Ba(OH)_2$. Das salzsaure Salz $C_5H_4N_4O \,.\, HCl + H_2O$ scheidet sich beim raschen Eindampfen in kleinen, wetzsteinförmigen Krystallen, beim langsamen Verdunsten in glashellen Krystallen ab. Ebenso wie die übrigen Salze des Hypoxanthins zersetzt es sich beim Umkrystallisieren. Fügt man zu der heissen Lösung des salzsauren Salzes Platinchlorid, so krystallisiert beim Erkalten das Platindoppelsalz $(C_5H_4N_4O \,.\, HCl)_2 \,.\, PtCl_4$ aus. In heisser verdünnter Salpetersäure gelöstes Hypoxanthin scheidet sich beim Erkalten in wetzsteinförmigen Krystallen $C_5H_4N_4O \,.\, HNO_3 + H_2O$ ab, die in Wasser leicht, in Salpetersäure schwer löslich sind (Krüger und Salomon[5]). Aus Hypoxanthinlösungen scheiden sich auf Zusatz von Pikrinsäure je nach Concentration der Lösung schneller oder langsamer gelbe, glänzende tafelförmige Krystalle von Hypoxanthinpikrat mit 1 Mol. Wasser ab, die in Wasser im Verhältnis von 1 : 400 bis 500 löslich sind (Wulff[6]), Krüger und Salomon[7]). Verbindungen: mit Bariumhydroxyd. mit Salzsäure. mit Platinchlorid. mit Salpetersäure. mit Pikrinsäure.

Beim Zusammenbringen einer siedenden Lösung von Hypoxanthinpikrat mit neutralem oder nur schwach saurem salpetersaurem Silber bildet sich mit Silber.

---

1) Behrens, Schiefferdecker u. Kossel, Das Mikroskop etc. 1889. S. 280.
2) H.-S. **11.** 410. (1889.)
3) B. **30.** 2227. (1397.)
4) H.-S. **10.** 258. (1886.) Krüger, H.-S. **18.** 444. (1894.)
5) H.-S. **26.** 362. (1898/99.)
6) H.-S. **17.** 505. (1893.)
7) H.-S. **24.** 386. (1898.)

ein citronengelber Niederschlag von Hypoxanthinsilberpikrat $C_5H_3AgN_4O \cdot C_6H_3N_3O_7$, der das Hypoxanthin fast quantitativ enthält (Bruhns[1]). Versetzt man Hypoxanthinlösungen mit ammoniakalischer Silberlösung in der Siedetemperatur, so entsteht ein Niederschlag von der Zusammensetzung $C_5H_2Ag_2N_4O + H_2O$, der mehrere Stunden bei 120° getrocknet in die Verbindung $C_5H_2Ag_2N_4O + \frac{1}{2} H_2O$ übergeht.. Durch Silbernitrat allein werden wässerige Hypoxanthinlösungen ebenfalls gefällt, aber der entstehende Niederschlag hat keine constante Zusammensetzung, sondern stellt ein wechselndes Gemenge der Verbindungen $C_5H_4N_4O \cdot AgNO_3$ und $C_5H_4N_4O \cdot 2\,AgNO_3$ dar. Behandelt man dasselbe mit Ammoniak (auch in der Kälte geht die Einwirkung leicht vor sich), so entsteht die Verbindung $C_5H_2Ag_2N_4O + 3\,H_2O$ und fügt man bei der Behandlung gleich überschüssiges Silbernitrat hinzu und trocknet bei 120°, so bildet sich quantitativ die ganz constant zusammengesetzte Verbindung $C_5H_2Ag_2N_4O + \frac{1}{2} H_2O$ (Bruhns).

Andere Verbindungen.

Die Verbindungen mit Zinkoxyd und Quecksilberoxyd sind in Wasser unlöslich; beim Versetzen einer Hypoxanthinlösung mit Quecksilberchlorid im Ueberschuss ensteht ein schwerer Niederschlag von der Zusammensetzung $C_5H_3N_4OHg_2Cl_3 + H_2O$ oder $\frac{1}{2} H_2O$ (Bruhns). Beim Kochen mit essigsaurem Kupfer erhält man Hypoxanthinkupferoxyd als graubraunen Niederschlag. Durch Kupfersulfat und Natriumhyposulfit werden selbst 0,5 proc. Lösungen in der Kälte nicht gefällt (Krüger[2]). Ueber die Verbindung mit Diazobenzolsulfosäure siehe Burian[3]). Durch basisch essigsaures Blei wird reines Hypoxanthin nicht gefällt, aber durch Bleiacetat und Ammoniak. Vergl. auch § 133. Ueber weitere Verbindungen und Substitutionsproducte siehe bei Krüger[4]). Mit Aetznatron und Aethylchlorocarbonat behandelt gibt das Hypoxanthin das Urethan desselben (Kossel[5]). Beim Zusammenbringen von gleichen Teilen von Hypoxanthin und Adenin in heisser wässeriger Lösung scheiden sich beide Körper mit einander verbunden als schleimige, später kreideartige Masse aus (Bruhns).

Umwandlungen.

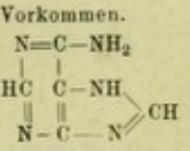
Mit schmelzendem Kali auf 200° erhitzt liefert das Hypoxanthin Blausäure und Ammoniak (Kossel[6]). Ein in verschiedenen Organen vorhandenes Ferment vermag bei Gegenwart von Sauerstoff Hypoxanthin zu Xanthin und Harnsäure zu oxydieren.

Nachweis.

Nachweis. Die Xanthinprobe und die Weidel'sche Probe (S. 176) fallen negativ aus, dagegen gilt eine von Kossel für das Adenin angegebene Reaction auch für das Hypoxanthin, siehe S. 183. Die Reaction mit Diazobenzolsulfosäure (S. 176) fällt bei Vermeidung eines Alkaliüberschusses positiv aus (Burian[7]).

1) H.-S. **14**. 533. (1890.)
2) H.-S. **18**. 355. (1894.)
3) B. **37**. 696. (1904.)
4) H.-S. **18**. 423. (1894.)
5) H.-S. **16**. 1. (1892.)
6) H.-S. **6**. 429. (1882.)
7) H.-S. **51**. 425. (1907.)

137. **Adenin (6-Aminopurin)** $C_5H_5N_5$. Es kommt in weiter Verbreitung in den Geweben vor (§ 133). Zuerst wurde es von Kossel[1]) aus dem Pancreas gewonnen. In kleinen Mengen ist es im Harn vorhanden (Krüger und Salomon[2]), ebenso in den Fäces. Vorkommen.



Synthetisch wurde es von E. Fischer[3]) durch Ueberführung des Trichlorpurins durch Erhitzen mit Ammoniak in 6-Amino-2.8-Dichlorpurin und Reduction dieses Körpers mit Jodwasserstoff erhalten. Zu seiner Darstellung benutzt man am besten Teelauge (Krüger[4]). Ueber seine Isolierung aus Harn siehe § 144, aus Organen siehe „Untersuchung der Organe". Darstellung.

Adenin bildet farblose, lange, nadelförmige Krystalle mit 3 Mol. Krystallwasser oder wasserfreie, wetzsteinförmige Krystalle; die ersteren werden schon beim Liegen an der Luft, schneller beim Erwärmen undurchsichtig. Bringt man einige Krystalle in eine zur Lösung ungenügende Menge Wasser und erwärmt langsam, so sieht man bei 53° plötzlich Trübung der Krystalle auftreten (charakteristische Reaction). Es sublimiert bei 220° und zersetzt sich bei 250° teilweise. Beim raschen Erhitzen im Capillarrohr schmilzt es plötzlich bei 360—365° unter starker Gasentwickelung, nachdem vorher leichte Bräunung eingetreten war. Es löst sich bei Zimmertemperatur in 1086 Teilen Wasser, leicht in heissem Wasser; die wässerige Lösung reagiert neutral. Es ist unlöslich in Aether, Chloroform, löslich in Eisessig, etwas löslich in heissem Alkohol. In Mineralsäuren, auch in Essigsäure wird es leicht gelöst, ebenso in Kali- oder Natronlauge, bei der Neutralisation fällt es wieder aus. In wässerigem Ammoniak ist es leichter löslich als Guanin, schwerer als Hypoxanthin. Mit sehr verdünnter Ammoniaklösung auf dem Wasserbade erwärmt geht es völlig in Lösung. Wird eine saure Lösung von Adenin mit kohlensaurem Natron übersättigt, so scheidet es sich ausserordentlich langsam aus. Es verbindet sich mit Säuren, Basen und mit Salzen. Eigenschaften.

Die schwefelsaure, salzsaure und salpetersaure Verbindung krystallisieren und zwar die erstere mit 2 Mol., die übrigen mit je $^1/_2$ Mol. Krystallwasser. Das Sulfat löst sich in 153 Tl. Wasser, das Chlorhydrat in 41,9, das Nitrat in 110,6 Tl. Wasser. Sulfat und Chlorhydrat können umkrystallisiert werden, ohne dabei wie die entsprechenden Verbindungen des Verbindungen: mit Schwefel-, Salz- u. Salpetersäure.

---

1) H.-S. **10**. 250. (1886.), **12**. 241. (1888.)
Thoiss u. Kossel, H.-S. **13**. 395. (1889.)
Schindler, H.-S. **13**. 432. (1889.)
Bruhns, H.-S. **14**. 533. (1890.)
Bruhns u. Kossel, H.-S. **16**. 1. (1892.)
Krüger, H.-S. **16**. 160 u. 329. (1892.), **18**. 423. (1894.)
Wulff, H.-S. **17**. 468. (1893.)
2) H.-S. **24**. 364. (1898.)
3) B. **30**. 2238. (1897.)
4) H.-S. **21**. 274. (1895/96.)

mit Metaphosphorsäure. Hypoxanthins und des Guanins ihre Säure zu verlieren. Das aus neutralen und schwach sauren Lösungen durch Metaphosphorsäure ausgefällte amorphe Adeninmetaphosphat löst sich in einem grösseren Ueberschuss der Säure (Wulff). Aus verdünnten Lösungen von salzsaurem Adenin fällt Platinchlorid nach einiger Zeit gelbe Nadeln $(C_5H_5N_5 . HCl)_2 . PtCl_4$. Kocht man eine Lösung dieses Salzes längere Zeit, so fällt ein gelbes Pulver $C_5H_5N_5 . HCl . PtCl_4$ aus, welches in kaltem Wasser sehr wenig löslich ist. Setzt man zu einer Lösung von salzsaurem Adenin Goldchlorid, so scheidet sich Adeningoldchlorid $C_5H_5N_5 . (HCl)_2 . AuCl_3 + H_2O$ zum Teil in blattförmigen Aggregaten, zum Teil in würfelförmigen oder prismatischen Krystallen oft mit abgestumpften Ecken und von ansehnlicher Grösse ab. Dieser Niederschlag ist zur Erkennung, auch zur mikroskopischen, gut geeignet, weil die anderen Nucleinbasen keine derartigen krystallinischen Goldverbindungen geben. Aus conc. Lösung von salzsaurem Adenin fällt auf Zusatz von Goldchlorid ein Golddoppelsalz von anderer Zusammensetzung in gelben, nadelförmigen Krystallen aus (Krüger und Salomon[1]). Das Oxalat scheidet sich in voluminösen, rundlichen Massen ab und unterscheidet sich hierdurch sowie durch sein geringes Lösungsvermögen von den entsprechenden Salzen des Hypoxanthins, Xanthins und Guanins. Wässerige Adeninlösungen werden (bei Abwesenheit von Natriumphosphat) durch Pikrinsäure gefällt, der Niederschlag besteht aus büschelförmig gruppierten Nadeln, die 1 Mol. Krystallwasser enthalten, und beim Umkrystallisieren aus heissem Wasser sich als dunkelgelbe, wasserfreie, makroskopische Prismen abscheiden (Krüger und Salomon[1]). Die Löslichkeit in Wasser, auf wasserfreies Salz berechnet, ist 1 : 3500. Sonach eignet sich diese Verbindung sowohl zum Nachweis des Adenins wie zur quantitativen Bestimmung und zur Trennung von Hypoxanthin, für letzteren Zweck aber nur dann, wenn man einen Ueberschuss des Fällungsmittels vermeidet, das Adeninpikrat alsbald nach der Fällung abfiltriert und die Hypoxanthinlösung nicht zu concentriert ist (Wulff). Auch alkoholische Pikrolonsäurelösung ruft in Adeninsulfatlösung einen Niederschlag hervor, der aus heissem Wasser umkrystallisiert der Formel $C_5H_5N_5 . C_{10}H_8N_4O_5$ entspricht und bei 265° schmilzt (Levene[2]).

mit Platinchlorid. mit Goldchlorid. mit Oxalsäure. mit Pikrinsäure. mit Pikrolonsäure.

mit Silber. Adeninpikrat in heisser Lösung gibt mit salpetersaurem Silber einen Niederschlag von Adeninsilberpikrat $C_5H_4AgN_5 . C_6H_3N_3O_7 + H_2O$. Versetzt man eine ammoniakalische Adeninlösung mit ammoniakalischer Silberlösung, so entsteht ein Niederschlag von der Zusammensetzung $C_5H_4AgN_5$, wenn die Quantität des hinzugefügten Silbers ungefähr einem Atom Silber auf ein Mol. Adenin entspricht, von der Zusammensetzung $C_5H_3Ag_2N_5 + H_2O$ hingegen, wenn beträchtlicher Silberüberschuss angewandt wird. Löst man Adeninsilber in heisser Salpetersäure, so scheiden

1) H.-S. **24**. 393. (1898.) 2) B. Z. **4**. 320. (1907.)

sich beim Erkalten nadelförmige Krystalle aus, welche keine constante Zusammensetzung haben und offenbar Gemenge von $C_5H_5N_5 . AgNO_3$ und $C_5H_5N_5 . 2AgNO_3$ sind.

Andere Verbindungen.

Die wässerige Lösung des Adenins gibt einen Niederschlag mit alkoholischer Chlorzinklösung, ebenso mit Quecksilberchlorid und zwar entsteht in der Hitze eine weisse, körnige Fällung von $C_5H_4N_5HgCl$, in der Kälte eine weisse, flockige Fällung $C_5H_4N_5Hg_2Cl_3$; Niederschläge entstehen ferner mit Quecksilbernitrat, Kupfersulfat, Cadmiumchlorid, Ferro- und Ferrikaliumcyanid nach Zusatz von Essigsäure. Kupfersulfat und Natriumhyposulfit fällen Adenin noch aus sehr verdünnter Lösung in der Kälte als Kupferoxydulverbindung (Krüger[1]). Basisches Bleiacetat gibt keine Fällung, ebenso wenig Bleiacetat und Ammoniak. Vergl. auch § 133. Ueber eine Verbindung mit Diazobenzolsulfosäure siehe Burian[2]).

Umwandlungen.

Gegen Säuren und Alkalien, auch gegen Oxydationsmittel ist das Adenin sehr widerstandsfähig. Durch salpetrige Säure ebenso durch Fäulnis bei Luftabschluss (besonders auch durch Bact. coli) wird es in Hypoxanthin übergeführt. Auch ein in verschiedenen Organen vorhandenes Ferment vermag Adenin in Hypoxanthin umzuwandeln. Beim Erhitzen mit Kali im Oelbade auf 200° bildet sich reichliche Menge von Blausäure. Bei der Reduction mit Zink und Salzsäure auf dem Wasserbade geht es in einen Körper über, der höchst wahrscheinlich Azulminsäure ist. Mit Salzsäure im zugeschmolzenen Glasrohr auf 180—200° erhitzt zerfällt es in Ammoniak, Kohlensäure, Ameisensäure und Glykocoll.

Nachweis.

Zum Nachweis dienen folgende Reactionen. Die Xanthinprobe (S. 176) und die Weidel'sche Probe (S. 176) sind negativ, die Reaction mit Diazobenzolsulfosäure (S. 176) bei Vermeidung eines Alkaliüberschusses positiv (Burian). Folgendes von Kossel beobachtete Verhalten ist charakteristisch. Adenin wird eine halbe Stunde im Reagensglase mit Zink und Salzsäure im Wasserbad erwärmt; während dessen tritt eine vorübergehende schöne Purpurfärbung auf (E. Fischer); die filtrierte und mit Natronlauge stark alkalisch gemachte Flüssigkeit färbt sich beim Stehen an der Luft langsam, schneller beim Schütteln anfangs rubinroth, später braunroth (Azulminsäure). Hypoxanthin gibt dieselbe Reaction (nur sind die Farbenerscheinungen schwächer), Guanin nicht. Zur Erkennung kann auch das Verhalten der Krystalle beim Erwärmen (siehe oben) und das mikroskopische Verhalten des Golddoppelsalzes benutzt werden.

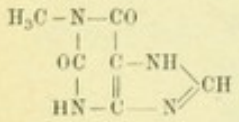
Methylderivate des Xanthins und Guanins.

138. 1-Methylxanthin, Heteroxanthin, Paraxanthin, Epiguanin und Episarkin sind fast ausschliesslich im Harn gefunden und

1) H.-S. **18**. 355. (1894.)
2) B. **37**. 696. (1904.), **51**. 425. (1907.)

vermutlich als Umwandlungsproducte mit der Nahrung (Kaffee, Tee, Kakao) eingeführter Purinkörper (Coffein, Theobromin u. a.) aufzufassen. Coffein, Theobromin, Theophyllin, 3-Methylxanthin sind im Harn von Menschen, Hunden und Kaninchen nur nach Eingabe grösserer Dosen Coffein resp. Theobromin oder Theophyllin gefunden worden.

Vorkommen.



139. **1-Methylxanthin** $C_6H_6N_4O_2$ wurde von Krüger und Salomon[1]) im menschlichen Harn, in dem es in kleiner Menge vorkommt, entdeckt und findet sich auch im Harn von Kaninchen nach Eingabe von Paraxanthin und Coffein (Krüger[2]). Nach Okerblom[3]) soll es bei der Autolyse der Nebennieren auftreten.

Synthetisch ist es noch nicht dargestellt. Ueber die Isolierung aus Harn siehe § 144.

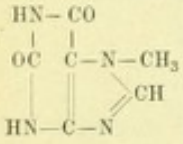
Eigenschaften.

Es scheidet sich aus Wasser als farbloses Krystallpulver (mikroskopische, gleichförmige Rosetten) ab, beim Eindampfen seiner salzsauren oder ammoniakalischen Lösungen in lockeren Massen von irisierendem Glanze. Am besten krystallisiert es aus essigsaurer Lösung und zwar in dünnen, sechsseitigen, seltener vierseitigen Blättchen (Krüger[4]). In kaltem Wasser ist es schwer löslich, aber erheblich leichter als Xanthin; leicht löslich in Ammoniak und Natronlauge, verdünnten Säuren, auch in Salpetersäure (Unterschied von Xanthin). Es bildet keine schwerlösliche Natriumverbindung wie Heteroxanthin, kein schwer lösliches Barytsalz wie 3-Methylxanthin. Das salzsaure Salz krystallisiert in schönen, glasglänzenden, rhombischen Blättchen und Säulen. Die Salze werden ebenso wie Xanthin- und Heteroxanthinsalze durch Wasser leicht dissociiert. Golddoppelsalz glänzende rhombische Säulen, Chloroplatinat sternförmig gruppierte Nadeln oder Prismen. Durch Ammoniak und Silbernitrat wird es gelatinös gefällt. Das 1-Methylxanthinsilbernitrat scheidet sich aus Salpetersäure in zu Rosetten vereinigten Nädelchen aus, genau wie die entsprechende Xanthinverbindung und ist auch wie diese in Salpetersäure schwer löslich. Kupfersulfat und Natriumbisulfit fällen schon in der Kälte, Kupfersulfat und Thiosulfat nur in der Wärme die Kupferoxydulverbindung. Bei der Methylierung geht es in Theophyllin und Coffein über.

Nachweis.

Nachweis. Die Xanthinprobe (S. 176) fällt positiv aus, auf Zusatz von Natronlauge tritt eine Orangefärbung ein, die Weidel'sche Reaction (S. 176) ebenfalls positiv[5]).

Vorkommen.



140. **Heteroxanthin (7-Methylxanthin)** $C_6H_6N_4O_2$ wurde zuerst von Salomon[6]) aus Menschenharn, dann auch aus Hundeharn gewonnen. Nach Bresler[7]) findet es sich auch im Saft der Zuckerrübe. Eingegebenes Theobromin[8]) erscheint im Harn von Menschen, Hunden und Kaninchen (Bondzynski und Gottlieb[8]), eingegebenes Coffein (Krüger[9]) im Harn von Kaninchen z. Th. als Heteroxanthin.

Synthetisch wurde es von E. Fischer[10]) aus Theobromin gewonnen. Ueber die Isolierung aus Harn siehe § 144.

---

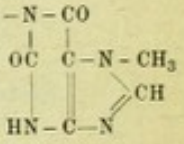
1) H.-S. **24**. 364. (1898), **26**. 350. (1898/99.)
2) B. **32**. 2680 u. 3336. (1899.)
3) H.-S. **28**. 60. (1899.)
4) B. **33**. 3665. (1900.)
5) Näheres über diese Reaction H.-S. **24**. 382. (1898.)
6) B. **18**. 3407. (1885.), H.-S. **11**. 412. (1887.)
Salomon u. Neuberg, Salkowski-Festschrift. Berlin, Hirschwald. 1904. S. 37.
7) H.-S. **41**. 535. (1904.)
8) A. exp. P. u. Ph. **36**. 45. (1895.)
Krüger u. Schmidt, B. **32**. 2677. (1899.)
A. exp. P. u. Ph. **45**. 259. (1901.)
9) B. **32**. 3336. (1899.)
10) B. **30**. 2400, (1897.)

Es ist ein weisses Pulver, krystallisiert in zu Rosetten vereinigten Nädelchen. Beim raschen Erhitzen im Capillarrohr beginnt es über 360° zu sintern und sich zu färben und schmilzt erst gegen 380° unter Gasentwicklung. Es löst sich sehr schwer in kaltem, viel leichter in heissem Wasser (1 Tl. in 142 Tl.) mit neutraler Reaction, ist unlöslich in Alkohol oder Aether, leicht löslich in Ammoniak und in überschüssiger, heisser Salzsäure; es gibt mit Salzsäure eine in langen Nadeln krystallisierende, schwer lösliche Verbindung, die schon durch kaltes Wasser zersetzt wird. Noch schwerer löslich ist das salpetersaure Salz, welches aus 10proc. Salpetersäure ziemlich schnell auskrystallisiert. Auf Zusatz von Platinchlorid zur salzsauren Lösung entsteht ein krystallisierendes Doppelsalz. Löst man salzsaures Heteroxanthin in erwärmter verdünnter Natronlauge, so scheiden sich nach dem Erkalten glitzernde Krystalle aus, meist schiefwinklige Tafeln (häufig Zwillingskrystalle) von Heteroxanthinnatrium (lufttrocken mit 5 Mol. Wasser). Die heisse wässerige Lösung scheidet beim Durchleiten von Kohlensäure oder auf Zusatz von Essigsäure Heteroxanthin krystallinisch aus. Sowohl salpetersaure als ammoniakalische Lösungen werden durch salpetersaures Silber gefällt, die Niederschläge lösen sich leicht beim Erwärmen schon in sehr verdünnter Salpetersäure und aus der Flüssigkeit scheidet sich nach dem Einengen salpetersaures Heteroxanthinsilber in kleinen, rhombischen Blättchen und Prismen ab. Diese Verbindung ist in Salpetersäure schwer löslich, aber leichter als die entsprechende Xanthinverbindung. Durch Kupfersulfat und Natriumbisulfit wird es als Kupferoxydulverbindung gefällt, bei schwachem Erwärmen auch aus sehr verdünnter Lösung, durch Kupfersulfat und Natriumthiosulfat erst beim Erwärmen. Kupferacetat, Phosphorwolframsäure, basisches Bleiacetat und Ammoniak, Quecksilberchlorid schon in geringer Menge rufen Niederschläge hervor. Pikrinsäure gibt keinen Niederschlag. Eigenschaften.

Beim Erhitzen mit conc. Salzsäure im zugeschmolzenen Rohr auf 180—200° zerfällt es in Kohlensäure, Kohlenoxyd, Ammoniak und Sarkosin und durch Einwirkung von Methyljodid in alkoholischer Kalilauge entsteht Coffein. Umwandlungen.

Nachweis. Die Xanthinprobe (S. 176) fällt negativ, die Weidel'sche Probe (S. 176) dagegen positiv aus. Das Verhalten gegen Natronlauge ist auch zum mikroskopischen Nachweis kleinster Mengen reiner Base geeignet. Nachweis.

141. **Paraxanthin (1. 7-Dimethylxanthin) $C_7H_8N_4O_2$.** Dieser mit Theobromin und Theophyllin isomere Körper ist von Thudichum[1]), ausserdem von Salomon[2]) aus menschlichem Harn gewonnen und besonders von Salomon näher untersucht worden. Die im Harn vorkommenden Mengen sind äusserst gering. Eingegebenes Coffein (Krüger[3]) erscheint im Harn von Kaninchen und Hunden z. Tl. als Paraxanthin. Vorkommen.



Synthetisch wurde es von E. Fischer[4]) dargestellt. Ueber die Isolierung aus Harn § 144.

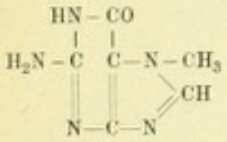
Dasselbe wurde in farblosen, glänzenden, wasserfreien Krystallen, meist sechsseitigen Tafeln, die in Büscheln und Rosetten angeordnet sind, erhalten; zuweilen krystallisiert es auch mit Wasser. Es schmilzt bei 295—296° und gibt bei stärkerem Erhitzen weisse Dämpfe mit Isonitrilgeruch. Es ist in kaltem Wasser viel leichter als Xanthin und seine übrigen Homologen löslich, noch leichter löslich in heissem Wasser (in ungefähr 24 Tl.) Eigenschaften.

---

1) Annals of Chemical Med. London 1879. **1.** 160.
2) B. **16.** 195. (1883.), **18.** 3406. (1885.), Z. f. k. M. Supplbd. **7.** 63. H.-S. **11.** 410. (1887.), **15.** 319. (1891.), Virch. A. **125.** 554. (1891.) Kossel, H.-S. **13.** 302. (1889.)
3) B. **32.** 2818 u. 3336. (1899.)
4) B. **30.** 2400. (1897.), **31.** 2622. (1898.)

mit neutraler Reaction, unlöslich in Alkohol und Aether, dagegen löslich in Ammoniak, Salzsäure und Salpetersäure. In concentrierter Lösung fällt Natronlauge Paraxanthinnatrium in langen glänzenden, teils isolierten, teils in Büscheln gruppierten Tafeln; werden dieselben in Wasser gelöst und diese Lösung neutralisiert, so scheidet sich Paraxanthin krystallinisch aus. Ebenso kommt es zu einer krystallinischen Ausscheidung von Paraxanthin, wenn man die Krystalle von Paraxanthinnatrium in Lösungen von sauren Salzen oder Ammoniaksalzen einträgt. In ammoniakalischer Lösung wird Paraxanthin durch salpetersaures Silber flockig oder gelatinös gefällt und diese Niederschläge, in heisser Salpetersäure gelöst, scheiden sich beim Erkalten in Krystallbüscheln ab. Pikrinsäure gibt in salzsauren Lösungen krystallinischen Niederschlag, Platinchlorid gibt orangefarbiges Doppelsalz*). Kupferacetat, Phosphorwolframsäure, basisches Bleiacetat und Ammoniak sowie Quecksilberchlorid im Ueberschuss geben Niederschläge, salpetersaures Quecksilber nicht. Durch Erwärmen mit Jodmethyl in alkoholischer Lösung geht es in Coffein über (E. Fischer).

Nachweis. Nachweis. Die Xanthinprobe (S. 176) fällt negativ, die Weidel'sche Probe (S. 176) positiv aus; ausserdem ist das Verhalten gegen Natronlauge charakteristisch.



142. **Epiguanin (7-Methylguanin)** $C_6H_7N_5O$ wurde von Krüger und Wulff[1]) im menschlichen Harn entdeckt.

E. Fischer[2]) stellte es synthetisch dar. Ueber die Darstellung aus Harn siehe § 144.

Eigenschaften. Es krystallisiert aus Wasser in feinen Nadeln, aus ammoniakhaltigem Wasser in glänzenden, prismatischen Krystallen; lufttrocken stellt es eine verfilzte Masse von mattem Seidenglanz dar. In kaltem Wasser fast unlöslich, in heissem schwer löslich, desgleichen in Ammoniak, leicht löslich in verdünnter Natronlauge, Salzsäure und Schwefelsäure, schwer in verdünnter Salpetersäure. Aus der Lösung in heisser, starker Natronlauge krystallisiert die Natriumverbindung in breiten, glänzenden Nadeln. Das Pikrat (zur Identificierung geeignet) krystallisiert in Blättchen oder zu Büscheln vereinigten Nadeln, löst sich in ungefähr 2700 Tl. Wasser von 18°, beginnt bei etwa 253° zu sintern und zersetzt sich bei 257° unter Gasentwicklung. Chloroplatinat sechsseitige, orangerote Prismen. Wässerige Lösungen werden durch Ammoniak und Silbernitrat gelatinös, durch Kupfersulfat und Natriumbisulfit schon in der Kälte, durch Kupfersulfat und Natriumthiosulfat erst in der Wärme gefällt, durch Bleiacetat, basisches Bleiacetat, Bleiacetat und Ammoniak nicht gefällt. Durch salpetrige Säure wird es in Heteroxanthin verwandelt.

Nachweis. Nachweis. Die Xanthinprobe (S. 176) fällt positiv aus, aber sehr viel weniger intensiv, als beim Xanthin, die Weidel'sche Probe (S. 176) ebenfalls positiv. Ausserdem sind die Natriumverbindung und das Pikrat charakteristisch.

Episarkin. Unter diesem Namen beschreibt Balke[3]) einen von ihm aus menschlichem Harn isolierten Körper, der in kaltem Wasser fast unlöslich, in heissem Wasser schwer löslich ist und in glasglänzenden Nadeln krystallisiert. In Salzsäure ist es leicht löslich; mit Silbernitrat gibt es einen in Salpetersäure unlöslichen, in Ammoniak ziemlich leicht löslichen Niederschlag, durch ammoniakalischen Bleiessig wird es gefällt, durch Pikrinsäure nicht gefällt. Der Körper ist vielleicht identisch mit Epiguanin, vergl. darüber Krüger und Salomon[4])

*) Ueber die Krystallformen siehe Krüger u. Salomon, H.-S. **24**. 376. (1898.)

1) A. f. A. u. Ph. Ph. A. 1894. S. 553.
Krüger u. Salomon, H.-S. **24**. 387. (1898.), **26**. 389. (1898/99.)

2) B. **30**. 2411. (1897.)

3) J. f. pr. Ch. N.-F. **47**. 563. (1893.)
Salomon, H.-S. **18**. 207. (1894.)

4) H.-S. **26**. 394. (1898/99.)

Nachweis. Die Xanthinprobe (S. 176) fällt negativ, die Weidel'sche Probe (S. 176) positiv aus.

---

143. **Carnin $C_7H_8N_4O_3$** wurde von Weidel[1]) im Fleischextract gefunden. Nach Krukenberg und Wagner[2]) ist es in den Muskeln einiger Süsswasserfische und im Froschfleische vorhanden. Sein Vorkommen im Harn ist bisher nicht bewiesen. v. Lippmann[3]) wies es im Rübensaft nach. Vorkommen.

Zur Darstellung aus Fleischextract nach Weidel fällt man die wässerige Lösung mit Barytwasser und das Filtrat mit Bleiessig aus. Der abfiltrierte Bleiniederschlag wird mit Wasser ausgekocht, das heisse Filtrat durch Einleiten von Schwefelwasserstoff und Filtration von Blei befreit und auf ein kleines Volumen eingedampft. Beim Erkalten scheidet sich das Carnin zuweilen schon als krümliger, noch sehr gefärbter Krystallschlamm aus. Die event. filtrierte Flüssigkeit wird mit einer conc. Silbernitratlösung ausgefällt, der Niederschlag, welcher Chlorsilber und Carninsilberoxyd enthält, mit Wasser gewaschen, durch nicht zu viel Ammoniakflüssigkeit vom Chlorsilber befreit und in heissem Wasser zerteilt. Leitet man nun Schwefelwasserstoff ein, filtriert heiss und dampft ein, so scheidet sich das Carnin ab; beim Entfärben mit Tierkohle bleibt ein Teil in dieser zurück. Ausbeute ungefähr 1 pCt. des Fleischextracts. Darstellung.

Das Carnin bildet kreideweisse, feine und unregelmässig begrenzte krystallinische Massen, welche bei 230° sich bräunen und bei 239° verkohlen. Es löst sich schwer in kaltem, leicht in heissem Wasser, ist nicht löslich in Alkohol oder Aether. Die wässerige Lösung reagiert neutral, wird nicht gefällt durch neutrales essigsaures Blei, Pikrinsäure, salpetersaures Quecksilber, wohl aber von basischem Bleiacetat, wenn die Lösung nicht neutrales Bleisalz enthält. Eine Lösung von Carnin in warmer, starker Salzsäure liefert beim Erkalten bald glasglänzende Nadeln von salzsaurem Carnin; löst man diese Nadeln in warmem Wasser, so scheiden sie sich zuerst als schlammiger Niederschlag aus, der allmählich wieder jene Nadeln liefert. Platinchlorid bewirkt in der salzsauren Lösung goldgelben, krystallinischen Niederschlag $C_7H_8N_4O_3 \cdot HCl \cdot PtCl_4$. (Krukenberg und Wagner erhielten makroskopische Octaeder). Salpetersaures Silber fällt Carnin flockig weiss, der Niederschlag ist unlöslich in Salpetersäure und in Ammoniak und besteht aus $(C_7H_7AgN_4O_3)_2 \cdot AgNO_3$ mit 41,73 pCt. Silbergehalt. Aus einer Lösung in Alkali wird es durch Fehling'sche Lösung und salzsaures Hydroxylamin als Kupferoxydulsalz gefällt (Balke[4]). Eigenschaften.

---

1) A. **158**. 353. (1871.)
2) Sitzungsber. d. Würzburger phys. med. Gesellsch. 1883. S. 58.
3) B. **29**. 2645. 1896.
4) J. f. pr. Ch. N. F. **47**. 547. (1893.)

Umwandlungen. Durch Kochen mit Barytwasser wird Carnin nicht zersetzt, auch nicht beim Erhitzen mit concentriertem Jodwasserstoff. Behandelt man eine heisse Lösung von Carnin mit gesättigtem Bromwasser, so zeigt sich unter Entfärbung Gasentwickelung und nach überschüssig zugesetztem Bromwasser erhält man nach dem Abdampfen und Erkalten bromwasserstoffsaures Hypoxanthin als weisses Krystallmehl. $C_7H_8N_4O_3 + Br_2 = C_5H_4N_4O \,.\, HBr + CH_3Br + CO_2$.

Nachweis. Für den Nachweis besonders geeignete Reactionen sind nicht bekannt, auch die Weidel'sche Probe (S. 176) fällt bei reinem Carnin negativ aus.

Darstellung von Purinbasen (Alloxurbasen) aus Harn nach Krüger und Salomon[1]).

144. Der Harn*) wird siedend heiss mit Natriumbisulfit und Kupfersulfat ausgefällt, der Niederschlag abfiltriert, mit heissem Wasser gewaschen und mit Wasser erwärmt. Man macht mit Ammoniak schwach alkalisch, dann mit Salzsäure stark sauer, leitet Schwefelwasserstoff ein und filtriert heiss. Die Hauptmenge der Harnsäure bleibt auf dem Filter. Das salzsaure Filtrat wird durch möglichst wenig Tierkohle entfärbt und auf dem Wasserbade möglichst weit eingedampft, zum Schluss bei niederer Temperatur und unter häufigem Umschwenken der Schale oder besser während Darüberleitens eines kräftigen Luftstromes. Die im syrupösen Rückstande noch reichlich vorhandene Salzsäure wird durch zweimaliges Eindampfen mit Wasser und schliesslich durch Eindampfen mit 96 proc. Alkohol der Hauptmenge nach entfernt, bis die Masse grobpulverig geworden ist. Dieselbe wird mit Wasser bei 40° digeriert, nach mehrstündigem Stehen abfiltriert, mit Wasser salzsäurefrei, dann mit Alkohol und Aether gewaschen. Das Filtrat kann noch einmal eingedampft und in derselben Weise behandelt werden; jedoch bleibt beim Digerieren mit Wasser nur ein geringer Rückstand, der mit dem ersten vereinigt wird.

Der ungelöste Teil (Xanthinfraction) besteht aus Xanthin, Heteroxanthin und 1-Methylxanthin, in die wässerige Lösung (Hypoxanthinfraction) gehen über: Epiguanin, Adenin, Hypoxanthin und Paraxanthin, sowie eine geringe Menge von Heteroxanthin und 1-Methylxanthin.

a) **Xanthinfraction**: Trennung von Heteroxanthin, Xanthin und 1-Methylxanthin. Das Gemenge dieser Basen wird in der fünfzehnfachen Menge 3,3 proc. salzsäurefreier Natronlauge heiss gelöst. Innerhalb 24 Stunden scheidet sich das Natriumsalz des Heteroxanthins in reinem Zustande und fast vollständig aus. Je 60 ccm des auf 60° er-

*) Da der Gehalt des Harns an Purinbasen ein sehr geringer ist, verwendet man mindestens 300 Liter. Dieselben werden zunächst in einzelnen Portionen ausgefällt. Dann findet eine Vereinigung und gemeinsame Weiterverarbeitung statt.

1) H.-S. **26**. 373. (1898/99) u. persönliche Mitteilung von Herrn M. Krüger.

wärmten Filtrates werden in ein (vorher aufgekochtes) kaltes Gemisch aus 20 ccm concentrierter Salpetersäure und 20 ccm Wasser langsam und unter Umrühren eingetragen. Hierbei wird der Rest der Harnsäure, welcher mit den Alloxurbasen in Lösung gegangen war (vergl. oben), zerstört und innerhalb mehrerer Stunden scheidet sich beim Stehen in der Kälte salpetersaures Xanthin aus. Erweist sich dasselbe unter dem Mikroskope noch nicht als rein, so neutralisiert man je 3 g des lufttrocknen Rohproductes unter wenig Wasser mit Natronlauge, erwärmt, löst das freie Xanthin durch mehr Lauge, verdünnt auf 60 ccm und behandelt die auf 60° erwärmte Lösung wie oben. Reines salpetersaures Xanthin setzt sich als schweres Krystallpulver in aus Blättchen bestehenden Drusen ab. Zur Darstellung des freien Xanthins wird die ammoniakalische Lösung des Nitrates eingedampft, wobei sich die Base in amorphen Krusten abscheidet. Das 1-Methylxanthin wird aus dem salpetersauren Filtrate vom Xanthinnitrat durch Uebersättigen mit Ammoniak und Eindampfen als atlasglänzende Masse, aus mikroskopischen Blättchen bestehend, erhalten. Der Rest kann durch ammoniakalische Silberlösung oder als Kupferoxydulverbindung gefällt werden.

b) **Hypoxanthinfraction:** Trennung von Epiguanin, Adenin, Hypoxanthin und Paraxanthin. Die salzsaure, von Xanthin und seinen Homologen abfiltrierte Lösung scheidet auf Zusatz von Ammoniak in geringem Ueberschuss sofort das Epiguanin in kleinen, glänzenden Prismen aus. Das Filtrat wird durch Erhitzen vom Ammoniak befreit und die nicht zu concentrierte Lösung in der Kälte vorsichtig mit 1,1 proc. Pikrinsäurelösung in geringem Ueberschuss versetzt und das Adeninpikrat sofort mit einer Saugvorrichtung abfiltriert. Nachdem das mit Schwefelsäure versetzte Filtrat durch Ausschütteln mit Benzol oder Toluol von überschüssiger Pikrinsäure befreit ist, wird die Gasamtmenge der noch vorhandenen Basen durch ammoniakalische Silberlösung oder durch Kupfersulfat und Bisulfit gefällt, der Niederschlag durch Schwefelwasserstoffgas zersetzt und die wässerige Lösung der Basen eingedampft. Je 3 g des trocknen Rückstandes werden in 100 ccm heisser verdünnter Salpetersäure (90 ccm Wasser + 10 ccm conc. Salpetersäure) gelöst. Beim Erkalten scheidet sich Hypoxanthinnitrat in reinem Zustande aus.

Aus dem Filtrat vom salpetersauren Hypoxanthin werden die Basen durch das Kupfer- oder Silberreagens ausgefällt und aus den Niederschlägen wieder in der üblichen Weise isoliert. Der Rückstand der (säurefreien) Basenlösung wird in der fünfzehnfachen Menge 10 proc. Natronlauge gelöst. Beim Erkalten, am Besten im Eisschrank, scheidet sich das Paraxanthinnatrium aus, aus welchem das freie Paraxanthin am Besten durch Neutralisation der Lösung mit Essigsäure gewonnen werden kann.

Schwefelcyansäure CNSH.

Vorkommen. 145. Schwefelcyansäure, auch Rhodanwasserstoff genannt, ist seit langer Zeit als Bestandteil des Parotiden- und Submaxillarsecrets sehr vieler, wenn auch nicht aller Menschen und einiger Tiere (fehlt nach J. Munk[1]) beim Hund und Pferd) bekannt, und in neuerer Zeit auch im normalen Harne von Menschen und Tieren (J. Munk[2]), in der Kuhmilch (Musso[3]), im Magensaft von Hunden und Katzen (Nencki[4]) und im Nasen- und Conjunctivalsecret (Muck[5]) gefunden worden. Der Gehalt dieser Flüssigkeiten an Schwefelcyanverbindung ist stets gering. Nach Pollacci[6]) soll sie in weitester Verbreitung im Körper sich finden.

Darstellung. Künstlich stellt man die Alkaliverbindung dar durch Schmelzen von Cyankalium mit Schwefel oder durch Einwirkung von Schwefelammonium auf Blausäure oder durch Verdampfen von Schwefelkohlenstoff, Alkohol und concentrierter Ammoniakflüssigkeit.

Eine Isolierung aus den tierischen Flüssigkeiten ist schon der kleinen Menge wegen unmöglich. Ueber die quantitative Bestimmung, welche auf der Ausfällung mit Silbernitrat aus salpetersaurer Lösung und Bestimmung des Schwefels im ausgewaschenen Niederschlag oder auch auf einem kolorimetrischen Verfahren beruht, siehe „Speichel".

Eigenschaften. Die Verbindungen der Schwefelcyansäure mit Kalium, Natrium, Ammonium krystallisieren und sind in Wasser oder Alkohol leicht löslich, farblos, leicht zerfliesslich. Ihre Lösungen geben mit salpetersaurem Silber einen weissen, käsigen Niederschlag, der in verdünnter Salpetersäure unlöslich, in Ammoniak schwer löslich ist. Mit Eisenchlorid geben sie intensiv blutrote Färbung der Flüssigkeit, die durch starke Salzsäure nicht verändert wird, mit Kupfersulfat smaragdgrüne Färbung (Colasanti[7]), mit Jodsäure und Stärkekleister blaue Jodstärke (Solera[8]). Eine Mischung von Eisenvitriol und Kupfervitriol fällt aus saurer oder neutraler Lösung die Schwefelcyansäure in Verbindung mit Kupferoxydul als feines weisses Pulver. Mit Zink und Salzsäure zersetzt sie sich unter Entwickelung von Schwefelwasserstoff.

Nachweis. Der Nachweis der Schwefelcyanverbindungen geschieht am Besten durch ihr Verhalten gegen Eisenchlorid.

Phosphatide.

Vorkommen. 146. Mit diesem von Thudichum eingeführten Namen bezeichnet man phosphorsäurehaltige Verbindungen, welche in allen darauf untersuchten

---

1) Pfl. A. **61**. 620. (1895.)
2) Virch. A. **69**. 354. (1877.) Gescheidlen, Pfl. Arch. **14**. 401. (1877.)
3) Ref. Maly's Jbr. 1877. S. 168.
4) B. **28**. 1318. (1895.)
5) M. m. W. 1900. S. 1168. Keller, M. m. W. 1900. S. 1597.
6) Ref. B. C. **2**. 603. (1904.)
7) Moleschott, Unters. zur Naturlehre. Bd. 14. 2. Heft.
8) Ref. Maly's Jbr. 1877. S. 256.

tierischen und pflanzlichen Zellen und Geweben gefunden worden sind und besonders reichlich in der Nervensubstanz, im Eidotter, im Sperma, im Herzmuskel, in den Samen vorkommen. Auch im Blut, in der Galle, in Transsudaten, in der Milch, im Colostrum fehlen sie nicht. Sie sind sowohl im freien Zustande als auch in lockerer, schon durch Alkohol zerlegbarer Verbindung mit anderen Stoffen vorhanden und lassen sich im Allgemeinen den Geweben durch Aether entziehen, die freien direkt, die lockergebundenen nach vorausgegangener Alkoholbehandlung.

Man teilt sie ebenfalls nach Thudichum[1]) auf Grund des Verhältnisses von Phosphor und Stickstoff in ihrem Molekül ein in Monaminomonophosphatide (§ 147 u. ff.), Monaminodiphosphatide (§ 150), Diaminomonophosphatide (§ 151), Triaminomonophosphatide (§ 152) u. s. w.

Die Trennung und Isolierung der einzelnen ist sehr schwierig und erst zum Teil geglückt, ja, es erscheint zweifelhaft, ob die Darstellung ganz einheitlicher Phosphatide gelungen ist. Diese Schwierigkeit beruht hauptsächlich auf der Aehnlichkeit ihrer Löslichkeitsverhältnisse und ihrer Fähigkeit sich einander und fremde an und für sich in den Lösungsmitteln unlösliche Substanzen in Lösung zu erhalten. Darstellung.

Am besten ist die Isolierung der Phosphatide des Herzmuskels durchgeführt (Erlandsen[1]). Erlandsen hat hier ein Verfahren zur Trennung benutzt, welches sich vermutlich auch auf andere Gewebe mit Erfolg anwenden lassen wird. Es besteht darin, dass die frischen fein zerkleinerten Organe schnell getrocknet, dann zu einem feinen Pulver zerrieben und nun nacheinander zunächst mit Aether und dann mit Alkohol völlig erschöpft werden.

Zum Zwecke des Trocknens wird die zerkleinerte Masse zunächst auf einer Glasplatte in dünner Schicht einem Ventilator ausgesetzt und darauf in kleinen Stückchen in einem Gazebeutel in einem auf 40° erwärmten Vacuumwärmekasten aufgehängt, in welchem Schalen mit Chlorcalcium aufgestellt sind und durch den ein Strom trockener Luft geleitet wird.

Es zeigte sich, dass in den Aether- und Alkoholauszug verschiedene Phosphatide übergingen, dass also auf diese Weise schon bei der Extraction eine Trennung erreicht werden kann. Zur Isolierung der einzelnen in der Aether- und Alkoholfraction enthaltenen Phosphatide benutzt man Aether, Alkohol, Aceton. In Betreff der Einzelheiten siehe die Originalarbeit.

Die Phosphatide sind in Chloroform, zumeist auch in Aether löslich, in Methylacetat[2]) und in Aceton schwerlöslich und daher durch Aceton fällbar. In Alkohol sind manche löslich, andere nicht. In Wasser quellen sie meist auf und bilden colloidale Lösungen. Eigenschaften.

Platinchlorid und Cadmiumchlorid rufen in ihren alkoholischen Lösungen Niederschläge hervor.

1) H.-S. **51**. 71. (1907.)
2) Winterstein u. Hiestand H.-S. **54**. 288. (1907/08.)

Viele Phosphatide sind mehr oder weniger leicht oxydabel, müssen deshalb vor Licht- und Luftzutritt geschützt werden, auch in ätherischer Lösung erfahren die meisten eine Oxydation. Sie sind mehr oder weniger hygroskopisch und vor der Einwirkung von Feuchtigkeit zu bewahren. Am besten hält man sie im völlig luftleeren Exsiccator aus dunklem Glase. Beim Kochen mit Barytwasser zerfallen sie in Fettsäuren, eine Base (welche in vielen Fällen Cholin ist) und (soweit die Untersuchungen reichen) Glycerinphosphorsäure.

Nachweis. Zum Nachweis der Phosphatide in Organen und Flüssigkeiten eignet sich wohl am besten das folgende Verfahren: Die fein zerkleinerten Organe extrahiert man mit Alkohol und filtriert die alkoholischen Auszüge ab. Flüssigkeiten fällt man mit Alkohol und filtriert von den Niederschlägen ab. Die auf dem Filter zurückbleibenden Massen werden mehrmals mit Alkohol bei 50—60° ausgezogen, die abfiltrierten Lösungen mit den ersten Filtraten vereinigt und bei mässiger Wärme verdunstet; dabei ist auf möglichst neutrale Reaction zu achten, nötigenfalls durch Essigsäure oder Soda während des Abdampfens zu neutralisieren. Der Rückstand wird mit einer Mischung von Alkohol und Aether extrahiert, das Filtrat verdunstet. Den zurückbleibenden Syrup zieht man mehrmals mit Aether aus, vereinigt die filtrierten Auszüge und destilliert den Aether ab. Der Rückstand enthält neben Phosphatiden wohl stets Cholesterin, gewöhnlich auch Fette, seltener andere Stoffe, aber keine Phosphate. Findet man bei der Veraschung mit Soda und Salpeter (§ 56) Phosphorsäure, so ist damit die Anwesenheit von Phosphatiden nachgewiesen. Weiter kann man den Rückstand verseifen und prüfen, ob sich Glycerinphosphorsäure und Cholin nachweisen lässt. Zu dem Zweck zerteilt man die Masse in gesättigtem Barytwasser, kocht in einem Kolben eine Stunde unter häufigem Schütteln, fällt durch Kohlensäure den überschüssigen Baryt aus und filtriert heiss von Bariumcarbonat, fettsaurem Barium und Cholesterin ab. Das Filtrat dampft man auf dem Wasserbad ein und behandelt den Rückstand mit absolutem Alkohol, welcher Cholin löst und glycerinphosphorsauren Baryt ungelöst lässt. Die Untersuchung des alkoholunlöslichen Teils auf Glycerinphosphorsäure geschieht nach § 90. Das alkoholische Filtrat fällt man mit alkoholischer Platinchloridlösung und identificiert den Niederschlag als Cholinplatinchlorid (siehe Cholin). Ein negativer Ausfall schliesst die Anwesenheit von Phosphatiden nicht aus, da es Phosphatide gibt, welche kein Cholin enthalten und vielleicht auch solche, welche keine Glycerinphosphorsäure enthalten.

Monaminomonophosphatide.

147. **Lecithine.** Sie sind Esterverbindungen des Glycerins mit zwei Molekülen höherer Fettsäuren und einem Molekül Phosphorsäure, die ihrerseits

[1]) Die chemische Konstitution des Gehirns. Tübingen, Pietzcker 1901.

esterartig mit einem Molekül Cholin verbunden ist[1]). Das erste Lecithin wurde von Diakonow aus Eigelb gewonnen. Sie sind auch aus Gehirn und Muskeln isoliert. Ob sie soweit verbreitet sind, wie man bisher annahm, ist unsicher geworden, seitdem man weiss, dass es eine ganze Reihe verschiedener Phosphatide gibt und dass die Gewinnung einer ätherlöslichen phosphorhaltigen Substanz nicht zum Nachweis des Lecithins genügt.

Darstellung aus Eigelb.

Darstellung aus Eigelb.

1. Die von Eiweiss getrennten Dotter werden so oft mit neuen Portionen Aether geschüttelt, als der Aether noch deutlich gelbe Farbe annimmt. Man kann Lecithin sowohl aus dem Rückstand nach a als auch aus der ätherischen Lösung nach b oder c gewinnen.

a) Der Rückstand wird mit absolutem Alkohol zusammengerührt, eine halbe Stunde auf 50—60° erwärmt, abfiltriert, das Filtrat bei dieser Temperatur auf dem Wasserbad zum dicken Syrup verdunstet, der Syrup wird in möglichst wenig absolutem Alkohol gelöst und die filtrierte Lösung einer Kälte von — 5 bis — 20° 12—24 Stunden ausgesetzt. Der sich ausscheidende Niederschlag wird in der Kälte abfiltriert, schnell ausgepresst und im Vacuum getrocknet. Das so gewonnene Lecithin kann zur Reinigung nach Altmann in Chloroform gelöst und aus genügend conc. Lösung durch Aceton gefällt werden (Hoppe-Seyler und Diakonow).

b) Der ätherische Auszug wird durch Destillation völlig vom Aether befreit, in Petroläther gelöst und filtriert. Das Filtrat wird in einem Scheidetrichter mit 75 proc. Alkohol geschüttelt, nach völliger Trennung der Flüssigkeiten der alkoholische Teil abgelassen und die petrolätherische Lösung mehrmals in derselben Weise mit 75 proc. Alkohol behandelt. Die vereinigten alkoholischen Auszüge werden zur Klärung einige Zeit stehen gelassen, von sich etwa noch abscheidendem Petroläther abgetrennt, filtriert und vom Rest des Aethers durch Destillation befreit. Bei mehrtägigem Stehen an einem kühlen Ort scheidet sich ein Niederschlag aus. Die alkoholische Lösung wird von diesem abfiltriert, durch Kochen mit Tierkohle entfärbt und möglichst schnell bei 50—60° eingedampft. Den syrupartigen Rückstand nimmt man mit Aether auf, decantiert, filtriert und dampft wieder ein. Um das so erhaltene Lecithin noch von Spuren Cholesterin zu befreien, löst man es in möglichst wenig absolutem Alkohol und lässt es bei — 5 bis — 15° sich ausscheiden (Gilson).

c) Der ätherische Auszug wird verdunstet, der Rückstand durch Filtration bei Körpertemperatur vom Oel befreit, in wenig Aether gelöst und die Lösung

---

1) Diakonow, Med. chem. Untersuchungen. Herausgegeben von Hoppe-Seyler. Berlin, Hirschwald. Heft 2. S. 221. 1867, und Heft 3. S. 405. 1868.
C. f. d. med. W. 1868. S. 2, 97 u. 434.
Strecker, A. **148**. 77. (1868.)
Hundeshagen, J. f. pr. Ch. N. F. **28**. 219. (1883.)
Gilson, H.-S. **12**. 585. (1888.)

mit Aceton gefällt. Den Niederschlag wäscht man mit Aceton aus, löst ihn in möglichst wenig Aether und fügt die mehrfache Menge absoluten Alkohols hinzu. Nach mehreren Stunden wird filtriert und aus dem Filtrat das Lecithin durch Aceton ausgefällt (Zuelzer[1]).

Analysiert sind die nach Gilson und Zülzer hergestellten Lecithine nicht. Diakonow teilt nur eine einzige Analyse mit, welche auf Distearyllecithin $C_{44}H_{90}NPO_9 + H_2O$ stimmt.

2. Die durch sechsstündiges Erwärmen von Eigelb mit 96 proc. Alkohol auf dem Wasserbad am Rückflusskühler erhaltene Lösung wird nach dem Abkühlen auf 0° mit alkoholischer Cadmiumchloridlösung gefällt, der Niederschlag nach einigen Stunden abgesaugt und mit 96 proc. Alkohol gewaschen. Man extrahiert die lufttrocken gewordene Masse mit Aether, kocht sie mit der achtfachen Menge 80 proc. Alkohols am Rückflusskühler und trägt nun eine entsprechende Menge Ammoniumcarbonat in conc. Lösung langsam ein, bis die Reaction deutlich alkalisch und eine Probe des Filtrats cadmiumfrei ist. Man filtriert heiss, kühlt langsam auf —10° ab, decantiert den entstandenen Niederschlag mit kaltem Alkohol, löst ihn in wenig Chloroform, fällt mit Aceton, saugt den entstandenen Niederschlag sofort ab und trocknet im Vacuum über Schwefelsäure. Ausbeute circa 3 pCt. Aus dem alkoholischen Filtrat lassen sich noch weitere Mengen gewinnen (Bergell[2]).

E. Schulze und Winterstein[3]) nehmen die Zersetzung mit Ammoniumcarbonat nicht in wässerigem, sondern in absolutem Alkohol vor, indem sie die Chlorcadmiumverbindung in absolutem Alkohol zerreiben, die Flüssigkeit zum Sieden erhitzen und nun feingepulvertes Ammoniumcarbonat in kleinen Portionen unter häufigem Umschütteln hinzufügen, bis die Flüssigkeit schwach alkalisch reagiert und schwach nach Ammoniak riecht. Noch einfacher scheint es zu sein, in die in absolutem Alkohol fein zerteilte Masse Ammoniumcarbonat einzutragen. Die Umsetzung findet schon in der Kälte statt.

Bergell hat nur P u. N bestimmt, welche (1,74 pCt. N und 3,75 pCt. P) absolut und relativ (1 : 1) mit den für Lecithin geforderten Werten stimmen.

3. Aus nicht getrocknetem Eigelb, im übrigen nach dem einige Zeilen weiter für die Gewinnung des Herzmuskellecithins angegebenen Verfahren, erhielt Erlandsen[4]) ein Lecithin, welches der Formel $C_{44}H_{80}NPO_{11}$ entsprach. Es war allerdings längere Zeit der Luft ausgesetzt gewesen. Stern u. Thierfelder[5]) haben das Erlandsensche Verfahren auf das Eigelb angewendet, sind aber bis jetzt nicht zu reinem Lecithin gekommen.

Darstellung aus Muskeln.

Darstellung aus Herzmuskel und quergestreiften Muskeln. Das getrocknete (S. 191) und pulverisierte Organ wird mit Aether extrahiert,

1) H.-S. **27**. 265. (1899.)
2) B. **33**. 2584. (1900.)
3) H.-S. **40**. 107. (1904.)
4) H.-S. **51**. 71. (1907.)
5) H.-S. **53**. 370. (1907.)

der concentrierte Aetherauszug mit Aceton gefällt, die ätherische Lösung der abfiltrierten Fällung mit Alkohol versetzt und bei 0° stehen gelassen. Dabei fällt das Cuorin (§ 150) aus, während Lecithin in Lösung bleibt. Das Filtrat wird im Vacuum eingeengt, der Rückstand in Aether gelöst und die ätherische Lösung mit Aceton gefällt. Das Lecithin fällt ziemlich quantitativ aus. $C_{43}H_{80}NPO_9$ (Erlandsen).

Darstellung aus Gehirn. Die beim Abkühlen des heissen alkoholischen Auszuges des zuvor mit Alkohol entwässerten und zu Brei zerriebenen Gehirns sich abscheidende weisse Masse wird mit Aether ausgezogen, der ätherische Auszug concentriert, nach längerem Stehen von Ausscheidungen abfiltriert und mit absolutem Alkohol gefällt. Kephalin (§ 148) fällt aus. Das Filtrat wird mit einer alkoholischen ammoniakalischen Bleizuckerlösung gefällt und das Filtrat nach Entfernung von Ammoniak und Aether durch Destillation mit alkoholischer Chlorcadmiumlösung gefällt. Ueber die weitere Behandlung siehe das Original. Sie führte zu einem Lecithincadmiumchlorid $C_{43}H_{84}NPO_8 \cdot CdCl_2$ und einem salzsauren Lecithin $C_{43}H_{84}NPO_8 \cdot HCl$ (Thudichum[1]). Nachuntersuchern ist es nicht geglückt, diese Angaben zu bestätigen. Darstellung aus Gehirn.

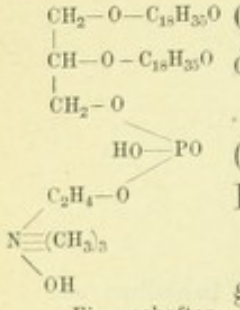
Ein anderes Verfahren ist von Koch angegeben[2])

Darstellung aus Pflanzensamen. Siehe darüber bei E. Schulze[3]). Darstellung aus Pflanzensamen.

Die so erhaltenen Lecithine sind wohl in allen Fällen Gemenge. Die Verfahren der Darstellung aus Eigelb gehen zum Teil von der jetzt unzutreffenden Voraussetzung aus, dass das Eigelb keine anderen Phosphatide enthält und es ist kaum anzunehmen, dass die Präparate nicht mit andern Phosphatiden verunreinigt sein sollten. Auch die Einheitlichkeit des von Diakonow aus Eigelb isolierten und für Distearyllecithin gehaltenen Lecithins ist zweifelhaft. Meist wird auch auf die leichte Oxydierbarkeit der Lecithine nicht die genügende Rücksicht genommen. Gegen das Verfahren von Bergell ist der prinzipielle Einwand erhoben worden, dass das Chlorcadmium, welches zur Abscheidung benutzt wird, eine Zersetzung des Lecithins bewirke. Dieser Einwand gründet sich auf Beobachtungen, welche Erlandsen an dem Herzmuskellecithin gemacht hat. Gegen eine weitgehende Zersetzung der Bergellschen Präparate spricht ihr richtiger P- und N-gehalt. Indessen sind hier noch weitere Untersuchungen nötig. Den grössten Anspruch auf Einheitlichkeit haben die Lecithine von Erlandsen. Reinheit der Präparate.

Man weiss nicht, ob es nur Lecithine mit 2 gleichen Fettsäuren oder nur solche mit 2 verschiedenen Fettsäuren gibt oder ob beide Arten vorkommen. Während man früher meinte, dass nur Stearinsäure, Palmitinsäure und Oelsäure in den Lecithinen vorkommen, sind neuerdings auch mehr ungesättigte Säuren (Linolsäure, vielleicht auch Linolensäure) in dem

1) Die chemische Konstitution des Gehirns. Tübingen, Pietzcker 1901, S. 116.
2) H.-S. **36**. 134. (1902.) 3) H.-S. **55** 338. (1908.)



Gehirn- und Eigelblecithin (Henriques und Hansen[1]), Cousin[2]) und in dem Muskellecithin (Erlandsen) nachgewiesen worden.

Das Distearyllecithin würde die Zusammensetzung $C_{44}H_{90}NPO_9$ (C 65,37 H 11,23 N 1,73 P 3,96 O 17,83 pCt.) haben und nebenstehender Formel entsprechen.

Eigenschaften.

Die aus den Lösungen abgeschiedenen Lecithine*) sind hell- bis orangegelb gefärbte knetbare wachsartige Massen, welche auch nach dem Trocknen im Vacuum ein feuchtes Aussehen behalten. Sie sind äusserst hygroskopisch und deswegen auch nach dem Trocknen schwer zu pulverisieren. Krystallisiert ist Lecithin (aus Eigelb) nur einmal von Hoppe-Seyler bei der Ausscheidung aus Alkohol bei sehr niedriger Temperatur erhalten worden (feine Krystallblättchen).

Sie sind löslich in Alkohol, Aether, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Benzol, Petroläther, unlöslich oder schwer löslich in Aceton und in Methylacetat. In Wasser quellen sie zu kleisterartigen Massen und trüben Lösungen und zeigen unter dem Mikroskop schleimigölige Fäden. Aus diesen colloidalen Lösungen können sie durch Säure und Salze zur Ausscheidung gebracht werden. Näheres darüber bei Koch[3]), Porges und Neubauer[4]). Die von einander abweichenden Angaben beider erklären sich vielleicht durch die benutzten Präparate, indem Koch ein frisches Gehirnlecithin, Neubauer und Porges ein käufliches Lecithin (Merck) benutzten, welches nach Bock[5]) eine abweichende Zusammensetzung hat (2,05 pCt. N und 3,35 ptC. P). Die Lecithine addieren Jod. Die Jodzahl des Herzmuskellecithins beträgt c. 100 (Erlandsen). Cadmium- und Platinchlorid rufen in alkoholischen Lösungen Niederschläge hervor (Strecker[6]), wobei aber keineswegs alles Lecithin ausgefällt wird. Die Cadmiumchloridniederschläge sind getrocknet weisse leicht pulverisierbare Substanzen, in Alkohol und Aether schwer löslich. Sie sind von Strecker, Bergell, Ulpiani[7]), Erlandsen studiert worden, bedürfen aber noch durchaus weiterer Untersuchung. Das von Ulpiani analysierte Präparat entsprach einer Verbindung von 3 Mol. Lecithin und 4 Mol. Cadmiumchlorid. Nach Erlandsen findet bei der Fällung des Herzmuskellecithins durch Cadmiumchlorid eine Zersetzung statt, indem der Niederschlag der Formel $C_{37}H_{69}NPO_8 + 1{,}5\ CdCl_2$ entsprach, während das Lecithin die Formel $C_{43}H_{80}NPO_9$ hatte. Versuche aus der Verbindung durch

Verbindungen: mit Cadmiumchlorid.

*) Die in mancher Beziehung abweichenden Angaben von Thudichum sind nicht berücksichtigt.

1) Skand. A. Ph. **14**. 390. (1903.)
2) J. de Ph. Ch. (6.) **18**. 102. (1903.), **23**. 225. (1906.)
3) H.-S. **37**. 181 (1902/03), J. B. C. **3**. 53. (1907.)
4) B. Z. **7**. 152. (1906.)
5) Ergebnisse d. Physiol. **6**. 158. (1907.)
6) A. **148**. 77. (1868.)
7) Gaz. chim. **31**. II. 47. (1901.)

Schwefelwasserstoff, Bleihydroxyd, Silberoxyd das Lecithin zurückzuerhalten, haben zu keinem befriedigenden Resultat geführt (Ulpiani, Erlandsen). Ueber die Benutzung des Ammoniumcarbonats zu diesem Zweck siehe S. 194. Die Platinchloridniederschläge sind weiss, flockig, leicht löslich in Aether, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, aus diesen Lösungen durch Alkohol fällbar. Bei ihrer Bildung findet offenbar auch eine Zersetzung des Lecithins statt, denn Gilson[1]) fand in dem Niederschlag Cholinplatinchlorid. mit Platinchlorid.

Bei Gegenwart von Lecithin lösen sich manche anorganische und organische Substanzen, z. B. Kochsalz (Bing[2]), Zucker (Bing[2,3]), P. Mayer[4]), Albumosen, in Aether oder Chloroform oder Chloroform und Alkohol, welche an und für sich in diesen Flüssigkeiten unlöslich sind.

Die Lecithine geben, so weit geprüft, die Pettenkofersche Reaction d. h. Purpurfärbung auf Zusatz von etwas Rohrzucker und conc. Schwefelsäure.

Die ohne Anwendung von Wärme isolierten Lecithine drehen rechts, ebenfalls die Chlorcadmiumverbindungen, für welche in 1—2 proc. Lösungen $[\alpha]_D = + 11{,}41^0$ gefunden wurde (Ulpiani). Doch handelte es sich jedenfalls nicht um reine Präparate. Durch mehrstündiges Erhitzen einer absolut alkoholischen Lösung auf 90—100° in geschlossenem Rohr wird das active Lecithin inactiv; aus einem solchen inactiven entsteht durch Einwirkung von Steapsin nach P. Mayer[5]) l-Lecithin, indem nur die d-Componente zersetzt wird (siehe unten). Optische Eigenschaften. Inactivierung.

Die Lecithine unterliegen der Autooxydation und sind deshalb im dunklen, evacuierten Exsiccator aufzubewahren. Die der Luft ausgesetzten Präparate werden dunkler unter Abnahme der Jodzahl. Autooxydation.

Durch Einwirkung verdünnter Säuren werden sie nur sehr langsam zersetzt. Selbst 10 proc. Schwefelsäure zerlegt sie in der Kälte nur allmählich unter Bildung von Glycerinphosphorsäure, Phosphorsäure, Fettsäuren und Cholin. Bei einstündigem Erhitzen mit 10 proc. Schwefelsäure in kochendem Wasserbad wird alles Cholin abgespalten (Moruzzi[6]). Alkalien zersetzen sie in der Wärme schnell auch noch bei ziemlich starker Verdünnung, Natriumalkoholat schon in der Kälte. Beim Kochen mit starker Aetzbarytlösung werden sie schnell zersetzt, dabei fallen die Fettsäuren als Barytsalze aus, während Cholin und glycerinphosphorsaurer Baryt in Lösung bleiben. Bei einstündigem Erhitzen mit gesättigter methylalkoholischer Barytlösung im kochenden Wasserbad wird alles Cholin abgespalten (Mac Lean[7]). Bei der Fäulnis entstehen dieselben Spaltungsprodukte, das Cholin zersetzt sich allmählich weiter. Bei der Selbstverdauung des Pancreas wird Spaltung.

---

1) H.-S. **12**. 601. (1888.)
2) Skand. A. Ph. **11**. 166. (1901.)
3) Skand. A. Ph. **9**. 336. (1899.)
4) B. Z. **1**. 81. (1906.)
5) B. Z. **1**. 39. (1906.)
6) H.-S. **55**. 352. (1908.)
7) H.-S. **55**. 360. (1908.)

Lecithin gespalten (Kutscher u. Lohmann[1]), desgleichen durch den Darmsaft (Bergell[2]) und durch Steapsin (Bokay[3]), P. Mayer[4]).

Vorkommen und Darstellung.

148. **Kephalin** wurde zuerst von Thudichum aus dem Gehirn isoliert, in dem es an Menge das Lecithin überragt. Ueber die von Thudichum benutzte Methode der Darstellung und Reinigung siehe S. 195 und die Orginalarbeit (S. 129). C60,00 H9,38 N1,68 P4,27 pCt. Offenbar dieselbe Substanz erhielt Koch[5]) in folgender Weise: Die fein zerkleinerte und durch Kochen mit Aceton entwässerte Gehirnmasse wurde mit kaltem Aether erschöpft, und der Aetherauszug, nachdem er bis auf $^1/_4$ verdunstet und von einem feinen Niederschlage abgehoben, mit Alkohol gefällt. Das dabei ausfallende Kephalin wird zur Reinigung fünf Mal mit kochendem Alkohol ausgezogen, in Aether gelöst, die Lösung wieder mit Aceton gefällt, die Fällung mit Aether behandelt und die trübe Lösung in einem hohen geschlossenen Gefäss eine Woche stehen gelassen. Die klare Lösung wird vorsichtig dekantiert, verdunstet, und der Rückstand in heissem Eisessig gelöst, aus dem er beim Erkalten wieder ausfällt C59,5 H9,8 N1,75 P3,83 pCt. Ein ähnliches Verfahren wandte Cousin[6]) an (N 1,82 — 1,86 pCt., P3,73 — 3,89pCt.). Das von Zülzer[7]) dargestellte Präparat wich im N- u. P-Gehalt bedeutend ab. Eine in Eigenschaften und Zusammensetzung übereinstimmende Substanz wurde aus Eigelb gewonnen (Stern und Thierfelder[8]).

Eigenschaften.

Kephalin ist eine harzige, leicht pulverisierbare, hygroskopische Substanz von heller Farbe. Es wird aus seinen Lösungen als schnell fest und zerreiblich werdender Niederschlag gefällt (während Lecithin immer eine plastische Beschaffenheit zeigt). Löslich in Aether, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, unlöslich oder schwer löslich in Alkohol (Unterschied von Lecithin) und Aceton. In Wasser quillt es und es entstehen colloidale Lösungen. Ueber das Verhalten zu Salzen siehe Koch[9]), über weitere Eigenschaften siehe Thudichum.

Spaltung.

Bei der Verseifung entsteht nach Thudichum Stearinsäure, eine ungenügend charakterisierte Säure (Kephalinsäure) mit 3 Atomen Sauerstoff, Glycerinphosphorsäure und mehrere Basen (darunter Cholin). Koch erhielt als Platinsalz eine Basis von der annähernden Zusammensetzung eines Monomethyloxaethylamins, aber kein Cholin. Cousin[10]) erhielt Stearinsäure, eine ungesättigte Säure aus der Linolsäurereihe, Glycerinphosphorsäure und von Basen nur Cholin. Er und Thudichum geben an, dass die Spaltung viel

1) H.-S. **39**. 159. (1903.)
2) a. a. O., Ctbl. f. allg. P. u. path. Anat. **12**. 633.
3) H.-S. **1**. 162. (1877/78.)
4) B. Z. **1**. 39. (1906.)
5) H.-S. **36**. 134. (1902.)
6) J. de. Ch. Ph. (6). **24**. 101. (1906.)
7) H.-S. **27**. 255. (1899.)
8) H.-S. **53**. 370. (1907.)
9) H.-S. **37**. 181. (1903.)
10) a. a. O. u. Ibid. **25**. 177. (1907.)

schwieriger erfolgt, als die des Lecithins. Cousin kocht zunächst in salzsaurer Lösung, wobei die Base abgespalten wird und dann mit alkoholischer Kalilauge.

149. **Jecorin** ist von Drechsel[1]) eine Substanz genannt worden, welche er zuerst aus Pferdeleber, später auch aus Delphinleber darstellte. Baldi[2]) erhielt es aus Kaninchen- und Hundeleber, Rindermilz, Pferdeblut, Muskelfleisch, Rohcerebrin aus Menschengehirn, Henriques[3]) aus Hunde- und Kaninchenblut, P. Mayer[4]) aus Pferde- und Hundeblut, Letsche[5]) aus Pferdeblutserum, Otolski[6]) aus Knochenmark. Vorkommen.

Drechsel gewann Jecorin durch wiederholte Extraction der Organe mit kaltem Alkohol. Der beim Verdunsten des Alkohols bei 40—45° zurückbleibende, halbflüssige Rückstand wurde mit absolutem Alkohol mehrmals ausgeschüttelt. Hierbei blieb das Jecorin ungelöst, wurde dann in wasserhaltigem Aether aufgenommen und aus dieser Lösung durch Alkohol gefällt. Die Lösung in wasserhaltigem Aether und Fällung mit Alkohol wurde zur Reinigung noch mehrmals wiederholt. Das dann im Vacuum getrocknete Jecorin hat die Zusammensetzung C 51,4, H 8,2, N 2,86, S 1,4, P 3,5, Na 2,72 pCt. Nach Bing[7]) löst sich der in der ätherischen Lösung auf Zusatz von Alkohol entstehende Niederschlag im Ueberschuss ganz oder teilweise wieder. Die von Baldi mit geringer Modification des Drechsel'schen Verfahrens dargestellten Jecorinpräparate zeigten die gleichen Eigenschaften, aber (nach Analyse des Präparates aus Hundeleber) andere Zusammensetzung: C 46,89, H 7,99—8,09, N 4,36—4,88, S 2,14—2,70, P 2,29—2,75, Na 5,72 pCt. Wieder andere quantitative Zusammensetzung zeigten die nach Drechsel's Verfahren von Siegfried u. Mark[8]) und von P. Mayer[9]) aus Pferdeleber dargestellten Präparate und das J. von Letsche. Hieraus und aus den Untersuchungen von Meinertz[10]) und Siegfried und Mark geht hervor, dass das Jecorin keine einheitliche Substanz ist. Darstellung und Zusammensetzung.

Das im Vacuum getrocknete Jecorin bildet eine poröse, erdige, feste Masse oder auch ein fast farbloses feines Pulver, hygroskopisch, beim Reiben stark elektrisch werdend. Es ist in wasserhaltigem Aether löslich. In Wasser löst es sich nach vorheriger schleimiger Quellung auf, trübt sich beim Stehen und wird beim Schütteln wieder klar. Das beim Verdunsten der wässerigen Lösung über Schwefelsäure hinterbleibende Jecorin ist nun auch in wasserhaltigem Aether unlöslich. Als Zeichen der Reinheit der Präparate hebt Baldi hervor, dass die wässerige Lösung durch Salzsäure nicht getrübt werden dürfe. Durch concentrierte Salzlösungen, durch Kupferacetat und Silbernitrat wird es gefällt. Der Silberniederschlag ist in überschüssiger Jecorinlösung löslich zu opalescierender Flüssigkeit, die mit Ammoniak versetzt und erhitzt portweinrot wird. Fehling'sche Lösung wird beim Erwärmen reduciert. Nach Kochen mit Schwefelsäure nimmt das Reductionsvermögen zu. Der Zuckergehalt ändert sich auch nach wiederholtem Umfällen nicht, er wurde bis zu 18 pCt. gefunden. Mit Hefe tritt Gärung ein. Das Reductionsvermögen nimmt dabei ab, ohne ganz zu verschwinden (Jacobsen[11]). Eigenschaften.

Mit starker Natronlauge gekocht, gibt es beim Erkalten Seifenleim und auf Zusatz von Säure Schwefelwasserstoff. Beim Kochen mit Alkalilauge oder Salzsäure oder Salpetersäure bildet sich Stearinsäure, beim Kochen mit Barytwasser entstehen die Zersetzungsproducte des Lecithins (Cholin, Glycerinphosphorsäure, Fettsäuren), beim Kochen mit Spaltung.

1) J. f. pr. Ch. N. F. **33**. 425. (1886.), Z. f. B. **33**. 85. (1896.)
2) A. f. A. u. Ph., Ph. A. 1887. Supplbd. S. 100.
3) H.-S. **23**. 244. (1897.)
4) B. Z. **4**. 545. (1907.)
5) H.-S. **53**. 31. (1907.)
6) B. Z. **4**. 147. (1907.)
7) Skand. A. Ph. **9**. 336. (1896.)
8) H.-S. **46**. 492. (1903.)
9) B. Z. **1**. 92. (1906.)
10) H.-S. **46**. 376. (1906.)
11) Skand. A. Ph. **6**. 262. (1895.)

verdünnten Säuren Glukose (Manasse[1]), Jacobsen, P. Mayer). Auch durch Steapsin wird es zersetzt (P. Mayer[2]).

Jecorine von anderem Verhalten.

Indessen ist zu bemerken, dass man gelegentlich Jecorin mit mehr oder weniger abweichenden Eigenschaften findet. So wurde das Reductionsvermögen vermisst bei einem Nebennierenjecorin (Manasse), einem Leberjecorin (Meinertz), einem Pferdeblutjecorin (P. Mayer[3]), einem Muskeljecorin (Erlandsen[4]). Bei einzelnen trat das Reductionsvermögen nach dem Kochen mit Säure auf, bei anderen nicht. Ein Muskeljecorin (Erlandsen) wurde in wässeriger Lösung durch Salzsäure gefällt. Ein Pferdeleberjecorin zeigte sich in Benzol löslich, ein anderes unlöslich usw. Sehr wesentliche Unterschiede vom typischem Verhalten zeigte ein Rinderblutjecorin (P. Mayer[3]). Jecorinartige Substanzen fand Hammarsten[5]) in der Galle von Eisbär und Moschusochsen.

Das Jecorin ist vermutlich ein Gemenge von verschiedenen anorganischen und organischen, stickstoffhaltigen und stickstofffreien Substanzen, die vielleicht in lockerer chemischer Verbindung mit einander stehen und unter denen das Phosphatid die führende Rolle spielt (Bing, Meinertz).

Kohlehydrathaltige Phosphatide aus Pflanzen.

Phosphatide, welche bei der hydrolytischen Spaltung Zucker (Glukose, Galactose, Pentosen, bis zu 20 pCt. auf Glukose berechnet) liefern, sind in Pflanzen in weiter Verbreitung nachgewiesen, aber ebenfalls noch nicht in reinem Zustande erhalten worden. (Hiestand[6]), Winterstein u. Hiestand[7]).

Monaminodiphosphatid.

Vorkommen und Darstellung.

150. **Cuorin** $C_{71}H_{125}NP_2O_{21}$, wurde von Erlandsen[8]) aus Herzmuskel (Ochse) dargestellt. In den quergestreiften Muskeln findet es sich höchstens in Spuren. In Betreff der Darstellung siehe S. 195. Der dort erwähnte abfiltrierte Niederschlag wird zur Entfernung von Beimengungen mit Alkohol bei 60° behandelt, nochmals in Aether gelöst und Fällung und Behandlung mit warmem Alkohol wiederholt. Zur weiteren Reinigung löst man die Masse in wenig warmem Essigester, aus dem sie sich beim Abkühlen auf etwa —2° abscheidet. Diese Behandlung mit Essigester wird wiederholt.

Eigenschaften.

Gelbbraune transparente, fast geruchlose Substanz, die nach dem Trocknen hart, fast harzig und ziemlich leicht pulverisierbar wird. Sehr hygroskopisch. Im trockenen Zustande leicht in Aether, Chloroform, Petroläther, Schwefelkohlenstoff löslich, bei erhöhter Temperatur in Essigester, Eisessig, Amylalkohol löslich und sich beim Erkalten wieder abscheidend, in Alkohol, Methylalkohol, Aceton auch beim Kochen unlöslich. In Wasser quillt es auf und verteilt sich zu einer trüben Halblösung, welche auf Zusatz von Alkali völlig klar wird. Im Capillarrohr erhitzt wird es bei c. 80° vollständig durchsichtig, bei 115—120° dünnflüssig, färbt sich und beginnt zu schäumen. Jodzahl c. 101. Mit Platinchlorid und Cadmiumchlorid gibt es Verbindungen, die noch zu untersuchen sind.

---

1) H.-S. **20**. 478. (1895.)
2) B. Z. **1**. 44. (1906.)
3) B. Z. **4**. 545. (1907.)
4) H.-S. **51**. 128. (1907.)
5) H.-S. **32**. 447. (1901.) **43**. 112. (1904.)
6) Dissert. philos. Fak. Zürich 1906.
7) H.-S. **54**. 288. (1907/08.)
8) H.-S. **51**. 96. (1907.)

Mit concentrierter Schwefelsäure und Zucker gibt es die Pettenkofersche Reaction (S. 197).

Es ist sehr leicht oxydabel und muss deshalb im evacuierten dunklen Exsiccator aufgehoben werden. Im nicht evacuierten Exsiccator (auch in ätherischer Lösung) oxydiert es sich, wird dabei härter, vollständig harzig und in Aether (wasserfreiem und wasserhaltigem) unlöslich, auch in anderen Lösungsmitteln schwer löslich; in Wasser aber löst es sich allmählich völlig klar. Autooxydation.

Unter den Verseifungsprodukten wurden nachgewiesen 1. Fettsäuren (und zwar enthält 1 Mol. 3 Mol. Fettsäuren), welche bei 47—48° schmelzen und eine hohe Jodzahl (130) und einen niedrigen Wasserstoffgehalt haben, also wenigstens zum Teil der Linolsäure- oder Linolensäurereihe angehören müssen, 2. Glycerinphosphorsäure und Phosphorsäure, 3. eine Base, welche ein von Cholinplatinchlorid verschiedenes Platinsalz bildet. Spaltung.

Diaminomonophosphatide.

151. Derartige Substanzen wurden zuerst von Thudichum aus dem Gehirn erhalten und als Sphingomyelin $C_{52}H_{104}N_2PO_9$, Apomyelin $C_{54}H_{109}N_2PO_9$ und Amidomyelin $C_{44}H_{92}N_2PO_{10}$, $C_{42}H_{84}N_2PO_{10}$ beschrieben. Ueber ihre Darstellung und Eigenschaften siehe Thudichum[1]).

2. Eine hierhergehörige Substanz ist vielleicht in der Eisbärengalle enthalten. Wenigstens erhielt Hammersten[2]) aus der alkoholischen Lösung der mit Aceton gefällten ätherlöslichen Stoffe aus dieser Galle durch Chlorcadmiumfällung eine Substanz, welche $N : P = 2 : 1$ enthielt.

3. Ein Diaminomonophosphatid wurde als Chlorcadmiumverbindung von Erlandsen[3]) aus dem Ochsenherz isoliert. Auch im quergestreiften Muskel ist ein solches Phosphatid enthalten. Die Isolierung aus dem Herzmuskel geschah im wesentlichen in folgender Weise. Der getrocknete (S. 191) und pulverisierte Muskel wurde nach völliger Erschöpfung mit Aether (in den Cuorin (S. 200) und Lecithin (S. 195) hineingehen) mit 90—96 proc. Alkohol anfangs bei gewöhnlicher Temperatur dann bei 40—45° extrahiert. Der Rückstand der bei 40° im Vacuum eingedampften Auszüge wurde in wenig absolutem Alkohol bei 35—40° gelöst und nach einigem Stehen in der Kälte die klare Lösung von einem Bodensatz (hauptsächlich anorganische Bestandteile) abgegossen. Sie wurde im Vacuum eingedampft und der Rückstand mit absolutem Aether behandelt, wobei in beträchtlicher Menge eine weissliche Substanz (die 0,2 pCt. P und 6,8 pCt. N enthält und wohl kein Phosphatid ist) ungelöst bleibt. Die klar abgegossene Lösung wird im Vacuum eingeengt und bei niedriger Temperatur mit Aceton gefällt. Der dabei entstehende Niederschlag wird in etwas absolutem Alkohol gelöst und die Lösung mit

---

1) Die chemische Constitution des Gehirns. Tübingen, Pietzcker 1901.
2) H.-S. **36**. 528. (1902.) 3) H.-S. **51**. 118. (1907.)

absolutem Alkohol versetzt. Es entsteht dabei ein geringer Niederschlag, der viele Eigenschaften mit dem Jecorin (§ 149) gemein hat. Das Filtrat davon, welches fast die ganze Phosphatidmenge des Alkoholauszugs des Muskels enthält, wird mit Cadmiumchlorid gefällt. Die Verbindung stellt nach dem Trocknen und Zerreiben ein feines blassgelbes Pulver dar $C_{40}H_{75}N_2PO_{12} . 2CdCl_2$.

Ob das dieser Cadmiumchloridverbindung entsprechende Phosphatid der Formel $C_{40}H_{75}N_2PO_{12}$ entspricht, ist nach den bei dem Lecithin (aus Herzmuskel) gemachten Beobachtungen, wonach das Phosphatid bei der Fällung mit Cadmiumchlorid eine Veränderung erleidet und die Cadmiumchloridverbindung nicht ein einfaches Additionsprodukt ist, zweifelhaft. Die Versuche, aus der Chlorcadmiumverbindung das Phosphatid zu isolieren sind missglückt. Durch Behandlung mit Aether und Benzol erleidet die Verbindung offenbar eine Zersetzung. Die einzelnen in diese Lösungsmittel übergehenden Anteile enthalten zwar alle N und P im Verhältnis wie 2 : 1, weichen aber im Uebrigen in ihrer Zusammensetzung von einander ab.

Bei der Hydrolyse entstehen eine Fettsäure (und zwar aus einem Molekül nur eine) von der Zusammensetzung $C_{22}H_{39}O_4$, Glycerinphosphorsäure und eine Base (oder Basen), deren Natur noch nicht festgestellt werden konnte.

4. Ein Diaminomonophosphatid wurde auch aus Eigelb in sehr geringer Menge erhalten und zwar blieb es bei der Behandlung der Acetonfällung des Aetherauszugs des trockenen Eigelb mit Aether als unlösliche durch die Centrifuge abtrennbare Substanz zurück. In Alkohol gelöst und aus der filtrierten und eingeengten alkoholischen Lösung durch Aceton gefällt stellte es eine völlig weisse Masse dar, deren Zusammensetzung etwa der Formel $C_{54}H_{111}N_2PO_8$ oder $C_{54}H_{113}N_2PO_8$ entsprach. Es verändert seine Farbe an der Luft und am Licht nicht, löst sich leicht in Chloroform, nur wenig in Aether. In Alkohol löst es sich besonders beim Erwärmen und scheidet sich beim Erkalten in radiär angeordneten Nadeln ab. In Wasser schwillt es nicht auf, bei 169—170° schmilzt es zu braunrotem Oel. Jodzahl etwa 34. (Stern und Thierfelder[1]).

Triaminomonophosphatid.

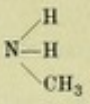
152. Neottin, eine Substanz von der Formel $C_{84}H_{172}N_3PO_{15}$, wurde von S. Fränkel[2]) aus Eigelb isoliert. Es lässt sich dem mit warmem Aceton erschöpften Eigelb durch zweistündige Behandlung mit 95 proc. Alkohol bei 45° entziehen und scheidet sich beim Einengen des alkoholischen Auszugs im Vacuum ab. Die Substanz, welche nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Alkohol blendend weiss und pulverisierbar ist, löst sich in siedendem Alkohol, in Chloroform, Benzol, nicht in Wasser, Aether,

1) H.-S. **53**. 370. (1907.) 2) B. Z. **9**. 44. (1908.)

kaltem Alkohol. Sie schmilzt bei 91° und fliesst bei 118° zusammen. Optisch inactiv, Jodzahl 16, Pettenkofer'sche Reaction (S. 197) negativ.

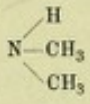
Monamine.

153. **Methylamin CH_5N** wurde in der Heringslake nachgewiesen, ferner unter den Zersetzungsprodukten von Fibrin durch Streptokokken (Emmerling[1]) und in faulem Fischfleisch (Bocklisch[2]).



Farbloses, wie Ammoniak riechendes Gas, das mit gelber Farbe verbrennt. Seine wässerige Lösung reagiert alkalisch und bildet mit Salzsäure Nebel. $(CH_3NH_2 . HCl)_2 PtCl_4$ goldgelbe hexagonale Tafeln, in kaltem Wasser schwer löslich (2 : 100), in absolutem Alkohol unlöslich. Pikrolonat $CH_3(NH_2) . 2C_{10}H_8N_4O_5$, feine blassgelbe Nadeln (Zersetzungspunkt 244°), welche sich in 1073 Tl. kaltem und 369 Tl. kochendem Wasser, in 4717 Tl. kaltem und in 133 Tl. siedendem Alkohol lösen (Otori[3]). Pikrat in Wasser wenig löslich (1,33 : 100), Smp. 207° (Delépine[4]). Mit Nessler's Reagens gibt Methylamin gelben Niederschlag (Delépine).

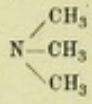
Dimethylamin C_2H_7N wurde in der Heringslake nachgewiesen und aus gefaultem Fischfleisch isoliert (Bocklisch[5]).



Bei 7° siedende ammoniakalisch riechende Flüssigkeit. $(CH_3)_2NH . HCl$ krystallisiert in Nadeln, ist in Alkohol unlöslich, in Chloroform löslich (Behrend[6]). $(C_2H_7N . HCl)_2 . PtCl_4$ orangegelbe Blättchen, in heissem Wasser leicht, in kaltem weniger leicht löslich. $(CH_3)_2NH . HCl . AuCl_3$ grosse gelbe glänzende monokline Tafeln. Pikrolonat $(CH_3)_2NH . C_{10}H_8N_4O_5$ hellgelbe feine Nadeln (Zersetzungspunkt bei 222°), welche sich in 764 Tl. kaltem und 33 Tl. siedendem Wasser, in 853 Tl. kaltem und 38 Tl. heissem Alkohol lösen (Otori). Pikrat $(CH_3)_2NH . C_6H_3N_3O_7$ Smp. 156° löst sich in 56 Tl. Wasser (Delépine). Mit Nessler's Reagens gibt Dimethylamin keinen Niederschlag.

Trimethylamin C_3H_9N wurde in der Heringslake, in faulendem Gehirn, in gefaulten Eiern und andern lecithinreichen Substanzen nachgewiesen; auch aus faulem Harn ist es gewonnen worden. Nach de Filippi[7]) findet es sich auch normalerweise in frischem Harn. Wohl stets entstammt es dem Lecithin bezw. dem Cholin, Neurin, Betain oder anderen Cholinbasen, welche bei der Fäulnis und auch bei der Zersetzung durch Alkalien diese Base liefern. Auch das Auftreten von Trimethylamin in den Destillationsproducten des Harns, des Blutes, des Leberthrans, besonders nach Zusatz von Kalkmilch, welches Dessaignes, Hofmann, Winckler beobachtet haben, kann sehr wohl aus der Zersetzung des Lecithins oder der genannten Ammoniumbasen erklärt werden.

Vorkommen.



Eigentümlich (nach Heringslake) riechende, in Wasser, Alkohol und Aether leicht lösliche Flüssigkeit von stark alkalischer Reaction, welche bei 3,2 bis 3,8° siedet. $(C_3H_9N . HCl)_2 . PtCl_4$ reguläre, orangefarbige Krystalle, von denen sich 0,0293 g in 180 ccm kochendem absolutem Alkohol lösen. Auch das schwer lösliche Goldchloriddoppelsalz $(CH_3)_3N . HCl . AuCl_3$ krystallisiert gut. Pikrolonat $(CH_3)_3N . C_{10}H_8N_4O_5$ (Zersetzungspunkt bei 250—252°), hellgelbe rhombische Täfelchen, welche sich in 1121 Tl. kaltem und 166 Tl. siedendem Wasser, in 794 Tl. kaltem und in 223 Tl. heissem Alkohol lösen (Otori). Pikrat $(CH_3)_3N . C_6H_3N_3O_7$ (Smp. 216°) hellgelbe kleine Prismen, löslich in 77 Tl. Wasser (Delépine). Mit Nessler's Reagens gibt Trimethylamin keinen Niederschlag.

Eigenschaften.

---

1) B. **30**. 1863. (1897.)
2) B. **18**. 1922. (1885.)
3) H.-S. **43**. 305. (1904/05.)
4) A. de Ch. Ph. (7.) **8**. 439. (1896.)
5) B. **18**. 86. (1885.)
6) B. **15**. 1610. (1882.)
7) H.-S. **49**. 433. (1906.) Bauer B. Ph. P. **11**. 502. (1908.)

Trennung der drei Amine.

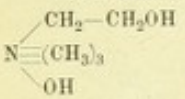
Zur Trennung dieser drei Basen empfiehlt Delépine auf ihr Gemenge Formaldehyd einwirken zu lassen, welches mit Methylamin die Verbindung $CH_2=N-CH_3$, mit Dimethylamin die Verbindungen $CH_2[N(CH_3)_2]_2$ und $CH_2(OH)N(CH_3)_2$ bildet, mit Trimethylamin aber nicht reagiert. Die Scheidung beruht auf der Verschiedenheit der Siedepunkte. Das Nähere siehe in der Originalarbeit. Filippi benutzt zur Trennung des Trimethylaminchlorid von Ammoniumchlorid, Methyl-, Dimethyl-, Aethyl-, Diaethylaminchlorid Natriumhypobromit, welches Ammoniak und die primären und sekundären Amine sofort zerstört. Näheres in der Originalarbeit.

Andere Amine.

Von anderen alkylierten Aminen sind Diaethylamin (Bocklisch[1]), Triaethylamin (Ehrenberg[2]), Butylamin und Isoamylamin (Gautier u. Mourgues[3]), Propylamin (Brieger[4]) seltener als Fäulnisprodukte aufgfunden worden.

Trimethylammoniumbasen.

Vorkommen.



154. **Cholin (Trimethyloxaethylammoniumhydroxyd) $C_5H_{15}NO_2$.** Das Cholin ist zuerst von Strecker[5]) aus Galle (Schweine-, Rindergalle) nach Behandlung mit Baryt (als Zersetzungsproduct des Lecithins) erhalten, dann von Liebreich[6]) als Spaltungsproduct des Protagons und von Diakonow[7]) als Spaltungsproduct des Lecithins erkannt worden. Präformiert findet es sich in verhältnissmässig kleiner Menge im Gehirn (Gulewitsch[6]), in der Cerebrospinalflüssigkeit bei Epilepsie und organischen Gehirnerkrankungen, ferner in frischen menschlichen Leichen, in der Heringslake, im Käse, überall aus dem Lecithin oder anderen Phosphatiden stammend. Im Pflanzenreich ist es auch häufig nachgewiesen worden.

Darstellung.

Wurtz[8]) erhielt es synthetisch aus Trimethylamin und Glycolchlorhydrin. Krüger und Bergell[9]) erhielten es als bromwasserstoffsaures Salz durch vierstündiges Erhitzen von Trimethylaminbromäthyliumbromid mit Wasser im geschlossenen Rohr auf 160°.

Darstellung aus Eidotter.

Zu seiner Darstellung dienen am Besten Eidotter. Man extrahiert sie wiederholt mit Aether, darauf mit heissem Alkohol, befreit die abgegossenen Auszüge durch Destillation von Aether und Alkohol, vereinigt die Rückstände und kocht sie eine Stunde mit gesättigtem Barytwasser. Jetzt wird in die mit Wasser verdünnte, heisse Lösung Kohlensäure eingeleitet, filtriert, das Filtrat bei mässiger Wärme verdunstet, der Syrup mit absolutem Alkohol extrahiert und das Filtrat mit alkoholischer Platinchloridlösung versetzt, so lange Niederschlag entsteht. Den hellgelben Niederschlag, Cholinplatinchlorid, wäscht man mit Alkohol, krystallisiert ihn mehrmals aus wenig Wasser um und zerlegt ihn dann durch Einleiten von Schwefelwasserstoff in seine heisse

1) B. **18**. 86 u. 1922. (1885.)
2) H.-S. **11**. 253. (1887.)
3) C. r. **107**. 110 u. 254. (1888.)
4) D. m. W. 1888. S. 469.
5) A. **123**. 353. (1862.), **148**. 77. (1868.)
6) A. **134**. 29. (1865.) Gulewitsch, H.-S. **27**. 50. (1899.)
7) Med. chem. Untersuch., herausgeg. von Hoppe-Seyler, H. 2, S. 221. (1867.) C. f. d. med. W. 1868. S. 2.
8) A. Suppl. 6. S. 116 u. 197. (1868.)
9) B. **36**. 2901. (1903.)

wässerige Lösung. Die vom Schwefelplatin abfiltrierte Flüssigkeit wird zur Entfernung des Schwefelwasserstoffs etwas eingeengt, zur Entfernung der Salzsäure mit frisch gefälltem Silberoxyd geschüttelt, wieder filtriert und abgedampft. Es bleibt Cholin zurück.

Eigenschaften. Cholin stellt einen stark alkalisch reagierenden Syrup dar, welcher in Wasser und Alkohol leicht löslich, in Aether unlöslich ist. Das salzsaure Salz $C_5H_{14}NOCl$, in Wasser und Alkohol leicht löslich, in Aether unlöslich, krystallisiert beim Stehen seiner eingedampften, wässerigen Lösung über Schwefelsäure oder beim Ueberschichten seiner concentrierten alkoholischen Lösung mit Aether. Die alkoholische Lösung des salzsauren Cholins gibt mit Goldchlorid das in kleinen, gelben Nadeln sich ausscheidende, in kaltem Wasser schwer, in kaltem Alkohol und in Aether unlösliche, in heissem Wasser und heissem Alkohol lösliche Golddoppelsalz $C_5H_{14}NOCl \cdot AuCl_3$ (Schmelzpunkt bei langsamen Erhitzen 243—244°, bei schnellem Erhitzen 249°), mit Sublimat langsame Abscheidung von $C_5H_{14}NOCl \cdot 6HgCl_2$, in kaltem Wasser schwer lösliche (1,5 : 100 bei 19,5°) Krystalle*) (Mörner[1]), mit Cadmiumchlorid weissen krystallinischen Niederschlag $C_5H_{14}NOCl \cdot CdCl_2$ (Schmidt[2]), mit Platinchlorid hellgelben Niederschlag von Cholinplatinchlorid $(C_5H_{14}NOCl)_2 \cdot PtCl_4$. Das Platindoppelsalz schmilzt bei 233—234° (indessen abhängig von der Schnelligkeit des Erhitzens), ist in Alkohol und in Aether unlöslich, löslich in Wasser, und zwar lösen sich in 100 T. bei 21° 17,2 T. Es ist polymorph[3]); beim Abdampfen der Lösung scheidet es sich zuerst oft als sechsseitige Blättchen oder lange, flache Nadeln aus; die gereinigten Krystalle sind orangerote, oft grosse und dicke, monokline Tafeln oder Prismen. Aus warmer 15 pCt. Alkohol enthaltender Lösung krystallisiert es in regulären Octaedern. Das Pikrat ist in Wasser und Alkohol leicht löslich, das Pikrolonat $C_5H_{14}NO \cdot C_{10}H_7N_4O_5 + H_2O$ (Smp. 158°) ebenfalls (Otori[4]), das Chromat löst sich sehr leicht in Wasser, während das Neurinchromat kaum löslich ist (Cramer[5]). In neutralen Lösungen von salzsaurem Cholin entstehen Niederschläge mit Phosphormolybdänsäure, Phosphorwolframsäure, Kaliumwismuthjodid, Kaliumquecksilberjodid, Jodjodkalium, Quecksilberchlorid (gesättigte wässerige Lösung), Gerbsäure. Näheres über diese Niederschläge siehe bei Gulewitsch[3]). Aus nicht zu verdünnten schwachsauren oder sodaalkalischen Lösungen wird

Verbindungen: mit Salzsäure.

mit Goldchlorid.

mit Mercurichlorid.

mit Cadmiumchlorid.

mit Platinchlorid.

mit Pikrinsäure.

mit Pikrolonsäure.

mit Chromsäure.

mit Phosphorwolframsäure usw.

mit Jod.

---

*) Ueber andere Quecksilberchloridverbindungen siehe Letsche H.-S. **53**. 57. (1907.)

1) H.-S. **22**. 520. (1896/97.)

2) H.-S. **53**. 428. (1907.)

3) Hundeshagen, J. f. pr. Ch. N. F. **28**. 246. (1883.)
Gulewitsch, H.-S. **24**. 513. (1898), hier eingehende Beschreibung der Cholinverbindungen und Litteraturangaben.

4) H.-S. **43**. 305. (1904/05.)

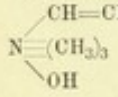
5) J. of Ph. **31**. 31. (1904.)

Cholin durch Kaliumtrijodid fast quantitativ als krystallisiertes Perjodid ausgefällt (Stanek[1]).

Zersetzungen. Die freie Base zerfällt beim Erhitzen in Trimethylamin, Aethylenoxyd und Wasser. Verdünnte Lösungen zersetzen sich nicht beim Kochen mit Barytwasser und nicht bei der Einwirkung von Natriumalkoholat, concentrierte geben beim Kochen mit Barytwasser oder mit Kalilauge bei gewöhnlicher Temperatur Trimethylamin. Bei der Fäulniss unter Luftabschluss entstehen als Endproducte Kohlensäure, Sumpfgas, Ammoniak und Methylamin (Hasebroek[2]).

Nachweis. Dem Nachweis des Cholins muss die Isolierung vorangehen. Starkes Concentrieren der die freie Base enthaltenden Lösung ist, so weit möglich, zu vermeiden. Man dampft die Flüssigkeiten, welche zur Untersuchung verwendet werden sollen, angesäuert ein, extrahiert den Rückstand mit absolutem Alkohol und fällt die alkoholische Lösung mit alkoholischem Sublimat. Der abfiltrierte und mit Alkohol ausgewaschene Niederschlag wird in heissem Wasser gelöst, die Lösung mit Schwefelwasserstoff behandelt, filtriert und eingedampft, der Rückstand mit absolutem Alkohol gelöst und die Lösung mit alkoholischer Platinchloridlösung gefällt. Das Platinsalz dient zur Identifizierung (31,64 pCt. Pt). Seine Löslichkeit in Wasser gestattet gute Trennung von Neurinplatinchlorid.

Vorkommen. 155. **Neurin (Trimethylvinylammoniumhydroxyd) $C_5H_{13}NO$.** Das Vorkommen von Neurin im Körper ist zweifelhaft, es findet sich entgegen früheren Angaben nicht unter den Spaltungsproducten des Gehirns (Gulewitsch[3]), kommt gelegentlich in Liebig's Fleischextract vor (Kutscher[4]). Brieger[5]) erhielt es neben Neuridin bei 5—8tägiger Fäulnis von Fleisch. Verdünnte wässerige Lösungen von Cholin gehen bei längerem Stehen zum Teil in Neurin über.



Synthetisch wurde es von Hofmann[6]) und von Baeyer[7]) dargestellt.

Eigenschaften. Die in Wasser sehr leicht lösliche Base reagiert stark alkalisch. $C_5H_{12}NCl$ zerfliessliche, in Wasser und absolutem Alkohol leicht lösliche Nadeln. $(C_5H_{12}NCl)_2 . PtCl_4$ krystallisiert in einer Combination von Oktaedern und Würfeln, ist in Wasser viel schwerer löslich, als das entsprechende Cholinsalz (2,66 Tl. lösen sich in 100 Tl. bei 20,5°) und geht entgegen früherer Angabe beim Umkrystallisieren nicht in das Cholinsalz über. $C_5H_{12}NCl . AuCl_3$ goldgelbe, nadelförmige Krystalle (Smp. 248° unter Aufschäumen) in kaltem Wasser sehr schwer, in heissem Wasser und in Alkohol ziemlich leicht löslich. Näheres über diese und andere Salze bei Gulewitsch[8]). Das Chromat $C_5H_{13}NO . H_2CrO_4$ ist in Wasser kaum löslich im Gegensatz zum Cholinchromat (Cramer). Lösungen von Neurinchlorid verhalten sich gegen Phosphormolybdänsäure,

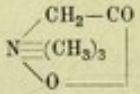
1) H.-S. **46**. 280. (1905), **47**. 83. (1906), **48**. 334. (1906.), **54**. 354. (1908.) Kiesel H.-S. **53**. 215. (1907.)
2) H.-S. **12**. 148. (1888.)
3) H.-S. **27**. 50. (1899.)
4) Z. f. Unters. N. u. G. **11**. 582. (1906.)
5) B. **16**. 1190. (1883.), **17**. 515 und 1137. (1884.)
6) Jahrb. d. Chem. 1858. S. 339.
7) A. **140**. 311. (1866.)
8) H.-S. **26**. 175. (1898/99.)

Phosphorwolframsäure, Kaliumwismuthjodid, Kaliumquecksilberjodid, Sublimat und Gerbsäure wie Cholinchlorid, nur dass die Niederschläge in noch viel verdünnteren Lösungen entstehen (Gulewitsch).

Verdünnte wässerige Neurinlösungen werden weder durch Sieden, noch beim Kochen mit concentriertem Barytwasser, noch beim Erwärmen nach dem Ansäuern mit Salzsäure auf dem Wasserbad zersetzt, ebensowenig alkoholische Lösungen bei der Einwirkung von Natriumalkoholat. Aus concentrierten Lösungen entweicht beim Kochen Trimethylamin (Gulewitsch). Zersetzungen.

Zur Trennung von Cholin und Neurin eignen sich besonders die Platinsalze, welche eine fractionierte Krystallisation und eine mechanische Auslese gestatten. Bei langsamer Verdunstung scheidet sich Cholinplatinchlorid in wenigen grossen, Neurinplatinchlorid dagegen in zahlreichen kleinen Krystallen ab. Auch die Chromate können zur Trennung dienen. Trennung von Cholin u. Neurin.

156. **Betain (Oxyneurin)** $C_5H_{11}NO_2 + H_2O$ wurde von Liebreich[1]) in sehr geringer Menge im Harn, von Brieger[2]) in der Miesmuschel, von Kutscher und Ackermann[3]) im Krabbenextract nachgewiesen. Scheibler[4]) stellte es aus Rübenmelasse und unreifen Rüben (der grösste Teil der stickstoffhaltigen organischen Bestandteile der Melasseschlempe besteht aus Betain), E. Schulze[5]) aus Baumwollen- und Wickensamen, aus Malz- und Weizenkeimlingen dar; auch aus anderen Pflanzen ist es gewonnen worden[6]). Vorkommen.



Es entsteht bei der Oxydation von Cholin, sowie synthetisch durch Einwirkung von Monochloressigsäure auf Trimethylamin (Liebreich). Man erhält es am reichlichsten u. z. in wasserfreier Form $C_5H_{11}NO_2$ durch achtstündiges Erhitzen von Dimethylaminoessigsäuremethylester im Einschlussrohr auf 200° (Willstätter[7]). Darstellung.

Es ist in Wasser und Alkohol löslich und krystallisiert aus Alkohol in grossen, wasserhellen, an der Luft zerfliesslichen Krystallen. $C_5H_{11}NO_2 . HCl$, in Wasser leicht lösliche, in absolutem Alkohol unlösliche Tafeln. $C_5H_{11}NO_2 . HCl . AuCl_3$ (Smp. 224°), in kaltem Wasser schwer lösliche Nadeln oder Blättchen. $(C_5H_{11}NO_2 . HCl)_2 . HgCl_2$, in Wasser lösliche Täfelchen. Das Pikrat krystallisiert in gelben Nadeln und scheidet sich aus mit Pikrinsäure gesättigter alkoholischer Lösung fast quantitativ aus. Das Pikrolonat krystallisiert in feinen Nadeln, welche in Wasser und Alkohol leicht löslich sind (Otori[8]). Mit Phosphormolybdänsäure geben Betainlösungen gelben Niederschlag. Beim Erhitzen mit Alkalien entweicht Trimethylamin. Eigenschaften.

157. **Muscarin** $C_5H_{15}NO_3$ wurde zuerst aus Fliegenpilzen von Schmiedeberg und Koppe[9]) erhalten. Brieger[10]) erhielt aus (5 Tage bei Sommertemperatur) gefaultem Dorsch eine Base als Platindoppelsalz von Zusammensetzung und Eigenschaften des Muscarins.

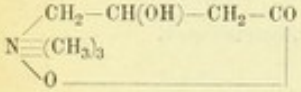
Es entsteht bei der Einwirkung von Salpetersäure auf Cholin oder Cholinplatinchlorid (Schmiedeberg und Harnack[11]).

---

1) B. **2**. 12 u. 167. (1869.), **3**. 161. (1870.)
2) Ptomaine. Heft 3. S 77.
3) Z. f. Unters. N. u. G. **13**. 610. (1907.), **14**. 687. (1907.)
4) B. **2**. 292. (1869.), **3**. 155. (1870.)
5) H.-S. **15**. 140. (1891.), **17**. 204. (1893.)
E. Schulze und Frankfurt, B. **26**. 2151. (1893.)
6) Literatur siehe Stanek, H.-S. **48**. 334. (1906.)
7) B. **35**. 596. (1902.)
8) H.-S. **43**. 305. (1904/05.)
9) Vierteljahrsschr. f. Pharm. **19**. 276. (1870.) Das Muscarin. Leipzig 1869.
10) Ptomaine. Heft 1. S. 48.
11) A. exp. P. u. Ph. **4**. 168. (1875.), **6**. 101. (1877.)

Zerfliessliche, alkalisch reagierende Krystalle, in Alkohol löslich, durch Kaliumquecksilberjodid oder Kaliumwismuthjodid aus ihren Lösungen fällbar. Das Platindoppelsalz ($+ 2H_2O$) krystallisiert in Octaedern und ist in Wasser schwer löslich, auch das Golddoppelsalz löst sich schwer.

Vorkommen.



158. **Carnitin $C_7H_{15}NO_3$** wurde von Gulewitsch und Krimberg[1]) aus dem Fleischextract und aus frischem Fleisch isoliert und zwar aus dem Filtrat, welches nach Ausscheidung des Carnosins als Silberbase (§ 165) zurückbleibt, mit Hülfe von Kaliumwismuthjodid. Es ist nach ihnen ein γ-Trimethyloxybutyrobetain, dem vielleicht nebenstehende Formel zukommt.

Eigenschaften.

Es reagiert stark alkalisch, ist in Wasser sehr leicht löslich, beim Neutralisieren mit Salzsäure wird ein blaues Lakmuspapier schon rot, wenn der grösste Teil der Base noch ungebunden ist.

Verbindungen: mit Platinchlorid.

Platinsalz $(C_7H_{15}NO_3 . HCl)_2 . PtCl_4$ scheidet sich aus heissem 80 proc. Alkohol in sehr kleinen und kurzen Prismen oder als krystallinisches

mit Goldchlorid.

Pulver ab (Smp. 214—218° unter Zersetzung). Goldchloridsalz $C_7H_{15}NO_3 . HCl . AuCl_3$, citronengelbe Nadeln oder orangegelbes Oel, das aber bald

mit Mercurichlorid.

krystallinisch und citronengelb wird, Smp. 153—154°. Quecksilberchloridsalze bildet es zwei u. z. scheidet sich aus alkoholischer Lösung der freien Base auf Zusatz von alkoholischer Sublimatlösung $C_7H_{15}NO_3 . 2 HgCl_2$ ab, aus Lösungen, welche einen kleinen Ueberschuss von Salzsäure enthalten, $C_7H_{15}NO_3 . HCl . 6 HgCl_2$ als schwer krystallisierendes Oel. Die erste Quecksilberverbindung ist schwerer löslich in Wasser, scheidet sich sofort krystallinisch (Smp. 204—205°) ab und eignet sich deshalb zur Isolierung und Reinigung.

Optische Eigenschaften.

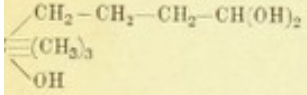
Die Lösungen der Salze drehen links. Eine 10 proc. (freie Salzsäure enthaltende) Lösung des Chlorids: $\alpha_{(D)} = -20{,}91°$.

Zersetzungen.

Beim Erhitzen mit Aetzbaryt auf 150° entstehen Trimethylamin und eine Säure von der Zusammensetzung der Crotonsäure, bei der Reduction mit Jodwasserstoff und Phosphor im Oelbade bei 130° entsteht γ-Trimethylbutyrobetain.

Nach Krimberg[2]) ist das Carnitin mit dem Novain (§ 159) identisch.

Vorkommen.



159. **Novain***) **$C_7H_{19}NO_3$** wurde von Kutscher[3]) als regelmässiger Bestandteil des Liebig'schen Fleischextractes nachgewiesen, ist auch im Menschenharn vorhanden, wenn auch nicht regelmässig (Dabrowski, Kutscher und Lohmann[4]). Im Katzenharn erscheint es nach subkutaner

---

*) Die von Dabrowski (Sur la mannite et les ptomaines etc. 1903. S. 11) aus Menschenharn als Platinat isolierte Base ist nach Kutscher Novain. Nach Krimberg (H.-S. **53**. 466) ist Novain mit Carnitin (§ 158) identisch.

1) H.-S. **45**. 326. (1905.), Krimberg, H.-S. **48**. 412. (1906.), **49**. 89. (1906.), **50**. 361. (1906/07.) **53**. 514. (1907.), **55**. 466. (1908.)

2) H.-S. **55**. 466. (1908.)

3) Z. f. Unters. N. u. G. **10**. 528. (1905.), **11**. 582. (1906.)

4) H.-S. **48**. 1. (1906.)

Zufuhr von Oblitin (Kutscher und Lohmann[1]). Es entsteht aus Oblitin durch bakterielle Zersetzung (Kutscher[2]). Es wurde als Goldverbindung analysiert. Kutscher[3]) schreibt ihm nebenstehende Konstitutionsformel zu.

Das Chlorid wird zunächst als Syrup erhalten, welcher über Schwefelsäure nach einiger Zeit Drusen von feinen Nadeln anschiessen lässt. $C_7H_{18}NO_2Cl \,.\, AuCl_3$ scheidet sich aus conc. wässeriger Chloridlösung auf Zusatz von Goldchlorid als Oel ab, das bald in schönen hellgelben Blättchen oder gelbroten Nadeln krystallisiert. Platinchlorid fällt in alkoholischer Lösung des Chlorides ein amorphes in Alkohol unlösliches Platinat, welches in Wasser sehr leicht löslich ist und daraus in Nadeln krystallisiert. Kaliumwismuthjodid gibt starke Trübung, aus der sich bald rote Nadeln abscheiden, welche in kaltem Wasser kaum löslich sind, durch heisses zersetzt werden. Kaliummercurijodid gibt weisse im Ueberschuss lösliche Fällung, Pikrinsäure und Kaliumcadmiumjodid keine Fällung.

Eigenschaften. Verbindungen: mit Salzsäure. mit Goldchlorid. mit Platinchlorid. mit Kaliumwismuthjodid.

Bei der Destillation mit Aetzbaryt geht aller Stickstoff als Trimethylamin über. Aus dem Rückstand lassen sich Bernsteinsäure und wahrscheinlich Crotonsäure isolieren (Kutscher[3]).

Zersetzungen.

Reductonovain $C_7H_{17}NO_2$ wurde von Kutscher[4]) aus Menschenharn isoliert und als Goldverbindung analysiert. Es scheint in demselben Verhältnis zum Novain zu stehen wie das Neurin zum Cholin.

Das Goldsalz $C_7H_{16}NOCl \,.\, AuCl_3$ scheidet sich aus heissem stark salzsäurehaltigem Wasser als allmählich krystallisierendes Oel ab. Es schmilzt bei 155—160°, vollständig erst bei 175—180°. Bei der Destillation mit Baryt gibt es Trimethylamin.

160. **Oblitin** $C_{18}H_{38}N_2O_5$ wurde von Kutscher[5]) aus Liebig's Fleischextract isoliert und als Platin- und als Goldsalz analysiert.

Das Chlorid krystallisiert in langen, glänzenden durchsichtigen Nadeln. Seine Lösungen geben mit Pikrinsäure, Kaliumcadmiumjodid und Kaliummercurijodid keine Niederschläge, mit Kaliumwismuthjodid Trübung, aus der sich bald glänzende rote Nadeln abscheiden. Diese sind in kaltem Wasser kaum löslich, werden durch heisses Wasser zersetzt. $C_{18}H_{38}N_2O_5 \,.\, 2HCl \,.\, PtCl_4$ hellrote glänzende Oktaeder oder Blättchen, in kaltem Wasser schwer, in heissem leicht löslich, in absolutem Alkohol unlöslich. Es zersetzt sich unter Aufschäumen bei 230°, nach Krimberg[6]) bei 216—217°.

$C_{18}H_{38}N_2O_5 \,.\, 2HCl \,.\, 2AuCl_3$ krystallisiert in breiten hellgelben Blättchen, die in kaltem Wasser sehr schwer, in heissem ziemlich leicht löslich, in absolutem Alkohol löslich sind.

Bakterien spalten aus ihm Novain ab (Kutscher[7]). Nach subcutaner Zufuhr an Katzen erscheint Novain im Harn (Kutscher u. Lohmann[8]).

161. **Neosin** $C_6H_{17}NO_2$ wurde von Kutscher[9]) in Liebig's Fleischextract, wenn auch nicht regelmässig, von Kutscher und Ackermann[10]) im Krabbenextract gefunden und als Goldverbindung analysiert.

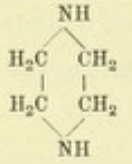
---

1) H.-S. **48**. 1. (1906.)
2) H.-S. **48**. 331. (1906.)
3) H.-S. **49**. 47. (1906.), **49**. 484. (1906.), **50**. 250. (1906/07.)
4) H.-S. **51**. 457. (1907.)
5) Z. f. Unters. N. u. G. **10**. 528. (1905.) **11**. 582. (1906.)
6) H.-S. **55**. 472. (1908.)
7) H.-S. **48**. 331. (1906.)
8) H.-S. **48**. 1. (1906.)
9) Z. f. Unters. N. u. G. **10**. 528. (1905.)
10) Z. f. Unters. N. u. G. **14**. 687. (1907.) H.-S. **56**. 220. (1908.)

$C_6H_{16}NOCl \cdot AuCl_3$, dünne sechsseitige hellgelbe Blättchen, in kaltem Wasser sehr schwer, in heissem ziemlich leicht löslich, in absolutem Alkohol leicht löslich. Smp. 202 bis 205°. Bei der Verbrennung entsteht Geruch nach Heringslake. Bei der Destillation mit Aetzbaryt geht Trimethylamin über.

Diamine.

Vorkommen.



162. **Spermin (Piperazin, Diaethylendiamin)** $C_4H_{10}N_2$. Aus Sperminphosphat bestehen nach Schreiner[1]) die in eingetrocknetem Sperma und auf alten anatomischen Spirituspräparaten auftretenden Krystalle (Böttchersche Krystalle). Auch eine aus Reinkulturen von Choleravibrionen erhaltene Base (S. 217, 1) scheint mit Spermin identisch zu sein.

Darstellung. Synthetisch ist Spermin von Ladenburg und Abel[2]) durch Erhitzen von salzsaurem Aethylendiamin erhalten worden. Auch nach anderen Verfahren ist die Synthese ausgeführt (v. Hofmann[3]), Majert[4]) u. A.).

Wird das natürliche Phosphat, welches bei 100° getrocknet 35,1 bis 35,4 pCt. P_2O_5 enthält, mit der berechneten Menge Barytwasser versetzt und das Filtrat verdunstet, so bleibt eine amorphe Masse zurück, die sich meist bald in wawellitartige Krystalle verwandelt.

Eigenschaften. Spermin ist in Wasser und Alkohol leicht löslich, reagiert alkalisch, zieht aus der Luft Kohlensäure an und gibt beim Erhitzen auf dem Platinblech schwachen Ammoniakgeruch und dicke, weisse Nebel. Auf

Verbindungen: mit Phosphorsäure. Zusatz von Phosphorsäure entstehen sogleich wieder die ursprünglichen Krystalle, welche 21,2 pCt. bei 100° entweichendes Krystallwasser enthalten und in Alkohol, Aether, Chloroform, Kochsalzlösung unlöslich, in kaltem Wasser schwer, in heissem leichter löslich, in verdünnten Säuren, in Alkalien

mit Salzsäure. und kohlensauren Alkalien sowie in Ammoniak leicht löslich sind. Das salzsaure Salz bildet in Wasser leicht, in Alkohol schwer lösliche, büschelförmig vereinigte, anscheinend sechsseitige Prismen, das Platindoppelsalz ziemlich grosse Prismen, das Golddoppelsalz perlmutterglänzende, goldgelbe Nadeln.

mit Benzoesäure. Beim Schütteln mit Benzoylchlorid und Natronlauge entsteht die Dibenzoylverbindung $C_4H_8N_2 \cdot 2\,C_6H_5CO$ als in Wasser nicht löslicher Niederschlag, der sich beim Umkrystallisieren aus heissem Alkohol in schönen rhombischen Krystallen (Smp. 191°) abscheidet.

Andere Verbindungen. Die Lösungen werden gefällt durch Chlorzink, Gerbsäure, Silbernitrat, Sublimat, Goldchlorid, Platinchlorid, Phosphorwolframsäure und Phosphormolybdaensäure. Kaliumwismuthjodid gibt scharlachroten, nach einiger Zeit ins Gelbe spielenden krystallinischen Niederschlag.

Charcot'sche Krystalle. Die sog. Charcot'schen Krystalle, die besonders in Sputis bei Asthma bronchiale, Bronchitis fibrinosa, im Blut und in Organen bei Leukämie, aber auch an anderen Orten zur Beobachtung kommen, unterscheiden sich von

1) A. **194**. 68. (1878.)
2) B. **21**. 758. (1888.), **23**. 326 und 3740. (1890.), **24**. 2400. (1891.)
3) B. **23**. 3297. (1890.)
4) B. **23**. 3718. (1890.)

den Böttcher'schen durch ihre Krystallformen und auch dadurch, dass sie durch Jodjodkali nicht gefärbt werden, während die Böttcher'schen dunkelblauschwarz werden (Th. Cohn[1]), B. Lewy[2]). Eine chemische Untersuchung der Charcot'schen Krystalle scheint nicht vorzuliegen.

163. **Putrescin (Tetramethylendiamin)** $C_4H_{12}N_2$ ist von Brieger[3]) als Fäulnisproduct zuerst aufgefunden. Es ist auch im Emmenthaler Käse (Winterstein und Thöny[4]) und unter den Produkten einer zweimonatigen Autolyse von Schweinemagen (Lawrow[5]) nachgewiesen. Ellinger[6]) beobachtete seine Bildung bei der bacteriellen Zersetzung des Ornithins, Dakin[7]) bei der Digestion von Ornithin mit Lebergewebe. Von Baumann und v. Udránszky[8]) wurde es aus Harn und Fäces bei Cystinurie neben Cadaverin und von Roos[9]) aus den Fäces eines Diarrhöekranken erhalten. Das Vorkommen im Harn von Cystinurikern ist aber kein regelmässiges. Löwy und Neuberg[10]) sahen es in einem solchen Fall nach Eingabe von Arginin erscheinen. Vorkommen.

$$\begin{array}{l} CH_2-NH_2 \\ | \\ (CH_2)_2 \\ | \\ CH_2-NH_2 \end{array}$$

Ueberall, wo es auftritt, scheint es aus Arginin oder Ornithin entstanden zu sein.

Synthetisch gewinnt man es aus Aethylencyanid[11]) oder Pyrrolhydroxylamin[12]) durch Reduction mit Natrium. Darstellung.

Zur Isolierung von Putrescin und Cadaverin (§ 164) dienen folgende Verfahren:

Isolierung: mittelst der Benzoylverbindungen.

1) aus Harn, Fäces, faulenden Substanzen mit Hülfe der Benzoylverbindungen nach v. Udránszky und Baumann: 1500 ccm Harn werden mit 200 ccm 10 proc. Natronlauge und 20—25 ccm Benzoylchlorid bis zum Verschwinden des Geruchs nach Benzoylchlorid geschüttelt. Fäces und faulende Massen digeriert man zunächst mit schwefelsäurehaltigem Alkohol, verdunstet den Auszug, löst den Rückstand in Wasser und benzoyliert die filtrierte Lösung in der eben angegebenen Weise. Der grösste Teil der gebildeten Benzoylverbindungen scheidet sich ab (a), ein kleiner Teil bleibt in Lösung (b). Der abfiltrierte Niederschlag (a) wird mit Alkohol behandelt, der eingeengte alkoholische Auszug in die etwa 30 fache Menge Wasser gegossen, die sich allmählich abscheidende Krystallisation abfiltriert, mit Wasser gewaschen und wieder in Alkohol gelöst. Aus der mit Wasser verdünnten Lösung scheiden sich die Benzoyl-

1) D. A. f. klin. M. **54**. 515. (1895.)
2) Klin. exp. Beitr. z. inn. Med. (Lazarus-Festschr.) Hirschwald 1899.
3) Untersuchungen über Ptomaine. I, II, III (1885/86.)
4) H.-S. **36**. 28. (1902.)
5) H.-S. **33**. 312. (1901.)
6) H.-S. **29**. 334. (1900.)
7) J. B. Ch. **1**. 171. (1906.)
8) B. **21**. 2744 u. 2938. (1888.) H.-S. **13**. 562. (1889.)
9) H.-S. **16**. 192. (1892.)
10) H.-S. **43**. 338. (1904/5.)
11) B. **19**. 780. (1886.)
12) B. **22**. 1968. (1889.)

verbindungen ab. Die abfiltrierte Flüssigkeit (b) wird mit Schwefelsäure stark angesäuert und mit Aether mehrfach ausgeschüttelt, der Rückstand des Aetherauszugs alsbald mit überschüssiger Natronlauge versetzt und zur Krystallisation in die Kälte gestellt. Die ausgeschiedenen Krystalle werden mit kaltem Wasser gewaschen, in wenig warmem Alkohol gelöst, aus dieser Lösung durch viel Wasser abgeschieden und mit der Hauptmenge vereinigt. Das auf diese Weise erhaltene Gemenge der Benzoylverbindungen von Cadaverin und Putrescin löst man in einer zur Lösung gerade erforderlichen Quantität warmem Alkohol und giesst die Flüssigkeit in das 20 fache Vol. Aether: Die Putrescinverbindung krystallisiert aus, die Cadaverinverbindung bleibt in Lösung.

mittelst der Phenylisocyanatverbindungen.

2. aus Harn mit Hülfe der Phenylisocyanatverbindungen nach Loewy und Neuberg: der vom ausgefallenen Cystin befreite Harn wird schwach mit Schwefelsäure angesäuert und mit Phosphorwolframsäure ausgefällt, der Niederschlag ausgewaschen und mit Baryt zerlegt. Nach Entfernung des überschüssigen Bariums durch Kohlensäure wird die alkalisch reagierende Flüssigkeit mit Natronlauge versetzt und darauf mit Phenylcyanat so lange noch ein Niederschlag entsteht. Der abfiltrierte Niederschlag, welcher die Phenylcyanatverbindungen von Cadaverin und Putrescin enthält, wird mit Alkohol ausgekocht und nach dem Trocknen in soviel Pyridin gelöst, dass eine nach dem Abkühlen gerade gesättigte Lösung entsteht. Aus ihr fällt auf Zusatz von wasserfreiem Aceton momentan das Putrescinderivat aus, während die Cadaverinverbindung sich erst bei mehrstündigem Stehen aus dem Filtrat abscheidet. Beide Fractionen werden durch Umkrystallisieren gereinigt.

Andere Isolierungsverfahren.

3. nach Brieger siehe § 169, 1; 4. nach Ackermann siehe § 169, 3.

Eigenschaften.

Putrescin krystallisiert, schmilzt bei 24°, siedet bei 158—160°, ist mit Wasserdämpfen ziemlich schwer flüchtig, riecht nach Sperma und zieht Kohlensäure an. Das salzsaure Salz $C_4H_{12}N_2 . 2\,HCl$ ist in Alkohol schwer löslich, in absolutem unlöslich. Das Platindoppelsalz $C_4H_{12}N_2 . 2\,HCl . PtCl_4$ ist in Wasser schwer löslich und krystallisiert aus der wässerigen Lösung in feinen Prismen. Das Goldchloriddoppelsalz $C_4H_{12}N_2 . 2\,HCl . 2\,AuCl_3 + 2\,H_2O$ ist in Wasser nicht schwer löslich, das Pikrat krystallisiert in breiten, in Wasser schwer löslichen Nadeln und zersetzt sich bei 250°. Das Pikrolonat $C_4H_{12}N_2 . 2\,C_{10}H_8N_4O_5$, feine gelbe Nadeln in Wasser und Alkohol sehr wenig löslich und bei 263° sich zersetzend (Otori[1]).

Verbindungen: mit Salzsäure. mit Platinchlorid. mit Goldchlorid. mit Pikrinsäure. mit Pikrolonsäure.

mit Benzoesäure.

Das Dibenzoylputrescin $C_4H_8(NH . C_6H_5CO)_2$, durch Schütteln mit Benzoylchlorid und Natronlauge erhalten, bildet langgestreckte Nadeln (Smp. 175—176°), die in Wasser unlöslich, in Alkohol löslich sind und aus der alkoholischen Lösung durch überschüssigen Aether ausgeschieden werden (Unterschied von Dibenzoylcadaverin).

mit Phenylisocyanat.

Phenylisocyanatputrescin

1) H.-S. **43**. 305. (1904/05.)

$C_4H_8(NH.CONHC_6H_5)_2$ krystallisiert aus warmem Pyridin oder einem Gemisch von letzterem mit Aceton in zu Garben und Büscheln vereinigten Nadeln vom Smp. 240° (corr); unlöslich in Wasser, Aceton, Essigäther, Schwefelkohlenstoff und kaltem Alkohol, nur spurenweise in heissem Alkohol löslich.

Andere Verbindungen.

Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdaensäure, Kaliumquecksilberjodid, Kaliumwismuthjodid, Jodjodkalium, Pikrinsäure geben mit dem salzsauren Putrescin Niederschläge, die mit Ausnahme der durch die ersten beiden Reagentien hervorgerufenen krystallinisch sind oder es bald werden.

Zersetzung.

Bei der Destillation des Chlorids entsteht Ammoniak, Salzsäure und Pyrrolidin C_4H_9N (Ackermann[1]).

Vorkommen.

164. **Cadaverin (Pentamethylendiamin)** $C_5H_{14}N_2$ wurde von Brieger (a. a. O.) aus (unter bestimmten Verhältnissen) gefaultem Fleisch und aus Culturen von Choleravibrionen erhalten. Es ist ferner im Emmenthaler Käse (Winterstein und Thöny[2]) und unter den Producten einer zweimonatigen Autolyse von Schweinemagen (Lawrow[3]) und einer langdauernden peptischen Verdauung von krystallisiertem Ovalbumin (Langstein[4]) aufgefunden. Nach Werigo[5]) ist es im frischen Pancreas enthalten und Steyrer[6]) isolierte es aus aseptisch gehaltenem Pancreasverdauungsgemisch, während Kutscher und Lohmann[7]) es bei der Pancreasselbstverdauung nicht fanden. Es entsteht bei der bacteriellen Zersetzung des Lysins (Ellinger[8]) und bei dessen Destillation (Neuberg[9]). Baumann und v. Udránszky[10]) entdeckten es im Harn und in den Fäces von Personen, die an Cystinurie litten; doch findet es sich nicht regelmässig in Harnen solcher Kranker. Roos[11]) fand es vorübergehend in den Fäces eines an Malaria und Dysenterie leidenden Mannes. Loewy und Neuberg[12]) sahen es in dem Harn eines Cystinurikers nach Eingabe von Lysin erscheinen.

$$\begin{array}{l} CH_2-NH_2 \\ | \\ (CH_2)_3 \\ | \\ CH_2-NH_2 \end{array}$$

Ueberall, wo es auftritt, scheint es aus dem Lysin entstanden zu sein.

Darstellung.

Synthetisch wurde es von Ladenburg[13]) beim Eintragen von Natrium in eine siedende, alkoholische Lösung von Trimethylencyanid erhalten. Eine andere vom Piperidin ausgehende Synthese ist von v. Braun[14]) angegeben. Ueber die Isolierung aus Harn, Fäces, gefaulten Massen siehe § 163.

1) H.-S. **53**. 545. (1907.)
2) H.-S. **36**. 28. (1902.)
3) H.-S. **33**. 312. (1901.)
4) P. Ph. P. **2**. 229. (1902.)
5) Pfl. A. **51**. 362. (1892.)
6) B. Ph. P. **1**. 506. (1902) u. **2**. 288. Fussnote (1902.)
7) H.-S. **41**. 332. (1904.)
8) H.-S. **29**. 334. (1900.)
9) H.-S. **45**. 118. (1905.)
10) B. **21**. 2744 u. 2938. (1888.), H.-S. **13**. 562. (1889.) Brieger u. Stadthagen, B. k. W. 1889. S. 344.
11) H.-S. **16**. 192. (1892.)
12) H.-S. **43**. 338. (1904/05.)
13) B. **16**. 1151. (1883.), **18**. 2957 u. 3100. (1885.), **19**. 780 u. 2586. (1886.), **20**. 2216. (1887.)
14) B. **37**. 3583. (1904.)

Eigenschaften. Cadaverin stellt einen Syrup dar, der nach Sperma riecht, an der Luft raucht und Kohlensäure unter Carbonatbildung aufnimmt. Es siedet bei 175—178°, ist mit Wasserdämpfen flüchtig und löst sich leicht in Wasser oder Alkohol, wenig in Aether. Das salzsaure Salz $C_5H_{14}N_2 . 2\,HCl$ ist nach Gulewitsch[1]) nicht zerfliesslich, nach früheren Angaben und nach Ackermann[2]) an der Luft zerfliesslich. Es ist in Alkohol löslich, in absolutem Alkohol unlöslich. Diese Eigenschaft kann zur Trennung von dem in Alkohol schwer löslicher Putrescinchlorid dienen. Das Quecksilberdoppelsalz $C_5H_{14}N_2 . 2\,HCl . 4\,HgCl_2$ krystallisiert in wechselnden Formen, löst sich in 32,5 Tl. Wasser bei 21° und schmilzt bei 214°. Das Platindoppelsalz $C_5H_{14}N_2 . 2\,HCl . PtCl_4$ entsteht in der Lösung des salzsauren Salzes auf Zusatz von alkoholischer Platinchloridlösung als gelber Niederschlag; es ist in 70,8 Tl. Wasser bei 21° löslich, krystallisiert aus Wasser in Prismen oder Nadeln und schmilzt bei etwa 215°. Krystallisierendes, in Wasser leicht lösliches Golddoppelsalz $C_5H_{14}N_2 . 2\,HCl . 2\,AuCl_3$ (Smp. 186 bis 188°). Das Pikrat $C_5H_{14}N_2 . 2\,C_6H_3N_3O_7$ ist in kaltem Wasser fast unlöslich, krystallisiert in dünnen Nadeln oder langgestreckten Tafeln und schmilzt bei 221° unter Zersetzung. Das Pikrolonat $C_5H_{14}N_2 . 2\,C_{10}H_8N_4O_5$ orangegelbe Nadeln und Täfelchen, in Wasser und Alkohol schwer löslich, aber löslicher als Putrescinpikrolonat. Zersetzungspunkt 250° (Otori[3]).

Verbindungen: mit Salzsäure. mit Mercurichlorid. mit Platinchlorid. mit Goldchlorid. mit Pikrinsäure. mit Pikrolonsäure.

mit Benzoesäure. Die Dibenzoylverbindung $C_5H_{10}(NH . C_6H_5CO)_2$, welche beim Schütteln mit Benzoylchlorid und Natronlauge entsteht, ist unlöslich in Wasser, löslich in Alkohol, aber aus dieser Lösung durch Aether nicht fällbar und schmilzt bei 130°. Sie ist widerstandsfähig gegen starke Alkalien und Säuren und wird durch anhaltendes Kochen ihrer alkoholischen Lösung mit starker Salzsäure in Benzoesäure und salzsaures Cadaverin gespalten. Phenylisocyanatcadaverin $C_5H_{10}(NH . CONHC_6H_5)_2$ (Smp. 207—209° corr.) verhält sich sehr ähnlich wie die entsprechende Putrescinverbindung, nur ist es in Pyridin etwas löslicher (Loewy und Neuberg[4]).

mit Phenylisocyanat.

Andere Verbindungen. Mit Phosphormolybdaensäure geben seine Lösungen weissen, mit Kaliumwismuthjodid roten krystallinischen Niederschlag, mit Jodjodkalium braune Krystallnadeln.

Zersetzung. Das salzsaure Salz zerfällt bei der trocknen Destillation in Ammoniak, Salzsäure und Piperidin $C_5H_{11}N$.

Basen unbekannter Constitution.

Vorkommen und Darstellung. 165. **Carnosin $C_9H_{14}N_4O_3$** wurde von Gulewitsch und Amiradzibi[5]) aus Fleischextract und aus frischem Fleisch in folgender Weise gewonnen:

---

1) H.-S. **20**. 287. (1895.)
2) H.-S. **54**. 1. (1907/08.)
3) H.-S. **43**. 305. (1904/05.)
4) H.-S. **43**. 355. (1904/05.)
5) H.-S. **30**. 565. (1900.), Krimberg, H.-S. **48**. 412. (1906.) Gulewitsch, H.-S. **50**. 204. (1906/06.)

Die wässerige, mit Schwefelsäure angesäuerte Fleischextractlösung wird mit Phosphorwolframsäure gefällt, der Niederschlag mit Barythydrat zersetzt, das durch Kohlensäure vom überschüssigen Baryt befreite Filtrat nach entsprechender Concentration mit Salpetersäure neutralisiert und mit Silbernitrat versetzt, der entstandene Niederschlag abfiltriert, das Filtrat mit der nötigen Menge Silbernitrat und überschüssigem Barythydrat ausgefällt, der Niederschlag ausgewaschen und durch Schwefelwasserstoff zerlegt. Die alkalische Flüssigkeit wird mit Kohlensäure gesättigt, eingedampft, filtriert, mit Salpetersäure neutralisiert und weiter eingeengt. Sodann wird die sich ausscheidende Krystallmasse abgesaugt, in heissem Wasser gelöst und mit Alkohol bis zur Trübung versetzt: es scheiden sich allmählich zu Drusen vereinigte farblose Nadeln von Carnosinnitrat ab.

Die freie Base, aus dem Nitrat durch Fällen mit Phosphorwolframsäure gewonnen, krystallisiert in flachen Nädelchen, die in Wasser leicht löslich sind mit stark alkalischer Reaction und bei 239° unter Zersetzung schmelzen. Das Nitrat $C_9H_{14}N_4O_3 . HNO_3$ (Smp. 211—212°) dreht rechts (für 8 proc. Lösung $[\alpha]_D^{19°} = + 22{,}53°$). Carnosinsilber $C_9H_{12}Ag_2N_4O_3 . H_2O$ gallertartig, in trocknem Zustande weisse, leicht pulverisierbare Masse, in kaltem Wasser sehr schwer, in heissem etwas leichter löslich. Es fällt aus Lösungen des Nitrats auf Zusatz von Silbernitrat und Barytwasser oder Alkalilauge ebenso auf Zusatz von viel Silbernitrat und Ammoniak, um auf Zusatz von mehr Ammoniak sich wieder zu lösen. Das saure Silbernitrat krystallisiert, in Wasser leicht löslich. Carnosinkupfer tiefblaue, meist als sechsseitige Tafeln erscheinende Krystalle, in kaltem und heissem Wasser schwer löslich. Die Verbindungen zeigen eine auffallende Analogie mit denen des Arginins. Carnosin gibt die Reaction 3 des Histidin (siehe Histidin) (Gulewitsch[1]).

Eigenschaften. Verbindungen: mit Salpetersäure. mit Silber. mit Kupfer.

Bei der Spaltung mit Aetzbaryt entsteht Histidin (Gulewitsch[1]).

Zersetzungen.

166. **Ignotin $C_9H_{14}N_4O_3$**, also dem Carnosin isomer, wurde von Kutscher[2]) aus Liebig's Fleischextract isoliert. Feine Nadeln in Wasser sehr leicht löslich, in absolutem Alkohol, auch in der Hitze, kaum löslich. Es zersetzt sich schnell erhitzt unter Aufschäumen bei 248°. Die Silberverbindung, $C_9H_{12}Ag_2N_4O_3$, amorph, in Wasser kaum löslich, in Salpetersäure und überschüssigem Ammoniak leicht löslich, fällt aus auf Zusatz von Silbernitrat und Barytwasser, und von Silbernitrat und Ammoniak. Mit Phosphorwolframsäure liefert es schwerlöslichen Niederschlag, der zuerst amorph ist, sich aber nach einiger Zeit in Drusen feiner mikroskopischer Nadeln umwandelt. Mit Salzsäure schwach angewärmte Lösungen von Ignotin geben mit Pikrinsäure, Pikrolonsäure, Kaliumkadmiumjodid, Kaliummercurijodid, Platin-

1) H.-S. **50**. 535. (1906/07.)
2) Z. f. Unters. N. u. G. **10**. 528. (1905.), **11**. 582. (1906.)

chlorid, Goldchlorid keine Niederschläge, mit Kaliumwismuthjodid eine (im Ueberschuss lösliche) Trübung, aus der sich rote Platten abscheiden.

Gulewitsch[1]) hat diese Base mit Carnosin (§ 165) verglichen und hält beide für identisch. Siehe dazu die Polemik zwischen Kutscher[2]) und Gulewitsch[2]).

Kynosin $C_{13}H_{26}N_4O_4$ aus normalem Hundeharn von Kutscher u. Lohmann[3]) gewonnen und als Goldsalz analysiert $C_{13}H_{26}N_4O_4 . 2HCl . 2AuCl_3$.

Gynesin $C_{19}H_{23}N_3O_3$ aus menschlichem Harn von Kutscher u. Lohmann[4]) isoliert und als Goldsalz analysiert. $C_{19}H_{23}N_3O_3 . 2HCl . AuCl_3$ krystallisiert in dünnen hellgelben Nädelchen, welche bei 180° zu trüber Masse schmelzen, die bei 205—210° klar wird.

Mingin $C_{13}H_{18}N_2O_2$(?) aus normalem menschlichen Harn von Kutscher[5]) gewonnen und als Goldsalz analysiert. $C_{13}H_{18}N_2O_2 . 2HCl . 2AuCl_3$ kleine gelbrote vierseitige Säulen. Smp. 194°.

Verbindung $C_3H_8N_2O$ von Baumstark[6]) in ganz vereinzelten Fällen im Hunde- und Menschenharn gefunden. Sie ist in kaltem Wasser oder Alkohol schwer, in heissem Wasser leicht löslich, in absolutem Alkohol oder Aether unlöslich, krystallisiert in weissen, der Hippursäure ähnlichen Formen, schmilzt bei 250°, liefert mit Säuren leicht lösliche Salze und gibt mit salpetriger Säure behandelt eine Milchsäure, deren Zinksalz 12,6 pCt. Krystallwasser enthält.

Crangitin $C_{13}H_{20}N_2O_4$ aus Krabbenextract von Kutscher u. Ackermann[7]) isolierte Base, fällt aus alkoholischer Lösung durch Sublimat, wurde als Goldsalz (in Wasser schwer lösliche kurze Säulen von Smp. 162—165°) $C_{13}H_{20}N_2O_4 . 2HCl . AuCl_3$ analysiert.

Crangonin $C_{13}H_{26}N_2O_3$ ebenfalls aus Krabbenextract von Kutscher u. Ackermann erhalten und als Goldsalz (allmählich krystallinisch werdendes Oel, Smp. 130 bis 140°) $C_{13}H_{26}N_2O_3 . 2HCl . 2AuCl_3$ analysiert.

Base $C_6H_{14}N_2O_2$ von Krimberg[8]) aus Fleischextract als Goldchloridverbindung $C_6H_{14}N_2O_2 . HCl . AuCl_3$ (Smp. 126—128°) isoliert.

Ptomaine.

167. Unter der Bezeichnung „Ptomaine" hat zuerst Selmi[9]) eine Anzahl basischer Substanzen zusammengefasst, welche in ihrem Verhalten den Pflanzenalkaloiden sich anschliessen, aus Cadavern gewonnen werden und leicht zu Verwechselungen mit Coniin, Morphin u. s. w. Veranlassung geben können. Brieger hat diesen Namen beibehalten, aber die Ptomaine in der Weise abgegrenzt, dass unter ihnen basische Stoffe verstanden werden

1) H.-S. **50**. 204. (1906/07).

2) H.-S. **50**. 445. (1906/07.), **51**. 258 u. 545. (1907), **52**. 527. (1907.), **53**. 427. (1907.)

3) H.-S. **49**. 88. (1906.), **48**. 4. (1906.)

4) H.-S. **49**. 81. (1906.)

5) H.-S. **51**. 457. (1907.)

6) A. **173**. 342. (1874.)

7) Z. f. d. Unters. N. u. G. **14**. 687. (1907.)

8) H.-S. **55**. 476. (1908.)

9) F. Selmi, Sulle ptomaine ed alcaloidi cadaverici e lore importanza in tossicologia. Bologna. 1878. B. **11**. 808. (1878.)

sollen, welche durch die Lebensprocesse der Mikroorganismen gebildet werden. Es gelang zugleich Brieger zuerst eine Anzahl solcher Basen in reinem Zustand krystallisiert und nach bestimmten Methoden zu gewinnen und ihre chemische Zusammensetzung und ihre Eigenschaften festzustellen. Zu denselben gehören nach dieser Definition von Brieger eine Anzahl der hier in den §§ 123, 153—155, 157, 162 bis 164 beschriebenen Substanzen, nämlich Methylguanidin, Trimethylamin, Dimethylamin, Methylamin, Tri- und Diäthylamin, Propylamin, Butylamin usw., Cholin, Neurin, Muscarin, Cadaverin, Putrescin (wahrscheinlich auch Spermin). Durch zahlreiche spätere Untersuchungen sind ausserdem eine grosse Zahl basischer Körper durch verschiedene Forscher, hauptsächlich durch Brieger[1]) selbst bekannt geworden, deren chemische Structur und characteristische Eigenschaften aber noch in der Untersuchung sich befinden, oder derselben noch weiterhin bedürfen. Es sollen hier nur die besser bekannten aufgeführt und die Methoden geschildert werden, deren sich Brieger u. A. nach ihm zur Auffindung und Trennung dieser Stoffe bedient haben.

Ptomaine mit 1 Atom N. 1. Base C_2H_5N von Kunz[2]) aus einer Reincultur vom Koch'schen Kommabacillus auf Pancreassafteiweisslösung erhalten. Platinchloriddoppelsalz in Wasser sehr schwer löslich. Wahrscheinlich identisch mit Spermin (§ 162).

2. Tetanotoxin $C_5H_{11}N$, aus einer nicht ganz reinen Cultur von Tetanusbacillen auf Rindfleisch und auf Gehirnbrei von Brieger[3]) dargestellt, siedet bei 100° (jedoch nicht ganz wasserfrei erhalten). Das salzsaure Salz leicht löslich, schmilzt bei 205°, das Platinchloriddoppelsalz schwer löslich, zersetzt sich bei 240°, Goldchloriddoppelsalz leicht löslich, schmilzt bei 130°. Die Base gibt Isonitril- und Senfölreaction. Tetanotoxin.

3. Base $C_7H_{11}N$, aus Lebertran von Gautier und Mourgues[4]) erhalten, farblose, ölige Flüssigkeit, wenig löslich in Wasser, siedet bei 199°. (Vielleicht Dihydrodimethylpyridin?). Gold- und Platinchloriddoppelsalz, salzsaure, salpetersaure und schwefelsaure Verbindung dargestellt.

4. Phenyläthylamin $C_8H_{11}N$, bei der Fäulnis von Leim von Nencki[5]) erhalten, ölige Flüssigkeit, zieht Kohlensäure an der Luft an und erstarrt zu blättriger Masse, gibt schwerlösliches Platindoppelsalz. Siehe Phenylalanin.

5. Base $C_8H_{11}N$, aus gefaulten Seepolypen von Oechsner de Coninck[6]) erhalten. Gelbliche Flüssigkeit, sehr wenig löslich in Wasser, siedet gegen 204°, zerfliessliches salzsaures Salz, fast unlösliches Platindoppelsalz, es wird durch kochendes Wasser zersetzt. Goldchloriddoppelsalz, zwei Quecksilberdoppelsalze, Jodmethylverbindung. Diese Base liefert bei Behandlung mit Permanganat Nicotinsäure, welche beim Erhitzen mit überschüssigem Kalk Pyridin gibt.

6. Base $C_8H_{11}N$, aus durch Streptokokken zersetztem Fibrin von Emmerling[7])

---

1) Untersuchungen über Ptomaine. Berlin 1885/86.
2) M. **9**. 372. (1888.)
3) B. **19**. 3119. (1886.), D. m. W. 1887. S. 304.
4) C. r. **107**. 110 u. 254. (1888.)
5) Ueber Zersetzung der Gelatine u. s. w. Bern 1876.
M. **10**. 524. (1889.)
6) C. r. **106**. 160 u. 858. (1888.), **108**. 58. u. 809. (1889.) u. **126**. 651. (1898.)
7) B. **30**. 1863. (1897.)

gewonnen, schwach pyridinartig riechender Syrup, in feinen, gelben Nadeln krystallisierendes Pikrat, leicht lösliches Platindoppelsalz.

7. Base $C_8H_{13}N$, aus gefaultem Pferde- oder Rindfleisch, Makrelen von Gautier und Etard[1]) erhalten. Farblose, ölige Flüssigkeit von Fliedergeruch, siedet gegen 210°, gibt leicht lösliches salzsaures Salz, wenig lösliches Platindoppelsalz, ziemlich lösliches, leicht zersetzliches Golddoppelsalz. Nach Gautier und Etard identisch mit Hydrocollidin.

8. Base $C_9H_{13}N$, aus gefaultem Pferdefleisch, gefaulten Makrelen, vielleicht Parvolin[1]). Oelige Flüssigkeit, leicht löslich in Wasser, Alkohol, Aether, siedet etwas unter 200°. Das Platindoppelsalz ist wenig löslich, Golddoppelsalz löslich.

9. Base $C_{10}H_{13}N$, aus faulem Ochsenfibrin von Guareschi und Mosso[2]) erhalten, flüssig, wenig löslich in Wasser, von leichtem Pyridingeruch, siedet bei 200°. Salzsaures Salz etwas zerfliesslich, unlösliches Platindoppelsalz, leicht zersetzliches Golddoppelsalz.

10. Base $C_{10}H_{15}N$, aus stark gefaultem Octopusfleisch erhalten von Oechsner de Coninck[3]). Leicht gelbliche, schleimige Flüssigkeit von angenehmem Geruch, in Wasser wenig, in Alkohol und Aether sehr löslich, siedet gegen 230° unter beginnender Zersetzung, bräunt sich schnell an der Luit und scheidet dickes Harz ab. Zerfliessliches salzsaures und bromwasserstoffsaures Salz, an der Luft schnell sich zersetzend. Platindoppelsalz in kaltem Wasser unlöslich, in warmem Wasser sehr leicht gelöst, durch kochendes Wasser, auch an feuchter Luft zersetzt. Setzt man zu der noch heissen Lösung des Jodmethylats einen Tropfen concentrierter Kalilauge, so entsteht schöne Rotfärbung, welche bald in Braun übergeht und nach einer Stunde blaugrüne Fluorescenz. Bei der Oxydation mit Kaliumpermanganat entsteht Nicotinsäure.

11. Base $C_{10}H_{17}N$, aus Reincultur von Bacterium allii auf Nähragar erhalten von Griffiths[4]). Zerfliessliche, mikroskopische Nadeln von eigentümlichem Geruch nach Weissdorn, löslich in heissem Wasser, Alkohol, Aether. Platindoppelsalz wenig löslich in kaltem Wasser. Nach Griffiths wahrscheinlich ein Hydrocorindin.

---

12. Mydatoxin $C_6H_{13}NO_2$ aus gefaulten menschlichen Leichenteilen und gefaultem Pferdefleisch von Brieger[5]) erhalten. Im Vacuum zu Blättchen erstarrender, in Alkohol und in Aether nicht löslicher Syrup. In Wasser leicht lösliches Platindoppelsalz, Smp. 193°.

13. Mytilotoxin $C_6H_{15}NO_2$, aus giftigen Miesmuscheln von Brieger[6]) erhalten. Golddoppelsalz, Smp. 182°. Bei Destillation mit Kalilauge entsteht Trimethylamin.

14. Base C_7H_9NO von Gautier[7]) aus gefaulter Kabeljauleber erhalten.

15. Gadinin $C_7H_{17}NO_2$, aus gefaulten Dorschen und gefaultem Leim von Brieger[8]) gewonnen, gibt ein leicht lösliches salzsaures Salz, schwer lösliches Platindoppelsalz, kein Golddoppelsalz.

16. Typhotoxin $C_7H_{17}NO_2$, aus Reinculturen von Typhusbacillen auf Fleischbrei[9]); gibt leicht lösliches Platindoppelsalz, schwer lösliches Golddoppelsalz vom Smp. 176°, schwer lösliches Pikrat.

---

1) C. r. **94**. 1600. (1882.) u. **97**. 264. (1883.), Bullet. de l'acad. de méd. [2.] **15**. 80. (1886.)

2) J. f. pr. Ch. N. F. **27**. 425. (1883.)
Guareschi, Ann. di chim. e di farm. (4.) **6**. 237. (1887.)

3) C. r. **106**. 858. (1888.), **110**. 1339. (1890.), **112**. 584. (1891.), **117**. 1097. (1893.)

4) C. r. **110**. 416. (1890.)

5) Untersuchungen über Ptomaine III. 32. (1886.)

6) Untersuchungen über Ptomaine III. 76 u. Virch. A. **115**. 483. (1889.)

7) Bl. s. ch. de Paris (3) **35**. 1195. (1906.)

8) Unters. über Ptomaine. I. 49. u. D. m. W. 1889. S. 469.

9) Unters. über Ptomaine. III. 86.

17. p-Oxyphenylaethylamin $C_8H_{11}NO$ von Gautier[1]) aus gefaulter Kabeljauleber erhalten (siehe Tyrosin).

18. Mydin $C_8H_{11}NO$, aus gefaulten menschlichen Leichenteilen, gefaultem Pferdefleisch, aus Reinculturen von Typhusbacillen auf peptonisiertem Bluteiweiss von Brieger[2]) dargestellt; riecht nach Ammoniak und zersetzt sich beim Destillieren, gibt ein sehr leicht lösliches Platindoppelsalz. Die Pikrinsäureverbindung schmilzt bei 195°.

19. Base $C_9H_{13}NO$ von Gautier[1]) aus gefaulter Kabeljauleber erhalten.

Ptomaine mit 2 Atomen N. 20. Base $C_2H_8N_2$, aus gefaultem Dorsch[3]), destilliert mit Aetznatron unzersetzt, ist nicht identisch mit Aethylendiamin, gibt leicht lösliches salzsaures Salz, schwer lösliches Platindoppelsalz.

21. Anthracin $C_3H_6N_2$, aus Kaninchen dargestellt, die mit Bacill. anthracis inficiert waren (Hoffa[4]).

22. Neuridin $C_5H_{14}N_2$. Diese mit dem Cadaverin (§ 164) isomere Base ist Neuridin. von Brieger[5]) aus frischem menschlichen Gehirn und aus Hühnereiern in geringer Menge gewonnen, ferner in (fünf bis sechs Tage lang) gefaultem Fleisch, in gefaulten Fischen, Kuhkäse, Leim, Reinculturen von Typhusbacillen gefunden worden. Aus ganz frischem Gehirn konnte Gulewitsch[6]) sie nicht erhalten.

Zu ihrer Darstellung fällt man den wässerigen Auszug mit Bleizucker, leitet durch das Filtrat Schwefelwasserstoff, filtriert und säuert mit Schwefelsäure an. Nach Entfernung der flüchtigen Säuren durch Kochen und der Schwefelsäure durch Baryt wird die Base mit Sublimat gefällt und durch Zerlegung des Niederschlags mit Schwefelwasserstoff gewonnen. Vergl. auch § 169, 1.

Die freie Base riecht unangenehm, ist gelatinös, sehr leicht löslich in Wasser, unlöslich in Alkohol und Aether. Sie gibt die Isonitrilreaction nicht. Das salzsaure Salz $C_5H_{14}N_2 \cdot 2\,HCl$ bildet in absol. Alkohol unlösliche Nadeln; seine wässerige Lösung gibt mit Phosphorwolframsäure amorphen, im Ueberschuss des Fällungsmittels löslichen, mit Phosphormolybdänsäure krystallinischen, mit Pikrinsäure einen langsam ausfallenden Niederschlag, der sich bald in schöne, gelbe Nadeln verwandelt, mit Kaliumwismuthjodid ein rotes, amorphes Präcipitat, mit Goldchlorid krystallinische Fällung.

Beim Kochen mit Natronlauge zerfällt Neuridin unter Bildung von Di- und Trimethylamin.

23. Saprin $C_5H_{14}N_2$, aus gefaulten menschlichen Organen von Brieger[7]) erhalten, Saprin. vom isomeren Cadaverin (§ 164) durch einzelne Reactionen unterschieden; auch dadurch, dass es kein Golddoppelsalz und ein anders krystallisierendes Platindoppelsalz bildet.

---

24. Base $C_5H_{12}N_2O_4$, aus faulenden Massen von Pouchet[8]) gewonnen, pinselförmig angeordnete Nadeln, gibt ein in Alkohol ziemlich lösliches Platindoppelsalz.

25. Sepsin $C_5H_{14}N_2O_2$ von Faust[9]) aus gefaulter Hefe isoliert und als Sulfat Sepsin. analysiert.

Die freie Base ist unbeständig, in Wasser leicht löslich, in Alkohol löslich, die wässrige Lösung reagiert alkalisch, das Sulfat $C_5H_{14}N_2O_2 \cdot H_2SO_4$ leichte voluminöse Masse verfilzter Nadeln, ebenfalls unbeständig, in Wasser sehr leicht, in Alkohol schwer, in absolutem Alkohol so gut wie unlöslich. Seine wässerige Lösung gibt mit Phosphor-

---

1) Bl. s. ch. de Paris (3) **35**. 1195. (1906.)
2) Unters. über Ptomaine. III. 26.
3) Unters. über Ptomaine. I. 44.
4) Sitzungsber. d. phys. med. Ges. Würzburg 1889. S. 96.
5) Brieger, Unters. über Ptomaine. I. S. 20 u. fl. 1885.
6) H.-S. **27**. 50. (1890.)
7) Unters. über Ptomaine. II. 46.
8) C. r. **97**. 1560. (1883.)
9) A. exp. P. Ph. **51**. 248. (1904.)

wolfram- und Phosphormolybdänsäure Fällungen, mit Kaliumquecksilberjodid nicht. Es entfärbt momentan, auch in Gegenwart überschüssiger Schwefelsäure, Permanganatlösung. Beim wiederholten Eindampfen einer neutralen wässerigen Lösung des Sulfats entsteht Cadaverinsulfat.

26. Base $C_7H_{18}N_2O_6$, aus faulenden Massen, bildet kurze, dicke an der Luft sich bräunende Prismen, in Alkohol unlösliches, in prismatischen Nadeln krystallisierendes Platindoppelsalz (Pouchet[1]).

Putrin. 27. Putrin $C_{11}H_{26}N_2O_3$ von Ackermann[2]) aus gefaultem Pancreas isoliert. Goldsalz $C_{11}H_{26}N_2O_3 . 2HCl . 2AuCl$ bildet harte dunkelorangefarbene Krystallkrusten, die bei 109—110° schmelzen. Beim Veraschen des Goldsalzes tritt kein Geruch nach Trimethylamin auf. Ueber seine Darstellung siehe § 169, 3.

28. Tetanin $C_{13}H_{30}N_2O_4$ wurde von Brieger[3]) dargestellt: 1. aus nicht ganz reiner 8 Tage alter Kultur von Tetanusbacillen auf Fleisch, 2. aus Haut und Muskeln vom amputierten Arm eines tetanischen Menschen, 3. aus mehrere Monate gefaulten menschlichen Leichenteilen. Diese Base bildet einen gelben Syrup, gibt zerfliessliches salzsaures Salz, das sich allmählich zersetzt. Das Platindoppelsalz bildet hellgelbe Blättchen, welche nach dem Trocknen in Wasser ziemlich schwer löslich sind.

29. Pyocyanin $C_{14}H_{14}N_2O_2$ (siehe dieses).

30. Base $C_{16}H_{24}N_2O_4$ von Lepierre[4]) aus Schafkäse erhalten, geruchlos, bitter, wenig löslich in Wasser, löslich in Alkohol; Chlorhydrat leicht lösliche, grosse Nadeln, krystallisierendes Gold- und Platindoppelsalz.

Marcitin. **Ptomaine mit 3 und 4 Atomen N.** 31. Marcitin $C_8H_{19}N_3$ von Ackermann[5]) aus gefaultem Pancreas isoliert. Goldsalz $C_8H_{19}N_3 . 2HCl . 2AuCl_3$ schmilzt unter Aufschäumen bei 175—178° und gibt beim Veraschen keinen Geruch nach Trimethylamin. Ueber Darstellung siehe § 169, 3.

32. Morrhuin $C_{19}H_{27}N_3$, aus Leberthran von Gautier u. Mourgues[6]) erhalten. Dicke ölige Flüssigkeit, die in Wasser wenig löslich, in Alkohol und Aether löslich ist und schwach nach Flieder riecht; gibt ein lösliches Platindoppelsalz.

33. Base $C_{17}H_{38}N_4$, aus gefaulten Makrelen, aus der Mutterlauge der Base $C_8H_{13}N$ (siehe oben Base 7), lösliches Platindoppelsalz, welches sich beim Erhitzen auf 100° zersetzt (Gautier[7]).

34. Asellin $C_{25}H_{32}N_4$, aus Leberthran von Gautier u. Mourgues[6]) gewonnen, bildet eine amorphe Masse, welche in Wasser unlöslich, in Alkohol und in Aether löslich ist. Das Platindoppelsalz ist in kaltem Wasser unlöslich.

35. Base $C_7H_{12}N_4O_2$ oder $C_7H_{14}N_4O_2$ aus normalem Harn von Pouchet[8]) erhalten, spindelförmige Krystalle, in schwachem Alkohol löslich, mit Säuren krystallisierende Salze, krystallisierendes, leicht zerfliessliches Platinsalz.

Dazu kommen eine grosse Anzahl krystallisierender Basen, die besonders von Griffiths[9]) aus Harnen bei den verschiedensten Infectionskrankheiten dargestellt und analysiert sind. Diese Angaben bedürfen sehr der Bestätigung.

---

1) C. r. **97**. 1560. (1883.)
2) H.-S. **54**. 20. (1907/08.)
3) Untersuch. über Ptomaine. III. 95. B. k. W. 1888. S. 329. B. **19**. 3119. (1886.), Virch. A. **112**. 549. (1888.)
4) C. r. **118**. 476. (1894.)
5) H.-S. **54**. 20. (1907/08.)
6) C. r. **107**. 110 u. 626. (1888.)
7) Bull. de l'acad. de méd. [2.] **15**. 82. (1886.)
8) C. r. **97**. 1560. (1883.)
9) C. r. **113—118, 120**. Chem. News. **70**.

168. Leucomaine. Im Gegensatz zu den Ptomainen nennt Gautier[1]) diejenigen basischen Substanzen, welche nach seiner Ansicht regelmässig als physiologische Zersetzungsproducte der Eiweisskörper ohne Mitwirkung von Mikroorganismen in den tierischen Geweben während des Lebens gebildet worden, Leucomaine (von λευκῶμα Eiweiss). Ausser einigen bereits seit längerer Zeit bekannten Stoffen: Kreatinin und Betain des Harns, von Pouchet aus normalem Harn isolierte Alkaloide, Alkaloide aus Schlangengift und normalem menschlichen Speichel (Gautier), rechnet er dazu eine Reihe von ihm aus Fleisch isolierter Basen (Xanthokreatinin u. s. w.), ferner die Basen aus Lebertran u. a. Zu einer Zusammenfassung dieser verschiedenen Körper zu einer besonderen Gruppe liegt vor der Hand kein Grund vor; einige derselben, z. B. die Basen aus Lebertran, gehören offenbar zu den Ptomainen und sind bei diesen besprochen worden.

Verfahren zur Isolierung der Ptomaine.

169. 1. nach Brieger[2]). Die gefaulten Massen werden mit Salzsäure unter Vermeidung eines Ueberschusses schwach angesäuert und zum Syrup eingedampft. Während des Eindampfens soll die Reaction stets schwach sauer gehalten werden. Beim Extrahieren des Syrups mit absolutem Alkohol gehen sämtliche Ptomaine, auch die, deren salzsaure Verbindungen im reinen Zustande in Alkohol unlöslich sind, in diesen über. Der alkoholische Auszug wird eingedampft und der Rückstand abermals mit absolutem Alkohol ausgezogen, wobei schon in Alkohol schwer lösliche Basen z. B. salzsaures Neuridin häufig ungelöst bleiben. Das Abdampfen des alkoholischen Auszugs und Extrahieren des Rückstandes mit neuem Alkohol kann mehrmals wiederholt werden. nach Brieger.

a) Man kann den Rückstand des Alkoholauszugs mit Wasser aufnehmen und die wässerige Lösung mit Pikrinsäure versetzen, wenn es sich um die Gewinnung von Neuridin und Cholin handelt; es fällt in kaltem Wasser unlösliches Neuridin aus; beim Eindampfen der Mutterlauge scheidet sich das weniger schwer lösliche Cholinpikrat ab.

b) Die alkoholische Lösung wird mit alkoholischer Lösung von Quecksilberchlorid im Ueberschuss versetzt, der Niederschlag nach 24 Stunden abfiltriert.

α) Der Niederschlag. Beim Auskochen desselben mit viel Wasser gehen die Ptomaine in Lösung, die Eiweissstoffe bleiben ungelöst. Beim Erkalten des Filtrats krystallisiert das äusserst schwer lösliche Quecksilberdoppelsalz des Cholins alsbald vollständig aus, während die übrigen Basen in Lösung bleiben. Man leitet durch die abfiltrierte Mutterlauge Schwefelwasserstoff, filtriert vom Schwefelquecksilber ab, entfernt den Schwefelwasserstoff, dampft die Lösung ein und erschöpft den Rückstand mit Alkohol. Das salzsaure Putrescin bleibt zurück, während das salzsaure Cadaverin gelöst wird. Beim längeren Stehen des alkoholischen Auszugs fallen auch die etwa in Lösung gegangenen Reste des Putrescins aus. Das

1) Bull. de l'acad. de méd. [2.] **15**. 122. (1886.)

2) Unters. über Ptomaine. II. S. 53.

im alkoholischen Filtrate gelöste Cadaverin kann einmal durch Platinchlorid gefällt und durch Umkrystallisieren aus Wasser gereinigt werden (wobei es der Schwerlöslichkeit seines Platinsalzes wegen zuerst ausfällt, während z. B. die Platinsalze von Saprin, Mydalein*) löslicher sind), oder es kann durch alkoholische Quecksilberchloridlösung niedergeschlagen werden. Kocht man den entstandenen Niederschlag mit nicht zu viel Wasser aus, so krystallisiert das schwer lösliche Cadaverinquecksilberchlorid bald aus.

Ferner kann zur vollständigen Trennung von Cadaverin und Putrescin auch das verschiedene Verhalten der Quecksilber- und der Goldsalze benutzt werden, insofern das Putrescin ein ziemlich schwer lösliches Goldchloridsalz und ein leicht lösliches Quecksilbersalz bildet, während das Cadaverin sich gerade umgekehrt verhält.

β) Das Filtrat enthält noch geringe Reste von Ptomainen, z. B. können neben Methylguanidin Diäthylamin, Methylamin, Trimethylamin in dasselbe übergehen.

Auch des neutralen Bleiacetats und gelegentlich der Phosphormolybdänsäure, deren Verbindungen durch essigsaures Blei zerlegt werden, hat sich Brieger als Fällungsmittel bedient. Kaliumquecksilberjodid, Kaliumwismuthjodid, Kaliumcadmiumjodid rät er mit Vorsicht zu gebrauchen, da das Jod bei Zerlegung dieser Verbindungen durch Schwefelwasserstoff usw. leicht Störungen bewirken kann.

nach Gautier. 2. nach Gautier[1]). Man säuert die faulende Flüssigkeit mit Oxalsäure an, entfernt die beim Erwärmen auf der Oberfläche schwimmenden Fettsäuren, filtriert und destilliert, so lange ein trübes Destillat übergeht. Auf diese Weise werden Phenol, Indol, flüchtige Fettsäuren, ein Teil des Ammoniaks u. s. w. entfernt. Der Rückstand wird mit Kalk alkalisch gemacht, filtriert und im Vacuum bis zur Trockne destilliert.

a) Das in sehr verdünnter Schwefelsäure aufgefangene Destillat wird neutralisiert, fast bis zur Trockne eingedampft, das abgeschiedene schwefelsaure Ammoniak entfernt und die Mutterlauge mit absolutem Alkohol aufgenommen. Die die Ptomaine enthaltende alkoholische Lösung wird destilliert, der Rückstand mit etwas Natronlauge versetzt und nach einander mit Aether, Petroläther und Chloroform extrahiert, in welche Lösungsmittel die Ptomaine übergehen.

b) Der Rückstand wird nach dem Trocknen und Zerreiben mit siedendem Aether behandelt, welcher die fixen Basen löst. Man verdunstet den Aether, nimmt den Rückstand mit etwas angesäuertem Wasser auf und fällt die Basen durch Alkali aus.

nach Ackermann. 3. nach Ackermann[2]).

Bei diesem Verfahren, welches zur Auffindung einiger neuer Ptomaine führte, werden durch anfängliche Entfernung aller Proteine mittelst der von Steudel und Kutscher empfohlenen Gerbsäure für die Isolierung der Basen einfachere Verhältnisse

---

*) Sehr giftige noch nicht genügend bekannte Base, vergl. Brieger, Ptomaine. II. S. 49—51.

1) Bull. de l'acad. de méd. [2.] **15**. 75. (1886.)

2) H.-S. **54**. 1. (1907/08.) Die Methode ist die gleiche, wie die von F. Kutscher zur Aufteilung des Fleischextractes angewandte.

geschaffen. Allerdings werden manche Ptomaine von der Gerbsäure mitgefällt werden und so der Auffindung entgehen.

Die weitgehend gefaulte Masse*) wird nach Entfernung von Gewebsfetzen durch ein weitmaschiges Sieb auf die Hälfte eingeengt, mit Phosphorsäure angesäuert und mit gesättigter Gerbsäurelösung ausgefällt. Die abfiltrierte Flüssigkeit wird mit heiss-, später mit kaltgesättigter Barytlösung versetzt, bis der sich beim Umrühren bildende Schaum einen roten Farbenton annimmt, vom Niederschlag abgesaugt, mit Schwefelsäure deutlich sauer gemacht, mit überschüssigem Bleioxyd versetzt und filtriert. Nach Einengen des Filtrats auf etwa $^1/_{50}$ der ursprünglichen Masse und Zufügen von 5 Volumprocent Schwefelsäure fällt man mit Phosphorwolframsäure aus, wäscht den abfiltrierten Niederschlag mit 5 proc. Schwefelsäure aus, zerlegt ihn mit Barytwasser und befreit das Filtrat durch Kohlensäure von Barium. Die Flüssigkeit wird nun mit Salpetersäure schwach angesäuert, durch Silbernitrat von den Purinbasen befreit und darauf so lange mit Silbernitrat versetzt, bis eine Probe mit Barytwasser einen braunen Niederschlag gibt. Wenn dies der Fall, wird die ganze Flüssigkeit mit Barytlösung gefällt, der braune Niederschlag**) abfiltriert, das Filtrat mit Salzsäure und Schwefelsäure stark angesäuert, filtriert und aufs neue mit Phosphorwolframsäure gefällt. Den abfiltrierten und mit 5 proc. Schwefelsäure ausgewaschenen Niederschlag zerlegt man in der angegebenen Weise, engt die nun erhaltene Basenlösung zum Syrup ein, fällt sie mit gesättigter alkoholischer Pikrinsäurelösung und filtriert. Man erhält so einen Rückstand (a) und ein Filtrat (b).

a) Rückstand. Er enthält die Pikrate von Cadaverin und Putrescin. Ihre wässerige Lösung wird mit Salzsäure stark angesäuert und nach Entfernen der Pikrinsäure durch Aether zum Syrup eingeengt. Die Trennung des Cadaverin- (§ 164) und Putrescin- (§ 163) chlorid geschieht mit Hülfe von Alkohol, in dem das Putrescinchlorid schwerer löslich ist.

b) Filtrat. Es wird nach Beseitigung des Alkohols durch Abdampfen, durch Aether bei stark salzsaurer Reaction von der Pikrinsäure befreit, eingeengt, der Rückstand mehrmals mit absolutem Alkohol abgedampft und dann mit gesättigter alkoholischer Sublimatlösung gefällt. Der Niederschlag wird abfiltriert. Man erhält so einen Rückstand (α) und ein Filtrat (β).

α) Rückstand. Er wird in heissem Wasser gelöst, mit Schwefelwasser-

*) Ackermann ging von 22 kg Pancreas aus, welche mit 44 l Wasser 2 Sommermonate der Fäulnis überlassen wurden. Die obige Darstellung folgt der Schilderung von Ackermann. Bei der wechselnden Zusammensetzung des Fäulnisgemisches je nach dem Stadium und der Zusammensetzung des Ausgangsmaterials ist natürlich damit zu rechnen, dass in einzelnen Fällen sich bei der Untersuchung Abweichungen ergeben.

**) Aus diesem Niederschlag wurde eine Base $C_3H_6N_2O$ und Tetramethylendiamin isoliert, doch ist er noch nicht genauer untersucht worden.

stoff zersetzt, das Filtrat zur Trockne eingeengt, der Rückstand mit absolutem Alkohol behandelt. Dabei bleibt ein grosser Teil ungelöst, Cadaverinchlorid. Aus dem Filtrat werden (nach Entfernung von Ammoniak als Platinsalmiak) Marcitin (§ 167, 31) und Putrin (§ 167, 27) als Goldsalze isoliert.

β) Filtrat. Aus ihm lässt sich durch abwechselnden Zusatz von alkoholischer Sublimat- und alkoholischer Natriumacetatlösung eine Fällung erhalten, die abfiltriert und ausgewaschen und durch Schwefelwasserstoff zerlegt wird. Das Filtrat wird eingedampft. Der Rückstand enthält Kochsalz und Putrescinchlorid, welche durch wiederholtes Aufnehmen mit Alkohol entfernt werden können, und einen in Alkohol löslichen Teil, aus dem unter Benutzung von Cadmiumchlorid und Platinchlorid als Fällungsmittel schliesslich δ-Aminovaleriansäure (§ 173) als Goldsalz erhalten wurde.

α-Aminofettsäuren.

Vorkommen.

170. **Allgemeines.** α-Aminosäuren der Fettreihe sind in grosser Zahl neben Diaminosäuren und aromatischen und heterocyklischen Körpern an dem Aufbau der Proteinsubstanzen beteiligt und werden bei der hydrolytischen Spaltung dieser Substanzen (durch Kochen mit Säuren, Alkalien, durch Fermente, Mikroorganismen) frei. Im freien Zustande finden sie sich nur vereinzelt und in geringer Menge normaler Weise in den tierischen Geweben und im Harn, reichlicher an beiden Orten bei manchen pathologischen Zuständen. Einige von ihnen (Leucin, Isoleucin, Aminovaleriansäure, Asparaginsäure) sind in Keimlingen im freien Zustande gefunden worden (E. Schulze[1]).

Eigenschaften.

Sie krystallisieren, bilden mit Säuren und Basen krystallisierende Verbindungen. Durch Phosphorwolframsäure werden sie aus verdünnten Lösungen nicht gefällt. Indessen ist zu bemerken, dass z. B. Glykocoll und Alanin selbst in nur 2 proc. Lösungen bei Gegenwart von 10 proc. Schwefelsäure mit sehr concentrierter Phosphorwolframsäure bei längerem Stehen geringen krystallinischen Niederschlag geben (E. Fischer[2]). Ueber die Fällbarkeit aus concentrierter Lösung durch Phosphorwolframsäure siehe Levene und Beatty[3]).

Sie geben beim langsamen Erhitzen die Pyrrolreaction (Rotfärbung eines mit Salzsäure angesäuerten Fichtenspahns) (Neuberg[4]).

---

1) J. f. pr. Ch. N. F. **27**. 337. (1883.), **32**. 433. (1885.) H.-S. **17**. 193. (1892/93.), **20**. 306. (1895.), **22**. 411. (1896/97.), **24**. 18. (1898.), **30**. 241. (1900.), **33**. 574. (1901.). **35**. 299. (1902.), **38**. 199. (1903.), **45**. 38. (1905.)

2) B. **39**. 546. (1906.)

3) H.-S. **47**. 149. (1906.)

4) Salkowski-Festschrift. Berlin. Hirschwald. 1904. S. 271.

Folgende Salze und Verbindungen dienen zu ihrer Abscheidung und Identificierung:

Kupfersalze. Sie scheiden sich aus der mit Kupferoxyd gekochten, filtrierten und event. eingeengten blauen Flüssigkeit beim Erkalten aus. Kupfersalze.

Silbersalze. Man versetzt die wässerige Lösung mit concentrierter Silbernitratlösung (auf 1 Mol. etwas mehr wie 1 Mol. Silbernitrat) und fügt unter Umrühren klares kaltgesättigtes Barytwasser hinzu, bis die Flüssigkeit einen gelblichen Farbenton (Silberoxyd) annimmt. Ist die Silberverbindung der Aminosäure schwer löslich, so beginnt während des Zusatzes des Barytwassers ihre krystallinische Abscheidung (Kutscher[1]). Silbersalze.

Aethylester. Man übergiesst die Aminosäure mit absolutem Alkohol, bringt sie durch Einleiten von gasförmiger Salzsäure in Lösung, kocht noch eine Stunde am Rückflusskühler und dampft dann unter stark vermindertem Druck bei einer 35° nicht übersteigenden Temperatur ein. Der Rückstand wird mit wenig Wasser versetzt, mit Aether überschichtet und nach sorgfältiger Kühlung in einer Kältemischung mit soviel starker Natronlauge versetzt, dass die freie Salzsäure ungefähr neutralisiert ist und darauf unter fortgesetzter Kühlung und Umschütteln mit soviel trockenem gekörntem Kaliumcarbonat, dass sich die wässerige Schicht in einen dicken Brei verwandelt. Nach kräftigem Umschütteln wird die ätherische Lösung abgegossen, der Rückstand noch zwei- bis dreimal mit wenig Aether durchgeschüttelt und die vereinigte ätherische Lösung nach der Filtration zuerst etwa 10 Minuten mit trockenem Kaliumcarbonat und dann mit etwas Natriumsulfat mehrere Stunden unter öfterem Umschütteln stehen gelassen. Beim Abdampfen des Aethers hinterbleibt der Ester. Aethylester.

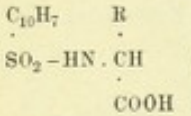
Die Ester der Aminosäuren sind alkalisch reagierende Flüssigkeiten, in Wasser (mit steigendem Molekulargewicht abnehmend) löslich, leicht löslich in Alkohol, Aether, Benzol. Sie destillieren sämtlich unter vermindertem Druck unzersetzt. Die Pikrate krystallisieren meist schön. Durch Kochen mit Wasser bezw. Barythydrat werden sie gespalten (E. Fischer[2]), Curtius[3]).

Benzoylverbindungen. Man erhält sie in den meisten Fällen am besten, indem man die Aminosäure in wässeriger Lösung bei Gegenwart von viel Natriumbicarbonat mit einem grossen Ueberschuss von Benzoylchlorid, das portionsweise zugegeben wird, schüttelt, bis der Geruch nach Benzoylchlorid verschwunden ist, nach dem Filtrieren mit Salzsäure ansäuert, den entstehenden Niederschlag nach Stehen in Eiswasser filtriert und nach dem Trocknen zur Entfernung der Benzoesäure wiederholt mit

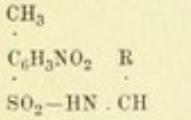
$C_6H_5 \cdot CO - HN \cdot \underset{COOH}{\overset{R}{CH}}$

1) Sitzungsber. d. k. Acad. d. W. **26**. 588. (1902.)
2) B. **34**. 433. (1901.) 3) B. **16**. 753. (1883.)

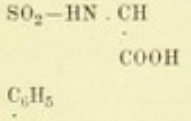
Ligroin (Sdp. 65—72°) auskocht. Umkrystallisieren aus heissem Wasser. (Modificiertes Schotten-Baumann'sches Verfahren, E. Fischer[1]).



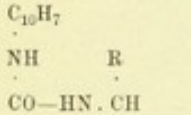
β-Naphthalinsulfoverbindungen. 2 Mol.-Gew. β-Naphthalinsulfochlorid (Smp. 78°) werden in Aether gelöst. Dazu fügt man die Lösung der Aminosäure in der für 1 Mol. berechneten Menge Normalnatronlauge und schüttelt in der Maschine bei gewöhnlicher Temperatur. In Zwischenräumen von 1—1½ Stunden fügt man noch dreimal die gleiche Menge Normalalkali hinzu. Die wässerige Lösung wird in einem Scheidetrichter von der ätherischen getrennt, filtriert (wenn nötig nach Klärung mit Tierkohle) und mit Salzsäure übersättigt. Die schwer lösliche Naphthalinsulfoverbindung fällt aus u. z. in der Regel als Oel, welches bald oder nach einiger Zeit krystallinisch wird. Umkrystallisieren aus Wasser bezw. verdünntem Alkohol (E. Fischer und Bergell[2]).



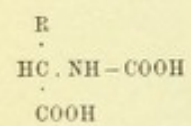
4-Nitrotoluol-2-Sulfoverbindungen werden in ähnlicher Weise dargestellt. Ebenfalls in Wasser schwer löslich (Siegfried[3]).



Phenylisocyanatverbindungen. Man löst die Säure in der zur Neutralisation nötigen Menge Normallauge, fügt unter starker Abkühlung und Schütteln die erforderliche Menge Phenylisocyanat allmählich hinzu, schüttelt weiter bis zum Verschwinden des Cyanatgeruches, zuletzt unter Zusatz von Tierkohle, filtriert und säuert an. Dabei fällt eine meist harzige Masse aus, die allmählich krystallinisch wird und aus Wasser bezw. verdünntem Alkohol umkrystallisiert wird. Kocht man diese Phenylisocyanatverbindung mit 25 proc. Salzsäure und dampft dann ein, so scheidet sich das Hydantoin krystallinisch aus (Paal[4]), E. Fischer[5]), Mouneyrat[6]).



α-Naphtylisocyanatverbindungen. Man löst die Aminosäure in Wasser, neutralisiert mit Normallauge, fügt Naphtylisocyanat (auf 1 Mol. ⅝ Mol.) hinzu, schüttelt mehrmals je 2—3 Minuten (nach jedem Schütteln Oeffnen des Stopfens), lässt ½—¾ Stunde stehen, filtriert und säuert mit Salzsäure an. Die Naphtylisocyanatverbindungen scheiden sich krystallinisch und quantitativ ab. Umkrystallisieren aus verdünntem Alkohol. Sie bilden Salze mit Schwermetallen, z. B. mit Kupfer und Silber, zu deren Herstellung man sie in heissem Ammoniak löst, die Lösung durch Kochen von überschüssigem Ammoniak befreit und mit Kupferacetat oder Silbernitrat fällt. Die Niederschläge werden abgesaugt, mit Wasser, Alkohol und Aether gewaschen. Durch Erhitzen mit Barytwasser lassen sich die Aminosäuren aus ihren α-Naphtylisocyanatverbindungen zurückgewinnen (Neuberg und Manasse[7]), Neuberg und Rosenberg[8]).



Kalksalze der Carbaminosäuren. Zu ihrer Darstellung sättigt man die wässerige Lösung der Aminosäure unter Kühlung mit Eiswasser

1) B. **32**. 2451. (1899.)
2) B. **35**. 3779. (1902.)
3) H.-S. **43**. 68. (1904/05.)
4) B. **27**. 974. (1894.)
5) B. **33**. 2381 u. 2386. (1900.)
6) B. **33**. 2393. (1900.)
7) B. **38**. 2359. (1905.)
8) B. Z. **5**. 456. (1907.)

mit Kohlensäure, fügt Kalkmilch hinzu, die sich zunächst auflöst, leitet wieder Kohlensäure ein, wiederholt dieses noch einige Mal, gibt dann noch Kalkmilch und krystallisiertes Calciumcarbonat hinzu, schüttelt und filtriert. Während des ganzen Versuchs wird gut mit Eiswasser gekühlt. Als Reactionsgefäss verwendet man am besten ein Pulverglas mit eingeriebenem Stopfen. Aus dem völlig klaren Filtrat scheiden sich die Kalksalze nach Zusatz von gekühltem Alkohol bis zur starken Trübung in äusserst kleinen krystallinischen Körnchen aus, oft sehr voluminös. Nach dem Absaugen und Waschen mit Alkohol (zunächst verdünntem, dann absolutem) und Aether sind sie in der Regel rein. Sie lösen sich in Wasser leicht und klar, beim Erwärmen trübt sich die Lösung durch sich abscheidendes Calciumcarbonat (Siegfried[1]).

171. **Glykocoll (Glycin, Aminoessigsäure)** $C_2H_5NO_2$. Glykocoll (Leimzucker) entsteht bei der Spaltung vieler Proteinstoffe (besonders reichlich aus Fibroin und Leim), ferner bei der Spaltung von Hippursäure, Glykocholsäure und anderen Gallensäuren, Harnsäure, Xanthin, Guanin, Adenin. Es findet sich in den Muskeln von Pecten irradians (Chittenden[2]) und Pecten opercularis (Kelly[3]). Es ist nachgewiesen im Harn phosphorvergifteter Menschen (Wohlgemuth[4]), Hunde (Abderhalden und Barker[5]) und Kaninchen (Abderhalden und Bergell[6]), sowie im Harn Gichtkranker (Ignatowski[7]), im Blut und in der Ascitesflüssigkeit von Nephritikern (Neuberg und Strauss[8]). Vielleicht ist es auch in jedem normalen Harn enthalten (siehe Embden und Marx[9]). Vorkommen. $\begin{matrix} CH_2-NH_2 \\ | \\ COOH \end{matrix}$

Glykocoll wird synthetisch durch Einwirkung von Ammoniak auf Monochloressigsäure, durch Einwirkung von concentriertem Jodwasserstoff auf Cyan in der Hitze und durch manche andere Reaction erhalten. Darstellung.

Am Zweckmässigsten stellt man es aus Hippursäure in folgender Weise dar: 1 Tl. Hippursäure wird mit 4 Tl. verdünnter Schwefelsäure (1 Tl. conc. Säure auf 6 Tl. Wasser) 10—12 Stunden am Rückflusskühler gekocht, nach 24 Stunden filtriert und mit kaltem Wasser gewaschen. Das Filtrat wird eingedampft, durch Ausschütteln mit Aether von Resten von Benzoesäure befreit, mit Wasser verdünnt und durch Kochen mit Bariumcarbonat neutralisiert. Aus dem eingedampften Filtrat scheidet sich Glykocoll ab. Ueber die Isolierung des Glykocolls aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteinkörper siehe später.

Es bildet farblose, oft grosse, harte, monokline Krystalle von rhomboedrischer Form oder vierseitige Prismen, welche süss schmecken, bei 228° Eigenschaften.

---

1) H.-S. **44**. 85. (1905.), **46**. 401. (1905.), B. **39**. 397. (1906.)
2) A. **178**. 266. (1875.)
3) B. Ph. P. **5**. 380. (1904.)
4) H.-S. **44**. 74. (1905.)
5) H.-S. **42**. 524. (1904.)
6) H.-S. **39**. 464. (1903.)
7) H.-S. **42**. 371. (1904.)
8) B. k. W. 1906. 258.
9) B. Ph. P. **11**. 308. (1908.)

sich bräunen und bei 232—236° unter Gasentwickelung schmelzen und sich zersetzen. Sie lösen sich in 4,3 Tl. kaltem Wasser, schwer in heissem Alkohol, sind unlöslich in kaltem Alkohol oder Aether. Die wässerigen Lösungen reagieren sauer und färben sich mit Eisenchlorid rot. Sie werden durch salpetersaures Quecksilberoxyd oder Quecksilberchlorid nicht gefällt, ebenso nicht durch Phosphorwolframsäure (siehe indessen S. 224). Aus Flüssigkeiten, die gleichzeitig neutrale Alkalisalze enthalten, krystallisiert Glykocoll leicht mit diesen zusammen, z. B. $C_2H_5NO_2$. KCl.

Verbindungen:

mit Salzsäure. Glycinchlorhydrat scheidet sich beim Abdampfen einer wässerigen Glykocolllösung mit überschüssiger Salzsäure krystallinisch ab, in Wasser

mit Pikrinsäure. sehr leicht löslich, in Alkohol wenig. Glycinpikrat gelbliche Blättchen,

mit Phosphorwolframsäure. Smp. 190° (Levene[1]). Phosphorwolframat $(C_2H_5NO_2)_3 . H_3PO_4 . 12\,WO_3$ löst sich in Wasser zu 4,5 pCt., in absolutem Alkohol zu 14,4 pCt. (Barber[2]).

mit Kupfer. Glycinkupfer $(C_2H_4NO_2)_2Cu + H_2O$ (S. 225), dunkelblaue Nadeln, löslich in 173,8 Tl. Wasser bei 15°, unlöslich in Alkohol.

mit Silber. Glycinsilber (S. 225) schwer löslich.

mit Alkohol. Glycinäthylester (S. 225) sehr unbeständiges, flüchtiges Oel, welches bei 10 mm bei 51,5—52,5° destilliert und durch mehrstündiges Kochen mit Wasser am Rückflusskühler gespalten wird. Das Pikrat aus warmem Wasser in quadratischen Prismen krystallisierend, schmilzt bei 154° ohne Zersetzung. Das Hydrochlorat scheidet sich beim Stehen seiner salzsauren alkoholischen Lösung im Eisschrank fast quantitativ ab (E. Fischer[3]), aus heissem absoluten Alkohol umkrystallisiert schmilzt es bei 144°.

mit Benzoesäure. Benzoylglycin (Hippursäure) (S. 225). Es wurde zuerst von Baum[4]) durch Schütteln mit Benzoylchlorid und Natronlauge erhalten.

mit β-Naphthalinsulfosäure. β-Naphthalinsulfoglycin (S. 226) krystallisiert aus heissem Wasser in feinen manchmal zugespitzten Blättern, die meist büschelförmig vereinigt sind. Es sintert bei 151°, schmilzt bei 156°, löst sich in 2670 Tl. Wasser von 20°, etwa 90 Tl. kochendem Wasser, leicht in absolutem Alkohol. Krystallform siehe bei Kionka[5]). Das Bariumsalz ist in kaltem Wasser beträchtlich schwerer löslich als die Bariumsalze der Naphthalinsulfoverbindungen der meisten anderen Aminosäuren (Abderhalden und Bergell).

mit Nitrotoluolsulfosäure. Nitrotoluolsulfoglycin (S. 226) krystallisiert aus heissem Wasser in langen Nadeln oder grossen dünnen Blättchen, Smp. 177,5°, schwer löslich in Wasser (1 Tl. in 742 Tl. bei 12°), löslich in Alkohol.

mit Phenylisocyanat. Phenylisocyanatglycin (S. 226) lange farblose Spiesse, Smp. 195°. In kaltem Wasser sehr schwer löslich, in ca. 70 Tl. kochendem löslich.

mit α-Naphthylisocyanat. α-Naphthylisocyanatglycin (S. 226) krystallisiert aus verdünntem Alkohol

---

1) J. B. Ch. **1**. 413. (1906.)
2) M. **27**. 379. (1906.), Levene u. Beatty, H.-S. **47**. 149. (1906.)
3) H.-S. **35**. 227. (1902.)
4) H.-S. **9**. 465. (1885.)
5) Z. exp. P. Ph. **5**. 131. (1908.)

in feinen Nädelchen, Smp. 190,5—191,5°, löst sich ausser in Alkalien auch in Ammoniak und fällt aus der ammoniakalischen Lösung auf Zusatz von Bariumchlorid oder Barytwasser quantitativ als Bariumsalz in Nadeln aus (Trennung von den entsprechenden Verbindungen der andern Aminosäuren, die ein viel leichter lösliches Bariumsalz geben).

Glycincarbonsaures Calcium (S. 226).

Umwandlungen u. Zersetzungen.

Mit conc. Salzsäure und Natriumnitrit liefert es Monochloressigsäure (Jochem[1]). Gegen Kochen mit verdünnten Säuren und Alkalien ist es widerstandsfähig. Beim Erhitzen mit Phosphorsäure auf 150° bleibt es unverändert, beim Erhitzen mit einer alkalischen Chlorbariumlösung auf 150° entstehen nur Spuren von Kohlensäure (Schöndorff). In der Hitze, besonders beim Erhitzen mit Aetzbaryt, zerfällt Glykocoll in Methylamin und Kohlensäure. Dieselbe Zersetzung scheint es auch durch Mikroorganismen erleiden zu können. Durch salpetrige Säure wird es in Glykolsäure, Stickstoff und Wasser zerlegt. Durch Wasserstoffsuperoxyd bei Gegenwart von Ferrosulfat entstehen Kohlensäure, Ammoniak, Formaldehyd, Ameisensäure, Glyoxylsäure (Dakin[2]).

Nachweis.

Dem Nachweis muss die Isolierung vorangehen. Für diese benutzt man die Löslichkeit in Wasser, Unlöslichkeit in Alkohol und Aether, die Kupferverbindung, vor Allem aber die Krystallisation des salzsauren Aethylesters (siehe oben). In dieser Weise lässt sich das Glykocoll am Besten von den andern Aminosäuren trennen, ferner mit Hülfe der β-Naphtalinsulfo- und α-Naphtylisocyanatverbindungen. Auch die Umwandlung in Hippursäure ist in manchen Fällen mit Erfolg für die Isolierung benutzt worden[3]). Man schüttelt mit Benzoylchlorid und Natronlauge, säuert an, schüttelt mit Essigäther aus und nimmt den Essigätherrückstand mit 5 pCt. Benzol enthaltendem Chloroform auf. Aus dieser Lösung fällt die Hippursäure aus. Zum Nachweis sehr geringer Mengen empfiehlt Spiro[4]) den Essigätherrückstand mit Hülfe der Lactimidprobe auf Hippursäure zu prüfen. Zur Identificierung des isolierten Glykocolls dienen die oben aufgeführten Eigenschaften, der süsse Geschmack u. s. w., besonders auch das Verhalten des Aethylesters, des salzsauren und pikrinsauren Aethylesters sowie der Phenylisocyanatverbindung.

Vorkommen.

172. **Alanin (α-Aminopropionsäure) $C_3H_7NO_2$.** Von den drei Modifikationen ist das d-Alanin unter den hydrolytischen Spaltungsprodukten vieler Proteinstoffe aufgefunden worden, am reichlichsten (21 pCt.) entsteht es bei der Spaltung des Fibroins (E. Fischer und Skita[5]). Aus Seide wurde es auch zuerst von Weyl[6]) erhalten. Es

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CH{-}NH_2 \\ | \\ COOH \end{array}$$

1) H.-S. **31**. 119. (1900/01.)
2) J. B. Ch. **1**. 171. (1906.)
3) Ch. Fischer, H.-S. **19**. 164. (1894.) Gonnermann, Pfl. A. **59**. 42. (1895.)
4) H.-S. **28**. 174. (1899.)
5) H.-S. **33**. 177. (1901.)
6) B. **21**. 1529. (1888).

wurde aus menschlichem Harn nach Phosphorvergiftung isoliert (Wohlgemuth[1]) und im Fleischextract nachgewiesen (Micko[2]).

Darstellung. Synthetisch gewinnt man dl-Alanin aus Aldehydammoniak, Blausäure und Salzsäure (Strecker[3]). Seine Benzoylverbindung lässt sich mit Hülfe von Brucin und Strychnin in l- und d-Benzoylalanin zerlegen, aus denen durch Kochen mit Salzsäure l- und d-Alanin gewonnen werden kann (E. Fischer[4]). d-Alanin wird auch erhalten durch Einwirkung von Hefe auf eine Lösung von Zucker und dl-Alanin (F. Ehrlich[5]). Durch Erhitzen auf 180° mit überschüssigem Barytwasser wird actives Alanin völlig racemisiert (E. Fischer[6]).

Ueber die Isolierung von d-Alanin aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteine siehe später. Zur Darstellung von d-Alanin benutzt man am besten die billigen Abfälle der Mailänder Grège, welche 10 pCt. Ausbeute geben (E. Fischer[7]).

Eigenschaften. Die Alanine schmecken süss, lösen sich sehr leicht in heissem Wasser und krystallisieren bei genügender Concentration in der Kälte. Ueber Krystallform des d-Alanin siehe E. Fischer[7]). dl-Alanin löst sich in 4,6 T. Wasser bei 17° und ist in Alkohol schwer löslich. Rasch erhitzt zersetzt es sich bei 293°, d- und l-Alanin zersetzen sich bei 297°.

Verbindungen:

mit Phosphorwolframsäure. d-Alaninphosphorwolframat $(C_3H_7NO_2)_3 . H_3PO_4 . 12\,WO_3$ löst sich in Wasser zu 15,7 pCt., in absolutem Alkohol zu 19,4 pCt. (Barber[8]).

mit Kupfer. d-Alaninkupfer $(C_3H_6NO_2)_2Cu + H_2O$ (S. 225) tiefblaue Nadeln oder rhombische Prismen, in Wasser ziemlich leicht löslich, in Alkohol fast unlöslich.

mit Silber. Alaninsilber (S. 225) leicht löslich in Wasser.

mit Alkohol. dl-Alaninäthylester (S. 225) unter 11 mm Druck bei 48° siedend. Sein Pikrat (feine gelbe, in warmem Wasser ziemlich leicht lösliche Nadeln) schmilzt bei 168°. Der Ester wird bei mehrstündigem Kochen mit der zehnfachen Menge Wasser am Rückflusskühler quantitativ gespalten. Die Ester der activen Alanine haben den gleichen Siedepunkt (E. Fischer[9]).

mit Benzoesäure. dl-Benzoylalanin (S. 225) schmilzt bei 162—163°, l- und d-Benzoylalanin bei 147—148°.

mit β-Naphtalinsulfosäure. dl-β-Naphtalinsulfalanin (S. 226) Oel, bald in feinen meist zu eigentümlichen Aggregaten verwachsenen Nadeln, die miskroskopisch Papierfasern gleichen, krystallisierend. Smp. 150—151°. Löslichkeit ähnlich wie bei der Glycinverbindung. Krystallform siehe Kionka a. a. O. d-β-Naphtalinsulfalanin Oel, langsam krystallisierend in feinen meist büschelförmig ver-

1) H.-S. **44**. 80. (1905.) B. **39**. 462. (1906.)
2) H.-S. **56**. 180. (1908.)
3) A. **75**. 29. (1850.)
4) B. **32**. 2451. (1899.)
5) B. Z. **1**. 8. (1906.)
6) H.-S. **36**. 468. (1903.)
7) B. **39**. 462. (1906.)
8) M. **27**. 379. (1906.) Levene u. Beatty, H.-S. **47**. 149. (1906.)
9) B. **34**. 443. (1901.)

wachsenen Nädelchen mit Krystallwasser. Die krystallwasserhaltige Verbindung siedet bei 62° und schmilzt bei 70—80°. Analyse gibt keine scharfe Zahlen.

dl-Nitrotoluolsulfalanin (S. 226), lange wollige Nadeln, Smp. 96°, löslich in Wasser bei 12° 1 : 690, löslich in Alkohol. mit Nitrotoluolsulfosäure.

dl-Phenylisocyanatalanin (S. 226), Smp. 169, etwas leichter löslich als die entsprechende Glycinverbindung. mit Phenylisocyanat.

dl-α-Naphtylisocyanatalanin (S. 226), kleine Nadeln, Smp. 198°. l-α-Naphtylisocyanatalanin, Smp. 202° unter Aufschäumen. mit α-Naphtylisocyanat.

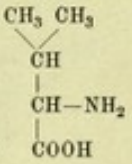
Alanincarbonsaures Calcium (S. 226).

d-Alanin in 10 proc. wässeriger Lösung $[\alpha]_D^{22} = +2{,}7°$ (E. Fischer und Raske[1]), salzsaures d-Alanin in ungefähr 10 proc. wässeriger Lösung im Mittel $[\alpha]_D^{20} = +10{,}3°$. Dieser Wert wird aber nur erhalten, wenn die freie Säure aus Wasser sehr sorgfältig umkrystallisiert ist. Die bei der hydrolytischen Spaltung der Proteinstoffe erhaltenen Präparate zeigen in der Regel um 1—2° niedrigere Werte, da durch das Kochen mit Säure stets eine teilweise Racemisierung stattfindet (E. Fischer[2]). Optische Eigenschaften.

Beim Erhitzen mit Phosphorsäure und mit alkalischer Chlorbariumlösung verhält sich Alanin wie Glykocoll (S. 229). Salpetrige Säure wandelt d-Alanin in d-Milchsäure um (E. Fischer und Skita). Durch Wasserstoffsuperoxyd bei Gegenwart von etwas Ferrosulfat entstehen Kohlensäure, Ammoniak, Acetaldehyd und Essigsäure (Dakin[3]). Umwandlungen u. Zersetzungen.

Dem Nachweis muss die Isolierung voraufgehen. Für die Identificierung dient die Analyse, eventuell die Herstellung und Analyse der Benzoylverbindung. Nachweis.

173. Valin (α-Aminoisovaleriansäure) $C_5H_{11}NO_2$. d-Valin wurde zuerst von E. Schulze und Barbieri[4]) aus verschiedenen Keimlingen gewonnen und ist auch bei der Hydrolyse des Caseins (E. Fischer[5]) und Hornes (E. Fischer und Dörpinghaus[6]) erhalten worden. Auch die bei der Hydrolyse anderer Proteine, aus Pancreas (Gorup-Besanez[7]), bei der Autolyse von Leber und Pancreas (Levene[8]) und Hefe (Ehrlich und Wendel[9]), aus Leukocyten der Thymus (Lilienfeld[10]), aus Käse (Winterstein[11]) isolierten Aminovaleriansäuren sind wahrscheinlich d-Valin oder Gemenge von d-Valin mit racemisiertem. Vorkommen.



---

1) B. **40**. 3721. (1907.)
2) B. **39**. 464. (1906.)
3) J. B. Ch. **1**. 171. (1906.)
4) J. f. pr. Ch. N. F. **27**. 337. (1883.)
E. Schulze, H.-S. **24**. 49. (1898.)
E. Schulze u. Winterstein, H.-S. **35**. 300, (1902.)
E. Schulze u. Castoro, H.-S. **38**. 230. (1903.)
5) H.-S. **33**. 159 u. 165. (1901.)
6) H.-S. **36**. 470. (1902.)
7) A. **98**. 1.
8) H.-S. **41**. 395 u. 399. (1904.)
9) B. Z. **8**. 399. (1908.)
10) H.-S. **18**. 476. (1894.)
11) H.-S. **41**. 500. (1904.)

Darstellung. Synthetisch wird dl-Valin nach Clark und Fittig[1]) und nach Slimmer[2]) aus der α-Bromisovaleriansäure erhalten. Die activen Valine lassen sich aus der Formylverbindung des synthetischen Valins (welche man durch Erhitzen mit wasserfreier Ameisensäure bei 100° darstellt) mit Hilfe der Brucinsalze und nachträglicher Abspaltung der Formylgruppe mittelst Bromwasserstoffsäure erhalten (E. Fischer[3]). l-Valin entsteht auch bei der Einwirkung von Hefe auf eine wässerige Lösung der dl-Säure und Zucker (Ehrlich[4]). Für die Darstellung des d-Valin ist der Weg über die synthetische Säure vorläufig besser als die Isolierung aus der Zersetzungsflüssigkeit der Proteine.

Für die Gewinnung eignen sich auch zwei bis dreiwöchige etiolierte Keimpflanzen von Lupinus luteus (E. Schulze und Winterstein[5]).

Ueber die Isolierung des d-Valin aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteine siehe später. Die Trennung des d-Valin vom l-Leucin beruht auf der Löslichkeit des d-Valinkupfers in Methylalkohol. Eine Abtrennung des d-Valin vom d-Isoleucin, welche miteinander Mischkrystalle bilden und deren Salze in der Löslichkeit übereinstimmen, ist bisher nicht geglückt. Um eine Trennung zu bewirken racemisiert man das Gemenge durch Erhitzen mit Barytwasser auf 180°, stellt die Kupfersalze her und kocht diese mit Alkohol aus, wobei das dl-Valinkupfer fast rein zurückbleibt (Ehrlich und Wendel[6]). In Lösung gehen die Kupfersalze des d-Isoleucins und des (aus einem Teil des Isoleucin durch die Barytwirkung entstandenen) d-Allo-Isoleucins (siehe Isoleucin).

Eigenschaften. dl-Valin, farblose Blättchen, dem Leucin gleich, von schwach süssem Geschmack, Smp. 298° (corr.), löslich in Wasser (1 : 14,1 bei 25°), fast unlöslich in kaltem Alkohol und Aether. Es sublimiert in Flocken, bei vorsichtigem Erhitzen ohne Zersetzung. d-Valin und l-Valin feine silberglänzende, meist sechseckige Blättchen. Smp. im geschlossenen Capillarrohr bei 306°. Starkes Sublimieren beim Erhitzen unter teilweiser Zersetzung. Löslichkeit in Wasser bei 25° 1 : 17,1. d-Valin ganz schwach süss und etwas bitter, l-Valin ziemlich stark süss.

Verbindungen: mit Kupfer. dl-Valinkupfer (S. 225), in kaltem Wasser sehr wenig, auch in heissem schwer lösliche Schuppen, in concentriertem Methylalkohol löst es sich bei 20° 1 : 3644, in Aethylalkohol bei 21° 1 : 9230 (Ehrlich u. Wendel[7]). d-Valinkupfer (mit Krystallwasser) in Wasser viel leichter löslich als Leucinkupfer, in Methylalkohol ebenso leicht löslich wie Isoleucinkupfer 1 : 52 bei 18° (Schulze und Winterstein[8]).

mit Alkohol. dl-Valinäthylester (S. 225) siedet bei 8 mm bei 63,5°, sehr unbeständig. Pikrat ist in kaltem Wasser schwer löslich und schmilzt bei 139,5°.

---

1) A. **139**. 200. (1866.)
2) B. **35**. 400. (1902.)
3) B. **39**. 2320. (1906.)
4) B. Z. **1**. 8. (1906.)
5) H.-S. **35**. 312. (1902.)
6) B. Z. **8**. 423. (1908.)
7) B. Z. **8**. 426. (1908.)
8) H.-S. **45**. 40. (1903.)

dl-Benzoylvalin (S. 225) in Aether und Alkohol ziemlich leicht, in Wasser, auch heissem, sehr schwer löslich, krystallisiert aus Aether auf Zusatz von Ligroin in schönen Blättchen vom Smp. 132,5° (corr.) mit Benzoesäure.

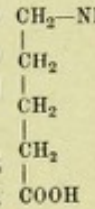
dl-Phenylisocyanatvalin (S. 226) farblose Blättchen, Smp. 163,5° (corr.) unter Zersetzung; in heissem Alkohol ziemlich leicht, in Aether recht schwer löslich. Das Hydantoin schmilzt bei 124—125° (corr.) und ist in heissem Wasser recht schwer, in Alkohol und Aether leicht löslich. d-Phenylisocyanatvalin, kleine Prismen, beginnt bei raschem Erhitzen gegen 140° zu erweichen und schmilzt völlig bis 145° unter schwachem Aufschäumen. Das Hydantoin schmilzt bei 131—133° (corr.) und zeigt $[\alpha]_D^{20} = -97{,}5°$ (c. 6 proc. alkoholische Lösung). mit Phenylisocyanat.

Bei der Oxydation mit Wasserstoffsuperoxyd bei Gegenwart von etwas Ferrosulfat entstehen Ammoniak, Kohlensäure, Isobutylaldehyd, Isobuttersäure, Aceton (Dakin[1]). Zersetzung.

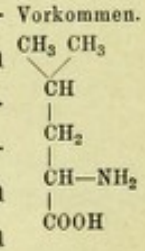
d-Valin zeigt in etwa 3—5 proc. Lösung $[\alpha]_D^{20} = +6{,}42°$, in 3 proc. Lösung in 20 proc. Salzsäure $[\alpha]_D^{20} = +28{,}8°$. Für l-Valin wurde in salzsaurer Lösung derselbe Wert im umgekehrten Sinne erhalten (E. Fischer). Für l-Valin (durch Gärung aus racemischem gewonnen) erhielt Ehrlich[2]) genau dieselben Werte. Optische Eigenschaften.

Dem Nachweis muss die Isolierung vorangehen. Für die Identificierung dient die Elementaranalyse und das Drehungsvermögen in salzsaurer Lösung, ferner die Darstellung des Phenylhydantoins. Nachweis.

δ-Amino-n-valeriansäure $C_5H_{11}NO_2$. E. u. H. Salkowski[3]) erhielten sie aus gefaultem Eiweiss und Leim, Ackermann[4]) aus gefaultem Pancreasgewebe. Synthetisch wurde sie erhalten durch Oxydation von Benzoylpiperidin mit Kaliumpermanganat und Zersetzung des so entstandenen Benzoylderivates mit Salzsäure (Schotten[5]). Sie krystallisiert in perlmutterglänzenden Blättchen, die in Wasser löslich, in absolutem Alkohol fast unlöslich sind und bei 157—158° schmelzen. Sie verhält sich indifferent gegen Kupferoxyd, Kupferacetat und ammoniakalische Silberlösung, wird schon aus verdünnten Lösungen durch Phosphorwolframsäure gefällt. Das Chlorid destilliert beim trocknen Erhitzen grösstenteils unzersetzt (Ackermann). Das Golddoppelsalz $C_5H_{11}NO_2 . HCl . AuCl_3 + H_2O$ krystallisiert in orangefarbigen, monoklinen Krystallen, die bei 86—87° schmelzen. Die α-Naphtylisocyanatverbindung (S. 226) fällt aus heissem Ammoniak durch verdünnte Essigsäure als farblose Nädelchen (Smp. 195 bis 196°).



174. Leucin (α-Aminoisobutylessigsäure) $C_6H_{13}NO_2$. Es tritt bei der hydrolytischen Zersetzung der allermeisten Proteinstoffe auf. Es findet sich in kleinen Mengen in vielen Organen (in der Leber besonders nach Phosphorvergiftung), im Krabbenextract, oft im Eiter, in Atherombälgen, in Ichthyosisschuppen, ferner im Schmutze der Haut und in der Schafwolle (hier durch bacterielle Zersetzung entstanden). Weiter ist es nachgewiesen im Harn in Vorkommen.



1) J. B. Ch. **4**. 91. (1908.) 2) B. Z. **8**. 438. (1908.)
3) B. **16**. 1191 (1883) u. **31**. 776 (1898), vergl. auch Gabriel u. Aschan, B. **24**. 1364. (1891), H. Salkowski, B. **31**. 776. (1898).
4) H.-S. **56**. 305. (1908). 5) B. **17**. 2544. (1884.)

bestimmten Fällen von Lebererweichung, bei Cystinurie (Abderhalden und Schittenhelm[1]), bei einem Erysipelkranken (Kirkbride[2]), im Hundeharn nach Phosphorvergiftung (Abderhalden und Barker[3]), im Pferdeharn bei Peritonealsarkom (Christiani[4]), im Blut bei akuter Leberatrophie (Neuberg u. Richter[5]). Bei Insekten, Spinnen, Krebsen ist sein Vorkommen festgestellt, auch in Pflanzen ist es gefunden z. B. in der Hefe, in vielen Keimpflanzen (E. Schulze[6]), in der Rübenmelasse.

Das natürlich vorkommende und das durch Spaltung der Proteinstoffe erhaltene ist meist l-Leucin. Wird die Spaltung durch Barytwasser (mehrtägiges Erhitzen bei 150—160°) vorgenommen, so entsteht dl-Leucin (Schulze und Likiernik[7]). Aus zersetztem Käse wurde einmal dl-Leucin erhalten (E. Schulze und Likiernik[8]).

Darstellung. Das synthetisch dargestellte Leucin ist stets die inactive Form. Am besten gewinnt man es aus Isovaleraldehyd, Ammoniak und Blausäure[9]). Eine andere Methode mit guter Ausbeute (von der Isobutylmalonsäure aus) ist von E. Fischer und Schmitz[10]) angegeben. Aus dem durch Benzoylierung des inactiven Leucin erhaltenen Benzoylleucin lässt sich mit Hilfe des Cinchonin- und Chinidinsalzes d- und l-Benzoylleucin gewinnen, welche durch hydrolytische Spaltung d- und l-Leucin liefern, allerdings in nicht reinem Zustande, da ihnen kleine Mengen der durch teilweise Racemisierung entstandenen inactiven Modifikation beigemengt sind (E. Fischer[9]). Zweckmässiger ist die Gewinnung des activen Leucin aus dem Formylleucin mit Hilfe der Brucinsalze (siehe Valin) (E. Fischer und Warburg[11]). d-Leucin entsteht aus dem inactiven auch durch Einwirkung von Penicillium glaucum (E. Schulze[12]), ferner auch durch Einwirkung von Hefe auf eine Lösung von inactivem Leucin und Zucker, während hierbei aus dem l-Leucin inactiver Amylalkohol wird (F. Ehrlich[13]). Bei 24 stündigem Erhitzen von activem Leucin mit Barytwasser (auf 1 Tl. Leucin 20 Tl. Wasser und 2—3 Tl. Aetzbaryt) auf 170—175° findet völlige Racemisierung statt, während beim Erhitzen mit Säuren keine Racemisierung erfolgt (Ehrlich und Wendel[14]).

---

1) H.-S. **45**. 468. (1905.)
2) C. f. inn. M. **18**. 1057. (1897.)
3) H.-S. **42**. 524. (1904.)
4) Ref. B. C. **2**. 440. (1904).
5) D. m. W. 1904. 499.
6) H.-S. **24**. 49. (1898.), **35**. 304. (1902.), **38**. 199. (1903.)
7) H.-S. **9**. 63. (1885.)
8) H.-S. **17**. 513. (1893.)
9) Hüfner, J. pr. Ch. N. F. **1**. 6. (1870.) Ueber die beste Methode der Darstellung siehe Schulze u. Likiernik, H.-S. **17**. 513. (1893.), E. Fischer, B. **33**. 2370. (1900).
10) B. **39**. 351. (1906.)
11) B. **38**. 3997. (1905.)
12) H.-S. **10**. 134. (1886.), **17**. 513. (1893.)
13) B. Z. **1**. 8. (1906.), Z. d. Vereins d. deutsch. Zuckerindustr. **55**. 539. Autoref. B. C. **4**. 228. (1905/06.)
14) B. Z. **8**. 399. (1908.)

Ueber die Isolierung von l-Leucin aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteine siehe später. Eine Trennung des Leucin von gleichzeitig vorhandenem Isoleucin und Valin ist wegen der Fähigkeit dieser Aminosäuren miteinander Mischkrystalle zu bilden ausserordentlich schwierig und in vollkommener Weise erst kürzlich F. Ehrlich[1]) gelungen. Er extrahierte das Gemenge der Kupfersalze mit Methylalkohol, verwandelte den unlöslichen Teil wieder in die Aminosäuren, aus denen abermals die Kupfersalze hergestellt wurden. Diese wurden wieder mit Methylalkohol erschöpft. Erst nach mehrmaliger Wiederholung des Verfahrens wurde eine völlige Abtrennung von Isoleucin und Valin erreicht. Auf diese Weise wurde bisher aus Ovalbumin, Casein und Hefe reines l-Leucin gewonnen. Nach Levene und Jacobs[2]) lässt sich die Trennung des Leucin und Isoleucin von Valin durch Fällen mit neutralem Bleiacetat und Ammoniak bewirken, wobei nur Leucin und Isoleucin gefällt werden.

Eigenschaften.

Reines Leucin bildet glänzend weisse ausserordentlich dünne und leichte Krystallblättchen, die sich mit Wasser nur sehr langsam benetzen. Das inactive Leucin schmeckt ganz schwach süss, das d-Leucin süss, das l-Leucin fade und ganz schwach bitter (E. Fischer und Warburg).

Vorsichtig erhitzt, sublimieren sie grösstenteils unzersetzt in weissen, wolligen Flocken unter Bildung eines eigentümlichen Geruches (Isoamylamin); im geschlossenen Capillarrohr rasch erhitzt, schmelzen sie unter Zersetzung und Gasentwicklung bei 293—295° (corr.) (E. Fischer). l- und d-Leucin lösen sich bei 20° in 44—48 Tl. Wasser (Ehrlich[3]), leichter in heissem, sehr schwer in kaltem, etwas leichter in siedendem Alkohol. Das dl-Leucin löst sich schwerer in Wasser, in ungefähr 106 Tl. bei Zimmertemperatur. So lange das Leucin unrein ist, ist es sehr viel löslicher in Wasser und besonders auch in Alkohol und krystallisiert in runden Kugeln und Knollen, die ziemlich schwach lichtbrechend sind und sich dadurch von den sonst ähnlichen, aber dunkel und scharf conturierten Abscheidungen harnsaurer Salze unterscheiden. Diese Kugeln und Knollen erscheinen entweder ganz hyalin oder radial gestreift, oder auch aus deutlich radial gruppierten, sehr dünnen Blättchen zusammengesetzt. In Alkalien, auch in Ammoniak, ebenso in verdünnten Säuren lösen sich die Leucine leicht auf, in conc. Schwefelsäure oder Salzsäure lösen sie sich ohne Zersetzung. Eisessig löst Leucin weit besser als Tyrosin, was zur Trennung beider benutzt werden kann (Habermann und Ehrenfeld[4]).

Verbindungen: mit Phosphorwolframsäure.

Durch Phosphorwolframsäure wird Leucin aus verdünnten Lösungen nicht gefällt, auch lässt sich kein krystallisiertes Phosphorwolframat er-

---

1) B. Z. **8**. 399. (1908.) 2) B. Z. **9**. 231. (1908.)

3) B. Z. **1**. 8. (1906.), **8**. 399. (1908.), siehe auch E. Schulze u. Likiernik, H.-S. **17**. 513. (1893.)

4) H.-S. **37**. 18. (1903.)

halten (Barber[1]). Trotzdem findet man gelegentlich Leucin in den Phosphorwolframsäurefällungen hydrolysierter Proteinlösungen. Aus 10 proc. Lösung wird es ölartig gefällt, löst sich aber beim geringsten Ueberschuss des Fällungsmittels (Levene und Beatty[2]).

mit Kupfer. l-Leucinkupfer $(C_6H_{12}NO_2)_2Cu$ (S. 225) blassblaue Schüppchen (rhombische Tafeln), in Wasser sehr schwer löslich (Hofmeister[3]), in Methylalkohol unlöslich. Man gewinnt es auch, indem man conc. Lösung von Leucin und Kupferchlorid vorsichtig mit Barytwasser versetzt (Kutscher[4]).

mit Silber. Leucinsilber (S. 225), feine, in Wasser schwer lösliche Nädelchen.

mit Alkohol. Leucinäthylester (S. 225) (E. Fischer[5]) stellt eine alkalisch reagierende Flüssigkeit von eigentümlichem Geruche dar, die unter 12 mm Druck bei 83,5°, unter 18 mm bei 88° und unter 761 mm bei 196° siedet (dl-Leucinester, ebenso wie l-Leucinester), in 23 Tl. Wasser von Zimmertemperatur löslich ist (dl-Leucinester) und durch concentriertes Alkali oder Salze wieder abgeschieden wird; in verdünnten Mineralsäuren ist er sehr leicht löslich, mit Alkohol, Aether, Benzol mischt er sich in jedem Verhältnis. Das Pikrat des dl-Leucinesters bildet gelbe, oft garbenförmig gruppierte, in heissem Wasser schwer lösliche Nadeln vom Smp. 134°, das Pikrat des l-Leucinesters wirr durcheinander gewachsene Nädelchen vom Smp. 128°. Der l-Leucinester dreht rechts $[\alpha]_D^{20°} = +13{,}1°$. Durch mehrstündiges Kochen mit der 20 fachen Menge Wasser am Rückflusskühler wird er gespalten. Der dl-Leucinester wird durch Pancreasferment asymmetrisch verseift, wobei l-Leucin und d-Leucinester entstehen (Warburg[6]).

mit Benzoesäure. Benzoylleucin (S. 225) scheidet sich aus heisser wässeriger Lösung als bald krystallinisch werdendes Oel ab, ist in Alkohol und Aether löslich, in Ligroin auch in der Wärme sehr schwer löslich. dl-Benzoylleucin schmilzt bei 135—139°, l-Benzoylleucin bei 104—106° (E. Fischer[7]).

mit Ameisensäure. Formylleucin (E. Fischer und Warburg).

mit β-Naphtalinsulfosäure. dl-β-Naphtalinsulfoleucin (S. 226) bald krystallinisch werdendes Oel, aus heissem verdünnten Alkohol farblose glänzende Blättchen ohne Krystallwasser, Smp. 145—146°, löst sich in ungefähr 500 Tl. Wasser, sehr leicht in Alkohol und Aether. l-β-Naphtalinsulfoleucin, langsam krystallisierendes Oel, aus verdünntem Alkohol lange, dünne spiessartige Prismen mit 1 Mol. Wasser. Es sintert bei 60° und ist bei 67° geschmolzen. Sehr schwer in Wasser (in etwa 400 Tl. kochendem), leicht in Alkohol und Aether löslich.

mit Phenylisocyanat. dl-Phenylisocyanatleucin (S. 226), Smp. 165° (corr.), Hydantoin schmilzt bei 125° (corr.) (E. Fischer[8]).

---

1) M. **27**. 379. (1906.)
2) H.-S. **47**. 149. (1906.)
3) A. **189**. 6. (1877.)
4) H.-S. **38**. 120. (1903.)
5) B. **34**. 433. (1901.)
6) B. **38**. 187. (1905.)
7) B. **33**. 2370. (1900.)
8) B. **33**. 2381. (1900.), H.-S. **33**. 187. (1901.)

l-α-Naphtylisocyanatleucin (S. 226), lange spiessige Krystalle, Smp. 163,5° (doch war das Präparat vielleicht nicht ganz rein). mit α-Naphtylisocyanat.

l-Leucincarbonsaures Calcium (S. 226).

Es wurden gefunden für l-Leucin (aus synthetischem Leucin über das Brucinsalz der Formylverbindung gewonnen) 3—5 proc. Lösung in 20 proc. Salzsäure $[\alpha]_D^{20} = +15{,}6°$ (E. Fischer und Warburg), (aus hydrolisiertem Ovalbumin, hydrolisiertem Casein, aus Hefeselbstverdauung gewonnen) in 2—3 proc. wässeriger Lösung $[\alpha]_D^{20} = -10{,}35°$ bis $-10{,}8°$, in 3—4 proc. Lösung in 20 proc. Salzsäure $[\alpha]_D^{20} = +15{,}46°$ bis $+15{,}77°$ (Ehrlich, Ehrlich und Wendel). Optische Eigenschaften.

Für d-Leucin (aus synthetischem Leucin über das Brucinsalz der Formylverbindung) in 3—5 proc. Lösung in 20 proc. Salzsäure $[\alpha]_D^{20} = -15{,}6°$ (E. Fischer und Warburg), (aus synthetischem durch Spaltung mittelst Hefe und Zucker) in 2 proc. wässeriger Lösung $[\alpha]_D^{20} = +10{,}34°$, in 3—4 proc. Lösung in 20 proc. Salzsäure $[\alpha]_D^{20} = -15{,}40°$ (Ehrlich). Die in der Literatur angegebenen höheren Werte sind mit unreinem Leucin gewonnen. In alkalischer Lösung dreht l-Leucin rechts (Mauthner[1]).

Beim Erhitzen mit Phosphorsäure und mit alkalischer Chlorbariumlösung verhält es sich wie Glykocoll (S. 229), durch salpetrige Säure wird Leucin in α-Oxyisobutylessigsäure, Wasser und Stickstoff zerlegt (Schulze und Likiernik[2]). Durch Wasserstoffsuperoxyd bei Gegenwart von etwas Ferrosulfat entstehen Kohlensäure, Ammoniak, Isovaleraldehyd, Isovaleriansäure, Aceton (Dakin[3]). Durch bacterielle Zersetzung ebenso durch Schmelzen mit Aetzkali entsteht Valeriansäure. Zersetzung und Oxydation.

Dem Nachweis muss die Isolierung vorangehen. Für diese benutzt man die Ueberführung in den Aethylester und Destillation desselben. Besondere Schwierigkeiten macht die Trennung des Leucin von Isoleucin und Valin, mit denen es Mischkrystalle bildet. Sie gelingt auf Grund der verschiedenen Löslichkeit der Kupfersalze in Methylalkohol (S. 235). Die Reinheit ist mit Hülfe der specifischen Drehung zu controllieren. Weiter ist es zweckmässig, das Leucin in das schwerer lösliche inactive Leucin überzuführen und dieses durch Herstellung des Phenylhydantoin oder der Benzoylverbindung und Bestimmung des Schmelzpunktes dieser Derivate zu identificieren. Nachweis.

Leucinimid $C_{12}H_{22}N_2O_2$ wurde zuerst von Bopp[4]) aus faulenden Proteinstoffen, dann von Ritthausen[5]) bei der Spaltung von Proteinstoffen mit Schwefelsäure, $C_4H_9-CH-NH-CO$ / $CO-NH-CH-C_4H_9$

1) H.-S. **7**. 223. (1882/83.)
2) H.-S. **17**. 513. (1893.), Gmelin, H.-S. **18**. 21. (1894).
3) J. B. Ch. **1**. 171. (1906), **4**. 63. (1908.)
4) B. **49**. 16. (1844.)
5) Die Eiweisskörper der Getreidearten usw. Bonn 1872.

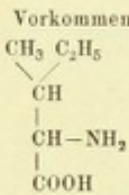
von R. Cohn[1]) und von Abderhalden u. Funk[2]) bei der Säurespaltung des Casein in geringer Menge erhalten und von Cohn genauer untersucht. Salaskin[3]) glaubt es unter den peptischen und tryptischen Verdauungsprodukten des Hämoglobin gefunden zu haben.

Das inactive Leucinimid, am besten durch 24stündiges Erhitzen von inactivem Leucinester in geschlossenem Rohr auf 180—190° dargestellt, schmilzt bei 271° (corr.) (E. Fischer[4]), das l-Leucinimid (leicht aus dem Methylester des l-Leucyl-l-leucin zu erhalten E. Fischer[5]) etwas höher bei 277° (corr.). Letzteres krystallisiert aus heissem Wasser, in dem es schwer löslich ist, in mikroskopischen Nadeln und dünnen Prismen, die häufig büschelförmig verwachsen sind. Leichter löslich ist es in Methylalkohol, ziemlich leicht in kochendem Alkohol, wenig in Aether, viel leichter in Essigäther, leicht in Eisessig. Es sublimiert ausserordentlich leicht, das ganze Lumen des Glases anfüllend, löst sich in kalter und warmer conc. Schwefelsäure unzersetzt und fällt beim Verdünnen mit Wasser unverändert aus.

Synthetisches l-Leucinimid zeigte in eisessigsaurer Lösung $[\alpha]_D^{20} = -42{,}5° - -42{,}87°$ (E. Fischer[5]), das aus hydrolysiertem Casein gewonnene $[\alpha]_D^{20} = -42{,}3°$ (Abderhalden u. Funk).

Tyroleucin, Leuceine. Diese von Schützenberger[6]) aus den Producten der Zersetzung von Eiweiss durch Aetzbaryt isolierten Körper sind Gemenge. Vergl. darüber E. Schulze[7]) und E. Fischer[8]), Hugounenq u. Morel[9]).

Vorkommen.



Isoleucin (α-Amino-β-methylaethylpropionsäure) $C_6H_{13}NO_2$ wurde von F. Ehrlich[10]) zuerst in der Melasseschlempe der Zuckerfabrikation aufgefunden und weiterhin als eine ganz allgemein bei der Hydrolyse der Proteine auftretende Substanz erkannt. Es entsteht bei der Autolyse der Hefe, bei der Käsereifung (Winterstein und Bissegger[11]) und findet sich in den Keimlingen (E. Schulze und Winterstein[12]). Das natürlich vorkommende ist das d-Isoleucin.

Darstellung. dl-Isoleucin wurde synthetisch (vom sekundären Butyljodid und Acetessigester ausgehend) von Bouveault und Locquin[13]) dargestellt. Seine Zerlegung in die activen Formen gelang mittelst der Brucinsalze der Formylverbindung und Abspaltung der Formylgruppe durch Salzsäure (Locquin[14]). Eine andere Synthese (vom sekundären Butyljodid und Malonsäureester ausgehend) ist von F. Ehrlich[15]) und von Brasch und Friedmann[16]) angegeben.

Es wurde von Ehrlich[17]) auch aus d-Amylalkohol bzw. d-Valeraldehyd mit

---

1) H.-S. **22**. 166. (1896/97), **29**. 283. (1900.)
2) H.-S. **53**. 19. (1907.)
3) H.-S. **32**. 592. (1901.), **38**. 573. (1903.)
4) B. **34**. 433. (1901.)
5) B. **39**. 2893. (1906.)
6) C. r. **84**. 124. (1885.)
7) H.-S. **9**. 122. (1895.)
8) H.-S. **33**. 412. (1901.)
9) Ref. B. C. **6**. 211. (1907.)
10) B. **37**. 1809. (1904).
11) H.-S. **47**. 28. (1906.)
12) H.-S. **45**. 38. (1905.)
13) C. r. **141**. 115, Bl. s. ch. de Paris. (3.) **35**. 965, Ref. C. C. 1905. **2**. 615. u. 1906. **2**. 1829.
14) Bl. s. ch. de Paris (4.) **1**. 595 u. 601, ref. C. C. 1907. **2**. 895 u. 896.
15) B. **41**. 1453. (1908).
16) B. Ph. P. **11**. 376. (1908).
17) B. **40**. 2538. (1907.)

Hilfe der Cyanhydrinreaction erhalten. Doch bildet sich dabei ungefähr in derselben Menge d¹-Allo-Isoleucin, durch sterische Umlagerung aus dem d-Isoleucin entstanden. Ein fast gleich zusammengesetztes Gemisch dieser beiden stereoisomeren Substanzen erhält man beim Behandeln des d-Isoleucin mit Bariumhydroxyd unter Druck. Aus diesem Gemisch kann man das d¹-Allo-Isoleucin isolieren durch Vergären mit Hefe bei Gegenwart von Zucker, wobei das d-Isoleucin in (linksdrehenden) d¹-Amylalkohol übergeht. Eine Isolierung des d-Isoleucin ist dabei noch nicht gelungen.

Ueber die Darstellung reinen d-Isoleucins aus Melasseschlempe siehe Ehrlich[1]). Die Trennung vom l-Leucin beruht auf der leichten Löslichkeit des d-Isoleucinkupfer in Methylalkohol. Aus der hydrolisierten Proteinlösung d-Isoleucin rein zu gewinnen, ist bisher nicht gelungen, da es mit l-Valin Mischkrystalle bildet (Ehrlich u. Wandel[2]). Ist nur wenig Valin vorhanden, wie z. B. im Blutfibrin[3]), so kann man durch wiederholtes Umkrystallisieren wenigstens einigermassen zum Ziel kommen. Wenn aber mehr Valin vorhanden ist, dann lässt sich wohl in der bei Valin angegebenen Weise das Valin als dl-Valin isolieren, aber nicht das Isoleucin. Siehe indessen das Verfahren von Levene und Jacobs zur Trennung des Isoleucin und Leucin von Valin (S. 235).

Eigenschaften.

Bitterschmeckende, dem Leucin ähnliche Blättchen mit stark elektrischen Eigenschaften, sich mit Wasser schwer benetzend. Es sublimiert anfangs in wolligen Flocken, zersetzt sich dann unter Bildung von Ammoniak, Kohlensäure und einem stark basischen Oel (d-Amylamin); im geschlossenen Capillarrohr schnell erhitzt schmilzt es bei 280° unter Schäumen. Es löst sich bei Zimmertemperatur in 25,8 Tl. Wasser, merklich in heissem Methylalkohol, leicht löslich in heissem Eisessig. Mit Säure und Alkalien bildet es in Wasser sehr leicht lösliche Salze. Durch Phosphorwolframsäure, Bleiessig, Pikrinsäure, Gerbsäure, Mercuro- und Mercurinitrat wird es auch aus concentrierten Lösungen nicht gefällt. Durch concentrierte Salpetersäure wird es auch bei Wasserbadtemperatur und länger dauernder Einwirkung nicht angegriffen.

Verbindungen: mit Kupfer.

d-Isoleucinkupfer $(C_6H_{12}NO_2)_2Cu$ (S. 225) blaue Blättchen ohne Krystallwasser, löst sich in kaltem Wasser 1 : 278, in Aethylalkohol bei 18° 1 : 476, viel leichter in heissem Wasser und etwa ebenso leicht in heissem Aethylalkohol, spielend leicht mit dunkelblauer Farbe in concentriertem Methylalkohol schon bei gewöhnlicher Temperatur (1 : 55) und fast ebenso leicht in reinem concentrierten Benzylalkohol (Sdp. 206°) (charakteristische Eigenschaft, die zur Trennung dient).

mit Nickel.

d-Isoleucinnickel, bläulich grüne Blättchen, schwerer in Wasser löslich als das Kupfersalz, gegen die anderen Lösungsmittel sich ähnlich verhaltend wie dieses.

mit Benzoesäure.

d-Benzoylisoleucin (S. 225), zur Entfernung der Benzoesäure schüttelt man in der Kälte statt mit Ligroin, in dem sich die Verbindung ziemlich

1) B. **37**. 1809. (1904).
2) B. Z. **8**. 399. (1908.)
3) B. **37**. 1809. (1904.)

löst, mit Benzol. In Alkohol und Aether leicht, in kaltem Wasser sehr schwer lösliche Nädelchen. Es sintert bei 114° und schmilzt bei 116—117°.

mit Phenylisocyanat. d-Isoleucinphenylisocyanat (S. 226), weisse, glänzende Blättchen, unlöslich in kaltem, leicht in heissem Wasser, in Alkohol und Aether. Smp. 119—120° unter Schäumen. Das Hydantoin, seideglänzende Nadeln, löst sich nur sehr schwer in kaltem Wasser, leicht in Alkohol und Aether. Smp. 78—79°.

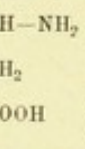
mit α-Naphtylisocyanat. d-α-Naphtylisocyanatisoleucin (S. 226), weisse Nadeln, Smp. 178° unter Aufschäumen.

Optische Eigenschaften. d-Isoleucin (aus synthetischem) zeigte in 3,1 proc. wässeriger Lösung $[\alpha]_D^{20} = +11{,}29°$, in 4,6 proc. salzsaurer Lösung (20g rauchende HCl + 80g Wasser) $[\alpha]_D^{20} = +40{,}61°$.

l-Isoleucin (aus synthetischem) zeigte in 3,1 proc. wässeriger Lösung $[\alpha]_D^{20} = -10{,}55°$, in 4,1 proc. salzsaurer Lösung (20 g rauchende HCl + 80 g Wasser) $[\alpha]_D^{20} = -31{,}37°$, in 4,18 proc. salzsaurer Lösung (20 g HCl-Gas + 80 g Wasser) $= -40{,}86°$ (Locquin).

Ehrlich[1]) fand für das natürliche d-Isoleucin (aus Melasse) in 3,9 proc. wässeriger Lösung $[\alpha]_D^{20} = +9{,}74°$, für 4—5 proc. Lösung in 20 proc. Salzsäure $[\alpha]_D^{20} = +36{,}80°$, für 3—4 proc. in schwach alkalischer Lösung $[\alpha]_D^{20} = +11{,}09°$. Die Bleisalze zeigen starke Linksdrehung.

Vorkommen. 175. **Asparaginsäure (Aminobernsteinsäure) $C_4H_7NO_4$.** Sie entsteht bei der hydrolytischen Spaltung vieler Proteine. Sie findet sich im Secret der Drüse von Tritonium nodosum (Henze[2]) und in der Melasse. Die natürlich vorkommende und die durch Kochen von Proteinstoffen mit Säuren erhaltene ist l-Asparaginsäure.



Darstellung. Die synthetisch durch Erhitzen von Fumarsäure mit alkoholischem Ammoniak gebildete ist die inactive Form. Die Darstellung geschieht am besten durch Kochen von Asparagin mit Salzsäure (Schiff[3]) und zwar entsteht auf diese Weise aus l-Asparagin die l-Säure und aus d-Asparagin die d-Säure. Salzsaure l-Asparaginsäure wird durch Erhitzen ihrer wässerigen Lösung auf 170—180° in die inactive übergeführt (Michael und Wing[4]). Die dl-Benzoylasparaginsäure lässt sich mit Hülfe der Brucinsalze in l- und d-Benzoylasparaginsäure trennen, aus denen durch Kochen mit Salzsäure l- und d-Asparaginsäure gewonnen werden können (E. Fischer[5]). Durch Einwirkung von Hefe auf eine Lösung von dl-Asparaginsäure und Zucker entsteht d-Asparaginsäure (Ehrlich[6]). Ueber die Darstellung der l-Säure aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteinstoffe siehe später.

Eigenschaften. l-Asparaginsäure krystallisiert in rhombischen Prismen, hat stark

1) B. **37**. 1824. (1904.)
2) B. **34**. 348. (1901.)
3) B. **17**. 2929. (1884.)
4) B. **17**. 2984. (1884.)
5) B. **32**. 2451. (1899.)
6) B. Z. **1**. 30. (1906.)

sauren Geschmack, ist in kaltem Wasser ziemlich schwer löslich (1 Tl. in 256 Tl. bei 10°), viel leichter in heissem Wasser (1 Tl. in 18,6 Tl. bei 100°) und auch in Salzlösungen (Schiff).

Verbindungen: mit Kupfer.

l-Asparaginsaures Kupfer $C_4H_5NO_4Cu + 4\,^1/_2H_2O$ (S. 225), blaue glänzende Nadeln, löslich in kochendem; fast unlöslich in kaltem Wasser (Hofmeister[1]).

mit Silber.

Silbersalz (Kutscher[2]) ist sehr schwer löslich in Wasser.

mit Zink.

Zinksalz ist in Wasser leicht löslich und konnte nicht krystallisiert erhalten werden. Diese leichte Löslichkeit dient zur Trennung von der Glutaminsäure, deren Zinksalz sehr schwer löslich ist (Kutscher).

mit Alkohol.

l-Asparaginsäurediäthylester (S. 225) siedet unter 11 mm Druck bei 126,5°, er wird nicht durch Kochen mit Wasser, wohl aber durch ein- bis zweistündiges Erhitzen mit überschüssigem Barytwasser auf dem Wasserbad gespalten.

mit Benzoesäure.

l-Benzoylasparaginsäure (S. 225), Nadeln oder Blättchen, schwer löslich in kaltem Wasser, Smp. 180—181°.

mit β-Naphthalinsulfosäure.

l-β-Naphthalinsulfoasparaginsäure (S. 226), Smp. 153°.

mit α-Naphthylisocyanat.

l-α-Naphthylisocyanatasparaginsäure (S. 226) scheidet sich zuerst gallertartig ab, bei wiederholtem Umkrystallisieren aus verdünntem Alkohol undeutliche Nädelchen. Smp. 115° unter Aufschäumen.

Ueber das Phosphorwolframat siehe Barber[3]), Levene u. Beatty[4]).

Asparaginsäurecarbonsaures Calcium (S. 226).

Optische Eigenschaften.

Die l-Asparaginsäure ist in wässeriger Lösung bei gewöhnlicher Temperatur schwach rechts drehend, bei 75° inactiv, von da an zunehmend linksdrehend (Cook[5]). Bei Gegenwart von Säure ist Rechtsdrehung vorhanden und zwar beträgt in ungefähr 4 proc. Lösung bei Gegenwart von 3 Mol. Salzsäure $[\alpha]_D^{20^\circ} = +25{,}7^\circ$, bei Gegenwart von Alkali Linksdrehung und zwar beträgt in ungefähr 3,3 proc. Lösung bei Gegenwart von 3 Mol. Natriumhydroxyd $[\alpha]_D^{20^\circ} = -2{,}37^\circ$. Die d-Asparaginsäure zeigt bei Gegenwart von Salzsäure unter denselben Verhältnissen $[\alpha]_D^{20^\circ} = -25{,}5^\circ$ (E. Fischer).

Umwandlungen.

Beim Erhitzen mit Phosphorsäure auf 150° gibt sie nur Spuren von Stickstoff, beim Erhitzen mit alkalischer Chlorbariumlösung auf 150° nur Spuren von Kohlensäure ab (Schöndorf). Bei der Einwirkung von salpetriger Säure auf in Salpetersäure gelöste Asparaginsäure erhält man Aepfelsäure. Durch Einwirkung von Natriumnitrit auf in Salzsäure gelöste Asparaginsäure entsteht Monochlorbernsteinsäure (Smp. 174°) (Jochem[6]).

Nachweis.

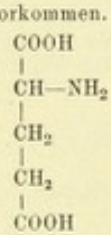
Zum Nachweis der Asparaginsäure dient die Analyse der freien Säure oder ihres schwerlöslichen Kupfersalzes und die Bestimmung der specifischen

---

1) A. **189**. 6. (1877.)
2) H.-S. **38**. 114. (1903.)
3) M. **27**. 379. (1906.)
4) H.-S. **47**. 149. (1906.)
5) B. **30**. 294. (1897.)
6) H.-S. **31**. 119. (1900/01.)

Drehung. Auch der ausgesprochen saure Geschmack unterscheidet sie von der Glutaminsäure und den einfachen Aminosäuren.

Vorkommen. 176. **Glutaminsäure (α-Aminoglutarsäure)** $C_5H_9NO_4$. Sie entsteht bei der hydrolytischen Spaltung der Proteinstoffe und wurde zuerst aus diesen Substanzen von Ritthausen, Hlasiwetz und Habermann erhalten. Sie ist im Fleischextrakt (Micko[1]) und in der Melasse nachgewiesen. Die durch Säurespaltung erhaltene ist die d-Säure, die durch Barytspaltung bei 150—160° erhaltene ist die dl-Säure.



Darstellung. Die synthetisch durch Reduction von α-Isonitrosoglutarsäure gewonnene (Wolff[2]) ist die inactive Form. Man stellt sie am besten dar aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit mancher Proteinkörper z. B. des Caseins. Ueber das Verfahren siehe später. Durch Einwirkung von Penicillium glaucum entsteht aus der dl-Säure die l-Säure (E. Schulze und Bosshard[3]). Die dl-Benzoylglutaminsäure lässt sich durch Strychnin in l- und d-Benzoylglutaminsäure trennen, aus welchen durch Kochen mit Salzsäure l- und d-Glutaminsäure gewonnen werden können (E. Fischer[4]). Durch Einwirkung von Hefe auf eine Lösung von dl-Glutaminsäure und Zucker entsteht l-Glutaminsäure (Ehrlich[5]).

Eigenschaften. Die d-Säure krystallisiert in klaren, farblosen, diamantglänzenden, rhombischen Octaedern und Tetraedern oder auch in kleinen, glänzenden Blättchen, schmeckt fade und sehr schwach sauer, ist in 100 Tl. Wasser von 16° und in 1500 Tl. 80 proc. Alkohol löslich, in Aether unlöslich und schmilzt beim raschen Erhitzen unter Zersetzung bei 208° (E. Fischer). Die dl-Säure löst sich in 66,7 Tl. Wasser von 20° (Wolff). Durch Phosphorwolframsäure wird sie nicht gefällt. Sie bildet mit Säuren und Basen krystallisierende Salze. Sättigt man eine wässerige Lösung mit Salzsäuregas, so scheidet sich beim Stehen in der Kälte das salzsaure Salz fast völlig in schönen Krystallen ab. Noch leichter und schöner krystallisiert das bromwasserstoffsaure Salz.

Verbindungen: mit Salzsäure.

mit Kupfer. Kupfersalz $C_5H_7NO_4Cu + 2^1/_2\ H_2O$ (S. 225) krystallisiert aus seinen Lösungen nach dem Einengen schon in der Wärme als schweres, blaues Krystallpulver (Hofmeister[6]). Ein ebensolches, aber in Wasser noch schwerer lösliches Kupfersalz gibt die dl-Säure (Wolff). Nach Ritthausen existieren noch Kupfersalze mit anderem Krystallwassergehalt.

mit Silber. Silbersalz (Kutscher[7]) in Wasser schwer löslich.

mit Zink. Zinksalz krystallisiert mit 2 Mol. Wasser in glänzenden, zu Drusen vereinigten Säulen oder feinen Nadeln, in Wasser schwer löslich u. z. 0,064 : 100 (Unterschied von dem leicht löslichen asparaginsaurem Zink) (Kutscher).

---

1) H.-S. **56**. 180. (1908.)
2) A. **260**. 79. (1890.)
3) H.-S. **10**. 143. (1886.)
4) B. **32**. 2451. (1899.)
5) B. Z. **1**. 30. (1906.)
6) A. **189**. 6. (1877.)
7) H.-S. **38**. 114. (1903.)

d-Glutaminsäurediäthylester (S. 225) siedet bei 10 mm Druck bei 139—140°. mit Alkohol.

Bei der Benzoylierung (S. 225) der d-Glutaminsäure entsteht ein Gemisch von activer und inactiver Benzoylglutaminsäure mit inkonstantem Schmelzpunkt. Der bei der Benzoylierung von dl-Glutaminsäure entstehende Körper schmilzt bei 152—154°, ist in Wasser schwer löslich (1 : 124), in Alkohol leicht. mit Benzoesäure.

dl-Nitrotoluolsulfoglutaminsäure (S. 226), lange häufig zu Drusen vereinigte Nadeln, schwer löslich in Wasser (1 : 102), löslich in Alkohol. Smp. 158—159°. mit Nitrotoluolsulfosäure.

d-α-Naphthylisocyanatglutaminsäure (S. 226) krystallisiert aus 90 proc. Alkohol in langen verfilzten Nädelchen vom Smp. 236—237°. mit α-Naphthylisocyanat.

d-Glutaminsäurecarbonsaures Calcium (S. 226).

Ueber Phosphorwolframsäureverbindung siehe Barber[1]), Levene und Beatty[2]).

Die d-Glutaminsäure zeigt in Lösungen, die 5 pCt. Glutaminsäure und 9 pCt. Salzsäure enthalten, $[\alpha]_D = +31{,}7°$ (E. Schulze[3]); in Lösungen, die 5 bis 6 pCt. Glutaminsäure und äquimolekulare Mengen Salzsäure enthalten $[\alpha]_D^{20°} = +30{,}45°$ (E. Fischer); eine entsprechend hergestellte l-Glutaminsäurelösung $[\alpha]_D^{20°} = -30{,}05°$ (E. Fischer). E. Schulze und Bosshard fanden für l-Glutaminsäure (4 bis 5 pCt. in 8 bis 9 proc. Salzsäure) $[\alpha]_D = -31{,}1°$. Optische Eigenschaften.

Durch Einwirkung von Natriumnitrit auf die salzsaure Lösung der Säure entsteht α-Chlorglutarsäure (Jochem[4]). In verdünnter Salpetersäure gelöst gibt sie beim Einleiten von salpetriger Säure die der Aepfelsäure homologe Oxyglutarsäure $C_5H_8O_5$. Beim Erhitzen auf 180—190° entsteht unter Entwicklung von Wasser Pyrrolidoncarbonsäure $C_5H_7NO_3$, bei stärkerem Erhitzen Pyrrol (Haitinger[5]). Pyrrolidoncarbonsäure ist auch als sekundäres aus Glutaminsäure entstandenes Produkt unter den Spaltungsprodukten der Proteine gefunden (E. Fischer und Dörpinghaus[6]). Umwandlungen.

Der Nachweis der stets als salzsaures Salz isolierten Glutaminsäure beruht auf der Analyse der freien Säure oder ihres Hydrochlorates und der Bestimmung der spezifischen Drehung. Auch ihr eigenartig fader und sehr schwach saurer Geschmack kann zur Erkennung dienen. Nachweis.

Schwefelhaltige Aminosäuren.

177. **Taurin (Aminoäthylsulfosäure)** $C_2H_7NSO_3$ wurde zuerst als Zersetzungsproduct der Taurocholsäure erhalten. Es findet sich auch in dem Safte der Lunge und Niere von Rindern, sowie bei verschiedenen, besonders Vorkommen. $\begin{matrix}CH_2-NH_2\\|\\CH_2-SO_2-OH\end{matrix}$

1) M. **27**. 379. (1906.)
2) H.-S. **47**. 149. (1906.)
3) H.-S. **9**. 99. u. 258. (1885.)
4) H.-S. **31**. 119. (1900/01.)
5) M. **3**. 228. (1882.)
6) H.-S. **36**. 476. (1902.)

kaltblütigen Tieren, in der Muskelflüssigkeit. So wurde es in Mollusken (Valenciennes u. Frémy[1]), Pecten operculatus und Mytilus edulis (Kelly[2]), Octopus (Valenciennes u. Frémy, Henze[3]), verschiedenen See-Gastropoden (Mendel[4]) nachgewiesen, ferner auch im Fleischextrakt (Micko[5]). Seine Muttersubstanz ist das Cystin, aus dem es auch von Friedmann[6]) erhalten worden ist.

Darstellung. Synthetisch gewinnt man es beim Erhitzen von chloräthylsulfosaurem Silber mit Ammoniak (Kolbe) oder auch durch Verdampfen einer Lösung von Vinylamin mit überschüssiger schwefliger Säure auf dem Wasserbade (Gabriel[7]).

Darstellung aus Galle. Aus der Rindergalle gewinnt man es am reichlichsten durch mehrstündiges Kochen der Galle mit verdünnter Salzsäure, Abfiltrieren der wässerigen Flüssigkeit von den harzartig ausgeschiedenen Gallensäurenanhydriden, Einengen auf dem Wasserbad bis auf ein kleines Volumen, Abfiltrieren der warmen Flüssigkeit von Kochsalz und andern Ausscheidungen, Eindampfen zur Trockne, Lösen des Rückstandes in 5 proc. Salzsäure und Fällen mit dem zehnfachen Volumen Alkohol von 95 Vol.-pCt. (Hammarsten[8]). Es scheidet sich Taurin ab, während salzsaures Glykocoll in Lösung bleibt. Das Taurin wird nochmals in Salzsäure gelöst, wieder durch Alkohol gefällt und dann durch Umkrystallisieren aus warmem Wasser gereinigt.

Eigenschaften. Es krystallisiert in farblosen, oft sehr grossen, lebhaft glänzenden vier- oder meist sechsseitigen Prismen und vierseitigen Pyramiden an beiden Enden der Prismen, löst sich in 15—16 Teilen kaltem, viel leichter in heissem Wasser, ist unlöslich in absolutem Alkohol oder Aether, wenig löslich in kaltem, leichter in heissem Alkohol. Seine Lösungen reagieren neutral. In Alkalien ist es löslicher als in reinem Wasser. Durch Metallsalze wird es aus seinen Lösungen nicht gefällt, ebenso wenig durch Phosphormolybdaensäure. Es bildet mit Säuren keine Salze. Feuchtes Quecksilberoxyd in siedende Lösung von Taurin portionsweise eingetragen, fällt dasselbe als Taurinquecksilberoxyd, wenig löslich in kaltem und heissem Wasser, unlöslich in Alkohol (Lang[9]). Bequemer lässt es sich erhalten, wenn man eine Lösung von Taurin und Quecksilberchlorid vorsichtig mit Barytwasser versetzt. Es fällt aus, löst sich aber in überschüssigem Barytwasser leicht auf (Kutscher[10]).

Umwandlungen. Beim Erhitzen zersetzt es sich nicht unter 240°, kann mit schwacher Alkalilauge oder Säure, selbst conc. Salzsäure ohne Zersetzung gekocht werden. Durch Einwirkung von salpetriger Säure wird es zu Isäthionsäure,

---

1) C. r. **41**. 739. (1855.)
2) B. Ph. P. **5**. 380. (1904.)
3) H.-S. **43**. 477. (1904/05)
4) B. Ph. P. **5**. 582. (1904.)
5) H.-S. **56**. 180. (1908.)
6) B. Ph. P. **3**. 1. (1903.)
7) B. **21**. 2667. (1888.)
8) H.-S. **32**. 456. (1901.)
9) Ref. Maly's Jbr. 1876. S. 74.
10) H.-S. **38**. 120. (1903.)

Stickstoff und Wasser oxydiert; beim Kochen mit starker Kalilauge liefert es Essigsäure und schweflige Säure, keinen Schwefelwasserstoff.

Eine Trennung des Taurins von anderen Körpern, sowie sein Nachweis sind trotz des Mangels eigentlicher charakteristischer Reactionen wegen der Nichtfällbarkeit dieses Stoffes durch Metallsalze, wegen seiner Schwerzersetzlichkeit und wegen des reichen Gehalts an Schwefel meist nicht schwierig. Die Verbindung mit Quecksilberoxyd kann zur Isolierung dienen. Nachweis.

Taurocarbaminsäure $C_3H_8N_2SO_4$ findet sich im menschlichen Harne nach Einnahme von Taurin, wahrscheinlich in geringer Menge auch im normalen Harne ohne Taurineinnahme. Vorkommen.

$$\begin{matrix} CH_2-NH-CO-NH_2 \\ | \\ CH_2-SO_2-OH \end{matrix}$$

Ihr Kalisalz wird künstlich erhalten durch Erwärmen von Taurin in concentrierter wässeriger Lösung mit der hinreichenden Menge cyansaurem Kali und Fällung durch Alkohol. Um sie aus Harn darzustellen, fällt man ihn zunächst mit Bleiessig aus, filtriert nach 24stündigem Stehen, entfernt aus dem Filtrat das Blei durch Schwefelwasserstoff und dampft stark ein. Wenn nötig, muss dieses Reinigungsverfahren mehrmals wiederholt werden, dann wird mit absolutem Alkohol ausgefällt, der Niederschlag in Wasser gelöst, die Lösung mit Tierkohle entfärbt, eingeengt und die Fällung mit Alkohol wiederholt. Aus dem hierbei resultierenden rohen Alkali- oder Kalksalz wird die Säure durch Behandlung mit Alkohol und Schwefelsäure frei gemacht und durch Abdampfen bei niederer Temperatur als Syrup erhalten, aus dem sie sich in krümliger Masse abscheidet. Hinsichtlich der Reinigung der Säure vergl. die Arbeiten von Salkowski[1]). Darstellung.

Die reine Säure krystallisiert wasserfrei in glänzenden, quadratischen Blättchen, sie ist leicht löslich in Wasser, schwer in Alkohol, unlöslich in Aether. Das Barytsalz krystallisiert aus heissem Alkohol in kleinen, stark glänzenden, zu Drusen vereinigten rhombischen Tafeln. Mit Barytwasser auf 140° erhitzt zersetzt sich die Säure in Taurin, Kohlensäure und Ammoniak. Eigenschaften.

178. **Cystein (α-Amino-β-Thiomilchsäure)** $C_3H_7NSO_2$ entsteht aus Cystin durch Reduction mit Zinn und Salzsäure (Baumann[2]). Entfernt man das Zinn durch Schwefelwasserstoff, verdunstet schnell, löst den Trockenrückstand in Alkohol und neutralisiert die Lösung mit Ammoniak, so scheidet es sich als feinkörniger, in Wasser ziemlich leicht, auch in Ammoniak, Mineralsäuren und Essigsäure löslicher Niederschlag ab. Mörner erhielt es auch krystallisiert. Es entsteht in geringer Menge neben Cystin bei über eine Woche fortgesetzter Spaltung der Proteinstoffe (Mörner[3]), ist aber nicht als primäres Proteinspaltungsproduct anzusehen. Vergl. dazu Embden[4]), der es beim Kochen mit conc. Salzsäure aus Eiweissstoffen auch ohne Cystin erhielt.

$$\begin{matrix} CH_2-SH \\ | \\ CH-NH_2 \\ | \\ COOH \end{matrix}$$

Cystein wird in wässeriger oder schwach salzsaurer Lösung durch Sublimat gefällt. In wässeriger Lösung geht es an der Luft bald in krystallinisches Cystin über. Dieselbe Umwandlung erfolgt schnell durch Jod und auch, wenn auch weniger gut, durch Eisenchlorid. Durch Oxydation mit Salpetersäure entsteht Isäthionsäure (Neuberg[5]).

Cystein zeigt schwache Linksdrehung. Inactives Cystein wurde von Erlenmeyer[6]) synthetisch und von Neuberg u. Mayer[7]) durch Reduction von racemisiertem natürlichem Cystin erhalten.

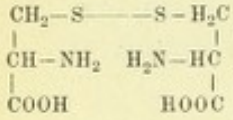
---

1) B. **6**. 744 u. 1191. (1873.)
2) H.-S. **8**. 299. (1883/84.) B. **18**. 258. (1885.)
3) H.-S. **28**. 595. (1899.), H.-S. **34**. 207. (1901/02.)
4) H.-S. **32**. 94. (1901).
5) B. **35**. 3161. (1902.)
6) A. **337**. 236. (1905.)
7) H.-S. **44**. 508. (1905.)

Zum Nachweis des Cysteins dienen folgende Reactionen, welche man mit wässerigen Lösungen anstellt:

1. Schwarzfärbung beim Kochen mit Alkali und Bleiacetat (wie Cystin).
2. Vorübergehende Violettfärbung auf Zusatz von Kupfersulfat (Suter[1]).
3. Indigoblaue, fast augenblicklich verschwindende Färbung auf Zusatz von Eisenchlorid.
4. Starke purpurrote Färbung auf Zusatz von Nitroprussidnatrium und Natronlauge. Dieselbe geht bald in Rotbraun über und verschwindet. Fügt man jetzt Essigsäure hinzu und kocht, so entsteht Berlinerblau. Diese Reaction tritt noch ein bei einer Verdünnung von 1 : 50000.

Vorkommen



179. **Cystin** $C_6H_{12}N_2S_2O_4$. Cystin, das Disulfid des Cysteins (§ 178), entsteht, wie K. A. H. Mörner[2]) fand, bei der Säurespaltung von Keratin- und Eiweisssubstanzen, ebenso bei der tryptischen Verdauung von Fibrin (R. Külz[3]). Es ist aus der Leber vom Delphin und Pferd (Drechsel[4]) und in Spuren aus der Rinderniere (Cloetta[5]) und der Niere eines Säufers (Scherer[6]) isoliert worden. In einem Fall von Cystinurie fanden sich die inneren Organe mit Cystinkrystallen durchsetzt (Abderhalden[7]). In geringer Menge wurde Cystin oder ein cystinähnlicher Körper im normalen Harn von Menschen und Hunden, reichlicher bei Phosphorvergiftung gefunden (Goldmann und Baumann[8]). In grösserer Quantität erscheint es in seltenen Fällen in diesen Harnen und zwar entweder in gelöster Form und beim Stehen als krystallinisches, grauweisses Sediment sich abscheidend oder als einziger oder hauptsächlicher Bestandteil von Blasensteinen. Auch Nierensteine bestehen zuweilen im Wesentlichen oder ausschliesslich aus Cystin, nach Spiegel[9]) finden sich in ihnen häufig geringe Mengen. Das natürlich vorkommende ist l-Cystin.

Darstellung.

dl-Cystin wurde zuerst von Erlenmeyer[10]) synthetisch dargestellt (Umwandlung von Benzoylserin in Benzoylcystein durch Schmelzen mit Phosphorpentasulfid und Ueberführung der Benzoylverbindung in Cystin). Ein etwas anderes Verfahren, welches vom Serinester ausgeht und über die α-Amino-β-chlorpropionsäure und das Cystein führt, ist von E. Fischer und Raske[11]) angegeben. Es hat den Vorzug, dass alle Verwandlungen bei verhältnismässig niederer Temperatur rasch verlaufen und deshalb auch mit den activen Substanzen ohne wesentliche Racemisierung durchgeführt werden können.

---

1) H.-S. **20**. 564. (1895.)
2) H.-S. **28**. 595. (1899.), H.-S. **34**. 207. (1901/02.)
3) Z. f. B. **27**. 415. (1890.)
4) Z. f. B. **33**. 85. (1896.) A. f. A. u. Ph. Ph. A. 1891. S. 243.
5) A. **99**. 299. (1856.)
6) Jahresbr. über die Fortschr. der Chemie 1857. S. 561.
7) H.-S. **38**. 557. (1903.)
8) H.-S. **12**. 254. (1888.) Brenzinger, H.-S. **16**. 552. (1892.)
9) Virch. A. **166**. 364. (1901.)
10) B. **36**. 2720. (1903) u. A. **337**. 236. (1905.)
11) B. **41**. 893. (1908.)

Durch 12—15 stündiges Erhitzen mit der 15—20 fachen Menge Salzsäure (1,124 spez. Gew.) auf 165° wird l-Cystin in inactives übergeführt. Aus diesem ist durch Einwirkung von Aspergillus niger d-Cystin, wenn auch nicht ganz rein, erhalten worden (Neuberg und Mayer[1]).

Darstellung aus Haaren oder Horn.

Seine Darstellung aus Keratin oder Eiweisssubstanzen (am Besten eignen sich ihrer reichen Ausbeute wegen Menschenhaare oder auch Hornspäne) geschieht nach Mörner in folgender Weise: Einige hundert Gramm des mit Aether und Salzsäure extrahierten Materials werden mit der fünffachen Menge einer etwa 13 proc. Salzsäure auf dem Wasserbad am Rückflusskühler bei 90—95° sechs bis sieben Tage erhitzt*). Die filtrierte und mit Tierkohle entfärbte Flüssigkeit wird im Vacuum eingeengt, der Rückstand mit 60—70 proc. Alkohol aufgenommen und die Lösung durch Neutralisation mit Natronlauge ausgefällt. Der abfiltrierte Niederschlag besteht hauptsächlich aus Tyrosin und Cystin. Man trennt das Gemenge durch fractionierte Krystallisation aus Ammoniak. Ueberwiegt das Tyrosin, so stellt man eine nicht zu verdünnte Lösung her und entfernt den grössten Teil des Ammoniaks durch Verdunsten im Vacuum: es scheidet sich dann das Tyrosin zum grössten Teil ab, während das Cystin fast vollständig in Lösung bleibt. Enthält das Gemenge nur wenig Tyrosin, so bereitet man eine verdünntere Lösung: beim Einengen im Vacuum krystallisiert das Cystin zunächst aus. Für die Beurteilung der fortschreitenden Reinheit des Präparates ist die Millon'sche Reaction von Nutzen: eine heisse Tyrosinlösung gibt mit einigen Tropfen Millon's Reagens keine Fällung, aber beim Kochen Rotfärbung und Trübung; eine heisse Cystinlösung bei der gleichen Behandlung reiche weisse Fällung und beim Kochen keine Färbung. Man kann auch aus der ammoniakalischen Lösung durch Zusatz von Essigsäure das Cystin fällen und Lösung und Fällung mehrmals wiederholen. Embden[2]) empfiehlt zur Trennung von Tyrosin und Cystin verdünnte Salpetersäure, in der sich letzteres sehr schwer, ersteres sehr leicht löst. Auch mit Hülfe von Quecksilbersulfat in schwefelsaurer Lösung oder von Phosphorwolframsäure lassen sich beide voneinander trennen. Aus Haaren erhielt Mörner ungefähr 11 pCt., aus Horn 4 bis 5 pCt.

Darstellung aus Cystinsteinen oder Sedimenten.

Aus Cystinsteinen oder Harnsedimenten gewinnt man Cystin durch Lösen in Ammoniak und Verdunstenlassen bei gewöhnlicher Temperatur in schönen, stets farblosen Krystallen.

Eigenschaften.

Das l-Cystin ist in kaltem Wasser nur wenig löslich (1 : 9000 bei 17°), in heissem etwas reichlicher, unlöslich in Alkohol und Aether, leicht löslich in Alkalien, Ammoniak und kohlensauren Alkalien, aber nicht in kohlen-

---

*) Man kann auch kürzere Zeit (4 Stunden) mit conc. Salzsäure kochen. Doch liefert nach Mörner sein Verfahren eine bessere Ausbeute. Jedenfalls ist Schwefelsänre weniger zu empfehlen als Salzsäure.

1) H.-S. **44**. 504. (1905.) 2) H.-S. **32**. 94. (1901.)

saurem Ammoniak. In Mineralsäuren und Oxalsäure löst es sich, in Essigsäure oder Weinsäure nicht. Aus ammoniakalischen Lösungen krystallisiert es in sechsseitigen Tafeln oder Rhomboedern, solange es unrein ist auch oft in Kugeln. Aus der mit Essigsäure versetzten ammoniakalischen Lösung scheidet es sich auch in sechsseitigen Tafeln ab, aber auch in kurzen, scheinbar rechteckigen Prismen oder auch flächenreichen Krystallen. Das dl-Cystin ist in Wasser und wässerigem Ammoniak etwas löslicher und wird auch aus der alkalischen Lösung durch Essigsäure weniger leicht abgeschieden. Es krystallisiert in langen, oft zu Büscheln vereinigten Nadeln, wie Tyrosin oder in langen schmalen Blättchen (Mörner, E. Fischer und Raske).

In der Hitze hergestellte und abgekühlte Lösungen geben reichliche Niederschläge mit Mercurinitrat und Millon's Reagens. Auch Quecksilbersulfat in schwefelsaurer Lösung fällt ebenfalls, vollständiger noch Mercuriacetat bei Gegenwart von Essigsäure, weniger vollständig Sublimat aus salzsaurer Lösung. Geringe Trübungen entstehen mit Kupferacetat, Bleiessig, Silbernitrat. Phosphorwolframsäure ruft in der schwefelsauren Cystinlösung eine allmählich entstehende krystallinische Fällung hervor (Winterstein[1]).

Verbindungen: mit Salzsäure. Mit Mineralsäuren und Basen bildet es krystallisierende Salze, von denen die ersteren leicht zersetzlich sind. Das salzsaure Salz $C_6H_{12}N_2S_2O_4 \cdot 2HCl$ krystallisiert in Prismen (Mauthner[2]).

mit Kupfer. Beim Kochen von Cystin in wässeriger Suspension mit Kupferoxydhydrat oder auch beim Versetzen einer salzsauren Lösung mit einem kleinen Ueberschuss von Kupferacetat erhält man in Kügelchen und himmelblauen Nadelbüscheln krystallisierendes Cystinkupfer $C_6H_{10}N_2S_2O_4Cu$ (Embden, Mauthner). Auch nicht gelöstes Cystin geht mit Kupferacetat zusammengebracht fast ganz in die krystallisierende Kupferverbindung über (vermutlich zum mikrochemischen Nachweis geeignet).

mit anderen Schwermetallen. Dieses Salz, ebenso wie das normale Silber-, Quecksilber-, Blei-, Cadmiumsalz erhält man auch, indem man in Wasser suspendiertes Cystin mit etwas weniger als der berechneten Menge n-Natronlauge versetzt, kurze Zeit schüttelt, filtriert und das Filtrat sofort mit einem Ueberschuss des betreffenden Metallsalzes versetzt. Das Cystinsalz fällt quantitativ aus und ist nach dem Auswaschen rein (Neuberg und Mayer[3]).

mit Alkoholen. Der l-Cystindiäthylester ist von Friedmann[4]), der l-Cystindimethylester von E. Fischer und Suzuki[5]) gewonnen worden, letzterer stellt einen alkalischen Syrup dar, welcher aber schön krystallisierende und zur Identificierung des Cystins geeignete Salze bildet.

mit Benzoesäure. Beim Schütteln mit Natronlauge und Benzoylchlorid scheidet sich das Natronsalz des l-Dibenzoylcystins $C_6H_8N_2S_2O_4Na_2 \cdot 2C_6H_5CO$ als voluminöser

1) H.-S. **34**. 153. (1902.)
2) Z. f. B. **42**. 176. (1901.)
3) H.-S. **44**. 498. (1905.)
4) B. Ph. P. **3**. 16. (1903.)
5) H.-S. **45**. 405. (1903.)

Niederschlag von seidenglänzenden Nadeln ab. Die aus der verdünnten Lösung dieser Verbindung auf Zusatz stärkerer Säuren gallertartig ausfallende freie Säure krystallisiert aus Alkohol in zu blumenkohlartigen Massen vereinigten, feinen Nadeln vom Smp. 180—181° (Goldmann und Baumann, Brenzinger).

mit β-Naphthalinsulfosäure.

l-β-Naphthalinsulfocystin (S. 226) in Wasser und kaltem Alkohol schwer löslich, scheidet sich aus heissem absolutem Alkohol in flachen zum Teil verbogenen Nadeln aus. Bei 100° getrocknet zersetzt es sich bei 215° zu braunem Oel (Abderhalden[1]).

mit Phenylisocyanat.

l-Phenylisocyanatcystin (S. 226) Smp. 160° (corr.) unter Aufschäumen (Loewy und Neuberg[2]), Patten[3]), Neuberg und Mayer[4]).

mit α-Naphthylisocyanat.

l-α-Naphthylisocyanatcystin (S. 226) fällt wegen Schwerlöslichkeit des Kalium- und besonders des Natriumsalzes schon aus der alkalischen Lösung zusammen mit Dinaphthylharnstoff aus. Durch Auskochen mit Wasser kann es abgetrennt werden.

Optische Eigenschaften.

Cystin zeigt starke linksseitige Circumpolarisation. Für aus Harnsteinen dargestellte Präparate fanden in ammoniakalischer Lösung Külz[5]) $[\alpha]_j = -142^0$, in salzsaurer Lösung Mauthner[6]) (0,8—2 proc. Lösungen) $[\alpha]_D = -205{,}86^0$, Baumann[7]) (2 proc. Lösung) $[\alpha]_D = -214^0$, E. Fischer und Suzuki (etwa 2 proc. normalsalzsaure Lösung) $[\alpha]_D^{20^0} = -223{,}6^0$. Für ein aus Keratin dargestelltes Präparat in salzsaurer Lösung fanden Mörner (1,8 proc. Lösung) $[\alpha]_D = -224{,}3^0$, E. Fischer und Suzuki (3—4 proc. normalsalzsaure Lösung) $[\alpha]_D^{20^0} = -221{,}9^0$.

Zersetzungen.

Beim Erhitzen zersetzt sich Cystin unter Bildung eines übelriechenden Oels, indem unter Kohlensäureabspaltung Aminoäthandisulfid entsteht (Neuberg und Ascher[8]). Die sich entwickelnden Dämpfe geben die Pyrrolreaction (Neuberg[9]). Beim Kochen mit Alkalien oder Barytwasser bildet sich Schwefelmetall, Ammoniak, Kohlensäure, Oxalsäure und Uvitinsäure (Baumann[10]). Die Abspaltung von Schwefelwasserstoff geht aber nur langsam vor sich und ist nicht vollständig. Bei sieben- bis achtstündigem Kochen mit 50 g Natriumhydroxyd, 10 g Bleiacetat und 200 ccm Wasser und einem ganz kleinen Stückchen Zink am Rückflusskühler wird die maximale Menge Schwefel aus Schwefelwasserstoff abgespalten d. h. 75 pCt. der Gesamtschwefelmenge (Mörner).

Als Produkte der bacteriellen Zersetzung sind nachgewiesen: unterschweflige Säure, Methylmercaptan, Aethylsulfid, Schwefelwasserstoff (Wohlgemuth[11]).

---

1) H.-S. **38**. 558. (1903.)
2) H.-S. **43**. 347. (1904/05.)
3) H.-S. **39**. 354. (1903.)
4) H.-S. **44**. 487. (1905.)
5) B. **15**. 1401. (1882.)
6) H.-S. **7**. 225. (1883.)
7) H.-S. **8**. 303. (1884.)
8) B. Z. **5**. 451. (1907.)
9) Salkowski-Festschrift. Berlin. Hirschwald. 1904. S. 271.
10) B. **15**. 1731. (1882.)
11) H.-S. **43**. 469. (1904/05.)

Oxydationen und Reductionen.

Durch die Einwirkung von salpetriger Säure bei Gegenwart von Salzsäure entsteht aus Cystin Dichlordithiodilactylsäure und aus dieser durch Reduktion β-Thiomilchsäure (Friedmann[1]). Mörner[2]) erhielt durch Erhitzen einer wässerigen Lösung von salzsaurem Cystein (aus Cystin durch Zinn- und Salzsäure erhalten) auf 140° α-Thiomilchsäure (vielleicht auch ganz wenig β-Thiomilchsäure), Alanin, Ammoniak und Schwefelwasserstoff.

Bei der Oxydation mit Brom entsteht aus Cystin die Sulfosäure des Cysteins (Cysteinsäure) (Friedmann[1]), bei der Oxydation mit Wasserstoffsuperoxyd unterschweflige Säure (Spiegel).

Bei der Reduktion mit Zinn und Salzsäure oder auch mit Schwefelwasserstoff entsteht Cystein. Schon in Wasser suspendiertes Cystin erfährt durch Schwefelwasserstoff langsam diese Umwandlung.

Nachweis.

Zum Nachweis dienen ausser der Krystallform und den Löslichkeitsverhältnissen folgende Reaktionen.

1. Kocht man etwas Cystin mit ein paar Tropfen Natronlauge auf einem Silberblech, so entsteht ein nicht wegzuwaschender brauner oder schwarzer Fleck von Schwefelsilber.

2. Kocht man Cystin mit Alkalilauge bei Gegenwart von Bleiacetat, so tritt Schwarzfärbung durch gebildetes Schwefelblei ein. Proteinkörper, welche diese Reaction auch geben, dürfen nicht zugegen sein.

Nach Neuberg u. Mayer[3]) kommt in manchen Cystinsteinen ein von dem gewöhnlichen Cystin verschiedenes isomeres, das Steincystin, vor. Siehe dazu E. Fischer u. Suzuki[4]) und Neuberg[5]).

Melolonthin.

Melolonthin $C_5H_{12}N_2SO_3$ wurde von Schreiner[6]) ein Körper genannt, der durch Extraction von Maikäfern mit Wasser, Abscheidung der Eiweissstoffe durch Kochen, Eindampfen, Fällen mit Bleiessig, Entfernung des Bleis aus dem Filtrate durch Schwefelwasserstoff, weiteres Eindampfen, Abscheidung der Harnsäure und nachheriges Einengen zum Syrup neben viel Leucin erhalten wurde. Aus Wasser unter Zusatz einiger Tropfen Ammoniak umkrystallisiert, bildet das Melolonthin farblose, seideglänzende, harte, zwischen den Zähnen knirschende Krystalle, die sich schwer in kaltem, leichter in heissem Wasser, wenig in Weingeist, gar nicht in Alkohol, leicht in Alkalien und kohlensauren Alkalien, ebenso in Schwefelsäure, Salzsäure, Salpetersäure, Weinsäure, weniger in Essigsäure lösen. Seine wässerigen Lösungen reagieren neutral. Beim Kochen der Lösung des Melolonthins mit Alkalien und Bleiacetat scheidet sich Schwefelblei aus.

Oxyaminosäuren der Fettreihe.

Vorkommen.

180. **Serin (α-Amino-β-Oxypropionsäure)** $C_3H_7NO_3$ ist zuerst unter den Spaltungsproducten des Seidenleims von Cramer[7]), dann auch in vielen anderen Proteinen nachgewiesen worden.

CH_2-OH
|
$CH-NH_2$
|
$COOH$

---

1) B. Ph. P. **3**. 1. (1903.)
2) H.-S. **42**. 349. (1904.), siehe auch Friedmann u. Baer, B. Ph. **8**. 326. (1906.)
3) H.-S. **44**. 472. (1905.)
4) H.-S. **45**. 405. (1905.)
5) B. Z. **2**. 452, Fussnote 2 (1907.)
6) A. **161**. 252. (1872.)
7) J. pr. Ch. **96**. 76. (1865.)

Synthetisch wurde es von E. Fischer und Leuchs[1]) durch Einwirkung von Ammoniak und Blausäure auf Glycolaldehyd dargestellt. Eine andere Synthese ist von Erlenmeyer[2]) angegeben. Für die präparative Bereitung eignet sich am besten ein Verfahren, welches vom käuflichen Chloracetal ausgeht (Leuchs und Geiger[3]). Darstellung.

Das synthetische Serin ist das inactive. Aus den Proteinen erhielt man ebenfalls das inactive. Dass aber in den Proteinen ursprünglich l-Serin vorhanden ist, welches erst bei der Hydrolyse und Isolierung racemisiert wird, ergibt sich daraus, dass E. Fischer[4]) aus den Spaltungsprodukten der Seide bei der Trennung mittelst der Ester neben inactivem l-Serinanhydrid isolieren konnte, welches nur aus dem Ester des l-Serins entstanden sein kann. Aus der p-Nitrobenzoylverbindung des dl-Serins lassen sich mittelst der Chinin- und Brucinsalze die activen Formen rein gewinnen, worauf die Abspaltung der Nitrobenzoylgruppe durch Hydrolyse mit Bromwasserstoff bewirkt wird (E. Fischer und Jacobs[5]). Hefe vergärt bei Gegenwart von Zucker das dl-Serin partiell und lässt d-Serin zurück (Ehrlich[6]).

Ueber die Darstellung von Serin aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteine siehe später.

Das dl-Serin krystallisiert aus Wasser in sehr dünnen, unregelmässig gestalteten Blättchen, die bei raschem Erhitzen gegen 245° unter Gasentwickelung schmelzen. Es löst sich in Wasser von 20° im Verhältnis 1 : 23,13, leichter in heissem, nicht in Alkohol oder Aether, schmeckt süss. d-Serin krystallisiert in mikroskopischen Nadeln oder Prismen, in Wasser viel leichter löslich als der Racemkörper. Beim raschen Erhitzen zersetzt es sich unter Gasentwickelung gegen 223°. Es schmeckt süsser als dl-Serin. l-Serin verhält sich ebenso, schmeckt aber weniger süss. Eigenschaften.

dl-Serin verbindet sich leicht mit Kupferoxyd oder Silberoxyd und gibt mit Säure schwierig krystallisierende, sauer reagierende Salze. Verbindungen: mit Kupfer und mit Silber.

dl-Serinmethylester geht leicht in Serinanhydrid über (E. Fischer und Suzuki[7]), ebenso der l-Serinmethylester in das l-Serinanhydrid, dünne farblose Nadeln, beim raschen Erhitzen bei 247° (corr.) unter Zersetzung schmelzend und viel löslicher in Wasser als das Anhydrid des dl-Serin (Fischer und Jacobs). mit Methylalkohol.

dl-Serinäthylester (S. 225) in Wasser leicht löslich, in Petroläther unlöslich. mit Aethylalkohol.

dl-β-Naphthalinsulfoserin (S. 226) fällt aus der alkalischen Lösung durch Salzsäure als weisse amorphe Masse, löslich in 70—80 Teilen mit β-Naphthalinsulfosäure.

---

1) B. **35**. 3787. (1902.)
2) B. **35**. 3769. (1902.) u. A. **337**. 236. (1905.)
3) B. **39**. 2644. (1906.)
4) B. **40**. 1501. (1907.)
5) B. **39**. 2942. (1906.)
6) B. Z. **8**. 438. (1908.)
7) B. **38**. 4173. (1905.)

kochendem Wasser; aus heissem Alkohol in winzigen Nädelchen vom Smp. 210° krystallisierend. Die geringe Löslichkeit in kaltem Alkohol unterscheidet es von den entsprechenden Derivaten anderer Aminosäuren.

mit Phenylisocyanat. dl-Phenylisocyanatserin (S. 226), feine Nadeln vom Schmelzpunkt 165—168°, leicht löslich in Alkohol, auch erheblich in Wasser (E. Fischer und Leuchs).

mit α-Naphtylisocyanat. dl-α-Naphthylisocyanatserin (S. 226), Nadeln vom Smp. 192° (Neuberg und Rosenberg[1]).

Optische Eigenschaften. d-Serin (in 10 proc. wässeriger Lösung) $[\alpha]_D^{20°} = + 6{,}87°$, in 10 proc. Lösung in n-Salzsäure $[\alpha]_D^{20°} = - 14{,}32°$. Das l-Serin zeigte dasselbe Drehungsvermögen im umgekehrten Sinne (E. Fischer und Jacobs).

Oxydationen und Reductionen. Umwandlungen. dl-Serin geht durch salpetrige Säure in Glycerinsäure und durch Reduction mit Jodwasserstoff in Alanin über (E. Fischer und Leuchs). Aus d-Serin entsteht durch salpetrige Säure l-Glycerinsäure (E. Fischer und Jacobs). Ueber eine andere Art der Umwandlung des dl-Serin in Alanin, welche auch zur Ueberführung von l-Serin in d-Alanin geeignet ist, siehe E. Fischer und Raske[2]). Ueber die Umwandlung des Serin in Cystin siehe E. Fischer und Raske[3]).

Nachweis. Dem Nachweis muss die Isolierung vorangehen. Zur Identificierung dient die Analyse und der Schmelzpunkt, sowie die Darstellung der β-Naphtalinsulfoverbindung.

181. **Diaminotrioxydodekansäure** $C_{12}H_{26}N_2O_5$ wurde von E. Fischer und Abderhalden[4]) unter den hydrolytischen Zersetzungsproducten des Caseins aufgefunden und ist wahrscheinlich identisch mit der Caseinsäure von Skraup[5]). Sie findet sich dem Rohtyrosin beigemengt und lässt sich aus der Mutterlauge des umkrystallisierten Rohtyrosins durch Phosphorwolframsäure fällen.

Krystallform nicht charakteristisch, meist leichte Blättchen, die in der Regel zu Rosetten oder kugligen Aggregaten verwachsen sind. Sie reagiert auf Lakmus nur ganz schwach sauer und schmeckt sehr schwach bitter, schmilzt gegen 255° unter Zersetzung. Leicht löslich in verdünnten Säuren. Das salzsaure Salz ist in starker Salzsäure recht schwer löslich und krystallisiert aus heisser Salzsäure in feinen Nädelchen.

Kupfersalz $C_{12}H_{24}N_2O_5Cu$ blassblaue Blättchen, welche in kaltem Wasser ziemlich schwer löslich sind.

Aus verdünnter Lösung wird sie durch Phosphorwolframsäure gefällt, aber nicht mehr aus der Verdünnung, bei der Lysin und Arginin ausfallen.

Die spezifische Drehung beträgt bei 5 proc. Lösungen etwa — 9°.

182. **Tetraoxyaminocapronsäure** $C_6H_{13}NO_6$ wurde von Neuberg u. Orgler[6]) durch Einwirkung von Aetzbaryt auf Chondrosin erhalten.

---

1) B. Z. **5**. 456. (1907.)
2) B. **40**. 3717. (1907.)
3) B. **41**. 893. (1908.)
4) H.-S. **42**. 540. (1904.)
5) M. **26**. 1343. (1905.)
6) H.-S. **37**. 407. (1902/03.)

Farbloser Syrup von fadem Geschmack. Die wässerige Lösung wird durch Bleiessig und Ammoniak gefällt.

Kupfersalz, lasurblaue Nadeln, Cadmiumsalz ebenfalls krystallisierend.

Sie dreht schwach rechts.

Beim Kochen mit Barytwasser spaltet sie Ammoniak ab. Sie gibt die Pyrrolreaction d. h. sie entwickelt beim Erhitzen direct fichtenspanrötende Dämpfe. Die Farbenreactionen der Kohlehydrate fallen negativ aus.

Andere Oxyaminosäuren.

Folgende in diese Klasse gehörige Säuren bedürfen weiterer Untersuchung bzw. Bestätigung und sollen nur aufgeführt werden:

Oxyaminobernsteinsäure $C_4H_7NO_5$,

Dioxydiaminokorksäure $C_8H_{16}N_2O_6$,

Caseansäure $C_9H_{16}N_2O_6$,

Leimsäure $C_{12}H_{25}N_5O_{10}$, welche von Skraup[1]) aus den hydrolytischen Zersetzungsproducten des Caseins bzw. Leims isoliert wurden.

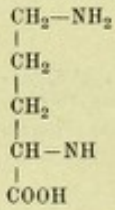
Oxydiaminosebazinsäure $C_{10}H_{20}N_2O_5$, welche Wohlgemuth[2]) aus den hydrolytischen Zersetzungsproducten eines Leberproteids erhalten hat.

Diaminosäuren.

183. **Säure $C_2H_6N_2O_2$.** Sie wurde von Drechsel[3]) unter den Säurespaltungsproducten des Caseins aufgefunden und als Diaminoessigsäure angesprochen. Dass ihr diese Constitution zukommt ist nach den Untersuchungen von Willstätter[4]) sehr unwahrscheinlich. Sie krystallisiert in flachen Prismen, ist in Wasser leicht löslich, in Alkohol unlöslich und bildet beim Schütteln mit Benzoylchlorid und Natronlauge eine in farblosen Prismen krystallisierende Monobenzoylverbindung, die sich in kaltem Wasser wenig, in kochendem leicht, in Alkohol fast gar nicht löst und bei 227° schmilzt. Diese Verbindung, welche zur Isolierung der Säure diente, zerfällt beim Erhitzen mit Salzsäure und Alkohol im Rohr auf 140° in Benzoesäureäthylester und das in Täfelchen krystallisierende Chlorhydrat $C_2H_6N_2O_2$. HCl.

184. **Ornithin (α, δ-Diaminovaleriansäure) $C_5H_{12}N_2O_2$.** d- und dl-Ornithin sind bekannt. In Form der Phenylisocyanat- und der Dibenzoylverbindungen (siehe Ornithursäure) sind beide activen Formen bekannt. d-Ornithin wurde zuerst von Jaffe[5]) aus Ornithursäure und Pyromucinornithursäure durch Kochen mit Salzsäure dargestellt. Es entsteht ferner aus d-Arginin beim Kochen mit Barytwasser (E. Schulze und Winterstein[6]) und aus d und dl-Arginin durch Arginase (Kossel und Dakin[7]), Riesser[8]).

Vorkommen.



Das synthetisch von E. Fischer[9]) (von γ-Phthalimidpropylmalonsäureester ausgehend) und später auch von Sörensen[10]) dargestellte Ornithin ist

---

1) H.-S. **42**. 274. (1904.), M. **26**. 243, 683. (1905.)
2) B. **37**. 4362. (1904.), H.-S. **44**. 537. (1905.)
3) Ber. d. k. sächs. Gesellsch. d. Wiss. **44**. 115. (1892.)
4) B. **35**. 1378. (1902.)
5) B. **10**. 1926. (1877.) u. **11**. 406. (1878.)
Jaffe u. Cohn, B. **21**. 3461. (1888.)
6) H.-S. **26**. 1. (1898/99.), B. **32**. 3191. (1890.), H.-S. **34**. 128. (1901/02.)
7) H.-S. **41**. 321. (1902.), **42**. 181. (1902/03.)
8) H.-S. **49**. 238. (1906.)
9) B. **34**. 454. (1901.)
10) H.-S. **44**. 450. (1905.)

das inactive. Dieses entsteht auch neben dl-Arginin beim Erhitzen des d-Arginin in schwefelsaurer Lösung unter Druck (Riesser). Ackermann[1]) erhielt dl-Ornithin bei der Fäulnis des d-Arginin.

Eigenschaften. Ornithin krystallisiert nicht. Die wässerige Lösung reagiert stark alkalisch. Sie löst Kupferoxydhydrat und Quecksilberoxyd. Die Salze, welche in Wasser leicht löslich, in Alkohol fast unlöslich sind, werden durch Versetzen ihrer conc. wässerigen Lösungen mit Alkohol meist zum Krystallisieren gebracht. d-Ornithinnitrat $C_5H_{12}N_2O_2 . HNO_3$ bildet breite, farblose Krystallblätter, das salzsaure Salz (1—2 Mol. Salzsäure auf 1 Mol. Ornithin) mikroskopische Blättchen, die in Methylalkohol leicht löslich sind. d-Ornithinplatinchlorid $C_5H_{12}N_2O_2 . 2HCl . PtCl_4$ ist in Wasser leicht löslich. dl-Ornithinchloraurat $C_5H_{12}N_2O_2 . 2HCl . 2AuCl_3 + H_2O$ (Zers.-P. 173—175°) (Ackermann).

Verbindungen: mit Salpetersäure. mit Salzsäure. mit Platinchlorid. mit Goldchlorid. mit Pikrinsäure und Phosphorwolframsäure. mit β-Naphthalinsulfosäure.

d-β-Naphthalinsulfoornithin (S. 226) Smp. 189°, die dl-Ornithinverbindung schmilzt bei 195—196° (Riesser).

mit Benzoesäure. Beim Schütteln mit Benzoylchlorid und Natronlauge geht Ornithin in Dibenzoylornithin (Ornithursäure, s. d.) über.

mit Phenylisocyanat. Das Hydantoin des d-Phenylisocyanatornithin (S. 226) $C_{19}H_{20}N_4O_3$ schmilzt, aus einem Gemisch von Alkohol und Aceton (7 : 1) umkrystallisiert, bei 191—192° (Herzog[2]). Fast denselben Schmelzpunkt zeigen die l- und dl-Hydantoine (Sörensen[3]). l- und d-Phenylisocyanatornithin krystallisieren nur schwierig. ld-Phenylisocyanatornithin krystallisiert leicht (Sörensen).

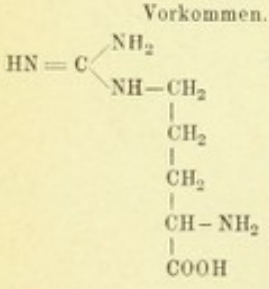
Ornithin wird gefällt durch Phosphorwolframsäure, Sublimat, Mercurinitrat, Goldchlorid, Kaliumwismuthjodid, eine nicht zu verdünnte Lösung auch durch Pikrinsäure, nicht gefällt durch Kaliumquecksilberjodid, Nessler's Reagens und auch nicht durch Silbernitrat und Barytwasser (Unterschied von Arginin und zur Trennung von beiden Basen zu benutzen).

Optische Eigenschaften. Das salzsaure Ornithin zeigt in 5 proc. Lösung $[\alpha]_D = + 16{,}8°$.

Umwandlungen. Bei der trockenen Destillation scheint Pyrrolidin zu entstehen. Mit Natronlauge erwärmt entwickelt sich spermaähnlicher Geruch. Fäulnisbacterien bilden aus Ornithin bei Abschluss der Luft Tetramethylendiamin (Ellinger[4]), ebenso Lebergewebe (Dakin[5]).

185. **Arginin (Guanidin-α-Aminovaleriansäure) $C_6H_{14}N_4O_2$.** Von E. Schulze und Steiger[6]) in den Cotyledonen der Lupinensamen und etiolierten Kürbiskeimlingen entdeckt, wurde es von Hedin[7]) zuerst unter den Spaltungsproducten der Proteine aufgefunden. Seitdem ist es als ein allgemein vorkommender Bestandteil der Proteine erkannt worden. In besonders reichlicher Menge findet es sich in den Protaminen. Gulewitsch[8]) fand es in

Vorkommen.



1) H.-S. **56**. 305. (1908))
2) H.-S. **34**. 525. (1902.)
3) C. r. des trav. du Lab. de Carlsberg **6**. 1. (1903.), **6**. 209. (1905.)
4) H.-S. **29**. 334. (1900.)
7) H.-S. **20**. 186. (1895.), **21**. 155. (1895/96.)
5) J. B. Ch. **1**. 171. (1906.
6) H.-S. **11**. 43. (1887.)
8) H.-S. **30**. 533. (1900.)

der Rindermilz, Ackermann und Kutscher[1]) im Krabbenextrakt. Ferner ist sein Vorkommen in verschiedenen anderen Keimpflanzen, Knollen, Wurzeln (E. Schulze[2]) und in Rübensäften (v. Lippmann[3]) festgestellt. Auch in manchen ungekeimten Samen ist es in geringer Menge nachgewiesen (E. Schulze und Castoro[4]). In allen diesen Fällen handelt es sich um d-Arginin. Inactives fand Kutscher[5]) (neben activem) bei der Trypsinverdauung des Fibrins und Cathcart[6]) bei der Spaltung des coagulierten Blutserums durch Milz-α-Protease und des Fibrins durch Urotrypsin.

Darstellung.

Synthetisch wurde Arginin von E. Schulze und Winterstein[7]) hergestellt durch Verdunsten einer mit Cyanamid und einigen Tropfen Barytwasser versetzten Ornithinlösung über Schwefelsäure. Dieses mit Hülfe von activem Ornithin gewonnene Arginin ist optisch activ. Durch Erhitzen des Nitrats oder Erhitzen mit starker Schwefelsäure wird d-Arginin in dl-Arginin übergeführt (Kutscher). Ueber die günstigen Bedingungen für diese Racemisirung durch Schwefelsäure siehe Riesser[8]). Durch Arginase (Leberpresssaft) entsteht aus dl-Arginin l-Arginin, während d-Arginin in d-Ornithin und Harnstoff zerfällt (Riesser).

Ueber die Darstellung des d-Arginins aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteine siehe später. Abgekürzte Verfahren für die Darstellung aus dem argininreichen Edestin sind von E. Fischer und Suzuki[9]) (Ausbeute etwa 10 pCt. reines Methylesterchlorhydrat) und Riesser beschrieben. E. Schulze und Winterstein[10]) empfehlen zur Darstellung grösserer Mengen etiolierte Keimlinge von Lupinus luteus zu benutzen.

Eigenschaften.

Das active Arginin krystallisiert in rosettenartigen Drusen von rechtwinkligen oder zugespitzten Tafeln und dünnen Prismen, reagiert stark alkalisch, zieht an der Luft Kohlensäure an und zersetzt sich bei 207—207,5°. Es ist in Wasser leicht löslich, in Alkohol fast unlöslich. Beim Kochen mit conc. Salzsäure wird es nicht zersetzt.

Verbindungen: mit Salzsäure.

d-Argininchlorid krystallisiert ohne Krystallwasser in tafelförmigen Krystallen oder auch mit 1 Mol. H_2O. Die wässerige Lösung löst in der Wärme Kupferhydroxyd. Das Sulfat krystallisiert nicht.

mit Schwefelsäure.

mit Salpetersäure.

d-Argininnitrat $C_6H_{14}N_4O_2 \cdot HNO_3 + {}^1/_2H_2O$ krystallisiert in feinen Nadeln, löst sich in 2 Tl. Wasser bei 16°, schwer in Alkohol und Aether

---

1) Z. f. Unters. d. N. u. G. **13**. 180 u. 610. (1907.)
2) H.-S. **22**. 435. (1896/97.), **24**. 48. (1898.), B. **29**. 352. (1896.)
3) B. **29**. 2645. (1896.)
4) H.-S. **38**. 220. (1903.), **41**. 455. (1904.)
5) Sitzungsber. z. Bef. der ges. Naturw. zu Marburg. 1899. No. 6.
H.-S. **28**. 90. (1899) u. **32**. 476. (1901.)
6) J. of Ph. **32**. 299 u. **32**. XV. (1905.)
7) B. **32**. 3191. (1899.), H-.S. **34**. 128. (1901/02.)
8) H.-S. **49**. 210. (1906.)
9) B. **38**. 4187. (1905.) 10) H.-S. **35**. 314. (1902.)

und beginnt, vorher längere Zeit bei 85° getrocknet, bei 175° zu schmelzen. Nach Riesser schmilzt es schon bei 126°. dl-Argininnitrat krystallisiert in kleinen, glänzenden, vierseitigen Säulen oder Tafeln ohne Krystallwasser, löst sich in 17 Tl. Wasser bei 20° und schmilzt bei 211° (nach Riesser bei 216°) unter Zersetzung. Die wässerige Lösung des Nitrats wird gefällt durch Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdänsäure, Nessler's Reagens,

mit Kupfernitrat. nicht durch Bleiessig oder Gerbsäure. Die d-Nitratlösung löst in der Wärme Kupferhydroxyd, beim Erkalten scheiden sich blaue Prismen $(C_6H_{14}N_4O_2)_2 . Cu(NO_3)_2 + 3H_2O$ (Smp. 112—114°) ab. dl-Arginin-Kupfernitrat krystallisiert nach Schenk[1]) mit $2H_2O$ (Smp. 226°) und ist in Wasser leicht löslich, nach Riesser mit $3H_2O$ (Smp. 228—229°). Mercurinitrat ruft in Nitratlösungen keinen Niederschlag hervor, wohl aber Mercurinitrat und Natronlauge, ebenso Mercurichlorid bei Gegenwart vonBarytwasser.

mit Silber. Durch Silbernitrat wird die Nitratlösung nicht gefällt, fügt man aber Natronlauge oder Barytwasser hinzu, so entsteht ein weisser Niederschlag $C_6H_{12}Ag_2N_4O_2 . H_2O$. Zusatz von Ammoniak hat keine Abscheidung zur Folge (Unterschied von Histidin). Mit Silbernitrat bildet d-Arginin zwei Salze $C_6H_{14}N_4O_2 . HNO_3 + AgNO_3$ Nadeln, in Wasser leicht löslich (13,75 Tl. in 100 Tl. Wasser bei 16°) und $C_6H_{14}N_4O_2 . AgNO_3 + \frac{1}{2}H_2O$ Prismen, in Wasser ziemlich schwer löslich (1,13 Tl. in 100 Tl. Wasser von 16°). Zum Umkrystallisieren ist das saure Salz besser geeignet, da das basische leicht reduciert wird. dl-Arginin bildet $(C_6H_{14}N_4O_2 . HNO_3)_2 . AgNO_3 + \frac{1}{2}H_2O$.

mit Pikrinsäure. d-Argininpikrat $C_6H_{14}N_4O_2 . C_6H_3N_3O_7 + 2H_2O$, Smp. 205—206°, Aggregate feiner Nadeln, etwas leichter löslich als das Pikrolonat und auch zur Abscheidung geeignet. dl-Pikrat ohne Krystallwasser, Smp. 200 bis 201°, schwerer löslich in Wasser.

mit Pikrolonsäure. d-Argininpikrolonat $C_6H_{14}N_4O_2 . C_{10}H_8N_4O_5 + H_2O$ schwefelgelbe feine Nadeln in Wasser und Alkohol sehr wenig löslich. Smp. bei 225° unter Zersetzung (Steudel[2]) (nach Riesser bei 231°). Dieses Salz ist zur Isolierung und Reinigung sehr geeignet. dl-Pikrolonat ohne Krystallwasser, Smp. 248°.

mit Methylalkohol. d-Argininmethylesterchlorhydrat, Smp. gegen 195° (corr.) unter Schäumen, in Wasser sehr leicht löslich (E. Fischer und Suzuki),

Beim Schütteln mit Benzoylchlorid und Natronlauge entsteht Dibenzoylarginin, in verdünnter Natronlauge leicht löslich, aus kochendem Wasser sich in Nädelchen (Smp. 217—218°) abscheidend (Gulewitsch, Lawrow[3]).

mit β-Naphthalinsulfosäure. β-Naphthalinsulfoverbindung (Riesser), Arginincarbonsaures Calcium (S. 226).

Andere Verbindungen. Ueber weitere Verbindungen siehe bei E. Schulze und Steiger, Hedin, Gulewitsch[4]).

---

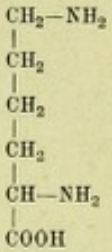
1) H.-S. **43**. 72. (1904/05.)
2) H.-S. **37**. 219. (1902/03), **44**. 157. (1905.)
3) H.-S. **28**. 585. (1899.) 4) H.-S. **27**. 178. (1899.)

Das salzsaure Salz zeigt in 9—10 proc. Lösung $[\alpha]_D = +10{,}70^0$ (Gulewitsch[1]). Aehnliche Werte fanden auch E. Schulze und Steiger[2]). Bei Anwesenheit von 7 Mol. oder mehr freier Salzsäure beträgt $[\alpha]_D = +21{,}25^0$. Das salpetersaure Salz zeigt in 10 proc. Lösung $[\alpha]_D = +9{,}31^0$. Mit diesen Werten stimmen die von Riesser für das l-Arginin erhaltenen im umgekehrten Sinne innerhalb der Fehlergrenzen überein. Optische Eigenschaften.

Beim Erhitzen von Arginin mit Barytwasser entsteht Harnstoff und Ornithin (E. Schulze und Likiernik[3]). Dieselbe Spaltung erfährt d-Arginin durch die Arginase (Kossel und Dakin[4]). Bei der Oxydation mit Bariumpermanganat entstehen Guanidinbuttersäure, Guanidin und Bernsteinsäure (Bénech und Kutscher[5]). Durch Bromlauge wird etwa ein Drittel des Stickstoffs entwickelt (Stuhetz[6]). Umwandlungen.

Dem Nachweis muss die Isolierung vorangehen. Zur Identificierung eignen sich am besten das Nitrat und das Kupfernitrat. Nachweis.

186. **Lysin ($\alpha\,\varepsilon$-Diaminocapronsäure) $C_6H_{14}N_2O_2$.** Von Drechsel[7]) als Spaltungsproduct des Caseins entdeckt, entsteht es bei der hydrolytischen Spaltung der Proteinstoffe. Kutscher und Ackermann[8]) fanden es im Krabbenextract. Es ist auch im Käse (Winterstein und Thöny[9]), in Keimlingen, in Kartoffelknollen gefunden. Es handelt sich um actives Lysin, nur das bei der Spaltung mit Barytwasser (60 stündiges Kochen) erhaltene war inactiv (Steudel[10]). Durch Erhitzen mit Barytwasser auf 150° geht das active in die inactive Modifikation über (Siegfried[11]), bequemer durch 15 stündiges Erhitzen in salzsaurer Lösung (20 proc. Salzsäure) auf 165—170° (E. Fischer und Weigert[12]). Vorkommen.



Synthetisch gewannen E. Fischer und Weigert d l-Lysin. Die Spaltung desselben in die activen Formen mit Hülfe der Benzoyl- oder Formylverbindungen ist noch nicht versucht worden. Ueber die Darstellung aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteinstoffe siehe später. Will man nur Lysin ohne Rücksicht auf die andern Basen isolieren, so kann man es direct aus dem Phosphorwolframsäureniederschlag über das Pikrat erhalten (Szydlowski[13]). Es wurden so aus 1,3 kg Casein 50 g Pikrat erhalten. Darstellung.

---

1) a. a. O., H.-S. **27**. 368. (1899.) 2) a. a. O., H.-S. **29**. 329. (1900.)
3) B. **24**. 2701. (1891.)
E. Schulze u. Winterstein, H.-S. **26**. 1. (1898/99.)
4) H.-S. **41**. 321. (1904.), **42**. 181. (1904.)
5) H.-S. **32**. 278 u. 413. (1901.)
6) M. **27**. 601. (1906.)
7) A. f. A. u. Ph. 1891. S. 248, B. **25**. 2454. (1892.)
8) Z. f. Unters. N. u. G. **13**. 180 u. 610. (1907.)
9) H.-S. **36**. 28. (1902.)
10) H.-S. **35**. 540. (1902.)
11) B. **24**. 418. (1891.), H.-S. **43**. 363. (1904/05.)
12) B. **35**. 3772. (1902.) 13) M. **27**. 821. (1906.)

Eigenschaften. Das Lysin ist bis jetzt nicht krystallisiert erhalten und zersetzt sich leicht. Saure Lösungen werden durch Mercurinitrat nicht gefällt, wohl aber durch Mercurinitrat und Natronlauge (Hedin[1]), ebenso durch Quecksilberchlorid bei Gegenwart von Barytwasser; durch Silbernitrat und Barytwasser werden die wässerigen Lösungen seiner Salze nicht gefällt (Unterschied von Arginin und Histidin), ebenfalls nicht durch Bleiessig und Gerbsäure, durch Phosphorwolframsäure werden sie gefällt.

Verbindungen: mit Kohlensäure. Carbonat $(C_6H_{14}N_2O_2)_2 . CO_2$ und Sulfat krystallisieren. Das salzsaure
mit Schwefelsäure. Salz $C_6H_{14}N_2O_2 . 2\,HCl$ schmilzt bei 192—193°, verliert beim Umkrystalli-
mit Salzsäure. sieren aus nicht Salzsäure haltigen Lösungsmitteln leicht 1 Mol. Salzsäure, ist in kaltem absoluten Alkohol fast unlöslich. Das Chlorhydrat des dl-Lysin schmilzt bei 183—186° (corr.) (E. Fischer und Weigert). Das
mit Platinchlorid. Platindoppelsalz des activen (Siegfried) und des dl-Lysin (Ackermann[2]) krystallisiert aus alkoholischer Lösung in schönen, gelbroten Prismen mit
mit Goldchlorid. 1 Mol. Krystallalkohol $C_6H_{14}N_2O_2 . 2\,HCl . PtCl_4 + C_2H_6O$. Die Golddoppelsalze sind wesentlich schwerer löslich in Wasser als die Platinate. Aus stark salzsaurer Lösung abgeschieden entspricht das Chloraurat des activen Lysin der Formel $(C_6H_{14}N_2O_2)_2 . 4\,HCl . 3\,AuCl_3 + 2\,H_2O$ (Smp. 152—155°), das des dl-Lysin der Formel $(C_6H_{14}N_2O_2 . 2\,HCl . AuCl_3) + H_2O$ (Zersetzung bei 173—176°) (Ackermann).

mit Silber. Lysin bildet 2 Silbersalze, die den Argininsalzen entsprechen, ein in Wasser ziemlich schwer lösliches $C_6H_{14}N_2O_2 . AgNO_3$ von alkalischer Reaction und ein in Wasser leicht lösliches, durch Alkohol abscheidbares, in Nadeln krystallisierendes von saurer Reaction $C_6H_{14}N_2O_2 . HNO_3 + AgNO_3$ (Hedin).

mit Pikrinsäure. Das in Wasser ziemlich schwer lösliche Pikrat $C_6H_{14}N_2O_2 . C_6H_3N_3O_7$ scheidet sich auf Zusatz von Natriumpikrat zu einer nicht zu verdünnten Lösung des salzsauren Salzes oder von alkoholischer Pikrinsäure (unter Vermeidung eines Ueberschusses) zu einer conc. wässerigen Lösung der freien Base ab (Kossel[3]). Das Pikrat explodiert im Schmelzröhrchen langsam erhitzt bei 252°.

mit Pikrolonsäure. Pikrolonat leicht löslich in Wasser, weniger in Alkohol. Zersp. 246-252°.

mit Benzoesäure. Beim Schütteln von Lysin in alkalischer Lösung mit Benzoylchlorid im Ueberschuss entsteht Dibenzoyllysin (Lysursäure), dessen schwer lösliches saures Barytsalz zur Isolierung dienen kann (Drechsel[4]). Die Lysursäure löst sich nur sehr wenig in kaltem Wasser, Petrolaether und bei Abwesenheit von Salzsäure auch in Aether, in Alkohol dagegen leicht. Sie fällt zunächst ölig aus, krystallisiert erst allmählich in Blättchen, sie krystallisiert schneller, wenn die kalte alkoholische Lösung sehr allmählich mit Wasser

1) H.-S. **21**. 297. (1895/96.) 2) H.-S. **56**. 305. (1908.)
3) H.-S. **26**. 586. (1898/99.)
4) B. **28**. 3189. (1895.) und bei Gamgee, Phys. Chemie der Verdauung, deutsche Ausgabe und Neubearbeitung von Asher u. Beyer, Deudicke 1897. S. 227, siehe auch Lawrow, H.-S. **28**. 585. (1899.)

versetzt wird, Smp. 144—145°. Die entsprechende Verbindung des dl-Lysin schmilzt bei 145—146° (corr.) (E. Fischer und Weigert). Durch Erhitzen mit einem Gemisch gleicher Teile conc. Salzsäure und Alkohol auf 120—140° zerfällt sie in Lysin und Benzoesäure.

Das Hydantoin des Phenylisocyanatlysin $C_{20}H_{22}N_4O_2$ (Smp. 183—184°) entsteht unter denselben Bedingungen wie die entsprechende Ornithinverbindung (Herzog[1]). Das entsprechende Hydantoin des dl-Lysin schmilzt bei 196° (corr.) (E. Fischer und Weigert). mit Phenylisocyanat.

Ueber weitere Salze der Lysursäure siehe bei Willdenow[2]). Lysincarbonsaures Calcium (S. 226).

Das salzsaure Lysin ist rechtsdrehend u. z. ist gefunden für 2—5 proc. Lösung $[\alpha]_D = +14$—$15{,}3°$ (Henderson[3]), $= +15{,}5°$ (Szydlowski). Optische Eigenschaften.

Bei der Destillation geht das Lysin zum Teil in Pentamethylendiamin über (Neuberg[4]). Bei der Oxydation mit Permanganat entstehen Cyanwasserstoff, Glutarsäure, Oxalsäure und wahrscheinlich auch Glutaminsäure (Zickgraf[5]). Durch Bacterienwirkung besonders bei Abwesenheit von Sauerstoff entsteht aus dem Lysin Pentamethylendiamin (Ellinger[6]). Umwandlungen.

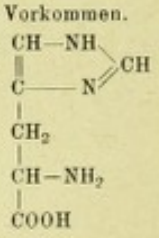
Dem Nachweis muss die Isolierung vorangehen. Zur Identificierung eignet sich am besten das Pikrat. Aus demselben lässt sich durch Schütteln seiner salzsauren Lösung mit Aether und Verdampfen der wässerigen Lösung das Chlorid gewinnen. Um es zu reinigen, löst man es in heissem Methylalkohol, verdunstet zum Syrup und versetzt den Rückstand mit wenig heissem absol. Alkohol. Beim Erkalten krystallisiert das Chlorid. Auch die Goldsalze sind für die Identificierung und Unterscheidung des activen und inactiven Lysin geeignet. Nachweis.

Ueber dem Lysin isomere Verbindungen siehe Winterstein[7]) und Krimberg[8]). Isomere des Lysin.

Lysatin $C_6H_{13}N_3O_2$, Lysatinin $C_6H_{11}N_3O$. Diese Basen wurden von Drechsel[9]) und seinen Mitarbeitern neben dem Lysin unter den hydrolytischen Zersetzungsproducten von Eiweiss und Leim aufgefunden und als in schönen silberglänzenden, weissen, langen Nadeln krystallisierende Silberdoppelsalze erhalten. Nach Hedin[10]) lag höchstwahrscheinlich ein Gemenge der entsprechenden Lysin- und Argininsalze vor. Vergl. indessen dazu Siegfried[11]). Lysatin, Lysatinin.

Histidin (β-Imidazol-α-Aminopropionsäure) $C_6H_9N_3O_2$.

187. Diese von Kossel[12]) unter den Spaltungsproducten des Sturins entdeckte Base ist von Pauly[13]) als Jmidazolverbindung erkannt worden. Der Vorkommen.



1) H.-S. **34**. 525. (1901/02.)
2) H.-S. **25**. 523. (1898.)
3) H.-S. **29**. 320. (1900.) Lawrow, H.-S. **28**. 388. (1899.)
4) H.-S. **45**. 118. (1905.)
5) B. **35**. 3401. (1902.)
6) H.-S. **29**. 334. (1900.)
7) H.-S. **45**. 69. (1905.)
8) H.-S. **55**. 477. (1908.)
9) B. **23**. 3096. (1890.) A. f. A. u. Ph. 1891. S. 248.
10) H.-S. **21**. 297. (1895/96.)
11) H.-S. **35**. 192. (1902.)
12) H.-S. **22**. 176. (1896/97.)
13) H.-S. **42**. 508. (1904.)

endgültige Beweis für die Konstitution ist durch die Untersuchungen von Knoop und Windaus[1]) und Knoop[2]) erbracht worden. Es tritt bei der Säurespaltung und tryptischen Verdauung der Proteinstoffe auf, ferner bei der Spaltung des Carnosin mit Aetzbaryt (Gulewitsch[3]) und ist auch im Käse (Winterstein und Thöny[4]) und in Keimpflanzen (E. Schulze[5]) und Kartoffelknollen (E. Schulze) nachgewiesen worden. Das erhaltene Histidin ist optisch activ (l-Histidin), nur bei der Spaltung der Eiweissstoffe mit Jodwasserstoff bei Gegenwart von phosphoriger Säure wurde ein Histidin gewonnen, dessen salzsaures Salz optisch inactiv war (Kossel und Kutscher[6]). Bei der Behandlung mit 20 proc. Salzsäure im eingeschlossenen Rohr bei 160° wird es racemisiert (Fränkel[7]).

Darstellung. Ueber die Isolierung aus der Zersetzungsflüssigkeit der Proteine siehe später. Zur Darstellung benutzt man am besten Blut und verfährt unter Benutzung der Angaben von S. Fränkel[8]) und Pauly nach Knoop so:

In grosse Rundkolben wird conc. Salzsäure, dann portionsweise Rinderblut gegossen, auf dem Babloblech erhitzt und nachgefüllt, bis 2 Tl. Blut auf 1 Tl. Salzsäure zugegeben sind. Nach zehnstündigem Kochen wird viel Salzsäure abgedampft, bis zur schwach sauren Reaction mit Soda neutralisiert und filtriert. Die weingelbe Flüssigkeit wird mit Soda deutlich alkalisch gemacht, bis zum Aufhören der Ammoniakentwicklung gekocht, filtriert und mit Sublimat bei anhaltend schwach sodaalkalischer Reaction ausgefällt. Der Niederschlag wird nun in einem Minimum von verdünnter Salzsäure gelöst, die Lösung filtriert und wieder vorsichtig mit Soda, wenig Sublimat und viel Wasser gefällt, der Niederschlag abfiltriert, gut ausgewaschen und mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Aus dem Filtrat scheidet sich beim Einengen Histidinmonochlorid in derben farblosen Krystallen ab. Aus 10 Liter Blut werden 70—90 g Histidinmonochlorid erhalten.

Ueber die Darstellung aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteine siehe später.

Eigenschaften. Das Histidin erscheint in blättrigen, nadel- oder tafelförmigen Krystallen (Smp. 253° unter Schäumen) von alkalischer Reaction, die in Wasser sehr leicht, in Alkohol sehr wenig, in Aether unlöslich sind. Seine Lösungen werden durch Phosphorwolframsäure bei Vermeidung eines Ueberschusses gefällt. Versetzt man die Lösung der freien Base oder des Nitrates mit Silbernitrat und vorsichtig mit Ammoniak, so entsteht ein in überschüssigem Ammoniak löslicher, amorpher Niederschlag, der ausgewaschen und bei 100° getrocknet die Zusammensetzung $C_6H_7Ag_2N_3O_2 . H_2O$ hat (Hedin). Ebenso wie Ammoniak wirkt Natronlauge oder Barytwasser. Die Lösungen

1) B. Ph. P. **7**. 144. (1906.), **8**. 406. (1906.)
2) B. Ph. P. **10**. 111. (1907.)
3) H.-S. **50**. 535. (1906/07.)
4) H.-S. **36**. 28. (1902), **41**. 485. (1904.)
5) H.-S. **28**. 465. (1899), **38**. 199. (1903.)
6) H.-S. **31**. 179. (1901.)
7) B. Ph. P. **8**. 156. (1906.)
8) M. **24**. 229. (1903.)

seiner Salze werden durch Phosphorwolframsäure gefällt, ferner durch Quecksilberchlorid bei Gegenwart von Barytwasser und auch durch Mercurisulfat aus schwefelsaurer Lösung (Kossel und Patten[1]), aber nicht durch Bleiessig oder Gerbsäure. Das kohlensaure Salz wird bei Abwesenheit von neutralen Alkalisalzen noch in sehr verdünnter Lösung durch Sublimat gefällt.

Verbindungen: mit Salzsäure.

Das salzsaure Salz $C_6H_9N_3O_2 . HCl + H_2O$ (Smp. 251—252°) bildet in Wasser ziemlich leicht lösliche, in Alkohol und Aether unlösliche, glashelle, rhombische Tafeln (Bauer[2]). Löst man das salzsaure Salz in wenig heisser, concentrierter Salzsäure, fällt mit Alkohol-Aether, wiederholt dieses Verfahren mehrmals und löst dann in verdünnter Salzsäure, so scheidet sich bei langsamem Verdunsten $C_6H_9N_3O_2 . 2HCl$ in grossen, glashellen Tafeln, die bei 231—233° unter Zersetzung schmelzen und in conc. Salzsäure kaum löslich sind, ab (Kutscher[3]). dl-Histidindichlorhydrat schmilzt bei 220°.

mit Salpetersäure.

Gut krystallisierendes Nitrat $C_6H_9N_3O_2 . 2HNO_3$ (Kossel[4]).

mit Platinchlorid und Silbernitrat.

Gut krystallisierende Platinchlorid- und Silbernitratdoppelsalze (Kossel[4]).

mit Cadmiumchlorid.

Histidincadmiumchlorid, wahrscheinlich $C_6H_9N_3O_2 . HCl . CdCl_2$, in kaltem und heissem Alkohol nahezu unlöslich, in Wasser leicht löslich. Smp. 270—275° unter Aufschäumen (Schenck[5]).

mit Pikrolonsäure.

Pikrolonat $C_6H_9N_3O_2 . C_{10}H_8N_4O_5$, schwer lösliche, hellgelbe, concentrisch gruppierte Nadeln (Steudel[6]).

mit Methylalkohol.

Methylesterdichlorhydrat, flache in Wasser sehr leicht lösliche Prismen, Smp. 196° (Pauly).

mit β-Naphthalinsulfosäure.

Dinaphthalin-β-sulfohistidin $C_6H_7N_3O_2 . 2C_{10}H_7SO_2$ (S. 226), atlas glänzende feine Nädelchen, fast unlöslich in Wasser, leicht löslich in Eisessig, schwerer in Alkohol, Smp. 149—150° (Pauly).

Umwandlungen.

Durch Einwirkung von Silbernitrit entsteht aus Histidinchlorid Oxydesaminohistidin (Imidazolmilchsäure) $C_6H_8N_2O_3 + H_2O$ (Fränkel); dieses gibt mit Jodwasserstoff und Phosphor Imidazolpropionsäure (Knoop und Windaus), mit Salpetersäure Imidazolglyoxylsäure, aus welcher durch Wasserstoffhyperoxyd Imidazolcarbonsäure entsteht und mit Bariumpermanganat in saurer Lösung unter bestimmten Bedingungen Imidazolessigsäure. Die Imidazolcarbonsäure spaltet beim Erhitzen über 286° Kohlensäure ab und es entsteht Imidazol (Knoop).

Beim Erhitzen des Histidinmonochlorhydrats über den Schmelzpunkt entweicht Kohlensäure (Fränkel). Beim Erhitzen mit Kalk entstehen Ammoniak und Dämpfe, welche mit einem Fichtenspan und rauchender Salz-

1) H.-S. **38**. 39. (1903.)
2) H.-S. **22**. 182 u. 285. (1896/97.)
3) H.-S. **28**. 383. (1899.), siehe auch H.-S. **29**. 492. (1900.)
4) H.-S. **28**. 382 (1899.)
5) H.-S. **43**. 72. (1904/05.)
6) H.-S. **37**. 219. (1902/03.). **44**. 157. (1905.)

säure Pyrrolreaction geben (Fränkel). Bei der Oxydation mit Bariumpermanganat in neutraler oder alkalischer Lösung tritt Blausäure, Kohlensäure und Ammoniak auf (Herzog[1]).

Optische Eigenschaften.

Die freie Base dreht links u. z. $[\alpha]_D = -39{,}74^0$, die salzsaure Lösung dreht rechts u. z. beträgt:

bei 1 Mol. Base auf 1 Mol. HCl $[\alpha]_D = +1{,}74^0$
„ „ „ „ „ 2 „ „ $[\alpha]_D = +5{,}32^0$
„ „ „ „ „ 4 „ „ $[\alpha]_D = +6{,}46^0$ (Kossel).

Zur Identificierung eignet sich wohl am besten das salzsaure Salz, ausserdem die Silberverbindung. Ferner gibt das Histidin folgende Reactionen.

Nachweis.

1. Versetzt man eine Histidinlösung mit Kalilauge und einer Spur Kupfersulfat und erwärmt, so tritt Violettfärbung und allmählich Rotfärbung auf (Biuretreaction) (Herzog).

2. Trägt man in eine Lösung von Histidinchlorid in verdünnter Salzsäure bei gelinder Erwärmung Kaliumchlorat in mässiger Menge ein, verdampft fast zur Trockne, fügt mit einer Spur Salpetersäure versetztes frisches Chlorwasser hinzu, verdampft wieder zur Trockne und behandelt nun mit Ammoniakdampf, so tritt lebhaft rote Färbung auf, die bei Zusatz von wenig Natronlauge in rotviolett übergeht (Weidel'sche Reaction) (Fränkel).

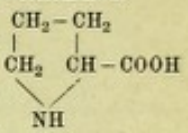
3. Versetzt man eine Histidinlösung mit überschüssiger Sodalösung und darauf mit 3—5 ccm einer unmittelbar vorher bereiteten sodaalkalischen Lösung von einigen Centigrammen Diazobenzolsulfosäure, so tritt sofort oder nach wenigen Minuten eine dunkelkirschrote Färbung auf, die selbst beim Verdünnen mit der vielfachen Menge Wasser keinen Stich ins Gelbe bekommt (Unterschied von Tyrosin), aber beim Ansäuern in ein reines Orange übergeht. Bei einer Verdünnung von 1 : 20000 ist die Färbung in dickeren Schichten noch dunkelkirschrot, bei einer Verdünnung von 1 : 100000 noch blassrot (Diazoreaction). Weiteres über diese Reaction und Angaben über die Herstellung der Diazobenzolsulfosäure siehe bei Pauly.

4. Man versetzt eine wässerige Histidin- oder Histidinsalzlösung (welche kein freies Alkali enthalten darf) mit Bromwasser, bis die Gelbfärbung nicht mehr verschwindet, sondern gerade bestehen bleibt. Erhitzt man jetzt, so wird die Lösung zunächst wieder farblos, um nach kurzem eine rötliche Färbung anzunehmen, die sich zu dunklem Weinrot vertieft. Schliesslich scheiden sich schwarze amorphe Teilchen ab, die die Lösung schmutzig trüben. In Lösungen von 1 : 1000 entsteht noch eine charakteristische Färbung (Knoop[2]).

1) H.-S. **37**. 248. (1902/03.) 2) B. Ph. P. **II**. 356. (1908.)

Prolin und Oxyprolin.

188. **Prolin (α-Pyrrolidincarbonsäure)** $C_5H_9NO_2$ wurde zuerst von E. Fischer[1]) unter den Salzsäurespaltungsproducten des Casein aufgefunden. Es tritt bei der Säure- und Alkalispaltung (E. Fischer[2]) der verschiedensten Proteine auf, auch bei der fermentativen (E. Fischer und Abderhalden[3]), wenn auch hier nur in geringer Menge. Auch aus Käse (Winterstein[4]) und aus Keimpflanzen von Lupinus albus (E. Schulze und Winterstein[5]) ist es erhalten worden. Vorkommen.



Synthetisch ist Prolin von Willstätter[6]), von E. Fischer[7]) und neuerdings in guter Ausbeute von Sörensen und Andersen[8]) dargestellt worden. Die synthetische Säure ist die inactive, die natürlich vorkommende l-Prolin. Durch fünfstündiges Erhitzen von 1 g activer Säure mit 2 g Aetzbaryt und 4 g Wasser wird l-Prolin racemisiert. Auch die bei der Spaltung der Proteine mit Alkali auftretende ist hauptsächlich racemisch, nach Levene und Wallace[9]) auch die bei der tryptischen Verdauung (von Gelatine) entstehende. Ueber die Darstellung von l-Prolin aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteine siehe später. Ueber eine praktische Gewinnung von Prolin aus Gelatine siehe E. Fischer und Abderhalden[10]). Darstellung.

Beide Modificationen schmecken stark süss, sind in Wasser und Alkohol leicht löslich. Durch diese leichte Löslichkeit auch in absolutem Alkohol unterscheidet sich Prolin von den übrigen Aminosäuren. Die l-Säure krystallisiert aus Wasser in flachen Nadeln, die rasch erhitzt bei 203—206° unter Entwicklung von Gas und Pyrrolidingeruch schmelzen. Kossel u. Dakin[11]) fanden 220—222°. Die dl-Säure schmilzt gegen 205° unter Aufschäumen. Eigenschaften.

Auch aus verdünnter Lösung wird Prolin bei Gegenwart von Schwefelsäure durch Phosphorwolframsäure gefällt. Aus alkoholischer, conc. Lösung scheidet sich auf Zusatz von alkoholischer Sublimatlösung das Quecksilbersalz allmählich krystallinisch ab (Kossel und Dakin). Sehr vollständig erfolgt die Fällung nach Neuberg[12]) in methylalkoholischer Lösung durch methylalkoholisches Quecksilberacetat beim Erwärmen unter Zusatz von etwas methylalkoholischer Natronlauge.

Das Kupfersalz der l-Säure ist in Alkohol löslich und bleibt beim Verdunsten des Alkohols als tiefblaue, amorphe Masse zurück, das Kupfersalz der dl-Säure ist in Alkohol unlöslich, krystallisiert mit 2 Mol. Wasser in blauen, glänzenden Blättchen, die sich beim Trocknen violett färben und an feuchter Luft wieder blau werden. Verbindungen: mit Kupfer.

---

1) H.-S. **33**. 151. (1901.)
2) H.-S. **35**. 227. (1902.)
3) H.-S. **40**. 215. (1903/04.)
4) H.-S. **41**. 485. (1904.)
5) H.-S. **45**. 38. (1905.)
6) B. **33**. 1160. (1900.)
7) B. **34**. 454. (1901.)
8) H.-S. **56**. 236. (1908).
9) H.-S. **47**. 143. (1906.)
10) B. **37**. 3072. (1904.)
11) H.-S. **41**. 410. (1904.)
12) Verh. d. d. path. Ges. 1904. S. 31.

mit Pikrinsäure. Das Pikrat wird erhalten durch Fällung einer Lösung von Prolin und Pikrinsäure in möglichst wenig Eisessig mit Aether und Krystallisation aus absolutem Alkohol. Das dl-Prolin-Pikrat schmilzt bei 135—137°, löst sich leicht in heissem Alkohol, Eisessig, Wasser, weniger leicht in der Kälte oder in Aether. Das l-Prolin-Pikrat krystallisiert viel schöner, schmilzt bei 153—154° und scheint etwas weniger löslich zu sein (Alexandroff[1]).

mit Alkohol. Der Aethylester der dl-Säure siedet unter 11 mm Druck bei 75—76°.

mit β-Naphthalinsulfosäure. l-β-Naphthalinsulfoprolin (S. 226) krystallisiert mit 1 Mol. H_2O. Bei 132° schmelzende Blättchen, schwer löslich in kaltem Wasser, leicht in Alkohol, schwerer in Aether löslich.

mit Phenylisocyanat. Das nach S. 226 hergestellte l-Phenylisocyanatprolin fällt auf Zusatz von Salzsäure als harzige Masse aus. Fügt man nun soviel Salzsäure hinzu, dass die Lösung etwa 4 pCt. enthält und engt auf dem Wasserbad ein, so treten Krystalle auf, die nach dem Erkalten abfiltriert und aus kochendem Wasser umkrystallisiert als flache Nadeln vom Smp. 143° erscheinen und das Anhydrid der Phenylisocyanatverbindung darstellen. Die entsprechende Verbindung der dl-Säure krystallisiert aus heissem Alkohol in feinen Prismen vom Smp. 118°.

Optische Eigenschaften. Für eine 7,4 proc. wässerige Lösung betrug $[\alpha]_D^{20°} = -77{,}40°$, für eine Lösung, die 7,68 pCt. der Säure und 20 pCt. Salzsäure enthielt, $[\alpha]_D^{20°} = -46{,}53°$, für eine alkalische 5,73 pCt. Säure enthaltende $[\alpha]_D^{20°} = -83{,}48°$. Indessen sind die Werte vielleicht nicht ganz genau.

Nachweis. Zum Nachweis dienen besonders der Schmelzpunkt sowie die Analyse, das Verhalten und die Analyse des Kupfersalzes, und der Schmelzpunkt des Anhydrids der Phenylisocyanatverbindung. Prolin gibt die Pyrrolreaction, d. h. die beim Erhitzen sich entwickelnden Dämpfe färben einen mit Salzsäure befeuchteten Fichtenspan rot (Neuberg[2]).

Vorkommen. 189. **Oxyprolin (Oxy-α-pyrrolidincarbonsäure).** Die active Form dieser Säure wurde zuerst von E. Fischer[3]) unter den hydrolytischen Zersetzungsproducten der Gelatine aufgefunden. Auch bei der Säurespaltung von Casein[4]), Oxyhämoglobin und Edestin ist ihr Auftreten nachgewiesen. Ferner ist sie im Käse gefunden worden (Winterstein und Bissegger[5]).

Darstellung. Eine Synthese von Oxypyrrolidincarbonsäuren ist von Leuchs[6]) ausgeführt. Ob eines der synthetischen Producte die inactive Form des natürlichen Oxyprolins ist, bleibt zu entscheiden. Mittelst Phosphor und Jodwasserstoff lassen sie sich, ebenso wie das natürliche Oxyprolin (E. Fischer), in Prolin überführen (Leuchs und Felser[7]). Das natürliche Oxyprolin lässt sich selbst durch Einwirkung von Baryt bei 200° nicht völlig racemisieren

1) H.-S. **46**. 17. (1905.)
2) Salkowski-Festschrift. Berlin. Hirschwald. 1904. S. 271.
3) B. **35**. 2660. (1902.)
4) H.-S. **39**. 156. (1903.)
5) H.-S. **47**. 28. (1906.)
6) B. **38**. 1937. (1905.)
7) B. **41**. 1726. (1908.)

(Leuchs und Felser). Ueber die Isolierung aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteine siehe später. Vergl. auch Leuchs u. Felser.

Farblose Tafeln, in Wasser sehr leicht, in absolutem Alkohol sehr wenig löslich, stark süss schmeckend. Zersetzungspunkt gegen 270° unter Aufschäumen. Eigenschaften.

Das Kupfersalz ist in Wasser sehr leicht löslich, krystallisiert schwierig, in Alkohol unlöslich. Das Kupfersalz der racemisierten Säure ist in Wasser schwer löslich. Verbindungen: mit Kupfer.

Phenylisocyanatoxyprolin (S. 226) in Wasser verhältnissmässig leicht löslich, schmilzt gegen 175° unter Zersetzung. β-Naphthalinsulfooxyprolin (S. 226) krystallisiert mit 1 Mol. H_2O, Blättchen, schwer löslich in kaltem Wasser, in Alkohol sehr leicht löslich, ziemlich leicht auch in Aether. Smp. 90—91°. mit Phenylisocyanat. mit β-Naphthalinsulfosäure.

Eine 9,3 proc. Lösung zeigte $[\alpha]_D^{20^\circ} = -81{,}04^\circ$. Optische Eigenschaften.

Zur Identificierung empfiehlt sich die β-Naphtalinsulfoverbindung. Es gibt die Pyrrolreaction (siehe bei Prolin). Nachweis.

Methylpyridinammoniumhydroxyd C_6H_9NO.

190. Diese Base wurde von Kutscher und Lohmann[1]) im menschlichen Harn aufgefunden und stammt jedenfalls aus dem im Tabakrauch und im gebrannten Kaffee enthaltenen Pyridin. Dass an Hunde verfüttertes Pyridin im Harn als Methylpyridinammoniumhydroxyd erscheint, war schon früher durch His[2]) nachgewiesen. Von Kutscher u. Ackermann[3]) ist es auch aus Krabbenextract dargestellt.

Farblose und geruchlose Flüssigkeit von stark alkalischer Reaction.

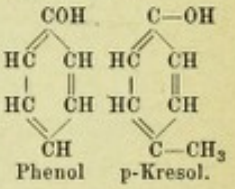
Salzsaures Salz, syrupförmig.

$C_5H_5N \cdot CH_3Cl \cdot AuCl_3$ citronengelbe Nadeln, Smp. 252° in heissem Alkohol und Wasser leicht, in kaltem sehr schwer löslich.

$(C_5H_5N \cdot CH_3Cl)_2 \cdot PtCl_4$ scheidet sich aus heissem Wasser in grossen orangeroten Tafeln ab. Smp. 205° unter Aufschäumen.

Phenole.

191. **Phenol C_6H_6O** und **Kresole C_7H_8O**. Diese Körper entstehen bei der Fäulnis von Eiweiss und Tyrosin und beim Behandeln dieser Stoffe mit schmelzendem Alkali (E. Baumann[4]). Im freien Zustande finden sie sich im Darm und in Spuren im Pferdeharn. Sie werden aber in grösserer oder geringerer Menge beim Erhitzen von Harn mit verdünnter Salz- oder Schwefelsäure gebildet, indem bei dieser Behandlung ihre im Harn besonders der Pflanzenfresser ziemlich reichlich enthaltenen Schwefelsäureverbindungen (Aetherschwefelsäuren) eine Spaltung unter Wasseraufnahme erfahren. Der Vorkommen.



Phenol p-Kresol.

---

1) H.-S. **49**. 81. (1906.), **48**. 1. (1906.)
Z. f. Unters. N. u. G. **13**. 177. (1907.)
2) A. exp. P. u. Ph. **22**. 253. (1887.)
3) Z. f. Unters. N. u. G. **14**. 687. (1907.)
4) H.-S. **6**. 183. (1882.), Brieger, H.-S. **4**. 204. (1880.)

grössere Teil der Phenole in Fäulnisgemischen und im Harne besteht aus p-Kresol, der kleinere aus Phenol, ausserdem findet sich im Menschenharn noch o-Kresol.

Isolierung. Um die in Flüssigkeiten in freiem Zustande vorhandenen Phenole zu isolieren, destilliert man, bis eine Probe des Destillats beim Kochen mit Millon's Reagens (Anh.) nicht mehr rot gefärbt wird. Um auch die als Aetherschwefelsäuren im Harne enthaltenen Phenole zu erhalten, destilliert man mindestens 200 ccm davon mit 50 ccm rauchender, roher Salzsäure, bis 50—70 ccm übergegangen sind. Die in beiden Fällen erhaltenen Destillate, welche ausser den Phenolen noch flüchtige Säuren, Indol usw. enthalten können, werden mit Alkali stark übersättigt und abermals destilliert. Es gehen Ammoniak, Indol, Skatol über. Die rückständige Flüssigkeit lässt man erkalten, sättigt mit Kohlensäure, um die Phenole aus ihren Natriumverbindungen frei zu machen, und destilliert abermals. Das Destillat prüft man mittelst der unten bezeichneten Reactionen. Ist auf Indol und Skatol nicht Rücksicht zu nehmen, so übersättigt man das erste Destillat mit Natriumcarbonat und destilliert sogleich die Phenole ab.

Für die Abtrennung des p-Kresols von Phenol und o-Kresol hat sich die Ueberführung in die Sulfosäuren durch concentrierte Schwefelsäure und Darstellung der Barytsalze bewährt. Die Destillate, welche Phenol und Kresole enthalten, werden zu dem Zweck mit überschüssigem Alkali versetzt, eingedampft, dann angesäuert und mit Aether mehrmals ausgeschüttelt. Man verdunstet die abgetrennte Aetherlösung, trocknet den Rückstand mit Chlorcalcium und destilliert. Das Destillat wird mit dem gleichen Gewicht concentrierter Schwefelsäure eine Stunde auf dem Wasserbade erwärmt, mit Wasser verdünnt, mit Baryt neutralisiert und filtriert, das Filtrat bis nahe zur Krystallisation eingedampft und mit überschüssigem, concentriertem Barytwasser versetzt. Nach zwölfstündigem Stehen wird das abgeschiedene basische p-kresolsulfosaure Barium abfiltriert, das Filtrat durch Kohlensäure von überschüssigem Baryt befreit, filtriert, auf kleines Volumen abgedampft, abermals mit concentriertem Barytwasser gefällt und nach 12 Stunden abfiltriert. Durch das Filtrat leitet man Kohlensäure, filtriert, verdampft zur Trockne und wägt den Rückstand, welcher das phenolsulfosaure und das o-kresolsulfosaure Barium enthält. Die Niederschläge werden in Wasser zerteilt und mit Kohlensäure behandelt. Das Filtrat wird verdunstet, getrocknet und gewogen. Man erfährt so das Gewicht des p-kresolsulfosauren Bariums. Eine Abtrennung des o-Kresols ist nicht ausgeführt, es wird durch die Bildung von Salicylsäure beim Schmelzen des Phenolgemisches mit Kali nachgewiesen.

Eigenschaften. Phenol schmilzt bei 42°, siedet bei 180°, löst sich in 15 Teilen Wasser bei gewöhnlicher Temperatur, färbt sich in nicht allzu verdünnter wässeriger Lösung mit Eisenchlorid violett; dieselbe Färbung erfahren damit seine sulfosauren Salze.

p-Kresol schmilzt bei 36°, siedet bei 199°, ist schwer löslich in Wasser, wird in wässeriger Lösung von Eisenchlorid blau gefärbt.

o-Kresol schmilzt bei 31—31,5°, siedet bei 185—186°.

Nachweis von Phenol und p-Kresol.

Zum Nachweis des Phenol und p-Kresol in wässerigen Lösungen z. B. in dem in der oben beschriebenen Weise erhaltenen Destillat dienen folgende Reactionen:

1. Beim Kochen mit Millon's Reagens entsteht Rotfärbung der Flüssigkeit oder auch roter Niederschlag. Diese sehr empfindliche Reaction geben fast alle Phenolderivate, welche eine Hydroxylgruppe am Benzolring enthalten (Nasse).

2. Auf Zusatz von Bromwasser zu einer Probe der Lösung entsteht sofort oder alsbald milchige Trübung, dann Niederschlag von gelblichweissen, seideglänzenden Nadeln oder käsigen Flocken, die im Wesentlichen aus Tribromphenol bestehen. Empfindliche Probe.

3. Eine Probe der Flüssigkeit wird durch ein paar Tropfen verdünnter Eisenchloridlösung violett bis blau gefärbt. Die Reaction der Flüssigkeit muss für diese nicht sehr empfindliche Probe völlig neutral sein.

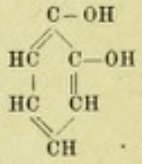
4. Mit Tyrosinase (aus Weizenkleie) tritt Gelb-, Orange- und Braunfärbung ein (Bertrand[1]).

Nachweis von o-Kresol.

Zum Nachweis des o-Kresols löst man die Kalischmelze des Phenolgemisches in Wasser, säuert mit Schwefelsäure an, schüttelt mit Aether aus und extrahiert den Verdampfungsrückstand des Aetherauszugs mit Chloroform. In dieses geht nur die aus dem o-Kresol entstandene Salicylsäure über, die sich durch Violettfärbung ihrer wässerigen durch Destillation von Phenol befreiten Lösung auf Zusatz von Eisenchlorid nachweisen lässt.

192. **Brenzcatechin $C_6H_6O_2$.** Brenzcatechin (E. Baumann) findet sich als Brenzcatechinschwefelsäure sehr häufig im Menschenharn in kleinen Mengen, reichlicher und regelmässig im Pferdeharn, fehlt aber im Harn von Tieren, die allein mit Fleisch gefüttert sind. In vermehrter Menge tritt es nach Eingabe von Phenol oder Benzol auf. Im Pferdeharn ist es auch im freien Zustande enthalten. Die Angabe von Halliburton[2]), dass es in der Cerebrospinalflüssigkeit vorkomme, konnte Nawratzki[3]) nicht bestätigen.

Vorkommen.



Um aus dem Harne (zweckmässig nach Eingabe von Phenol oder Benzol) Brenzcatechin und Hydrochinon (§ 194) zu erhalten, wird derselbe stark mit Salzsäure angesäuert, eine halbe Stunde auf siedendem Wasserbade digeriert und nach dem Erkalten mehrmals mit Aether extrahiert. Die Aetherlösungen schüttelt man zur Entfernung der Säuren wiederholt mit verdünnter Sodalösung, so lange diese sich noch färbt, destilliert den Aether ab, versetzt den Rückstand mit gesättigter Lösung von Kochsalz oder Natriumsulfat, um Phenol und Kresol abzuscheiden, filtriert und destilliert die mit

Darstellung.

1) C. r. **145**. 1352. (1907.)
2) J. of Ph. **10**. 232. (1889.) 3) H.-S. **23**. 532. (1897.)

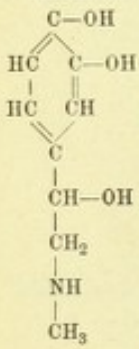
Wasser verdünnte Lösung, um Phenol und Kresol ganz zu entfernen. Nach dem Erkalten wird mit Aether extrahiert. Beim Verdunsten der abgegossenen Aetherauszüge bleiben Brenzcatechin und Hydrochinon als Syrup zurück, der krystallinisch erstarrt, wenn nicht sehr wenig Hydrochinon sich darin befindet. Man löst den Rückstand in Wasser und fällt die Lösung mit Bleiacetat aus unter Vermeidung eines Ueberschusses. Hierdurch wird Brenzcatechin gefällt, Hydrochinon nicht. Der Bleiniederschlag wird in Wasser zerteilt, mit Schwefelsäure zerlegt und mit Aether geschüttelt. Beim Verdunsten der abgegossenen Aetherlösung bleibt Brenzcatechin in kaum gefärbten Prismen zurück, wenn seine Quantität nicht sehr gering ist. Die vom Bleiniederschlag abfiltrierte Flüssigkeit wird angesäuert und mit Aether extrahiert. Die abgegossene Aetherlösung hinterlässt beim Verdunsten das Hydrochinon als gelben bis braunen Rückstand, der bald krystallinisch erstarrt. Durch Umkrystallisieren aus heissem Benzol oder Toluol wird es rein gewonnen.

Isolierung. Um Brenzcatechin für die Zwecke des Nachweises zu isolieren, destilliert man den mit Salzsäure versetzten Harn bis keine flüchtigen Phenole mehr entweichen (§ 191), schüttelt die zurückgebliebene Flüssigkeit nach dem Erkalten mit Aether und den Aetherauszug mit verdünnter Sodalösung. Der Aether wird verdunstet, der Rückstand mit wenig Wasser aufgenommen und die filtrierte wässerige Lösung, wie weiter unten angegeben, auf Brenzcatechin geprüft.

Eigenschaften. Brenzcatechin schmilzt bei 104°, siedet ohne Zersetzung bei 245,5° und sublimiert schon vorher zu glänzenden Krystallblättchen. Es löst sich leicht in Wasser, Alkohol, Aether und kaltem Benzol. Seine wässerige Lösung wird durch Bleiacetat gefällt; sie färbt sich mit Eisenchlorid grün, bei nachherigem Zusatz von Natriumbicarbonat oder Ammoniak violett. Mit salpetersaurem Silber und etwas Ammoniak tritt Reduction von Silber ein, ebenso wird Fehling'sche Lösung beim Erwärmen reduciert. Durch Alkalien werden seine Lösungen unter Braunfärbung zersetzt.

Nachweis. Zum Nachweis des Brenzcatechins dient besonders das Verhalten seiner wässerigen Lösung gegen Eisenchlorid und gegen Silbernitrat und Ammoniak.

Vorkommen. 193. **Adrenalin** (Suprarenin) $C_9H_{13}NO_3$, die blutdrucksteigernde Substanz



aus den Nebennieren, wurde zuerst von Takamine[1]) und von Aldrich[2]) krystallinisch erhalten; die empirische Zusammensetzung ist erst durch Pauly[3]) sicher festgestellt, die Constitution durch die Untersuchungen von Takamine, v. Fürth[4]), Pauly, Stolz[5]), Friedmann[6]) ermittelt.

1) Amer. J. Pharm. **73**. 523. (1901.), Ref. C. C. 1901. **2**. 1354.
2) A. J. of Ph. **5**. 457. (1901.)
3) B. **36**. 2944. (1903.), **37**. 1388. (1904.)
4) M. **24**. 261. (1903.)
5) B. **37**. 4149. (1904.)
6) B. Ph. P. **8**. 95. (1906.)

Was die Synthese betrifft, so ist von Stolz das Methylaminoacetobrenzcatechin dargestellt worden. Friedmann hat diesen Körper (das sogenannte Adrenalon) in das Tribenzolsulfomethylaminoacetobrenzcatechin übergeführt und nachgewiesen, dass diese synthetische Substanz identisch ist mit dem Product, welches durch Oxydation des Tribenzolsulfoadrenalins mit Chromsäure entsteht.

Darstellung.

1. Darstellung nach Abel[1]). Man versetzt etwa 1 kg zerkleinerte Nebennieren (von Ochsen) in einer Flasche portionsweise in kleinen Mengen mit (im Ganzen ca. 450 ccm) einer 3,5 proc. absolut alkoholischen Lösung von Trichloressigsäure, indem man nach jedem Zusatz heftig schüttelt. Am nächsten Tage saugt man ab, concentriert im Vacuum auf etwa $^1/_{15}$, saugt von dem flockigen Niederschlag ab und versetzt das klare Filtrat unter beständigem Umrühren allmählich mit Ammoniak (0,94 spec. Gewicht), worauf eine krystallinische Abscheidung (Takamine) erfolgt, welche beendet ist, wenn der Ammoniakgeruch nicht mehr verschwindet. Die krystallinischen Ausscheidungen werden sofort abfiltriert, mit Wasser, Alkohol, Aether gewaschen. Man kann die Extraction noch ein zweites und drittes Mal unter Benutzung von etwa 0,6 pCt. Trichloressigsäure enthaltendem 60—70 proc. Alkohol wiederholen. Ausbeute an aschehaltigem Rohpräparat aus 11 kg Drüsen etwa 35 g. Zur Reinigung benutzt man Oxalsäure (Abel) u. z. löst man nach Pauly[2]) z. B. 12 g in 50 ccm 85—90 proc. Alkohol, der 7 g reinste Oxalsäure enthält, unter sorgfältigem Verreiben mit dem Glasstab, filtriert von ausgeschiedenen Flocken ab, fügt 100 ccm Wasser zu dem Filtrat und fällt mit Ammoniak. Nach Wiederholung dieses Verfahres löst man in $n/_2$ Salzsäure und nach Fällung mit $n/_2$ Ammoniak, nochmals in $n/_2$ Essigsäure, um wieder mit $n/_2$ Ammoniak zu fällen. Die Substanz wird abfiltriert, mit Wasser, Alkohol, Aether gewaschen.

Abderhalden u. Bergell[3]) machen auf die Veränderung, welche die Substanz während der Darstellung durch Oxydation erfährt, aufmerksam und empfehlen die Drüsen mit essigsäurehaltigem Alkohol unter Einleiten von Wasserstoff bei gewöhnlicher Temperatur zu extrahieren und auch beim Umfällen Wasserstoff einzuleiten.

2. Darstellung nach v. Fürth[4]). Man kocht die zerkleinerten Drüsen mit angesäuertem Wasser unter Zusatz von etwas Zinkstaub wiederholt aus, engt die Filtrate im Vacuum und im Kohlensäurestrom bei etwa 50° ein, fällt mit dem mehrfachen Volumen Methylalkohol und versetzt mit neutralem Bleiacetat, so lange noch ein Niederschlag entsteht. Die abgetrennte, durch Schwefelwasserstoff vom überschüssigen Blei befreite, Flüssigkeit wird im Vacuum unter Kohlensäuredurchleiten vom Alkohol befreit, stark eingeengt und mit conc. Ammoniak versetzt. Die krystallinischen

1) B. **36**. 1839. (1903.)
2) B. **36**. 2944. (1903.)
3) B. **37**. 2022. (1904.)
4) M. **24**. 261. (1903.)

Abscheidungen werden abgesaugt, mit Wasser, Alkohol, Aether gewaschen. Sie stellen jetzt ein lichtbraunes, Asche enthaltendes, Pulver dar, werden aber durch 5—6 maliges Lösen in verdünnter Salzsäure und Fällen mit Ammoniak und häufiges Waschen mit Wasser aschefrei und schneeweiss.

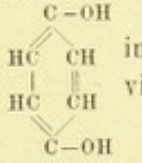
Eigenschaften. Mikroskopisch zu Sternen gruppierte Nädelchen oder spitze Blättchen. Zersetzungspunkt 212° (corr. 216°). Es ist wenig löslich in kaltem, leichter in warmem Wasser. Die wässerige Lösung reagiert alkalisch und oxydiert sich an der Luft leicht unter Rotfärbung. Es ist in Säuren und fixen Alkalien (nicht in Ammoniak und Alkalicarbonatlösungen) leicht löslich. Die Alkaloidreagentien fällen nicht (Takamine). Die Salze sind noch nicht krystallisiert erhalten worden. Durch Eisenchlorid wird die Lösung smaragdgrün, auf Zusatz von Alkali wird die Farbe rot, bei Neutralisation mit Säuren wieder grün.

Optische Eigenschaften. Adrenalinacetat zeigt in 2,82 proc. wässeriger Lösung $[\alpha]_D^{23,5^0} = -43^0$ (Pauly). Jowett[1]) findet für 2 proc. Lösung in verdünnter Essigsäure $[\alpha]_D = -32{,}0^0$.

Umwandlungen. Durch Einwirkung von concentrierter Schwefelsäure, durch kurze Einwirkung von verdünnter Mineralsäure unter einem Druck von 2—3 Atmosphären, auch durch kurzdauerndes Erhitzen der trocknen Substanz im Vacuum bei 117° geht Adrenalin in eine Verbindung mit den Eigenschaften eines Alkaloids, Epinephrin $C_{10}H_{13}NO_3$, über (Abel).

Beim Schmelzen mit Kali entsteht aus Adrenalin Protocatechusäure (Takamine, v. Fürth), beim Erhitzen mit Halogenwasserstoffsäure, beim Erwärmen mit Alkalien wird Methylamin abgespalten (v. Fürth, Pauly). Durch Sepiatyrosinase wird Adrenalin zu einem schwarzen Farbstoff oxydiert, durch einen aus Nebennierenmelanom gewonnenen Auszug wurde es in ein dunkles Product umgewandelt (Neuberg[2]).

Vorkommen.



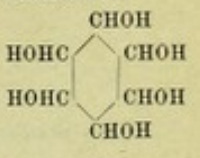
194. **Hydrochinon** $C_6H_6O_2$. Hydrochinon wurde als Hydrochinonschwefelsäure im Harn von Menschen und Tieren gefunden, denen Benzol oder Phenol beigebracht war, vielleicht enthält auch der normale Harn sehr geringe Spuren davon (E. Baumann[3]).

Ueber seine Darstellung aus Harn siehe § 192.

Eigenschaften. Es schmilzt bei 169°, löst sich in Wasser im Verhältnis 1 : 17 bei 15°, leicht in Alkohol oder Aether, sehr schwer in kaltem Benzol. Seine wässerige Lösung wird durch Bleiacetat nicht gefällt. Erhitzt man eine kleine Portion Hydrochinon im offenen Probierrohre, so färbt sich das Sublimat indigoblau. Durch oxydierende Substanzen, z. B. beim Kochen mit Eisenchlorid, verwandelt es sich in Chinon, dessen eigentümlicher starker Geruch es leicht erkennen lässt. Das Chinon sublimiert schon bei gewöhnlicher Temperatur und bildet goldgelbe Prismen. Wässerige Lösung von Hydrochinon reduciert Silber aus Silbernitratlösung sogleich in der Kälte und wird durch Ammoniak braun gefärbt. Mit Millon's Reagens werden Lösungen von Hydrochinon in der Kälte gelb gefärbt, nach kurzer Zeit entsteht ein gelber Niederschlag, der sich beim Erhitzen ziegelrot färbt.

1) J. Ch. S. **85**. 192. (1904.)
2) B. Z. **8**. 383. (1908.)
3) H.-S. **6**. 183. (1882.)

195. **i-Inosit***) **(Phaseomannit)** $C_6H_{12}O_6$ in verschiedenen Pflanzen, im frischen Traubensaft und im Wein, besonders in grünen Bohnen enthalten und daraus leicht in grösserer Quantität darzustellen, findet sich in geringer Menge im Herzfleische, auch in anderen Muskeln, besonders bei Säufern, in der Leber, Milz, Lunge, in den Nieren, Nebennieren, Leukocyten, im Gehirn. Im Harn ist Inosit besonders bei Albuminurie und bei Diabetes mellitus aber nur in geringer Menge und keineswegs regelmässig gefunden. Auch bei Diabetes insipidus ist er wiederholt im Harn nachgewiesen, in andern Fällen vermisst worden. Nach reichlichem Wassertrinken erscheint er im Harn. Nach Hoppe-Seyler finden sich Spuren in jedem normalen Harn. Auch die Flüssigkeit von Echinokokken in der Leber enthält etwas Inosit. In den Pflanzensamen ist eine Substanz (Phytin[1]) gefunden worden, welche bei der Spaltung Inosit und Phosphorsäure liefert. Vorkommen.



Zur Isolierung aus Gewebsflüssigkeiten fällt man nach Bödeker[2]) die Flüssigkeiten (wässerige Extrakte der Muskeln, Drüsen, Lunge u. s. w.) nach Coagulation und Enfernung der Proteine mit Bleizucker, filtrirt und fällt nun in der Hitze mit Bleiessig. Der Niederschlag, welcher den Inosit enthält, wird in Wasser zerteilt, mit Schwefelwasserstoff zersetzt, das Filtrat vom Schwefelblei stark eingeengt und kochend heiss mit dem drei- bis vierfachen Volumen Alkohol versetzt. Entsteht hierdurch ein starker, am Glase haftender Niederschlag, so giesst man die heisse alkoholische Lösung einfach ab; entsteht aber ein flockiger, nicht klebriger Niederschlag, so filtriert man sie durch einen zuvor erhitzten Trichter und lässt erkalten. Wenn sich nach 24 Stunden Gruppen von Inositkrystallen abgesetzt haben, so filtriert man und spült die Krystalle mit wenig kaltem Alkohol ab. In diesem Falle ist es ratsam, um keinen Verlust an Inosit zu erleiden, den auf Zusatz von heissem Alkohol erhaltenen Niederschlag, in wenig kochendem Wasser zu lösen, die heisse Lösung wiederum mit dem drei- bis vierfachen Volumen Alkohol zu fällen und, wie oben angegeben, weiter zu verfahren. Haben sich aber keine Inositkrystalle abgeschieden, so versetzt man das klare alkoholische Filtrat nach und nach unter Umschütteln mit Aether, bis eine geringe milchige Trübung nicht wieder verschwindet und lässt dann 24 Stunden stehen. Hat man hinreichend Aether zugesetzt (ein Ueberschuss von Aether Isolierung.

*) Von den Hexahydrohexaoxybenzolen sind bis jetzt bekannt i-Inosit, Scyllit (§ 196), l-, d-, und ld-Inosit. l- und d-Inosit kommen im Pflanzenreich als Methyläther (Quebrachit und Pinit) vor, ld-Inosit ist in der Mistel gefunden worden (Tanret, Ref. C. C. 1908. **1**. 534.) Ein weiteres Isomeres, Cocosit, ist vor Kurzem aus Blättern von Cocos erhalten worden (H. Müller, J. Ch. S. **91**. 1766. (1907.)

1) Winterstein, B. **30**. 2299. (1877.)
E. Schulze u. Winterstein, H.-S. **40**. 120. (1903/04.)
Posternak, Ref. C. C. 1903. **2**. 673, 728, 796, 1904. **1**. 327, 328.
Suzuki u. Yoshimura, Ref. C. C. 1907. **2**. 1636 u. 1637.
Neuberg, B. Z. **9**. 557. (1908.)

2) A. **117**. 118. (1861.)

schadet nicht, bewirkt nur die Bildung kleinerer Krystalle), so ist aller Inosit in Form schön perlmutterglänzender Blättchen abgeschieden. Wegen der Isolierung aus Harn siehe Harn.

Eigenschaften. Inosit krystallisiert mit 2 Mol. Wasser, in reinem Zustande in farblosen, grossen, rhomboedrischen Krystallen des monoklinoedrischen Systems, im unreinen in zarten dendritischen Vegetationen. In trockner Luft und bei 100° verlieren die Krystalle das Krystallwasser. Getrocknet schmelzen sie bei 225° und beim Erkalten erstarrt die Masse zu feinen Nadeln. Er löst sich leicht in Wasser (1 : 75), ist dagegen in starkem Alkohol oder Aether unlöslich. Die wässerige Lösung besitzt süssen Geschmack, gibt mit Hefe versetzt keine alkoholische Gärung, bewirkt keine Circumpolarisation, löst Kupferoxydhydrat, ohne es beim Kochen zu reducieren, und wird durch Bleiessig bei gewöhnlicher Temperatur nach einiger Zeit, beim Kochen sogleich gallertig gefällt. Auch überschüssiges Kupferacetat fällt Inosit vollständig aus einer mit Ammoniak neutralisierten Lösung (Meillère[1]). Mit Phenylhydrazin gibt Inosit keine Verbindung. Beim Erhitzen von entwässertem Inosit mit Acetylchlorid am Rückflusskühler auf 50° erhält man Hexaacetylinosit, bei 200° sublimierende und bei 212° schmelzende Krystalle; ferner ist Hexabenzoylinosit[2]), bei 258° schmelzende Nadeln, dargestellt. Mit concentrierter Salpetersäure digeriert geht Inosit in das Hexanitrat über, welches durch Schwefelsäure gefällt wird, in Alkohol löslich ist und Silberoxyd sowie Kupferoxydhydrat reduciert.

Umwandlung. Durch Kochen mit Salzsäure oder verdünnter Schwefelsäure oder Alkalien wird Inosit nicht verändert. Mit Jodwasserstoff auf 170° erhitzt bildet er etwas Benzol und Trijodphenol. Bei der trockenen Destillation entsteht etwas Furfurol (Neuberg[3]). Bei Gegenwart von faulenden Eiweissstoffen zerfällt er in wässeriger Lösung unter Bildung von Milchsäure und Buttersäure u. z. ist sowohl i- als d-Milchsäure (Vohl[4]), Hilger[5]) gefunden worden. Kaninchen wandeln ihn in i-Milchsäure um (P. Mayer[6]).

Nachweis. Zum Nachweis des Inosits, dem die Isolierung vorangehen muss, dienen folgende Reactionen.

1. Scherer's Probe[7]). Verdunstet man eine kleine Menge mit Salpetersäure auf dem Platinblech oder im Schälchen fast zur Trockne, fügt zum Rückstand etwas Ammoniak und einen Tropfen Chlorcalciumlösung und dampft vorsichtig zur Trockne, so erhält man eine schön rosarote Färbung (Rhodizonsäure). Diese Reaction gelingt aber nur, wenn der Inosit schon ziemlich rein ist.

---

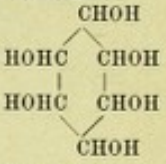
1) J. de Ph. Ch. (6.) **26**. 300. (1907.)
2) Maquenne, C. r. **104**. 225, 297 u. 1719. (1887.)
Fick, Pharm. Zeitschr. f. Russland. **26**.
3) B. Z. **9**. 551. (1908.)
4) B. **9**. 984. (1876.)
5) A. **160**. 333. (1871.)
6) B. f. **9**. 533. (1908.)
7) A. **81**. 375. (1852.)

Boedecker[1]) empfiehlt das Ammoniak fortzulassen und das Erhitzen bis zum Grau- oder Schwarzwerden fortzusetzen, falls die Färbung nicht früher eintritt. Nach Salkowski gelingt die Probe sicherer, wenn man zunächst mit einigen Tropfen Chlorcalciumlösung zur Trockne verdunstet, den Rückstand mit Salpetersäure befeuchtet und wieder verdunstet.

2. Seidel's Probe[2]). Die Ausführung ist dieselbe, man verwendet nur statt des Chlorcalciums wenige Tropfen einer Strontiumacetatlösung, worauf sich eine Grünfärbung mit violettem Niederschlag zeigt. Diese Reaction gelingt noch mit 0,3 mg Inosit.

3. Gallois' Probe[3]). Verdunstet man eine Inositlösung bei gelinder Wärme nahezu zur Trockne, fügt ein Tröpfchen Mercurinitratlösung hinzu und bringt wieder vorsichtig zur Trockne, so erhält man einen gelblich weissen Rückstand, der bei weiterem vorsichtigen Erwärmen dunkelrosenrot wird. Beim Erkalten verschwindet die Färbung, kommt aber beim Erwärmen wieder.

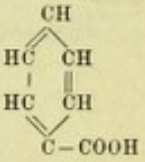
196. **Scyllit***) $C_6H_{12}O_6$ wurde von Staedeler und Frerichs[4]) in Leber, Kiemen, Milz, besonders in den Nieren von Rochen und Haifischen gefunden. Seine Zusammensetzung und seine Beziehung zum Inosit sind erst durch J. Müller[5]) festgestellt. Vorkommen.



Er krystallisiert ohne Krystallwasser, schmeckt schwach süsslich, ist in Wasser wenig löslich (bei 18° etwa 1 : 100), in absolutem Alkohol unlöslich. Er schmilzt über 340°, schätzungsweise gegen 360°. Er wird durch basisches Bleiacetat kleisterartig gefällt, durch Kochen mit Natronlauge nicht verändert, auch nicht durch Salpetersäure, in der er sich beim Erhitzen langsam ohne Zersetzung löst. Er ist optisch inactiv, reduciert nicht Fehling'sche Lösung. Hexacetylscyllit in Wasser unlöslich, schmilzt ebenfalls sehr hoch. Scyllit gibt die Probe von Scherer (§ 195) aber nur, wenn man sie ohne Ammoniak anstellt, und die Probe von Gallois (§ 195). Eigenschaften.

Aromatische Säuren.

197. **Benzoesäure** $C_7H_6O_2$ tritt im frischen Harn nur nach reichlicher Zufuhr von Benzoesäure auf; sie findet sich im Harn zahlreicher Pflanzenfresser (Pferde, Wiederkäuer, Pachydermen, Nager), wenn derselbe einige Zeit gestanden hat, allmählich aus der Hippursäure durch bacterielle Zersetzung entstehend. Der menschliche Harn enthält auch nach mehrtägigem Stehen meist nur sehr geringe Mengen. Sie entsteht auch bei der Oxydation von Proteinen. Vorkommen.



Man stellt sie dar durch vorsichtige Sublimation von Benzoeharz oder durch viertelstündiges Kochen von Hippursäure mit conc. Salzsäure. Darstellung.

---

*) Siehe *Anmerkung auf Seite 271.

1) Zeitschr. f. rat. Med. (3.) **10**. 162. (1861.)
2) Dissert. Dorpat. 1884.
3) Z. anal. Ch. **4**. 264. (1865.)
4) J. f. pr. Ch. **73**. 48. (1858.)
5) B. **40**. 1821. (1907.)

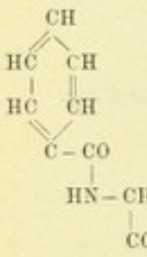
Zur Isolierung aus Flüssigkeiten werden dieselben nach Zusatz von Natriumcarbonat eingedampft; den syrupartigen Rückstand extrahiert man zunächst zur Entfernung von Fett mit Aether, fügt dann Schwefelsäure hinzu und schüttelt wieder mehrmals mit Aether aus. Im Rückstand des Aetherauszugs können neben der Benzoesäure Fettsäuren, Milchsäure, Hippursäure, Bernsteinsäure, Oxalsäure vorhanden sein. Durch Abspülen mit wenig kaltem Wasser lassen sich Milchsäure, Essigsäure und Buttersäure entfernen; durch Lösen in viel Wasser lässt sich die Benzoesäure von den höheren Fettsäuren, durch Lösen in Petroläther von der Hippursäure befreien. Von Bernsteinsäure und Oxalsäure trennt man sie durch die Unlöslichkeit des bernsteinsauren Kalks in Alkohol und des oxalsauren Kalks in Wasser.

Eigenschaften. Die Benzoesäure, besonders die sublimierte, bildet grosse, langgestreckte, dünne, biegsame, farblose Tafeln von rechteckiger Form. Bei der Ausfällung durch Säure aus den Lösungen der benzoesauren Salze erhält man meist sehr schlecht begrenzte Krystalle. Sie schmilzt bei 121,25° und siedet unzersetzt bei 250°. Die Dämpfe reizen die Schleimhäute. Sie löst sich leicht in Alkohol, Essigäther, Benzol, auch leicht in Aether, weniger leicht in Petroläther, schwer in kaltem (1 g in 370 ccm bei 18°), leichter in heissem Wasser. Beim Kochen ihrer wässerigen Lösungen verflüchtigt sie sich reichlich mit den Wasserdämpfen. Die Verbindungen mit Alkalien, Kalk und Magnesia sind in Wasser leicht löslich, die Silber-, Blei- und Quecksilberverbindungen fast unlöslich. Benzoesaures Ammoniak verliert an der Luft Ammoniak. Mit neutralem Eisenchlorid geben neutrale Lösungen benzoesaurer Salze voluminöse Niederschläge von benzoesaurem Eisen.

Kochen mit conc. Salzsäure greift die Säure nicht an, Kochen mit conc. Salpetersäure verwandelt sie in Nitrobenzoesäure. Mit Alkali oder Natronkalk stark erhitzt zersetzt sie sich zu Kohlensäure und Benzol. Kocht man Benzoesäure mit etwas starker Salpetersäure in einer Porzellanschale stark ein und erhitzt dann stärker, so tritt der Geruch nach Bittermandelöl (Nitrobenzol) auf (Lücke'sche Reaction).

Nachweis. Zum Nachweis der Benzoesäure dient ausser der Krystallform, der Sublimierbarkeit und den Löslichkeitsverhältnissen besonders die zuletzt angeführte Reaction.

Vorkommen. 198. **Hippursäure** $C_9H_9NO_3$ findet sich fast constant reichlich im frischen Harne von Pferden, Wiederkäuern, Pachydermen und anderen pflanzenfressenden Säugetieren, in geringer Menge im Harne von Menschen, auch oft bei reiner Fleischkost oder lange dauernder Inanition. Auch im Hundeharn ist sie in kleinen Mengen vorhanden, fehlt aber bei völligem Ausschluss der Darmfäulnis (Baumann[1]). Im Harne von Schildkröten und mehreren Insectenarten ist sie gleichfalls gefunden, nie dagegen im Vogel-



1) H.-S. **10**. 123. (1886.)

harne. Sie tritt im Harne von Menschen, Hunden usw. reichlich auf nach Einführung von Benzoesäure oder Zimmtsäure, Toluol, Bittermandelöl, Chinasäure, Phenylpropionsäure usw., reichlicher auch nach Genuss von Beerenfrüchten. Nach Zufuhr von Benzoesäure ist Hippursäure in geringer Menge im Schweisse gefunden, dagegen im Rinderblut vergeblich gesucht worden. Die ausgeschnittenen, noch lebenden Nieren vom Hunde bilden bei der künstlichen Durchströmung mit Blut, welches Benzoesäure und Glykocoll enthält, noch Hippursäure; bei Kaninchen können auch andere Organe diese Function erfüllen.

Darstellung.

Synthetisch stellt man Hippursäure dar durch allmähliches Eintragen von trocknem Glykocoll in erhitztes Benzoesäureanhydrid und Erwärmen im Oelbade, bis die Masse sich rot färbt (Curtius[1]) oder noch besser nach der von Baum[2]) angewendeten Methode: Man löst Glykocoll in wenig Wasser, fügt einige Tropfen Natronlauge hinzu, schüttelt mit Benzoylchlorid, das allmählich im Ueberschuss zugesetzt wird, und macht schliesslich mit Natronlauge stark alkalisch. Auf Zusatz von Salz- oder Schwefelsäure fällt ein Gemenge von Benzoesäure und Hippursäure aus, dem man durch Extraction mit Aether die Benzoesäure entzieht. Die zurückbleibende Hippursäure wird aus heissem Wasser umkrystallisiert.

Darstellung aus Pferde- oder Rinderharn.

Zur Darstellung aus Pferde- oder Rinderharn dampft man den frischen Harn auf kleines Volumen ein und fügt nach dem Erkalten unter gutem Umrühren starke Salzsäure hinzu. Die auskrystallisierte Säure wird nach 24 Stunden abgesaugt, ausgewaschen und aus heissem Wasser umkrystallisiert. Um den Farbstoff zu entfernen, kann man sie in sehr verdünnter Natronlauge lösen, zum Sieden erhitzen, unterchlorigsaures Natron in kleinen Portionen bis zur Entfärbung hinzufügen und nach dem Erkalten durch Salzsäure wieder die Ausscheidung bewirken oder man kann in die heisse wässerige Lösung der freien Säure Chlor einleiten, bis die Flüssigkeit darnach riecht, schnell filtrieren und die ausgeschiedene Säure unter Zusatz von Tierkohle mehrmals umkrystallisieren (Curtius[3]).

Isolierung aus Menschenharn.

Zur Isolierung der Hippursäure aus Menschenharn oder andern Harnen, die nur geringe Mengen enthalten, verdampft man die schwach alkalisch gemachte Flüssigkeit auf dem Wasserbade zum dicken Syrup, extrahiert mit Alkohol, dampft den alkoholischen Auszug ein, säuert ihn mit Salzsäure an und schüttelt wiederholt mit Essigäther aus. Die abgegossenen Essigätherlösungen wäscht man mit kleinen Mengen Wasser oder Kochsalzlösung, verdunstet den Essigäther und erschöpft den Rückstand mit frisch destilliertem Petroläther, welcher die Benzoesäure aufnimmt, die Hippursäure ungelöst lässt (Schmiedeberg und Bunge[4]).

---

1) B. **17**. 1662. (1884.) 2) H.-S. **9**. 465. (1885.)
3) J. f. pr. Ch. N.-F. **26**. 145. (1882.)
4) A. exp. P. u. Ph. **6**. 233. (1877.)

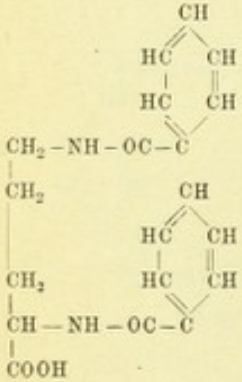
Eigenschaften. Die Hippursäure scheidet sich beim langsamen Erkalten der heiss gesättigten Lösung meist in harten, zerbrechlichen, langen, vierseitigen Prismen mit zwei oder vier Pyramidenflächen am Ende ab, die dem rhombischen System zugehören. Sie lösen sich in 600 Tl. Wasser von 0°, viel reichlicher in heissem Wasser, leicht in Alkohol, wenig in Aether, besser in Essigäther, gar nicht in Petroläther, Benzol, Schwefelkohlenstoff. Trocken erhitzt schmilzt die Hippursäure bei 187°. Sie verflüchtigt sich nicht mit Wasserdämpfen.

Die hippursauren Salze sind meist in Wasser löslich, besonders leicht die Salze der Alkalien und alkalischen Erden. Hippursaures Silber löst sich in heissem Wasser und scheidet sich beim Erkalten in weissen, seideglänzenden Nadeln ab. Hippursaures Eisenoxyd ist ein hellbrauner Niederschlag, der in Wasser sehr schwer, in Harn leichter löslich ist. Bei gewöhnlicher Temperatur geben neutrale hippursaure Salze mit Eisenchlorid einen Niederschlag, der auf 1 Atom Eisen 2 Mol. Hippursäure enthält, beim Erhitzen der Flüssigkeit wird Hippursäure daraus frei und der Niederschlag enthält dann auf 1 Atom Eisen 1 Mol. Hippursäure.

Umwandlungen. Beim Erhitzen über ihren Schmelzpunkt färbt sich Hippursäure rot und zersetzt sich unter Bildung von Benzoesäure, welche sublimiert, Blausäure und Benzonitril, welche einen bittermandelartigen Geruch bewirken. Beim Kochen mit Wasser wird Hippursäure nicht verändert, aber beim Kochen mit starker Salzsäure, schneller beim Kochen mit starker Alkalilauge unter Wasseraufnahme in Glykocoll und Benzoesäure gespalten. Dieselbe Spaltung vollzieht sich beim Stehen und Faulen hippursäurehaltigen Harns oder nach Zusatz von faulenden Massen zu verdünnten wässerigen Lösungen hippursaurer Salze. Die Lücke'sche Reaction (siehe § 197) fällt auch mit der Hippursäure positiv aus.

Nachweis. Zum Nachweis der Hippursäure dienen die Krystallform, der Schmelzpunkt, das Verhalten beim Erhitzen über den Schmelzpunkt, die Löslichkeitsverhältnisse, sowie auch die Lücke'sche Reaction. Zur Erkennung sehr kleiner Mengen von Hippursäure empfiehlt K. Spiro[1]) die Lactimidprobe (Condensation der Hippursäure mit Benzaldehyd).

Vorkommen. 199. **Ornithursäure (Dibenzoylornithin) $C_{19}H_{20}N_2O_4$.** Diese von Jaffe[2]) entdeckte Säure ist in den beiden activen und der inactiven Modifikation bekannt. Sie erscheint als d-Ornithursäure (an Stelle der Hippursäure) im Harn von Vögeln nach Eingabe von Benzoesäure (Jaffe).



Zu ihrer synthetischen Darstellung schüttelt man eine wässerige Lösung von Ornithin mit Benzoylchlorid und Natronlauge, säuert mit Salzsäure an, filtriert den entstandenen Niederschlag ab und löst ihn nach wiederholter Behandlung mit kochendem Wasser in heissem Alkohol. Beim Verdunsten

1) H.-S. **28**. 174. (1899.)
2) B. **10**. 1926. (1876.), **11**. 406. (1878.)

der alkoholischen Lösung krystallisiert Ornithursäure heraus (E. Schulze und Winterstein[1]). Die so aus inactivem Ornithin erhaltene inactive Ornithursäure lässt sich mittelst der Brucin- und Cinchoninsalze in die optisch activen Formen spalten (Sörensen[2]). Ueber die complicierte Darstellung aus Harn siehe die Arbeit von Jaffe.

Eigenschaften.

Die Säure krystallisiert ohne Krystallwasser in sehr kleinen, farblosen Nadeln, die sehr schwer löslich in heissem Wasser und in Aether so gut wie unlöslich sind. Sie lösen sich leichter in Essigäther, am leichtesten in heissem Alkohol, beim Erkalten sich grossenteils ausscheidend. Die Lösungen röten Lacmus. Schmelzpunkt der activen und inactiven Säure 184—185°. Beim stärkeren Erhitzen tritt Bittermandelgeruch und wolliges Sublimat, ähnlich wie beim Leucin auf. In nicht ganz reinem Zustande abgeschieden, bildet sie zunächst milchige Trübung, dann eine pflasterartige Masse, die allmählich krystallisiert; im reinen Zustande scheidet sie sich gleich krystallinisch aus. Ihre Verbindungen mit Alkalien sind in Wasser mit neutraler Reaction löslich. Das Barytsalz ist in Wasser und Alkohol leicht löslich, in Aether unlöslich. Das Kalksalz, welches beim Erhitzen der wässerigen Lösung von ornithursaurem Ammoniak mit Chlorcalcium sich krystallinisch abscheidet, ist in Wasser sehr schwer, in Alkohol und Aether unlöslich. Das Kalksalz der activen Säure krystallisiert in Nadeln und ohne Krystallwasser, das der inactiven in Blättchen und mit einem Molekül Krystallwasser (Sörensen).

Optische Eigenschaften.

Eine schwach alkalische etwa 10 proc. Lösung des Natronsalzes zeigt $[\alpha]_D = +$ bzw. $-$ 9,2—9,3°. Mit steigender Concentration nimmt die Drehung etwas ab (Sörensen).

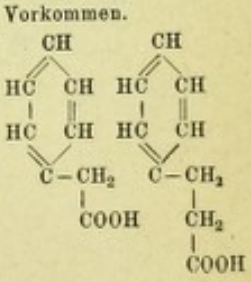
E. Fischer[3]) fand für eine wässerige etwa 10 proc. Lösung der d-Säure bei Gegenwart von etwas Alkali $[\alpha]_D^{20°} = +$ 7,85°. Dieser niedrigere Wert ist wohl durch beigemengte racemische Säure bedingt.

Umwandlungen.

Beim Kochen mit starker Salzsäure zerfällt die Ornithursäure zunächst in Benzoesäure und Monobenzoylornithin und weiter in Benzoesäure und Ornithin. Das Monobenzoylornithin $C_5H_{11}N_2O_2 . C_6H_5CO$ bildet farblose, zarte, weiche Nadeln (Smp. 225—240°), das dl-Monobenzoylornithin glänzende Blättchen (E. Fischer[3]), welche etwas höher schmelzen (Sörensen). Es ist leicht löslich in Wasser, unlöslich in Aether, fast unlöslich in Alkohol, gibt mit Mineralsäuren leicht lösliche Salze, aus deren concentrierter Lösung fällbar durch Neutralisation oder Zusatz von essigsaurem Alkali.

Vorkommen.

200. **Phenylessigsäure $C_8H_8O_2$, β-Phenylpropionsäure (Hydrozimmtsäure) $C_9H_{10}N_2$** wurden von E. und H. Salkowski[4]) als Producte der



1) H.-S. **26**. 1. (1898/99.)
2) C. r. du Labor. de Carlsberg. **6**. 1. (1903), **6**. 209. (1905.)
3) B. **34**. 454. (1901.)
4) B. **12**. 107 u. 653. (1879.), H.-S. **9**. 8 u. 491. (1876.), **10**. 150. (1877.)

Eiweissfäulnis erhalten. Bei sehr langer Dauer der Fäulnis kann die Phenylessigsäure überwiegen, bei sehr kurzer Dauer vielleicht fehlen. Beide Säuren oder nur die Phenylpropionsäure sind auch bei der Zersetzung von Eiweiss und Leim durch anaerobe Bacterien (Rauschbrandbacillen, Bac. liquef. magnus Nencki[1]), bei der Fäulnis des Gehirns (Stöckly[2]) und im Panseninhalt des Rindes bei Heufütterung (Tappeiner[3]) gefunden.

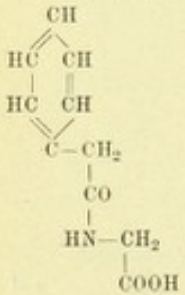
Darstellung. Synthetisch erhält man Phenylessigsäure am Besten nach Mann[4]) und Städel[5]) durch Kochen von Benzylchlorid mit alkoholischem Cyankalium und Verseifen des Cyanids mit wenig verdünnter Schwefelsäure, Phenylpropionsäure aus Zimmtsäure durch Einwirkung von Natriumamalgam.

Die Darstellung aus Fäulnisgemischen geschieht nach § 221. Es ist nötig, grössere Mengen von Eiweiss faulen zu lassen. Aus 2 kg Fleisch erhielten E. und H. Salkowski etwa 5—6 g eines Gemisches der beiden Säuren. Zur Trennung verreibt man die ölige Flüssigkeit mit Zinkoxyd und Wasser, kocht den Brei mit grossen Mengen Wasser aus und filtriert heiss. Der Rückstand enthält das phenylpropionsaure Zink, das Filtrat, abgesehen von kleinen Mengen einer anders schmelzenden Substanz, welche sich beim Erkalten abscheidet, und von der man abfiltriert, phenylessigsaures Zink. Dasselbe scheidet sich beim Eindampfen ab. Durch Zersetzen der Zinksalze mit Salzsäure gewinnt man die freien Säuren.

Trennung von Phenylessigsäure u. Phenylpropionsäure.

Eigenschaften. Die Phenylessigsäure krystallisiert in breiten Blättchen, schmilzt bei 76,5° und siedet bei 262°, die Phenylproprionsäure krystallisiert in langen feinen Nadeln, schmilzt bei 48,7° und siedet bei 280°. Beide lösen sich reichlich in heissem Wasser, leicht in Alkohol oder Aether, wenig in kaltem Wasser. Beide werden durch Chromsäure zu Benzoesäure oxydiert und geben die Lücke'sche Reaction (S. 274). In den Körper eingeführte Phenylessigsäure erscheint im Harn als Phenacetursäure, in den Körper eingeführte Phenylproprionsäure als Hippursäure.

Vorkommen. 201. **Phenacetursäure** $C_{10}H_{11}NO_3$ findet sich nach E. u. H. Salkowski[6]), welche sie entdeckten, im normalen Pferdeharn und wahrscheinlich gelegentlich auch im normalen Menschenharn. In den Körper von Hunden und Kaninchen eingeführte Phenylessigsäure erscheint im Harn als Phenacetursäure.



Synthetisch wurde sie durch Einwirkung von Glykocoll in alkalischer Lösung auf Phenylessigsäurechlorid erhalten (Hotter[7]). Um sie aus Pferdeharn zu gewinnen, dampft man nach Salkowski 1 Liter auf 200 ccm ein, extrahiert den Rückstand mit Alkohol, verdunstet den Auszug, löst

1) M. **10**. 506 u. 908. (1889.)
2) J. f. pr. Ch. N.F. **24**. 17. (1881.)
3) Z. f. B. **22**. 236. (1886.)
4) B. **14**. 1645. (1881.)
5) B. **19**. 1949. (1886.)
6) B. **12**. 653. (1879.), H.-S. **9**. 229. (1885.)
7) B. **20**. 81. (1887.), J. f. pr. Ch. N. F. **38**. 97 u. 117. (1888.)

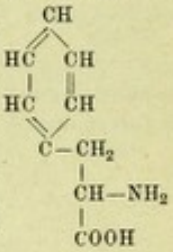
den Rückstand in Wasser und fällt die Lösung mit starker Salzsäure. Nachdem die nach einiger Zeit ausgeschiedene Hippursäure abfiltriert ist, wird die Lösung mit Aether geschüttelt, der Aetherauszug mit Sodalösung und diese nach Ansäuern mit Salzsäure wieder mit Aether. Den beim Abdestillieren des Aethers bleibenden Rückstand erhitzt man mit 50 bis 80 ccm Wasser zum Sieden, filtriert nach 24stündigem Stehen und dampft das Filtrat auf ca. 15 ccm ein. Beim Erkalten krystallisiert in der Regel Phenacetursäure ziemlich rein aus.

Eigenschaften.

Sie krystallisiert aus heissem Wasser in dünnen, dicht aufeinanderliegenden Blättchen, bei langsamer Abscheidung in derben, anscheinend rechtwinkligen Prismen mit zwei Pyramidenflächen, aus Alkohol und Essigäther nach Hotter in würfelähnlichen Krystallen. Sie ist in Wasser schwer löslich, aber leichter als Hippursäure, leicht löslich in Alkohol und Essigäther, sehr schwer in Aether. Smp. 143°. Durch Kochen mit Salzsäure wird sie in Glykocoll und Phenylessigsäure gespalten.

Vorkommen.

202. **Phenylalanin (Phenyl-α-Aminopropionsäure) $C_9H_{11}NO_2$.** Zuerst von E. Schulze und Barbieri[1]) in etiolierten Lupinenkeimlingen, dann von E. Schulze[2]) bei der Säurespaltung der Eiweisskörper der Kürbissamen und der Barytspaltung von Conglutin aufgefunden, entsteht es bei der hydrolytischen Spaltung der verschiedensten Proteine (E. Fischer[3]) u. a.). Bei der Spaltung durch Verdauungsfermente wird es auch gebildet, aber in geringerer Menge (E. Fischer u. Abderhalden[4]), auch unter den Producten der Pancreas- und Leberautolyse wurde es nachgewiesen (Levene[5]). Auch im Käse ist es in beträchtlicher Menge gefunden. Es findet sich im Harn phosphorvergifteter Hunde (Abderhalden und Barker[6]).



Darstellung.

Die synthetisch nach Erlenmeyer und Lipp[7]) oder bequemer nach E. Fischer[8]) dargestellte Säure ist dl-Phenylalanin, das natürlich vorkommende und durch Säurespaltung erhaltene l-Phenylalanin (aus Leim wurde durch Säurespaltung d-Phenylalanin erhalten). Inactives Benzoylphenylalanin (am besten nach Erlenmeyer[9]) gewonnen) lässt sich mit Hülfe des Cinchoninsalzes in die activen Componenten zerlegen, von denen die d-Verbindung rein erhalten werden kann. Aus ihr gewinnt man durch Erhitzen mit Salzsäure d-Phenylalanin (E. Fischer und Mouneyrat[10]). Besser gelingt die Darstellung der activen Säuren aus dem Formyl-dl-Phenylalanin, indem man dieses mit Hülfe der Brucinsalze zerlegt und darauf die

---

1) B. **14**. 1785. (1881.), H.-S. **12**. 405. (1888.)
2) H.-S. **9**. 63. (1885.)
3) H.-S. **33**. 151, 177 u. 412. (1901.), **35**. 70. (1902.)
4) H.-S. **40**. 215. (1903/04.)
5) H.-S. **41**. 393. (1904.)
6) H.-S. **42**. 524. (1904.)
7) B. **15**. 1006. (1882.)
8) B. **37**. 3064. (1904.) Eine andere Synthese ist von Knoop angegeben B. **39**. 1477. (1906.)
9) A. **275**. 13. (1893.)
10) B. **33**. 2383. (1900).

Formylgruppe durch Kochen mit Bromwasserstoff abspaltet (E. Fischer und Schoeller[1]). Hefe vergärt in Gegenwart von Zucker das dl-Phenylalanin partiell und lässt d-Phenylalanin zurück (Ehrlich[2]). Die active Säure wird durch 24 stündiges Erhitzen mit Barytwasser auf 160° racemisiert.

Ueber die Darstellung aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteine siehe später. Nach E. Schulze und Winterstein[3]) ist die Gewinnung aus etiolierten 2—3 wöchigen Keimpflanzen von Lupinus luteus vorzuziehen.

Eigenschaften. l-Phenylalanin krystallisiert aus conc., noch warmen, wässerigen Lösungen in kleinen, glänzenden Blättchen, aus verdünnten in feinen Nadeln mit Krystallwasser (Smp. unter Zersetzung 275—280°), dl-Phenylalanin in kurzen, sternförmig verwachsenen, wasserfreien Prismen (Smp. 263—265°). Die Krystalle lösen sich ziemlich schwer (die dl-Verbindung noch schwerer) in kaltem (1 Tl. l-Phenylalanin in 32,4 Tl. Wasser von 25°) leicht in heissem Wasser, wenig in verdünntem Alkohol und Methylalkohol. d-Phenylalanin schmeckt süss, l-Phenylalanin leicht bitter.

Verbindungen: mit Phosphorwolframsäure. 5 proc. wässerige Lösungen von l-Phenylalanin werden bei Gegenwart von Salz- oder Schwefelsäure zum Unterschied von anderen Aminosäuren durch Phosphorwolframsäure gefällt, und zwar als öliges, allmählich blättrig krystallinisch werdendes Phosphorwolframat. Noch in 0,25 proc. Lösung entsteht nach etwa 10 Minuten Ausscheidung von Krystallblättchen. Die Verbindung ist in kochendem Wasser ziemlich leicht löslich und ebenso in Alkohol. Die Anwesenheit anderer Aminosäuren (Leucin, Valin) verhindert die Fällung nicht, eine etwa 0,5 proc. Lösung, der Leucin zugefügt ist, wird aber nicht mehr gefällt (E. Schulze und Winterstein[4]). Nach Levene und Beatty[5]) wird Phenylalanin aus 10 proc. Lösung durch eine Lösung von Phosphorwolframsäure, welche auf 4 Teile 1 Tl. Wasser enthält, fast quantitativ (zu 97 pCt.) gefällt. Phenylalanin wird in wässeriger Lösung auch durch Mercurinitrat gefällt (E. Schulze und Winterstein[4]).

mit Salzsäure. Aus der conc. wässerigen Lösung scheidet sich beim Einleiten von Salzsäuregas salzsaures Phenylalanin ab.

mit Kupfer. Sättigt man die heisse wässerige Lösung mit Kupferhydroxyd oder bringt man Kupferacetatlösung hinzu, so scheidet sich sofort das Kupfersalz in blassblauen Schuppen ab und zwar l-Phenylalaninkupfer wasserfrei, dl-Phenylalaninkupfer mit 2 Mol. Wasser, die aber schon über Schwefelsäure entweichen.

mit Pikrinsäure. dl-Phenylalaninpikrat, gelbe Nadeln, löst sich in Wasser bei Zimmertemperatur 2,55 : 100 und schmilzt (frisch hergestellt) bei 173°.

---

1) A. **357**. 1. (1907.)
2) B. Z. **8**. 438. (1908.)
3) H.-S. **35**. 313. (1902.)
4) H.-S. **33**. 574. (1901.), **35**. 210. (1902.)
5) H.-S. **47**. 149. (1906.)

dl-Phenylalaninpikrolonat, gelbe viereckige Blättchen oder vierseitige Prismen, löst sich in Wasser bei Zimmertemperatur 0,19 : 100, auch in Alkohol nur wenig (0,309 : 100) und schmilzt (frisch hergestellt) bei 238° (Mayeda[1]). mit Pikrolonsäure.

dl-Phenylalaninäthylester (S. 225) ist ein dickflüssiges, in Wasser schwer lösliches Oel, das unter 10 mm Druck bei 143° siedet und ein in flachen Prismen krystallisierendes Pikrat (Smp. 154°) bildet. Durch mehrstündiges Erhitzen mit Barytwasser auf dem Wasserbad wird der Ester verseift, ebenso durch Abdampfen seiner Lösung in starker Salzsäure auf dem Wasserbad. mit Alkohol.

dl- u. d-Phenylisocyanatphenylalanin (S. 226) (E. Fischer und Mouneyrat[2]) krystallisiert in feinen Nadeln, die in kaltem Wasser fast unlöslich, in heissem Alkohol leicht löslich sind und bei 180—181° (corr.) schmelzen. Das (aus dl-Phenylalanin gewonnene) Hydantoin schmilzt bei 173—174° (corr.) mit Phenylisocyanat.

dl-β-Naphthalinsulfophenylalanin (S. 226), leicht löslich in Alkohol und Aether, in kochendem Wasser löst es sich etwa 1 : 500. Smp. 141—142°. mit β-Naphthalinsulfosäure.

d-α-Naphthylisocyanatphenylalanin (S. 226), farblose Nadeln, Smp. 155°. mit α-Naphthylisocyanat.

Für synthetisches l-Phenylalanin fanden E. Fischer und Schoeller (etwa 2 proc. Lösungen) $[\alpha]_D^{20°} = -35{,}09 - 35{,}14°$, für synthetisches d-Phenylalanin (dieselbe Concentration) $[\alpha]_D^{20} = +35{,}00 - 35{,}14°$. Für natürliches l-Phenylalanin fand E. Schulze (2—3 proc. Lösung) $[\alpha]_D = -35{,}3°$. Die von E. Schulze und Winterstein[3]) später (ebenfalls für natürliches Phenylalanin aus Keimpflanzen) erhaltenen höheren Werte $[\alpha]_D^{16°} = -38{,}1 - 40{,}3°$ sind wahrscheinlich durch stark linksdrehende Beimengungen verursacht. Optische Eigenschaften.

Für 3,5 proc. Lösung von d-Phenylalanin, welche 18 pCt. Salzsäure enthielt, fanden E. Fischer und Mouneyrat $[\alpha]_D^{20°} = +7{,}07°$, für 3,5 proc. Lösungen in 20 proc. Salzsäure fand Ehrlich $[\alpha]_D^{20°} = +6{,}86°$.

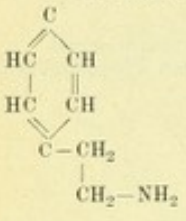
In salzsaurer Lösung wird Phenylalanin durch Natriumnitrit in Phenylchloressigsäure übergeführt (Jochem[4]). Bei der Fäulnis entsteht Phenylessigsäure und wahrscheinlich auch Phenylpropionsäure. Beim Erhitzen im Reagensglas zerfällt es, während ein geringer Teil unzersetzt sublimiert, unter Abspaltung von Wasser und Kohlensäure in einen gelben geschmolzenen, beim Erkalten krystallinisch erstarrenden Rückstand (Phenyllactimid enthaltend) und einen flüchtigen Körper (Phenylaethylalamin), welcher sich im oberen Teil des Röhrchens in farblosen Tropfen, die nach dem Erkalten krystallinisch werden, und einen eigentümlichen Geruch besitzen, absetzt (charakteristisches Verhalten) (E. Schulze[5]). Beim Erhitzen mit Kalium- Umwandlungen.

1) H.-S. **51**. 261. (1907.)
2) a. a. O., Mouneyrat, B. **33**. 2396. (1900.)
3) H.-S. **35**. 307. (1902.)
4) H.-S. **31**. 119. (1900/01.)
5) H.-S. **9**. 81. (1885.)

bichromat und Schwefelsäure tritt der Geruch nach Phenylacetaldehyd auf (scharfe, bequeme Methode des Nachweises), dann bildet sich Benzoesäure. Beim Erhitzen von Phenylalanin mit Salpetersäure tritt Gelbfärbung ein.

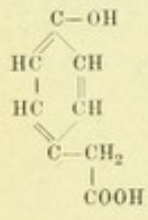
Nachweis. Zum Nachweis sind die zuletzt erwähnten Reactionen sehr geeignet. 0,02 g in 2—3 ccm 25 proc. Schwefelsäure gelöst und mit ein paar Körnchen Bichromat versetzt, geben beim Kochen sehr deutlichen Geruch nach Phenylacetaldehyd. Auch die Darstellung der Phenylisocyanatverbindung nach vorausgegangener Racemisierung ist für die Identificierung geeignet.

Vorkommen. **Phenylaethylamin $C_8H_{11}N$.** Eine Base dieser Zusammensetzung isolierte Nencki aus Leimfäulnis (§ 167, 4). Seine Vermutung, dass es sich um Phenylaethylamin handele, ist von Spiro[1]) bestätigt worden. Es entsteht unzweifelhaft secundär aus Phenylanalin durch Kohlensäureabspaltung. Synthetisch erhält man es aus Benzylcyanid.



Es ist ein in Wasser ziemlich leicht lösliches Oel, das bei 197—198° siedet, zieht Kohlensäure aus der Luft an und erstarrt zu blättrigem Carbonat. Das salzsaure Salz ist auch in abs. Alkohol löslich, das Platindoppelsalz in kaltem Wasser schwer, in heissem leicht löslich. Das Pikrat krystallisiert aus Alkohol in tetragonalen Prismen vom Smp. 171—174° (corr.). Die in Wasser unlösliche Benzoylverbindung schmilzt bei 114°.

Vorkommen. 203. **p-Oxyphenylessigsäure $C_8H_8O_3$.** p-Oxyphenylessigsäure ist von E. und H. Salkowski[2]) unter den Fäulnisproducten der Wolle und Eiweissstoffe aufgefunden, von Baumann[3]) als Fäulnisproduct des Tyrosins erkannt und in geringer Menge aus dem normalen Harn von Menschen und Tieren, reichlicher aus pathologischen Harnen, aus Harnen bei Phosphorvergiftung und nach Fütterung von Tyrosin gewonnen worden (Blendermann[4]). Sie ist im Harn grösstenteils nicht an Schwefelsäure gebunden und verschwindet bei fehlender Darmfäulnis nicht vollständig aus ihm (Baumann[5]).



Darstellung. H. Salkowski[6]) stellte sie aus Phenylessigsäure dar, aus p-Aminophenylessigsäure erhält man sie durch Einwirkung von salpetriger Säure. Ueber die Darstellung aus Harn siehe den folgenden Paragraphen, aus Fäulnisgemischen siehe § 221.

Eigenschaften. Die Säure krystallisiert aus der wässerigen Lösung in prismatischen, meist flachen, sehr spröden Nadeln, schmilzt bei 148° und verflüchtigt sich beim stärkeren Erhitzen zum Teil unzersetzt. Sie ist in kaltem Wasser ziemlich leicht löslich, weniger in salzsäurehaltigem, leicht in heissem Wasser, Alkohol, Aether, schwer in Benzol. Ihre wässerige Lösung gibt mit Eisenchlorid zunächst wenig intensive, grauviolette, dann schmutzig graugrüne Färbung, mit Millon's Reagens in der Wärme Rotfärbung. Kupfersulfat, Zink- oder Cadmiumsulfat erzeugen in den wässerigen Lösungen der Ammoniakverbindung der Säure Niederschläge, ebenso bewirkt Silber-

1) B. Ph. P. **1**. 349. (1902.)
2) B. **12**. 648. (1879.)
3) B. **12**. 1450. (1879.), **13**. 279. (1880). H.-S. **4**. 304. (1880.)
4) H.-S. **6**. 247. (1882.)
5) H.-S. **10**. 125. (1886.)
6) B. **12**. 1438. (1879.)

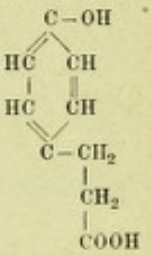
nitrat einen in kochendem Wasser löslichen, voluminösen Niederschlag des neutralen Silbersalzes. Durch Bleiacetat werden sehr verdünnte neutrale Lösungen nicht gefällt, concentrierte Lösungen geben krystallinischen Niederschlag, welcher sich im Ueberschuss des Fällungsmittels löst und beim Stehen allmählich wieder ausscheidet (charakteristisches Verhalten). Das Kalksalz, durch Kochen der Säure mit Calciumcarbonat erhalten, krystallisiert aus conc. Lösung in tafelförmigen Krystallen $(C_8H_7O_3)_2Ca + 4H_2O$.

Mit Tyrosinase (aus Weizenkleie) tritt Gelb-, Orange-, Braunfärbung ein (Bertrand[1]).

Oxyphenacetursäure wurde einmal von E. und H. Salkowski[2]) aus Hundeharn nach Eingabe von p-Oxyphenylessigsaure erhalten. Flache Krystallwarzen, ziemlich leicht in heissem Wasser, schwer in Aether löslich. Smp. 153°. Sie zerfällt mit Salzsäure gekocht in Glykocoll und p-Oxyphenylessigsäure.

204. **Hydro-p-cumarsäure (p-Oxyphenylpropionsäure)** $C_9H_{10}O_3$. Die Hydro-p-cumarsäure wurde von Baumann[3]) als nächstes Reductionsproduct des Tyrosins bei der Fäulnis und als Bestandteil des menschlichen Harns erkannt; sie findet sich unter den Fäulnisproducten der Eiweissstoffe neben der p-Oxyphenylessigsäure in verschiedenen Quantitäten, da sie selbst durch Fäulnis bei Luftzutritt weiter zerfällt.

Vorkommen.



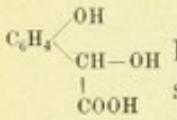
Zur Isolierung der p-Oxyphenylessigsäure und der Hydro-p-cumarsäure aus Harn verfährt man nach Baumann[4]) folgendermassen: Etwa 50 Liter frischer, normaler, menschlicher Harn werden zum dünnen Syrup verdunstet, mit Essigsäure stark angesäuert und mit Aether extrahiert. Die Aetherauszüge werden mit überschüssiger Sodalösung wiederholt geschüttelt und die vereinigten wässerigen alkalischen Lösungen von neuem angesäuert und mit Aether ausgeschüttelt. Der Aetherauszug wird nach Abdestillieren des Aethers auf dem Wasserbade erwärmt bis die Essigsäure zum grössten Teil verjagt ist, in wenig Wasser gelöst und die Lösung mit neutralem Bleiacetat versetzt, so lange ein Niederschlag entsteht. Aus dem Filtrat dieses Niederschlags fällt man durch basisches Bleiacetat die Oxysäuren, zerteilt den ausgewaschenen und abgepressten Niederschlag in Wasser, zerlegt ihn mit Schwefelwasserstoff und schüttelt die Lösung von neuem mit Aether aus. Nach dem Verdunsten dieser Aetherauszüge hinterbleibt ein stark saurer, gelber Syrup, der meist nach einiger Zeit krystallinisch erstarrt. Tritt auch nach längerem Stehen keine Krystallisation ein, so ist es zweckmässig, den Syrup in Wasser zu lösen, mit kohlensaurem Baryt zu kochen und aus der Lösung der Barytsalze die Säuren von neuem abzuscheiden. Die aus dem Menschenharn auf diese Weise dargestellten Oxysäuren erstarren stets nach einigen Tagen krystallinisch; viel langsamer und schwieriger erfolgt die Krystallisation der Oxysäuren aus dem Hunde- und Pferde-

Isolierung von p-Oxyphenylessigsäure u. Hydro-p-cumarsäure.

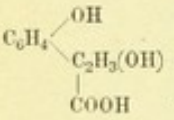
1) C. r. **145**. 1352. (1907.) 2) H.-S. **7**. 171. (1883.)
3) B. **12**. 1450. (1879), **13**. 279. (1880), H.S. **4**. 304. (1880.)
4) H.-S. **6**. 191. (1881.)

harn. Die zum Krystallbrei erstarrte Masse wird zwischen Papier möglichst abgepresst und aus wenig Wasser umkrystallisiert. Die p-Oxyphenylessigsäure krystallisiert dabei in langen, durchsichtigen Prismen und lässt sich durch einmaliges Umkrystallisieren aus viel Benzol völlig rein erhalten. Aus der eingedampften Mutterlauge wird durch Kochen mit einer zur völligen Lösung unzureichenden Menge Benzol die Hydro-p-cumarsäure aufgenommen, welche beim Erkalten noch gemengt mit p-Oyyphenylessigsäure krystallisiert. Eine Methode der Trennung beider Säuren ist bis jetzt nicht bekannt. Ueber die Darstellung der Säure aus Fäulnisgemischen siehe § 221.

Eigenschaften. Durch Verdunsten ihrer ätherischen Lösung gewonnen, bildet die p-Oxyphenylpropionsäure ein Oel, welches bald zur strahligen Krystallmasse erstarrt, aus wenig Wasser umkrystallisiert erscheint sie in farblosen, wasserfreien, monoklinen, in Wasser, Alkohol oder Aether leicht löslichen, bei 125° schmelzenden Krystallen. In Wasser ist sie etwas leichter löslich als die p-Oxyphenylessigsäure, in Benzol löst sie sich schwer, aber auch leichter als die p-Oxyphenylessigsäure. Ihre wässerige Lösung gibt ebenfalls beim Erwärmen mit Millon's Reagens Rotfärbung. Aus verdünnter wässeriger Lösung wird sie nicht durch neutrales, aber durch basisches Bleiacetat ausgefällt. Gegen Tyrosinase verhält sie sich wie p-Oxyphenylessigsäure (Bertrand).



205. **Oxymandelsäure $C_8H_8O_4$.** Schultzen und Ries[1]) fanden in mehreren Fällen von acuter Leberatrophie im Harn neben Tyrosin eine Säure, die sich dem angesäuerten Harn durch Ausschütteln mit Aether entziehen liess. Sie war durch basisches, nicht durch neutrales Bleiacetat fällbar, in Wasser schwerer löslich als p-Oxyphenylessig- und -propionsäure, schmolz bei 162° und wurde ihrer Zusammensetzung entsprechend Oxymandelsäure genannt. Baumann[2]) erhielt aus Harn bei Phosphorvergiftung eine Säure, deren Trennung von p-Oxyphenylessig- und -propionsäure durch ihre Unlöslichkeit in heissem Benzol gelang. Diese Säure, welche die Millon'sche Reaction gab, nadelförmige Krystalle vom Smp. 167—168° bildete und sich beim raschen Erhitzen unter Abspaltung von Phenol zersetzte, war wahrscheinlich auch Oxymandelsäure oder eine ihr sehr ähnliche.

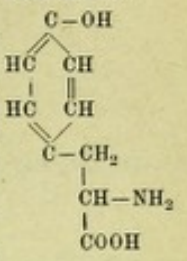


206. **Oxyhydro-p-cumarsäure $C_9H_{10}O_4$** wurde von Blendermann[3]) aus dem eingedampften und angesäuerten Harn von Kaninchen, die Tyrosin erhalten hatten, durch Ausschütteln mit Aether erhalten. In den Aetherauszug gingen ausserdem noch Oxysäuren und eine als Tyrosinhydantoïn bezeichnete Substanz (siehe den folgenden Paragraphen) über. Die Säure krystallisierte in centimeterlangen, seidenglänzenden Nadeln mit $^1/_2$ Mol. Krystallwasser und schmolz unter Braunfärbung bei 162—164°. Die Krystalle verwitterten über Schwefelsäure und verloren bei 105—110° das Krystallwasser. Die Säure gab die Millon'sche Reaction und mit Bromwasser Trübung und geballten amorphen Niederschlag. Sie zeigte dieselben Eigenschaften, wie sie Schultzen und Ries für die Oxymandelsäure angeben, unterschied sich von ihr nur durch einen Mehrgehalt von CH_2, so dass man sie wohl als Oxyhydro-p-cumarsäure bezeichnen kann.

---

1) Ueber acute Phosphorvergiftung und Leberatrophie. Berlin 1869.
2) H.-S. **6**. 192. (1882.) 3) H.-S. **6**. 256. (1882.)

207. **Tyrosin (p-Oxyphenyl-α-aminopropionsäure)** $C_9H_{11}NO_3$ entsteht bei der hydrolytischen Spaltung (durch Kochen mit Säuren, Alkalien, Fermente, Mikroorganismen) von Proteinen. Es findet sich im Dünn- und Dickdarm während der Verdauung von Proteinen, im menschlichen Harn und Blut bei acuter Leberatrophie und vorgeschrittener Phosphorvergiftung; bei letzterer Krankheit wurde es auch oft aus der Leber erhalten. Aus dem Harn phosphorvergifteter Hunde ist es nicht gewonnen worden, aber aus dem Harn eines Cystinurikers (Abderhalden und Schittenhelm[1]), auch aus andern pathologischen Harnen z. B. diabetischen (Abderhalden[2]), Abderhalden und Schittenhelm) und aus Pferdeharn bei Peritonealsarkom (Christiani[3]). Auch in Keimpflanzen (E. Schulze[4]), manchen ungekeimten Pflanzensamen (Schulze und Castoro[5]), in Fliederbeeren (Sack und Tollens[6]), in der Rübenmelasse (v. Lippmann[7]) ist Tyrosin gefunden worden. Vorkommen.



Das natürlich vorkommende und das durch Spaltung der Proteinkörper erhaltene ist meist l-Tyrosin; wird die Spaltung durch Aetzbaryt vorgenommen, so entsteht dl-Tyrosin; v. Lippmann erhielt aus Rübenschösslingen d-Tyrosin.

Synthetisch gewinnt man es nach Erlenmeyer und Lipp[8]) durch Einwirkung von salpetriger Säure auf p-Amidophenylalanin oder nach Erlenmeyer und Halsey[9]) in der Weise, dass die durch Condensation von p-Oxybenzaldehyd und Hippursäure entstehende p-Hydroxy-α-Benzoylaminozimmtsäure durch Reduction mit Natriumamalgam in Benzoyltyrosin und dieses durch Spaltung mit Salzsäure in Tyrosin übergeführt wird. Es ist die inactive Form. Man erhält die activen Modificationen, wenn man das dl-Benzoyltyrosin mit Hülfe von Brucin resp. Cinchonin in l- und d-Benzoyltyrosin überführt und diese durch Kochen mit Salzsäure spaltet (E. Fischer[10]). Durch Einwirkung von Hefe auf eine wässerige Lösung von dl-Tyrosin und Zucker entsteht d-Tyrosin (Ehrlich[11]). Darstellung.

Für die Darstellung eignet sich ihres reichen Gehaltes an Tyrosin wegen und weil sie nur sehr kleine Mengen anderer in Wasser schwer löslicher Aminosäuren enthält besonders degommierte weisse Seide. Nach E. Fischer[12]) kocht man 100 g mit einem Gemisch von 200 ccm conc. Schwefelsäure und 1000 ccm Wasser 12 Stunden am Rückflusskühler, filtriert, entfernt die Schwefelsäure quantitativ mit conc. Barytwasser, saugt das Bariumsulfat ab und kocht es mehrmals mit Wasser aus. Die vereinten Filtrate werden auf dem Wasserbad soweit eingeengt, dass schon in der Wärme Darstellung aus Seide.

---

1) H.-S. **45**. 468. (1905.)
2) H.-S. **44**. 40. (1905.)
3) Ref. B. C. **2**. 440. (1904.)
4) H.-S. **24**. 49. (1898.)
5) H.-S. **41**. 455. (1902.)
6) B. **37**. 4115. (1904.)
7) B. **17**. 2835. (1884.)
8) B. **15**. 1544. (1882.)
9) B. **30**. 2981. (1897.)
10) B. **32**. 3638. (1899.)
11) B. Z. **1**. 30. (1906.)
12) Anleitung zur Darstell. org. Präpar. 7. Aufl. 1905. S. 88.

reichliche Krystallisation erfolgt. Nach dem Erkalten wird filtriert und die getrocknete Krystallmasse mit Eisessig ausgekocht, der unlösliche Rückstand in viel heissem Wasser gelöst, mit Tierkohle aufgekocht und heiss filtriert. Beim Abkühlen scheidet sich das Tyrosin ab. Die Mutterlauge gibt weitere Mengen. Die Menge des durch Umkrystallisieren gereinigten Tyrosin beträgt 3—3 pCt. Bessere Ausbeute liefert in kürzerer Zeit folgendes Verfahren. Man kocht 500 g Seide mit 1,5 L. rauchender Salzsäure (1,19 spez. Gew.) 6 Stunden am Rückflusskühler, dampft unter vermindertem Druck ein, nimmt den Rückstand in 500 ccm Wasser auf, dampft wieder ein und wiederholt diesen Prozess nochmals. Schliesslich wird der Rückstand in 1,5 L. Wasser gelöst, mit 25 g Tierkohle energisch gekocht und filtriert. Die Tierkohle wird nochmals ausgekocht. Die Flüssigkeit wird auf 2 Liter gebracht und mit vorher ermittelter Menge Natronlauge neutralisiert. Das sofort ausfallende Tyrosin ist nach einmaligem Umkrystallisieren völlig rein. Aus Mutterlauge weitere Mengen. Ausbeute an reinem Tyrosin 5—6 pCt. (Abderhalden und Teruuchi[1]) Aus Zein erhielt Kutscher[2]) 10 pCt. reines Tyrosin.

Eigenschaften. Das reine l-Tyrosin bildet mikroskopische, farblose, seidenglänzende, feine, zu Büscheln vereinigte Nadeln (das dl-Tyrosin kürzere, häufig sternförmig gruppierte Nädelchen) ohne Geruch und von etwas fadem Geschmack, die sich beim Erhitzen unter Geruch nach verbranntem Horn zersetzen. Schnell erhitzt zersetzt es sich unter lebhafter Gasentwickelung bei 310 bis 314° (das dl-Tyrosin 2—3° höher). Es ist schwer löslich in kaltem Wasser (1 Tl. in etwa 2000 Tl., das dl-Tyrosin 1 Tl. in etwa 3000 bis 3500 Tl.), leichter löslich in heissem Wasser, unlöslich in abs. Alkohol oder Aether. In Ammoniak, Alkalien, auch in kohlensauren Alkalien löst es sich leicht, ebenso in verdünnten Mineralsäuren, schwer in Essigsäure. Eisessig löst bei 16° 0,14 pCt., in der Siedehitze 0,18 pCt. (Habermann und Ehrenfeld[3]). In starker Salzsäure ist das dl-Tyrosin weniger löslich als das l-Tyrosin. Durch Phosphorwolframsäure wird Tyrosin auch aus 5 proc. Lösungen nicht gefällt, durch Mercurinitrat wird es gefällt.

Verbindungen: mit Kupfer. Tyrosinkupfer $(C_9H_{10}NO_3)_2Cu$, durch Kochen einer wässerigen Tyrosinlösung mit Kupferoxydhydrat erhalten, krystallisiert in blauen Prismen, zerfällt aber beim Kochen mit Wasser.

mit Alkohol. Zur Darstellung des l-Tyrosinäthylesters (E. Fischer[4]) übergiesst man 5 g Tyrosin mit 35 ccm Alkohol, leitet Salzsäure ein bis zur Lösung, fügt das doppelte Vol. Alkohol hinzu, kocht mehrere Stunden am Rückflusskühler und destilliert den Alkohol unter schwachem Druck ab. Der Rückstand wird mit Wasser verdünnt, die Lösung mit überschüssigem Kaliumcarbonat versetzt und mit Essigäther ausgeschüttelt. Beim Verdunsten krystallisiert

1) H.-S. **38**. 528. (1906.)
2) H.-S. **38**. 111. (1903.)
3) H.-S. **37**. 18. (1902/03.)
4) B. **34**. 433. (1901.)

der Ester aus. Farblose, flache Prismen vom Smp. 108—109°, in kaltem Wasser sehr schwer, in heissem etwas leichter löslich, in Alkohol sehr leicht, in Aether schwer löslich. Das Chlorhydrat krystallisiert aus Alkohol-Aether in seideglänzenden Nadeln, in Wasser leicht löslich. Smp. 166°.

mit Benzoesäure. Beim Schütteln von Tyrosin mit einer wässerigen Lösung von Natriumbicarbonat und Benzoylchlorid entsteht Dibenzoyltyrosin (E. Fischer[1]).

mit β-Naphthalinsulfosäure. Di-β-Naphthalinsulfotyrosin scheidet sich beim Schütteln einer natronalkalischen Tyrosinlösung mit einer ätherischen Lösung von β-Naphthalinsulfochlorid im Ueberschuss als Natronsalz ab, das aus heissem Wasser umkrystallisiert wird. Smp. 252—254° unter Schäumen. Die durch Fällen der wässerigen Lösung mit Salzsäure erhaltene freie Säure ist selbst in heissem Wasser sehr schwer löslich, krystallisiert aus verdünntem Alkohol in Nädelchen oder Blättchen, bei 100—102° bildet sie ein zähes Oel, das über 120° flüssig wird und über 145—150° aufschäumt (E. Fischer und Bergell[2]).

mit Phenylisocyanat. l-Phenylisocyanattyrosin (Paal u. Zitelmann[3]).

mit α-Naphthylisocyanat. l-α-Naphthylisocyanattyrosin (S. 226) feine sternförmig gruppierte Nadeln vom Smp. 205—206° (Neuberg und Manasse[4]).

Optische Eigenschaften. Für die specifische Drehung verschiedener Präparate von l-Tyrosin in 21 proc. Salzsäure gelöst bei annähernd gleicher Concentration (3,9 bis 5 pCt.) wurden folgende Werte gefunden: aus Conglutin durch Spaltung mit Salzsäure gewonnen $[\alpha]_D = -8{,}48°$ (E. Schulze[5]), synthetisch $[\alpha]_D = -8{,}64°$ (E. Fischer[6]). Mit abnehmendem Salzsäuregehalt wächst das Drehungsvermögen ziemlich stark. Ueber bei Benutzung von 4 proc. Salzsäure erhaltene Werte siehe E. Schulze und Winterstein[7]). Für Tyrosin in 11,6 proc. Kalilauge gelöst fand Mauthner[8]) bei einer Concentration von 5,8 pCt. $[\alpha]_D = -9{,}01°$ (mit steigender Concentration der Lösung abnehmend). Das synthetische d-Tyrosin, ebenfalls in 21 proc. Salzsäure gelöst und bei einer Concentration von 4,6 pCt. $[\alpha]_D = +8{,}64°$ (E. Fischer).

Umwandlungen. Wird Tyrosin in ziemlich starker Salpetersäure gelöst, so scheidet sich nach einiger Zeit ein gelbes Krystallpulver von salpetersaurem Nitrotyrosin aus. Beim Schmelzen mit Kali entsteht aus Tyrosin p-Oxybenzoesäure und durch Fäulnisbacterien wird es in Hydro-p-cumarsäure, in p-Oxyphenylessigsäure und schliesslich in p-Kresol verwandelt; bei Zutritt von Sauerstoff bilden sich aus dem Kresol wechselnde Mengen von Phenol. Diese

1) B. **32**. 2454. Anmerkung. (1899.)
A. Schultze, H.-S. **29**. 467. (1900.)
2) B. **36**. 2605. (1903.)
3) B. **36**. 3337. (1903.)
4) B. **38**. 2363. (1905.)
5) H.-S. **9**. 63. (1885.)
6) B. **32**. 3638. (1899.)
7) H.-S. **35**. 308. (1902), **45**. 79. (1905.)
8) M. **3**. 343. (1882.)

Fäulnisprocesse verlaufen natürlich auch im Darm und besonders umfangreich nach Tyrosinzufuhr (E. Baumann[1]).

Gibt man zu einer Lösung von l-Tyrosin oder dl-Tyrosin pflanzliche[2]) oder tierische[3]) Tyrosinase*), so färbt sich die Flüssigkeit zunächst hellrot, nach einiger Zeit wird sie dunkler und weiter scheiden sich schwarze Flocken ab (Bertrand[2]), v. Fürth und Schneider[3]). d-Tyrosin wurde viel später angegriffen, so dass es noch zweifelhaft ist, ob nicht vielleicht das benutzte Präparat etwas l-Tyrosin enthielt (Abderhalden und Guggenheim[4]).

Nachweis. Zum Nachweis des isolierten Tyrosins dienen ausser dem charakteristischen mikroskopischen Bilde folgende Reactionen:

1. Beim Erwärmen einer Tyrosinlösung mit Millon's Reagens zeigt sich bald Rotfärbung und event. nach einiger Zeit roter Niederschlag.

2. Piria's Probe. Man erwärmt trocknes Tyrosin mit etwas conc. Schwefelsäure eine halbe Stunde im Wasserbad, verdünnt die erkaltete Lösung mit Wasser, neutralisiert mit Barium- oder Calciumcarbonat, filtriert und engt ein. Die Flüssigkeit färbt sich wegen ihrer Gehaltes an Tyrosinsulfosäure mit wenig Eisenchlorid violett.

3. Denigès' Probe[5]). Setzt man ein wenig Tyrosin zu 2—3 ccm einer Lösung von 1 ccm Formaldehyd in 50 ccm conc. Schwefelsäure, so tritt nach kurzer Zeit weinrote Färbung ein. Fügt man jetzt sofort das doppelte Vol. Eisessig hinzu und kocht, so färbt sich die Flüssigkeit grün.

4. C. Th. Mörner's Probe[6]). Erwärmt man einige Cubikcentimeter eines Reagens, das durch Mischung von 1 Vol. Formalin, 45 Vol. Wasser und 55 Vol. conc. Schwefelsäure erhalten wird und haltbar ist, mit ein wenig Tyrosin (in fester Form oder Lösung) bis zum Kochen, so tritt schöne, langandauernde Grünfärbung auf. Phenol, Homogentisinsäure, Proteine, Albumosen geben diese Reaction nicht.

---

*) Man erhält eine geeignete Tyrosinaselösung durch 24stündige Extraction von Russula delica und zwar 1 g trockne Pilzmasse mit 50 ccm Wasser unter Zusatz von etwas Toluol bei 37° und Filtration. Die Wirkung des Extracts lässt rasch nach. (Abderhalden u. Guggenheim[4]).

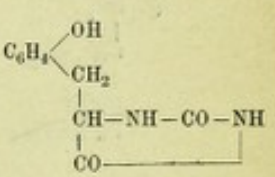
1) H.-S. **1**. 60. (1877/78,), **3**. 250. (1879.), **4**. 304. (1880.)
Baumann u. Herter, H.-S. **1**. 244. (1877/78.)
Weyl, H.-S. **3**. 312. (1879.)
Brieger, H.-S. **3**. 134. (1879.)
Baumann u. Brieger, H.-S. **3**. 149. (1879.)
Blendermann, H.-S. **6**. 234. (1882.)
Baumann, B. **12**. 1450. (1879.)
2) Bertrand, C. r. **122**. 1215. (1896.), **123**. 463. (1896.), **146**. 304. (1908.)
3) v. Fürth u. Schneider, B. Ph. P. **1**. 229. (1902.)
4) H.-S. **54**. 331. (1907/08.)
5) C. r. **130**. 583. (1900.) 6) H.-S. **37**. 86. (1902/03.)

5. Wurster's Proben[1]). Eine siedende wässerige Tyrosinlösung färbt sich a) mit 1 proc. Essigsäure und dann tropfenweise unter fortgesetztem Kochen mit 1 proc. Natriumnitritlösung versetzt schön rot, b) mit etwas trocknem Chinon rubinrot.

6. Pauly's Probe[2]). Sie ist die für das Histidin S. 262, 3 angegebene, nur mit dem Unterschied, dass die Färbung weniger tiefrot ist, beim Verdünnen einen Stich ins Gelbliche bekommt und beim Ansäuern bronzegelb bis schmutziggoldgelb wird. Doch ist es schwer, diese Farbenerscheinungen von den durch Histidin bewirkten zu unterscheiden.

7. Dunkelfärbung durch Tyrosinase siehe oben.

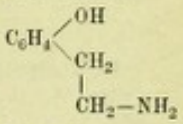
Ein Hydantoin des Tyrosins $C_{10}H_{10}N_2O_3$ stellte Blendermann[3]) aus dem Harne von Kaninchen dar, denen reichliche Quantitäten von Tyrosin beigebracht waren. Dasselbe geht mit den Oxysäuren in den Aetherauszug über, krystallisiert leicht aus, ist schwer löslich in Wasser, Alkohol, Aether, etwas leichter in heissem Wasser, noch leichter in Ammoniak. Aus ammoniakalischer Lösung wird es durch Salzsäure als weisses, krystallinisches Pulver gefällt. Die Krystalle bräunen sich bei 270°, schmelzen unter Zersetzung bei 275—280°, geben starke Rotfärbung mit Millon's Reagens und zersetzen sich mit Barytwasser im zugeschmolzenen Rohr zu Kohlensäure, Ammoniak und Tyrosin. Jaffe erhielt durch Einwirkung von cyansaurem Kali auf Tyrosin Tyrosinhydantoinsäure[4]).



Ein Derivat des Tyrosins von der Zusammensetzung $C_{21}H_{26}N_2O_8$ wurde von Danilewski[5]) durch Einwirkung von sehr wenig Pancreasferment auf Eiweissstoffe bei gewöhnlicher Temperatur und ziemlich neutraler Reaction innerhalb 2—5 Tagen, noch ehe Indol nachgewiesen werden konnte, erhalten. Nach dem Eindampfen der filtrierten Flüssigkeit und Zusatz von Alkohol schied sich dasselbe in Körnern und Krusten aus. Es wurde mit 30proc. Alkohol gewaschen, aus heissem verdünnten Alkohol oder heissem Wasser umkrystallisiert; es bildet kreidige Massen, die aus mikroskopischen Prismen oder tyrosinähnlichen Nadeln bestehen, gibt die Farbenreactionen des Tyrosins, soll aber ausserdem die Scherer'sche Inositreaction (S. 272) geben.

p-Oxyphenyläthylamin $C_8H_{11}NO$ entsteht aus dem Tyrosin neben Kohlensäure sowohl durch Erhitzen auf 270° Schmitt u. Nasse[6]) als auch durch anhaltende tryptische und peptische Verdauung (Emerson[7]), Langstein[8]). Gautier erhielt es aus gefaulter Kabeljauleber (§ 167,17).

Vorkommen.



Um es aus der tryptischen Verdauungsflüssigkeit zu erhalten, wird dieselbe durch Kochen nach Essigsäurezusatz von den coagulablen Eiweissstoffen befreit, nach Neutralisation mit Bariumcarbonat stark eingeengt und mit Alkohol so oft ausgeschüttelt, bis derselbe sich nicht mehr färbt. Die vereinigten Alkoholauszüge dampft man ein und schüttelt den Syrup mit Aceton aus u. z. ebenfalls so oft bis derselbe sich nicht mehr färbt, dampft alle Acetonauszüge ein, nimmt den Rückstand nochmals mit sehr viel Aceton auf und verdunstet die Lösung, bis sich schwarze teerartige Massen auszuscheiden beginnen. Nun wird die Flüssigkeit mit Essigäther erschöpft, mit Hülfe von Benzoylchlorid und Natronlauge benzoyliert und der abfiltrierte, mehrfach aus Alkohol umkrystallisierte Niederschlag (Smp. 169°) durch acht- bis zehnstündiges Erhitzen mit conc. Salzsäure gespalten.

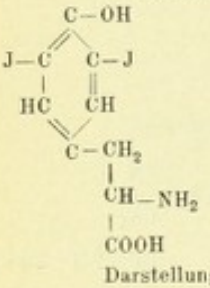
Darstellung.

---

1) C. f. Ph. **1.** 193. (1888.)
2) H.-S. **42.** 517. (1904.)
3) H.-S. **6.** 253. (1882.)
4) H.-S. **7.** 306. (1883.)
5) B. **13.** 2132. (1880.)
6) A. **133.** 214. (1865.)
7) B. Ph. P. **1.** 501. (1902.)
8) B. Ph. P. **1.** 506. (1902.)

Eigenschaften. Das auf diese Weise erhaltene salzsaure Salz schmilzt bei 267°, seine warme alkoholische Lösung liefert auf Zusatz von Platinchlorid ein sich sofort in sechsseitigen Plättchen ausscheidendes Platinsalz $(C_8H_{11}NO \cdot HCl)_2 \cdot PtCl_4$. Die wässerige Lösung des salzsauren Salzes wird durch Phosphorwolframsäure, Platinchlorid und Bromwasser gefällt, nicht durch Pikrinsäure und Kaliumquecksilberjodid. Die freie Base gibt mit Millon's Reagens beim Erwärmen schöne Rotfärbung. Mit Tyrosinase (aus Weizenkleie) entsteht Rot- dann Schwarzfärbung (Bertrand[1]).

Vorkommen.



Jodgorgosäure (3. 5-Dijodtyrosin) $C_9H_9O_3NJ_2$. Diese Substanz wurde zuerst von Drechsel[2]) bei der Zersetzung des Achsenskeletts von Gorgonia Cavolinii mit Aetzbaryt erhalten, aber erst von Wheeler u. Jamieson[3]) und von Henze[4]) als Dijod-dl-tyrosin erkannt. Auch bei der Barytspaltung anderer jodärmerer Gorgoniden wird sie erhalten, wenn auch in geringerer Menge.

Darstellung. Synthetisch gewinnt man sie durch Einwirkung von Jod in Jodkalilösung auf eine Lösung von dl-Tyrosin in Alkali (Henze).

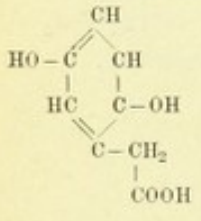
Eigenschaften. Aus heissem Wasser, in dem sie sehr schwer löslich ist, scheidet sie sich in lanzett- oder wetzsteinförmigen Krystallen ab, die bei fortgesetztem Umkrystallisieren aus heissem Wasser sich in glasglänzende rechteckige flache Säulchen umwandeln. Smp. etwas unter 200°, nicht ganz scharf, unter Zersetzung. In Alkalien, auch Soda, leicht löslich, daraus durch Säuren wieder krystallinisch fällbar. In Salzsäure leicht löslich. Durch Phosphorwolframsäure fällbar. Silber-, Kupfer-, Bleisalze fällen gleichfalls.

Beim Erwärmen mit Salpetersäure tritt Gelbfärbung ein (Xanthoproteinreaction), beim Erwärmen mit Millon's Reagens keine Rotfärbung.

Auch bei langem Kochen mit Wasser findet keine Jodabspaltung statt; beim Erwärmen mit Jodwasserstoffsäure geht sie glatt in Tyrosin über.

Ueber Dijod-l-Tyrosin, welches sich in mehreren Punkten anders verhält, siehe Wheeler und Jamieson sowie Henze.

Vorkommen.



208. **Homogentisinsäure (2. 5-Dioxyphenylessigsäure, Hydrochinonessigsäure) $C_8H_8O_4$** wurde zuerst von Wolkow und Baumann[5]) aus einem Alkaptonharn dargestellt und als diejenige Substanz erkannt, welche diesen Harnen die zuerst von Boedeker[6]) beschriebenen Eigenschaften, sich beim Stehen an der Luft besonders auf Alkalizusatz zu bräunen und Kupferoxyd in alkalischer Lösung zu reducieren, verleiht. Sie ist seitdem häufiger aus Alkaptonharnen isoliert und findet sich auch im Serum bei dieser Stoffwechselanomalie (Abderhalden und Falta[7]). Nach Tyrosin- und ebenso nach Phenylalanin- (Falta und Langstein[8]) -eingabe tritt die Säure in solchen Harnen in vermehrter Menge auf. Das von Bertel[9]) behauptete

1) C. r. **145**. 1352. (1907.)
2) Z. f. B. **33**. 85. (1896.)
3) A. Ch. J. **33**. 365. (1905.)
4) H.-S. **38**. 60. (1903.), **51**. 64. (1907.)
5) H.-S. **15**. 228. (1891.)
6) A. **117**. 98. (1861.)
7) H.-S. **39**. 143. (1903.)
8) H.-S. **37**. 513. (1902/03.)
9) Ber. d. d. bot. Ges. **20**. 454. (1902.)

Vorkommen von Homogentisinsäure in Keimpflanzen konnte von E. Schulze und Castoro[1]) nicht bestätigt werden.

Synthetisch stellten Baumann und Fränkel[2]) sie aus dem Gentisinaldehyd dar. Einfacher und reichlicher erhält man sie synthetisch von der Isatinsäure über die o-Oxyphenylglyoxylsäure und Hydrochinonglyoxylsäure, welche durch Jodwasserstoff zur Homogentisinsäure reduciert wird (Neubauer und Flatow[3]). Darstellung.

Um sie aus Harn zu gewinnen, säuert man mit Schwefelsäure an (75 ccm 1 : 12 verdünnter Schwefelsäure auf 1 Liter Harn), dampft auf dem Wasserbade bis auf den zehnten Teil ein und extrahiert vier bis fünf Mal mit dem dreifachen Vol. Aether. Die Aetherauszüge werden abdestilliert, der Syrup wird in der 30—60 fachen Menge Wasser gelöst, die Lösung filtriert, erhitzt, mit basischem Bleiacetat versetzt und heiss filtriert. Beim Erkalten krystallisiert das Bleisalz aus. Nach Garrod[4]) erhält man es sehr viel einfacher, indem man den Harn zum Kochen erhitzt, je 100 ccm mit wenigstens 5—6 g festem Bleiacetat versetzt, sobald es sich gelöst hat, filtriert und das Filtrat 24 Stunden am kühlen Ort zur Krystallisation stehen lässt. Das in Wasser kaum lösliche Bleisalz wird fein zerrieben, in Wasser zerteilt und heiss durch Schwefelwasserstoff zersetzt, das Filtrat erst auf dem Wasserbad und dann im Vacuum zum Syrup verdunstet. Darstellung aus Harn.

Die Homogentisinsäure krystallisiert in Prismen mit 1 Mol. Wasser, das aber schon an der Luft fortgeht, wobei die Krystalle zerfallen und undurchsichtig werden. Aus conc. alkoholischer Lösung erhält man durch siedendes Chloroform die wasserfreie Säure in durchsichtigen Blättchen. In Wasser, Alkohol, Aether ist sie leicht löslich, in Chloroform, Benzol und Toluol fast unlöslich. Sie schmilzt bei 146,5—147° und geht, über 100° getrocknet, unter Verlust von 1 Mol. Wasser in das Lacton über (siehe unten). Beim Erhitzen in weiter Probierröhre sublimiert die schmelzende Säure scheinbar unverändert, aber das Sublimat färbt sich allmählich schön blau. Die wässerige Lösung färbt sich beim langen Stehen an der Luft dunkel. Mit Ammoniak oder Natronlauge auch schon mit Alkalicarbonat tritt Braun- bis Schwarzfärbung ein. Silbernitratlösung gibt in einigen Secunden Reduction von Silber, ammoniakalische Silberlösung gibt sofortige Reduction. Fehling'sche Lösung wird langsam in der Kälte, schnell beim Erwärmen reduciert. Wismuthsubnitrat wird kaum reduciert. Eisenchlorid gibt eine noch bei Gehalt von 1 Tl. Säure in 4000 Tl. Lösung erkennbare, rasch vorübergehende Blaufärbung. Beim Kochen mit conc. Eisenchloridlösung tritt Geruch nach Chinon auf. Millon's Reagens gibt Gelbfärbung und einen amorphen Niederschlag, der beim Erhitzen ziegelrot wird. 1 proc. Lösungen von Homogentisin- Eigenschaften.

1) H.-S. **48**. 396. (1906.)
2) H.-S. **20**. 219. (1895.)
3) H.-S. **52**. 375. (1907.)
4) J. of Ph. **23**. 512.

säure werden durch Bleiacetatlösung noch sofort, 0,2 proc. nach einiger Verbindungen: mit Blei. Zeit gefällt. Das Bleisalz $(C_8H_7O_4)_2Pb + 3\,H_2O$ krystallisiert in Nadeln und Prismen, schmilzt bei 214—215°, verliert sein Krystallwasser beim Liegen im Exsiccator oder beim Erhitzen und löst sich in 675 Tl. Wasser mit Alkohol. bei 20°, nicht in Alkohol oder Aether. Der Aethylester, in kaltem Wasser schwer, in Alkohol und Aether leicht lösliche Krystalle (Smp. 119—120°) entsteht leicht, schon beim Erhitzen einer Lösung der Säure in alkohol- mit Benzoesäure. haltigem Aether. Beim Schütteln einer ammoniakalischen Lösung von Homogentisinsäure mit Benzoylchlorid und Natronlauge fällt das Amid der Dibenzoylhomogentisinsäure aus. Aus dem Harn erhält man diesen Körper bei der gleichen Behandlung auch ohne Zusatz von Ammoniak (Orton und Garrod[1]).

Lacton. Das Lacton der Homogentisinsäure, welches beim Erhitzen über 100° entsteht, krystallisiert in kurzen Prismen, ist schwer in kaltem, ziemlich leicht in heissem Wasser löslich und kann aus dieser Lösung umkrystallisiert werden. Smp. 191°. Es gibt mit Millon's Reagens Rotfärbung; seine wässerige Lösung reduciert neutrale Silberlösung nicht, auf Ammoniakzusatz alsbald.

Umwandlungen. Beim Schmelzen der Homogentisinsäure mit Kali bilden sich Hydrochinon und Gentisinsäure. Concentrierte Lösungen von Homogentisinsäure werden durch Tyrosinase schwach braungelb gefärbt (Abderhalden und Guggenheim[2]).

Nachweis. Der Nachweis beruht auf dem oben angegebenen Verhalten zu Alkalilauge und zur Fehling'schen Lösung und kann mit Hilfe dieser Reactionen schon im Harn mit ziemlicher Sicherheit geführt werden.

209. **Uroleucinsäure.** Mit diesem Namen bezeichnete Kirk[3]) eine Substanz, welche er vor der Entdeckung der Homogentisinsäure (§ 208) aus Alkaptonharn isolierte. Die Analyse führte zu der Formel $C_9H_{10}O_5$. Der Smp. lag bei etwa 133,3°. Nachdem die Homogentisinsäure durch Baumann aufgefunden worden war, zweifelte Kirk nicht daran, dass seine Säure unreine Homogentisinsäure sei (siehe darüber bei Garrod und Hurtley[4]).

Huppert[5]), welcher das Originalpräparat von Kirk weiter untersuchte, fand es zum grösseren Teil aus Homogentisinsäure bestehend, zum kleineren aus einer Säure, die bei 130,5—131,5° schmolz. Eine Analyse dieser Säure ist nicht ausgeführt worden. Huppert schrieb ihr auf Grund des Schmelzpunktes und offenbar in der Meinung, dass das ihm zugesendete Material das Rohmaterial darstelle, aus dem auch Kirk erst die Uroleucinsäure isoliert habe, die Formel $C_9H_{10}O_5$ zu. Tatsächlich (siehe Garrod u. Hurtley) hatte er aber das von Kirk analysierte Präparat erhalten. Die Analyse von Kirk bezieht sich also auf eine Substanz, die zum grössten Teil aus Homogentisinsäure bestand. Die Zusammensetzung der bei 131° schmelzenden Säure ist unbekannt und damit ist natürlich auch allen Schlussfolgerungen auf ihre Konstitution der Boden entzogen.

---

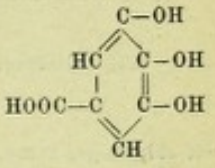
1) J. of Ph. **27**. 89. (1902.)
2) H.-S. **54**. 339. (1907/08.)
3) J. of Anat. and Phys. **23**. 69. (1889.)
4) J. of Ph. **36**. 136. (1908.)
5) H.-S. **23**. 412. (1897.)

Man hat jetzt kein Recht mehr sie als 2,5 Dioxyphenyl-α-Milchsäure aufzufassen, wie Huppert es tat, weil er aus ihr durch Methylierung und nachfolgende Oxydation dasselbe Product, wie aus der Homogentisinsäure erhielt.

In der Tat kann es sich nicht um Hydrochinin-α-Milchsäure handeln, wie aus einem Vergleich mit der synthetisch dargestellten hervorgeht (Neubauer u. Flatow[1]).

Vermutlich ist die sogenannte Uroleucinsäure nur unreine Homogentisinsäure (Garrod u. Hurtley).

210. **Gallussäure (Trioxybenzoesäure)** $C_7H_6O_5$. Ohne Zweifel aus Gerbsäure in der Nahrung herstammend, ist Gallussäure im Menschen- und Pferdeharn mehrmals aufgefunden worden (Baumann[2]). Aus dem mit Essigsäure angesäuerten Harn wird sie mit den Oxysäuren zusammen von Aether aufgenommen und aus der sauren wässerigen Lösung des Aetherrückstandes durch neutrales Bleiacetat gefällt. Säuert man diesen Niederschlag an, schüttelt mit Aether, löst den Aetherrückstand in Wasser und lässt verdunsten, so scheidet sie sich zuweilen in geringer Menge krystallinisch ab. Vorkommen.

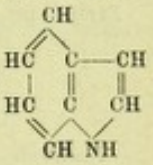


Sie krystallisiert in feinen Nadeln mit 1 Mol. Wasser und ist in heissem Wasser, Alkohol sowie Aether leicht löslich. Versetzt man eine wässerige etwa 10proc. Lösung der Säure mit mässigem Ueberschuss von Phenylhydrazin und der gleichen Menge 50proc. Essigsäure und erhitzt eine Stunde im Wasserbade, so scheidet sich beim Erkalten Gallussäurephenylhydrazid als Prismen ab, die in Alkohol oder heissem Wasser ziemlich leicht löslich sind und bei 187° schmelzen. Eigenschaften.

Eine wässerige Lösung reduciert alkalische Silberlösung schon bei gewöhnlicher Temperatur, bräunt sich auf Zusatz von Alkalien, gibt mit Eisenoxydsalzen schwarzblaue Färbung und mit Cyankalium eine schöne Rotfärbung, die beim ruhigen Stehen bald verschwindet, beim Umschütteln wieder erscheint (Sidney Young[3]). Mit Millon's Reagens gibt die Gallussäure einen ziegelroten Niederschlag, der beim Kochen graubraun wird (Huppert). Nachweis.

Indol und Indolderivate.

211. **Indol** C_8H_7N bildet sich, meist zusammen mit Skatol, bei der Fäulnis von Eiweisstoffen (Nencki[4]), desgleichen beim Schmelzen dieser Stoffe mit Kali (Kühne[5]). In Fäces und Darminhalt von Menschen und Tieren findet es sich entweder mit oder ohne Skatol sehr häufig. In sehr seltenen Fällen kommt es auch im Magen vor. Vorkommen.



Synthetisch wurde es zuerst von Baeyer[6]) durch Destillation der Producte starker Reduction von Indigo oder Isatin mit Zinkstaub, sowie durch Schmelzen von o-Nitrozimmtsäure mit Kali unter Zusatz von Eisenfeilspänen gewonnen, dann von Baeyer und Caro[7]) reichlicher beim Durchleiten von o-Diaethyltoluidin durch ein glühendes Rohr und auf verschiedene andere Weise erhalten. Ueber die Darstellung aus Fäulnisgemischen siehe § 221; über die Trennung von Skatol siehe S. 296. Darstellung.

---

1) H.-S. **52**. 375. (1907.)
2) H.-S. **6**. 193. (1882.)
3) Ref. B. **16**. 2691. (1883.)
4) B. **8**. 336. (1875.)
5) B. **8**. 206. (1875.)
6) A. **140**. 295. (1866.), Supplbd. **7**. 56. (1870.) B. **1**. 17. (1868.), **3**. 885. (1870.)
7) B. **10**. 1262. (1877.)

Eigenschaften. Indol krystallisiert aus heisser wässeriger Lösung in Blättchen, aus Ligroin in grossen, atlasglänzenden Blättchen; es schmilzt bei 52°, siedet nicht ohne Zersetzung bei 253—254° (corr.) und verflüchtigt sich leicht mit Wasserdämpfen. Die Dämpfe haben einen eigentümlichen widerlichen Geruch. Es löst sich ziemlich leicht in heissem, weniger in kaltem Wasser, leicht in Alkohol, Aether, Chloroform, Benzol, Ligroin und lässt

Verbindungen: sich seinen wässerigen Lösungen durch Schütteln mit Ligroin entziehen. Es verhält sich wie eine schwache Base und verbindet sich mit concentrierten,

mit Salzsäure. nicht mit verdünnten Säuren. Die salzsaure Verbindung ist in Wasser schwer löslich und wird beim Kochen mit Wasser zersetzt. Auf Zusatz

mit salpetriger Säure. von einigen Tropfen Salpetersäure und Kaliumnitritlösung scheidet sich aus einer kaltgesättigten wässerigen Lösung ein roter Niederschlag von salpetersaurem Nitrosoindol $C_{16}H_{13}(NO)N_2 . HNO_3$ aus, der sich sehr wenig in Wasser, leicht in Alkohol, gar nicht in Aether löst, sehr zersetzlich ist und

mit Pikrinsäure. trocken erhitzt verpufft (Nencki[1]). Bringt man in Benzol gelöstes Indol und Pikrinsäure zusammen, so verbinden sie sich zu gleichen Molekülen und diese Verbindung scheidet sich in langen roten, stark glänzenden, in kaltem Benzol oder Ligroin schwer löslichen Krystallen ab, die aus heissem Benzol gut umkrystallisiert werden können. Zur Gewinnung des Indol aus dieser Verbindung zerlegt man sie durch Ammoniak, destilliert entweder im Wasserdampfstrome ab oder schüttelt die Lösung mit Ligroin aus, welches beim Verdunsten das Indol schön krystallisiert zurücklässt. β-Naphtho-

mit β-Naphthochinon-natriumsulfat. chinonnatriummonosulfat ruft in schwach alkalischen Lösungen einen blauen oder purpurblauen Niederschlag hervor. Skatol gibt keine Verbindung. Daher zur Trennung von beiden geeignet (Herter und Foster[2]).

Zersetzung. Beim Erhitzen des Pikrats mit Alkalilauge wird Indol zersetzt (Unterschied vom Skatolpikrat), während nach Salkowski[3]) freies Indol, ebenso behandelt, überdestilliert.

Nachweis. Zum Nachweis des Indols dienen folgende Reactionen:

1. nach Baeyer. Auf Zusatz einiger Tropfen Salpetersäure und einiger Tropfen ganz verdünnter Kaliumnitritlösung (0,02 proc. oder noch schwächer) färbt sich eine Indollösung auch bei noch sehr starker Verdünnung rot. Bei reichlicherem Gehalt tritt der oben erwähnte Niederschlag von salpetersaurem Nitrosoindol auf (Salkowski[3]).

2. nach Ehrlich[4]). Man fügt zu einer Indollösung das halbe Volumen einer 2 proc. alkoholischen Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd, darauf tropfenweise 25 proc. Salzsäure bis zur Rotfärbung (Ehrlich) und nun vorsichtig einen oder einige Tropfen einer 0,5 proc. Natriumnitritlösung: Schöne dunkelrote Farbe, welche bald verschwindet (Steensma[5]).

1) B. **8**. 723. (1875.)
2) J. B. Ch. **1**. 257. (1906), **2**. 267. (1907.)
3) H.-S. **8**. 441. (1884.)
4) Med. Woche. 1901. Aprilheft.
5) H.-S. **47**. 25. (1906.)

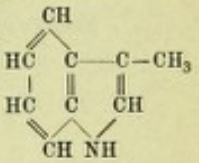
3. nach Legal[1]). Man fügt zu einer Indollösung Nitroprussidnatriumlösung bis zur Gelbfärbung und darauf einige Tropfen Natronlauge: tiefe violettblaue Färbung, die auf Zusatz von Salzsäure oder Eisessig rein blau wird. Noch in einer Verdünnung bis zu 1 : 100 000 positiv.

4. nach Hopkins. Man fügt zu einer Idollösung etwas ganz verdünnte Glyoxylsäurelösung und conc. Schwefelsäure: Rotfärbung. Noch in einer Verdünnung von etwa 1 : 500 000 positiv (Dakin[2]).

5. nach Kondo[3]). Man fügt zu der Indollösung etwas Formaldehydlösung und conc. Schwefelsäure: violettrote Färbung. Noch in einer Verdünnung von 1 : 700 000 positiv.

6. Ein mit starker Salzsäure befeuchteter Fichtenspan wird durch Indol in alkoholischer Lösung in kurzer Zeit kirschrot gefärbt.

212. **Skatol (Pr-3-Methylindol)** C_9H_9N ist von Brieger[4]) als Bestandteil der menschlichen Faeces erkannt und häufig im Darminhalt von Menschen und Tieren neben Indol nachgewiesen. Es entsteht wie das Indol bei der Fäulnis der Eiweissstoffe (Nencki[5]) und beim Schmelzen derselben mit Kali (Nencki[6]). Bei achttägiger Fäulnis von Gehirnmasse bildete es sich neben Spuren von Indol (Nencki). Vorkommen.



Baeyer[7]) erhielt es zugleich mit Indol bei der Destillation der Reductionsproducte von Indigoblau mit Zinkstaub. Um es synthetisch darzustellen, vermischt man nach E. Fischer[8]) die Verbindung mit Propionaldehyd und Phenylhydrazin mit dem gleichen Gewicht Chlorzink, erhitzt, nachdem die heftige Reaction vorüber ist, noch zwei Minuten auf 180° und destilliert im Wasserdampfstrom. Ueber die Darstellung aus Fäulnisgemischen siehe § 221. Darstellung.

Das Skatol krystallisiert ähnlich dem Indol in farblosen Blättchen, schmilzt bei 95°, siedet bei 265—266° und hat stechenden Fäcalgeruch. Es löst sich schwerer in Wasser als Indol, geht aber noch leichter bei der Destillation mit den Wasserdämpfen über als dieses, löst sich leicht in Alkohol, Aether, Chloroform und Benzol. Mit Salzsäure vereinigt es sich zu krystallisierter Verbindung $2C_9H_9N.HCl$, welche in Alkohol leicht löslich, in Wasser sowie Aether unlöslich ist. Seine Lösung in Benzol mit gleich- Eigenschaften. Verbindungen: mit Salzsäure. mit Pikrinsäure.

1) Breslauer ärztl. Zeitschr. 1884. No. 3. u. 4.
2) J. B. Ch. **2**. 289. (1907.)
3) H.-S. **48**. 185. (1906.)
4) B. **10**. 1027. (1877.)
5) C. f. d. med. Wiss. 1878. S. 849., H.-S. **4**. 371. (1880.), J. f. pr. Ch. N. F. **20**. 466. (1879.)
E. u. H. Salkowski, B. **12**. 651. (1879.)
Brieger, B. **12**. 1985. (1879.), H.-S. **4**. 414. (1880.), J. f. pr. Ch. N. F. **17**. 124. (1878.)
6) J. f. pr. Ch. N. F. **17**. 97. (1878.)
7) B. **13**. 2339. (1880.)
8) B. **19**. 1563. (1886.), A. **236**. 137. (1886.)

falls in Benzol gelöster Pikrinsäure versetzt, gibt krystallinischen Niederschlag der pikrinsauren Verbindung, wie Indol.

Beim Erhitzen des Pikrats mit mässig verdünnter Natronlauge destilliert Skatol unzersetzt (Unterschied von Indolpikrat) (Baeyer). Durch Einwirkung von Chloroform und Kalilauge auf Skatol entsteht Chlormethylchinolin (Ellinger u. Flamand[1]).

Trennung von Indol und Skatol.

Dem Nachweis geht zweckmässig die Trennung vom Indol voran. Dazu benutzt man die geringere Löslichkeit des Skatols in Wasser, seine leichtere Fällbarkeit aus der alkoholischen Lösung durch Wasser, seine grössere Flüchtigkeit mit Wasserdämpfen, das verschiedene Verhalten der Pikrate bei der Destillation mit Natronlauge (Skatol geht dabei unverändert in das Destillat über, Indol nicht) und die Destillation nach Zusatz von β-Naphthochinonnatriumsulfat (S. 294), mit dem Skatol keine Verbindung gibt. Skatol gibt folgende Reactionen:

Nachweis.

1. Es löst sich in conc. Salzäure mit violetter Farbe. Auch beim Erwärmen seiner Lösung mit Schwefelsäure entsteht purpurrote Färbung (Ciamician und Magnanini[2]).

2. Eine wässerige Lösung gibt mit einigen Tropfen Salpetersäure und etwas Kaliumnitritlösung versetzt keine Rotfärbung (wie Indol), sondern weissliche Trübung.

3. nach Ehrlich[3]). Behandelt man eine Skatollösung in der S. 294, 3 angegebenen Weise, so tritt auf Zusatz von p-Dimethylaminobenzaldehydlösung und Salzsäure eine blauviolette Färbung ein (Ad. Schmidt[4]), die unter Umständen auf Zusatz von Natriumnitrit tiefblau wird (Steensma[5]).

4. nach Salkowski[6]). Auf Zusatz von Nitroprussidnatrium und Natronlauge färbt sich eine Skatollösung intensiv gelb, versetzt man dann mit dem halben Vol. Eisessig, erhitzt zum Sieden und erhält darin einige Minuten, so tritt Violettfärbung ein.

5. nach Hopkins. Man fügt etwas ganz verdünnte Glyoxylsäure hinzu und conc. Schwefelsäure (wie § 211,5): Schöne rosarote Färbung. Noch in einer Verdünnung von 1 : 1000000 positiv (Dakin[7]).

6. Fügt man zu einer Skatollösung Formaldehydlösung und conc. Schwefelsäure (wie S. 295, 6), so tritt Gelb- oder Braunfärbung ein (Kondo[8]), Dakin), eine Rotfärbung aber, wenn zu der Schwefelsäure eine Spur einer oxydierenden Substanz, z. B. Ferrisalz zugefügt wird (Dakin).

7. Ein mit Salzsäure befeuchteter Fichtenspan wird durch Skatollösung in Wasser oder Alkohol nicht rot gefärbt; wird dagegen ein mit Skatol in heisser alkoholischer Lösung getränkter Fichtenspan in kalte starke Salzsäure getaucht, so färbt er sich zunächst kirschrot, die Farbe

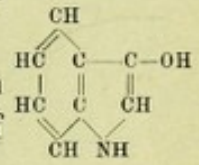
1) B. **39**. 4388. (1906.)
2) B. **21**. 1928. (1888.)
3) Med. Woche. Aprilheft. 1901.
4) M. m. W. 1903. 721.
5) H.-S. **47**. 25. (1906.),
6) H.-S. **8**. 448. (1883/84.)
7) J. B. Ch. **2**. 289. (1907.)
8) H.-S. **48**. 185. (1906.)

geht nach einiger Zeit in ein dunkles Violett über. Die Reaction ist nicht so empfindlich wie bei Indol (E. Fischer).

213. **Skatosin** $C_{10}H_{16}N_2O_2$ wurde von Baum[1]), später von Swain[2]) aus der Pankreasselbstverdauung als Benzoylverbindung isoliert; vielleicht ist eine von Langstein[3]) aus einer sehr weit fortgeschrittenen Verdauung von Bluteiweiss erhaltene Substanz mit dem Skatosin identisch.

Die wässerige Lösung der freien Base wird durch Phosphorwolframsäure und durch Quecksilberacetat, nicht durch Mercurisulfat gefällt und gibt mit Bromwasser gelben Niederschlag. Benzoylverbindung $C_{10}H_{12}N_2O_2(C_7H_5O)_4$ krystallisiert aus heissem Alkohol in farblosen Nadeln vom Smp. 169°, schwer löslich in Aether, unlöslich in Benzol, entwickelt beim Schmelzen mit Kali starken skatolähnlichen Geruch. Hydrochlorat $C_{10}H_{16}N_2O_2 \cdot 3HCl$, schiefwinklige Plättchen, gelblichweiss, schmilzt unter Schwärzung und Gasentwicklung bei 345—355°.

214. **Indoxyl** C_8H_7NO findet sich als Indoxylschwefelsäure (und Indoxylglukuronsäure) im Harn. Vorkommen.

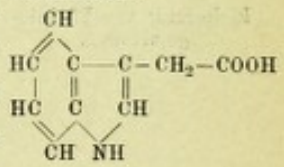


Man erhält es durch Zerlegung dieser Säure mit Salzsäure (Baumann und Brieger[4]), sowie durch Erwärmen von Indoxylsäure mit Wasser auf 70—80° neben Kohlensäure (Baeyer[5]), Vorländer und Drescher[6]).

Hellgelbe Krystalle[6]), löslich in Wasser mit grüner Fluorescenz, in Alkohol, Aether, besonders leicht in Aceton, mit schwach überhitztem Wasserdampf teilweise unzersetzt flüchtig. Smp. 85°. Mit verdünnten Säuren entwickelt es einen unangenehmen Geruch und wandelt sich in eine amorphe, rote Substanz um; in concentrierter Schwefel- oder Salzsäure ist es beständiger. Bei der Einwirkung von pyroschwefelsaurem Kali auf Indoxyl, in Kalilauge gelöst, entsteht Indoxylschwefelsäure. Indoxyl oxydiert sich in alkalischer Lösung, besonders in ammoniakalischer, an der Luft zu Indigblau nach der Gleichung $2\,C_8H_7NO + O_2 = C_{16}H_{10}N_2O_2 + 2\,H_2O$, ebenso sofort auf Zusatz von Salzsäure und Eisenchlorid; mit Eisenchlorid allein entsteht eine weisse, amorphe Substanz, die aber von Salzsäure sofort in Indigo umgewandelt wird. Auf Zusatz von Natriumcarbonat und Isatin zu einer Indoxyllösung bildet sich Indirubin, auch in salzsaurer Lösung vollzieht sich diese Synthese. Eigenschaften.

Skatoxyl C_9H_9NO ist bisher aus dem Harn nicht rein dargestellt worden. Skatoxyl.

215. **Indol-Pr-3-Essigsäure***) $C_{10}H_9NO_2$ wurde zuerst von E. und H. Salkowski[7]) unter den Fäulnisproducten der Eiweissstoffe aufgefunden, in ihrer Constitution von Ellinger[8]) erkannt. Sie findet sich häufig im Harn (Chromogen des Urorosein) und wurde aus dem Harn eines an anormaler Darmgärung leidenden Patienten isoliert (Herter[9]). Vorkommen.



*) Früher als Skatolcarbonsäure bezeichnet.

1) B. Ph. P. **3**. 439. (1903.)
2) B. Ph. P. **3**. 442. (1903.)
3) B. Ph. P. **1**. 519. (1902.)
4) H.-S. **3**. 254. (1879.)
5) B. **14**. 1744. (1881.)
6) B. **35**. 1701. (1902.)
7) B. **13**. 2217. (1880.), H.-S. **9**. 8. (1885.)
8) B. **37**. 1801. (1904.)
9) J. B. Ch. **4**. 239 u. 253. (1809.)

Darstellung. Synthetisch wurde sie durch Erhitzen des Phenylhydrazons des β-Aldehydopropionsäuremethylesters mit alkoholischer Schwefelsäure und Verseifen des so erhaltenen Esters mit alkoholischem Kali gewonnen (Ellinger). Ueber die Darstellung aus Fäulnisgemischen siehe § 221. Aus zwei Kilo feuchten Fibrins, welches 26 Tage gefault hatte, wurden einmal 1,3 g erhalten.

Eigenschaften. Die Säure krystallisiert in Blättchen, welche in Alkohol und Aether leicht, in Wasser wenig löslich sind und bei 164° schmelzen. Der Smp. der synthetischen Säure lag bei 165°. Beim höheren Erhitzen zerfällt sie in Kohlensäure und Skatol. Unreine wässerige Lösungen zersetzen sich schon beim Verdampfen.

Nachweis. Zum Nachweis dienen folgende Reactionen, welche in wässeriger Lösung noch bei einer Verdünnung 1 : 1000 eintreten (Salkowski).

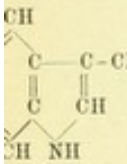
1. Mit einigen Tropfen reiner Salpetersäure von 1,2 spec. Gew. und wenigen Tropfen 2 proc. Kaliumnitritlösung entsteht ziemlich schnell kirschrote Färbung, dann Trübung unter Ausscheidung eines roten Farbstoffs.

2. Mit dem gleichen Volumen Salzsäure von 1,12 spec. Gew. und einigen Tropfen 1—2 proc. Chlorkalklösung erhält man allmählich purpurrote Färbung und ebensolchen Niederschlag.

3. Mit einigen Tropfen Salzsäure und mit zwei bis drei Tropfen einer ganz verdünnten Eisenchloridlösung erhitzt färbt sich die Mischung noch vor dem Sieden intensiv violett.

4. Mit p-Dimethylaminobenzaldehyd u. Salzsäure: Rotfärbung (Herter).

Vorkommen. 216. **Indol-Pr-3-Propionsäure***) $C_{11}H_{11}NO_2$ wurde von Nencki[1]) unter den Producten der Zersetzung von Serumeiweiss durch anaerobe Spaltpilze gefunden, am reichlichsten trat sie nach 3—4 wöchiger Zersetzung von Eiweiss durch Rauschbrandbacillen auf. Salkowski[2]) beobachtete ihr Auftreten auch bei gewöhnlicher Eiweissfäulnis. Ihre Constitution wurde von Ellinger[3]) erkannt.



Darstellung. Synthetisch wurde sie durch Kochen des Hydrazons der γ-Aldehydobuttersäure mit alkoholischer Schwefelsäure und Verseifen des erhaltenen Esters mit alkoholischem Kali gewonnen (Ellinger).

Isolierung aus Fäulnisgemischen. Zu ihrer Isolierung aus der Eiweissfäulnis werden die Massen mit Oxalsäure versetzt und destilliert, der Destillationsrückstand noch heiss filtriert und eingedampft. Nach Abtrennung der ausgeschiedenen Oxalsäure usw. wird mit Aether extrahiert und der Rückstand der Aetherauszüge mit überhitztem Wasserdampf destilliert, wobei Fettsäuren und Phenylpropionsäure übergehen, während Hydro-p-cumarsäure und Indolpropionsäure zurückbleiben. Die letztere ist in Wasser weniger löslich als Hydro-p-cumarsäure und kann durch Umkrystallisieren von dieser getrennt werden. Siehe auch § 221.

---

*) Früher als Skatolessigsäure bezeichnet.

1) M. **10**. 506. (1889.)

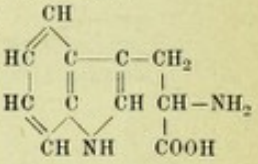
2) H.-S. **27**. 302. (1899.)

3) B. **38**. 2884. (1905.)

Sie krystallisiert in Prismen und unregelmässig gezackten, sechsseitigen Tafeln, ist in kaltem Wasser wenig löslich, leichter in heissem, überhaupt leichter löslich als die Indolessigsäure; in Alkohol und Aether, ebenso in verdünnter Essigsäure ist sie leicht löslich. Smp. 134°. Aus schwefelsaurer Lösung wird sie durch Mercurisulfat gefällt. Versetzt man eine Lösung mit conc. Kaliumnitritlösung und säuert dann mit Essigsäure an, so bildet sich alsbald ein gelbes Krystallmagma der Nitrosoverbindung $C_{11}H_{10}(NO)NO_2$, welche bei 135° unter Zersetzung schmilzt. Eigenschaften.

Zum Nachweis dient diese letztere Reaction. Ferner gibt die wässerige Lösung mit Eisenchlorid eine weissliche Trübung, die beim Erwärmen ziegelrot, in conc. Lösungen feuerrot bis kirschrot wird. Nachweis.

217. **Tryptophan (Indol-Pr-3-α-Aminopropionsäure)** $C_{11}H_{12}N_2O_2$. Dieser Körper, welcher die schon von Gmelin beobachtete Violettfärbung einer tryptischen Verdauungsflüssigkeit durch Chlor oder Brom bewirkt (daher auch Proteinochromogen genannt) tritt bei der hydrolytischen Spaltung der Proteine (durch Säuren, wobei er allerdings zum grössten Teil wieder zerstört wird, Barytwasser, Fermente, besonders Trypsin, Bacterien) auf. Es wurde von Stadelmann[1]), Nencki[2]), Beitler[3]), Kurajeff[4]) u. a. untersucht, aber erst von Hopkins und Cole[5]) in krystallisiertem Zustand erhalten und analysiert. Seine Constitution ist durch Ellinger[6]) festgestellt worden. Es ist auch im Käse nachgewiesen (Winterstein[7]) und in Keimpflanzen (E. Schulze und Winterstein[8]). Vorkommen.



Die Synthese (von β-Indolaldehyd aus) ist von Ellinger und Flamand[9]) ausgeführt worden. Das synthetische ist dl-Tryptophan, das natürlich vorkommende l-Tryptophan. Durch 12 stündiges Erhitzen mit 25 proc. Salzsäure bei 170° wird das active racemisiert (Neuberg[10]). Die Racemisierung erfolgt sehr leicht, schon beim Umkrystallisieren aus heissem Pyridin (Abderhalden und Baumann[11]). Darstellung.

Zu seiner Darstellung*) wird 1 kg Casein in 10 Litern 0,8 proc. Sodalösung bei Gegenwart von kräftig wirkendem Trypsin und einem Desinfectionsmittel tagelang (5—11 Tage) verdaut, bis die Tryptophanreaction (Rotviolettfärbung auf Bromwasserzusatz) ihr Maximum erreicht hat, die Lösung auf 80° erwärmt, mit reichlicher Menge reiner Infusorienerde Darstellung aus Casein.

*) Nach Hopkins u. Cole unter Berücksichtigung einiger von Abderhalden u. Kempe[12]) empfohlenen Abänderungen.

1) Z. f. B. **26**. 491. (1890.)
2) B. **28**. 560. (1895.)
3) B. **31**. 1694. (1898.)
4) H.-S. **26**. 501. (1898/99.)
5) J. of Ph. **27**. 418. (1902), **29**. 451. (1903.)
6) B. **37**. 1801. (1904.), **38**. 2884. (1905.), **40**. 3029. (1907.).
7) H.-S. **41**. 485. (1904).
8) H.-S. **45**. 56. (1905.)
9) B. **40**. 3029. (1907.) H.-S. **55**. 8. (1908.)
10) B. Z. **6**. 276. (1907.)
11) H.-S. **55**. 412. (1900.)
12) H.-S. **52**. 207. (1907.)

durchgerührt und nach dem Erkalten filtriert. Zu dem Filtrat fügt man Schwefelsäure bis zu einem Gehalt von 5—6 Vol.-pCt. und dann unter starkem Umrühren von einer Lösung, welche 5 Vol.-pCt. Schwefelsäure und 10 pCt Mercurisulfat enthält, zunächst bis zur beginnenden Trübung und dann noch für je einen Liter etwa 25 ccm. Nach 12 Stunden wird der Niederschlag abfiltriert, der scharf abgepresste Rückstand mit 5 proc. Schwefelsäure ausgewaschen, dann in Wasser suspendiert und mit Schwefelwasserstoff unter öfterer Erwärmung und Schütteln völlig zerlegt. Das Filtrat wird durch einen kräftigen Kohlensäurestrom vom Schwefelwasserstoff befreit, wieder mit 5 Vol.-pCt. Schwefelsäure versetzt und nun mit soviel Mercurisulfat, dass sich gerade ein zusammenhängender Niederschlag bildet. Nachdem dieser, welcher im Wesentlichen Cystin enthält, nach einer halben Stunde abfiltriert ist, wird das Filtrat mit Mercurisulfat völlig ausgefällt. Man filtriert den Niederschlag ab, wäscht mit verdünnter Schwefelsäure und Wasser und zerlegt ihn wie das erste Mal mit Schwefelwasserstoff. Das Filtrat von Schwefelquecksilber wird mittelst Barytwasser quantitativ von der Schwefelsäure befreit, filtriert und die schwefelsäure- und bariumfreie Flüssigkeit nach Zusatz von wenig Alkohol, um das Schäumen zu vermeiden, bei etwa 14 mm Druck und einer Temperatur des Wasserbades nicht über 40° so weit eingedampft, bis sich eine reichliche Menge Tryptophan ausgeschieden hat. Es wird abfiltriert und zusammen mit dem aus der eingeengten Mutterlauge gewonnenen aus 45 proc. und dann aus 75 proc. Alkohol unter Zusatz von Tierkohle umkrystallisiert. Ausbeute bis zu 5 g.

Neuberg[1]) empfiehlt das Filtrat von der zweiten Quecksilberfällung, statt es mit Barytwasser zu behandeln, mit 100 g Bleicarbonat zu versetzen, mit Ammoniak alkalisch zu machen, eine halbe Stunde zu erhitzen, heiss zu filtrieren, mit Schwefelwasserstoff zu behandeln, wieder zu filtrieren und zur Krystallisation einzuengen. Dabei findet Racemisierung statt (Allers[2]), Neuberg[3]).

Benutzt man als Ausgangsmaterial nicht Casein, sondern Fibrin, Serumeiweiss oder Eieralbumin, so empfiehlt es sich nach Hopkins u. Cole die in diesen Fällen reichlich vorhandenen Albumosen vor der ersten Fällung mit Mercurisulfat dadurch zu entfernen, dass man die filtrierte Flüssigkeit mit Schwefelsäure schwach ansäuert, mit Ammonsulfat sättigt, filtriert und mit Wasser verdünnt. Das weitere Verfahren ist das beschriebene.

Eigenschaften. Tryptophan krystallisiert in seideglänzenden rhombischen und sechsseitigen Blättchen, das racemische hat schwach süsslichen, das active fast keinen Geschmack. Es löst sich wenig in kaltem, leicht in heissem Wasser, wenig in absolutem Alkohol, auch in heissem wenig, wenig in kaltem, leicht in heissem Pyridin. Die Angaben über den Smp. lauten etwas verschieden, was jedenfalls durch schnelleres oder langsameres Erhitzen bedingt ist. Das

1) Neuberg u. Popowsky, B. Z. **2**. 357. (1907.)
2) B. Z. **6**. 272. (1907.) 3) B. Z. **6**. 276. (1907.)

synthetische dl-Tryptophan beginnt nach Ellinger und Flamand[1]) bei langsamem Erhitzen bei 240° sich zu färben, während sich in den oberen Teilen der Capillare ein braunes Destillationsproduct niederschlägt. Bei 256° werden feine Tröpfchen sichtbar, bei 264° ist die Substanz geschmolzen. Dasselbe Verhalten beobachteten sie bei einem l-Tryptophan und fast ganz dasselbe Allers[2]) bei einem racemisierten und H. Fischer[3]) bei einem activen. Für l-Tryptophan geben Hopkins und Cole an bei 220° Farbenänderung, bei 240° Braunfärbung und bei 252° völliges Schmelzen der schon vorher erweichten Substanz, Abderhalden und Kempe[4]) bei raschem Erhitzen leichte Gelbfärbung von 260° (corr.) und Schmelzen gegen 289° (corr.). Unter bestimmten Verhältnissen wird es durch Silbernitrat und Alkali gefällt (Neuberg).

Verbindungen: mit Salzsäure.

Fügt man zu einer wässerigen Lösung Salzsäure und dampft im Vacuum ein, so krystallisiert das salzsaure Salz $C_{11}H_{12}N_2O_2 . HCl$ (Smp. 251° unter Zersetzung).

mit Pikrinsäure.

l-Tryptophanpikrat, karminrote Nadelbüschel und Tafeln (Smp. 195—196°), löst sich bei Zimmertemperatur 0,91 : 100, in Aether 1 : 100, in Alkohol leicht.

mit Pikrolonsäure.

l-Tryptophanpikrolonat, orangerote Nadelbüschel (Smp. 203—204° unter Gasentwickelung) lösen sich bei Zimmertemperatur 0,384 : 100, in Alkohol leicht, in Aether weniger (Mayeda[5]).

mit Kupfer.

l-Tryptophankupfer, nicht krystallisiert, in den gewöhnlichen Lösungsmitteln und verdünnten Mineralsäuren schwer löslich.

mit Methylalkohol.

l-Tryptophanmethylester Smp. 89,5° (corr.) leicht löslich in Methylalkohol, schwerer in Aether und Essigester.

mit β-Naphthalinsulfosäure.

l-β-Naphthalinsulfotryptophannatrium (S. 226) scheidet sich während des Schüttelns krystallinisch ab und schmilzt aus heissem Wasser umkrystallisiert bei 304° (corr.). Diese Verbindung ist vermutlich zur Isolierung sehr geeignet (Abderhalden u. Kempe). Die freie Säure (u. z. aus l- wie aus dl-Tryptophan) schmilzt bei 180° (Ellinger u. Flamand).

mit Benzolsulfosäure.

l- und dl-Benzolsulfotryptophan krystallisiert aus verdünntem Alkohol in Nadeln (Smp. unter Zersetzung 185°). Zur Erkennung sehr kleiner Mengen geeignete Verbindung (Ellinger u. Flamand).

mit Phenylisocyanat.

l-Phenyisocyanattryptophan (S. 226) Smp. 166° (corr.), leicht löslich in Alkohol, Essigester, Aceton, schwer in kaltem Wasser, sehr lichtempfindlich.

mit α-Naphthylisocyanat.

l-α-Naphthylisocyanattryptophan (S. 226) lichtempfindliche Nadeln (Smp. 159°). Ebenfalls zum Nachweis kleiner Tryptophanmengen geeignet (Neuberg u. Rosenberg[6]), Ellinger u. Flamand.)

mit Brom u. Chlor.

Auf Zusatz von Brom- oder Chlorwasser zu einer Tryptophanlösung

1) H.-S. **55.** 8. (1908.)
2) B. Z. **6.** 272. (1907.)
3) H.-S. **55.** 74. (1908.).
4) H.-S. **52.** 207. (1907.)
5) H.-S. **51.** 261. (1907.)
6) B. Z. **5.** 456. (1907.)

bildet sich zuerst je nach Concentration eine rote Lösung oder roter Niederschlag, die bei weiterem Zusatz von Halogenwasser in Gelb übergehen. Der gelbe Körper kann, so lange er noch feucht ist, durch Tryptophanlösung wieder in den roten zurückverwandelt werden. Der rote Körper ist ein Monohalogensubstitutionsproduct $C_{11}H_{11}N_2O_2Cl$, der gelbe enthält 3 Halogenatome. Auch Jod vermag in das Tryptophan einzutreten (Neuberg und Popowsky[1]), Neuberg).

Optische Eigenschaften.

Abderhalden u. Kempe und Abderhalden u. Baumann fanden für 10—11 proc. Lösungen in n-Natronlauge $[\alpha]_D^{20^\circ} = +6{,}06—6{,}57^\circ$, für 2 bis 3 proc. Lösungen in $n/_2$ Natronlauge $[\alpha]_D^{20^\circ} = +5{,}7 — 6{,}3^\circ$. Die etwas niedrigeren von H. Fischer gefundenen Werte (für 2—63 proc. Lösungen in n-Natronlauge) $[\alpha]_D = +5{,}56—5{,}69^\circ$) erklären sich wohl durch eine geringe Racemisierung.

Wässerige Lösungen zeigen Linksdrehung, doch schwankten die Werte für $[\alpha]_D$ bei verschiedenen Präparaten, die in n-NaOH die gleiche specifische Drehung zeigten, in 0,5 proc. wässeriger Lösung zwischen —29,75 und —40,3° (H. Fischer).

Das Chlorid zeigte in etwa 3 proc. Lösung $[\alpha]_D = — 13{,}44$ u. $— 13{,}58^\circ$. Beim Uebersäuern mit Salzsäure trat Rechtsdrehung ein (H. Fischer).

Umwandlungen.

Beim Erhitzen entsteht Kohlensäure und weiterhin Skatol und Indol, beim Schmelzen mit Aetzkali Skatol (bis zu 65 pCt. der berechneten Menge), Ammoniak und Oxalsäure (Hopkins u. Cole), bei der Oxydation mit Eisenchlorid β-Indolaldehyd (Hopkins u. Cole, Ellinger[2]). Durch anaerobe Bakterien entsteht aus Tryptophan Indol-Pr-3-Propionsäure, durch aerobe Indol-Pr-3-Essigsäure, Skatol und Indol (Hopkins u. Cole, siehe auch Ellinger u. Gentzen[3]). Tyrosinase ruft in Tryptophanlösungen leichte Färbung hervor (Abderhalden u. Guggenheim[4]), ebenso Sepiatyrosinase (Neuberg[5]). Hunde und Kaninchen führen Tryptophan in Kynurensäure über (Ellinger[6]).

Nachweis.

Tryptophan gibt folgende Reactionen:

1. Eine Lösung färbt sich auf vorsichtigen Zusatz von Brom oder Chlorwasser rotviolett.

2. nach Hopkins. Man fügt zu einer Lösung ganz verdünnte Glyoxylsäurelösung und conc. Schwefelsäure: Blauviolettfärbung. Noch bei einer Verdünnung von 1 : 200 000 Tl. positiv.

3. nach Ehrlich[7]). Eine Lösung färbt sich rot auf Zusatz von etwas p-Dimethylaminobenzaldehydlösung und starker Salzsäure (Rohde[8]).

4. Auf Zusatz von etwas alkoholischer Lösung von Benzaldehyd und ferrisulfathaltiger Schwefelsäure zu Tryptophanlösung tritt Blaufärbung

1) B. Z. **2**. 357. (1907.)
2) B. **39**. 2515. (1906.)
3) B. Ph. P. **4**. 171. (1904.)
4) H.-S. **54**. 331. (1907/08.)
5) B. Z. **8**. 383. (1908.)
6) H.-S. **43**. 325. (1904/05.)
7) Med. Woche. Aprilheft 1901.
8) H.-S. **44**. 161. (1905.)

(Cole[1]), auf Zusatz von etwas Formaldehydlösung und ferrisulfathaltiger conc. Schwefelsäure violettblaue Färbung ein (Dakin[2]).

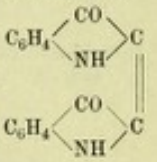
5. Eine Tryptophanlösung färbt sich beim Kochen mit Salpetersäure gelb, beim Kochen mit Millon's Reagens braunrot (Abderhalden und Kempe).

6. Taucht man ein in starke Salzsäure eingetauchtes und mit Wasser abgespültes Streichholz in eine starke wässerige Lösung der Substanz, so nimmt es nach dem Trocknen eine tiefe Purpurfarbe an.

218. **Oxytryptophan $C_{11}H_{12}N_2O_3$** wurde in einigen Fällen bei der Verarbeitung der Caseinverdauung auf Tryptophan (§ 217) u. z. dann, wenn die Verdauung sehr lange gewährt hatte, die Verarbeitung langsam erfolgt und die Ausbeute an Tryptophan nur gering war, von Abderhalden u. Kempe[3]) isoliert. Es schied sich bei der Krystallisation als erste in Nadeln krystallisierende schwach gelblich gefärbte Fraction ab, während das in farblosen Blättchen krystallisierende Tryptophan in den späteren Fractionen enthalten war.

Es ist in Wasser noch schwerer löslich als Tryptophan. Es beginnt bei 276° (corr.) sich gelb zu färben und schmilzt bei 293° (corr.) Beim Erhitzen starker Indolgeruch, Bromwasserreaction negativ. Hopkin's Reaction (S. 302, 2) nur bei sehr vorsichtigem Zusatz der Schwefelsäure positiv. Kocht man mit conc. Salzsäure, dampft ein und erhitzt den Rückstand, so tritt kein Indol-, sondern ein Chinolingeruch auf. Seine Lösung färbt sich mit Tyrosinase rasch intensiv rot und allmählich braunrot (Abderhalden und Guggenheim[4]). Es zeigt in n-Natronlauge Linksdrehung (Abderhalden und Baumann[5]).

219. **Indigblau (Indigotin) $C_{16}H_{10}N_2O_2$** entsteht im Harn auf Zusatz des gleichen Volumens einer etwas Chlor oder Eisenchlorid enthaltenden Salzsäure, indem hierdurch die im Harn vorhandene Indoxylschwefelsäure (und Indoxylglukuronsäure) gespalten und das Indoxyl zugleich zu Indigblau oxydiert wird. (Daneben entsteht etwas Indigrot § 220). Seine Bildung erfolgt auch nicht selten auf Zusatz starker Mineralsäuren zum Harn, besonders Pferdeharn. Es findet sich, aus derselben Quelle stammend, auch hier und da an der Oberfläche von faulendem Harn abgeschieden als kupferrot metallisch glänzendes, dünnes Häutchen. In der Indigopflanze ist dieser Farbstoff als Glukosid, Indikan, enthalten. Vorkommen.



Es entsteht durch Einwirkung von indifferentem Sauerstoff auf Indigweiss $C_{16}H_{12}N_2O_2$, von Ozon auf Indol in geringer Menge, von reducierenden Stoffen auf Isatin, Aminooxindol usw. Es bildet sich beim Kochen von o-Nitrophenylpropiolsäure in alkalischer Lösung (verdünnte Natronlauge, Barytwasser oder Sodalösung) mit Trauben- oder Milchzucker (Baeyer[6]), durch Condensation von o-Nitrobenzaldehyd mit Aceton in alkalischer Darstellung.

---

1) J. of Ph. **30**. 317. (1903/04.)
2) J. B. Ch. **2**. 289. (1907.)
3) H.-S. **52**. 212. (1907.)
4) H.-S. **54**. 352. (1907/08.)
5) H.-S. **55**. 415. (1908.)
6) B. **11**. 1228. u. 1296. (1878.), **12**. 456. (1879.) **13**. 2258. (1880.), **14**. 1741. (1881.) Sommaruga, B. **11**. 1355. (1878.)

Lösung (Baeyer und Drewsen[1]), durch Schmelzen von Phenylglykocoll oder Phenylglykocoll-o-carbonsäure mit Alkali und Oxydation der wässerigen Lösung an der Luft (Heumann[2]). Auf dieser letzteren Reaction beruht die synthetische Darstellung im Grossbetriebe.

Eigenschaften. Indigblau bildet ein dunkelblaues Pulver, es ist unlöslich in Wasser, Alkohol, Aether, verdünnten Säuren und Alkalien, sehr wenig löslich in Chloroform, löslich in heissem Anilin mit blauer Farbe, in geschmolzenem Paraffin mit purpurroter Farbe. Aus beiden Lösungsmitteln kann es krystallisiert erhalten werden; aus heissem Terpentinöl krystallisiert es in schönen, blauen Tafeln. Gegen 300° verflüchtigt es sich, bildet schön purpurrot gefärbten Dampf und schlägt sich an kühleren Stellen in prismatischen Krystallen wieder nieder, die kupferroten Metallglanz zeigen und im durchfallenden Lichte tief blau erscheinen. Beim Sublimieren zersetzt sich ein Teil des Indigblaus zu Kohle, Kohlensäure und Anilin, ein Teil geht in Indirubin (§ 220) über. Mischt man feinpulveriges Indigblau mit Eisenvitriol, überschüssigem gelöschten Kalk und ausgekochtem Wasser in einer ganz damit gefüllten Flasche und lässt stehen, so geht es in Indigweiss über, lässt man dann die mit Heber klar abgezogene Lösung ruhig an der Luft stehen, so scheidet sich Indigblau wieder ab. Auch in einer Mischung von Indigblau mit heissem Alkohol, sehr starker Natronlauge und etwas Traubenzucker, welche eine verschlossene Flasche ganz füllt, ensteht Indigweiss. Beim Stehen dieser Mischung an der Luft scheidet sich Indigblau in Krystallen aus.

Indigblausulfosäuren. Unter den Substitutionsproducten des Indigblaus sind von besonderer Wichtigkeit die Indigblaudisulfosäure $C_{16}H_8N_2O_2(SO_3H)_2$ und -monosulfosäure (Phönicinschwefelsäure) $C_{16}H_9N_2O_2(SO_3H)$, welche beide durch Erwärmen von pulverigem Indigblau mit concentrierter Schwefelsäure und Eintragung der Lösung in Wasser dargestellt werden. Die Phönicinschwefelsäure scheidet sich aus der sauren Lösung in Flocken aus, löst sich aber in destilliertem Wasser, wenn auch schwerer als die Disulfosäure. Die Lösungen dieser Sulfosäuren geben ihren Farbstoff an eingelegte Wollfäden ab. Beim Erhitzen mit Salpetersäure werden sie entfärbt. Beim Kochen mit Natriumcarbonat und Traubenzucker verschwindet gleichfalls die blaue Farbe (Bildung von Indigweisssulfosäure), um beim Schütteln mit Luft wieder zu erscheinen. Die Lösungen beider Säuren und ihrer Alkaliverbindungen absorbieren sehr kräftig das Licht zwischen den Fraunhoferschen Linien C und D nahe vor letzterer Linie; bei hinreichender Dicke der Schicht greift der Absorptionsstreifen über D nach dem Gelbgrün hinüber.

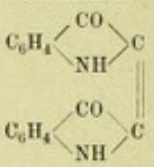
Nachweis. Zum Nachweis von Indigblau sammelt man den zu prüfenden Farbstoff auf einem in die Trichterenge dicht eingesetzten Asbestpfropf, wäscht

1) B. **16**. 2205. (1883.) 2) B. **23**. 3043. (1890.)

mit Wasser, dann mit Alkohol (Lösung des fast stets zugleich vorhandenen Indirubins), trocknet und benutzt Teile dieses Pfropfes zu den Reactionen. Als solche eignen sich besonders die Sublimierbarkeit und Bildung purpurroter Dämpfe beim starken Erhitzen im trocknen Probierrohr, das beschriebene Verhalten gegen stark alkalische Traubenzuckerlösung, Wiederblaufärbung der Mischung beim Schütteln mit Luft, Löslichkeit des Indigblaus beim Erwärmen mit conc. Schwefelsäure und das geschilderte Verhalten der wässerigen Lösung der gebildeten Sulfosäuren.

220. **Indirubin (Indigrot, Indigpurpurin)** $C_{16}H_{10}N_2O_2$. Dieser mit dem Indigblau isomere Farbstoff entsteht neben Indigblau bei der Zersetzung von Indoxylschwefelsäure (und Indoxylglukuronsäure) im Harn durch Salzsäure und mässiger Oxydation, besonders bei gleichzeitiger Erwärmung und ist in reinem Zustande zuerst von Rosin[1]) aus Harn erhalten worden. Gelegentlich kommt es in faulendem Harn auch in freiem Zustande vor, auch in einem Fall von Nephritis fand es sich in freiem Zustande im frischen Harn (Gröber[2]). Es ist identisch mit dem von Schunck[3]) im käuflichen Indigo aufgefundenen roten Farbstoff (Rosin), sowie mit demjenigen, welchen Baeyer[4]) durch Reduction von Isatinchlorid mit Zinkstaub und durch Einwirkung von Indoxyl auf Isatin in Alkohol bei Zusatz von Natriumcarbonat erhielt (Schunck und Marchlewski[5]). Auch aus Isatin entsteht es durch Reduction, sowie aus Indigblau, das bei der Sublimation zum Teil in Indirubin übergeht.

Vorkommen.



Aus dem Harn gewinnt man es nach Rosin in folgender Weise: Etwa 300 Liter von geeignetem Harn (Darmkrankheiten, Pferdeharn) werden portionsweise (zu 5 Litern) mit basischem Bleiacetat vollständig ausgefällt und filtriert. Das Filtrat wird mit Salzsäure versetzt, wieder filtriert, mit soviel Salpetersäure versetzt, dass auf ein Liter Flüssigkeit etwa 20 g Salpetersäure kommen, und sofort in grossem Kolben bis nahe zum Sieden erhitzt. Wenn die Farbe dunkelkirschrot geworden ist, kühlt man rasch ab und fügt Soda in Substanz bis zur schwach sauren Reaction hinzu. Die Flüssigkeit trübt sich, der Farbstoff fällt aus und wird durch ein mehrfach zusammengelegtes Filter, welches so gross sein soll, dass sämmtliche Harnportionen nach einander filtriert werden können, abfiltriert. Indigrot, Indigblau und einige andere Farbstoffe bleiben auf dem Filter, das Filtrat ist ganz frei von Indigrot. Der Rückstand wird mit kohlensaurem Natron und Wasser gewaschen, getrocknet und darauf mit Chloroform am Rückflusskühler auf dem Wasserbade ausgekocht, bis sich dasselbe nicht mehr schön dunkelpurpurn, sondern blau färbt. Die abfiltrierten und vereinigten Chloroformauszüge werden abdestilliert und zwar soweit, bis das Indigrot (verbunden mit etwas Indigblau) ausfällt. Jetzt lässt man erkalten, filtriert das ausgefallene Indigrot ab und wäscht mit kaltem Chloroform nach, bis alle braunen Verunreinigungen möglichst entfernt sind und das Filtrat schön purpurfarben abläuft. Der Rückstand, welcher immer noch Indigblau und Spuren von braunen Verunreinigungen enthält, wird so lange mit immer neuen Mengen Aether am Rückflusskühler gekocht, als noch Indigrot in Lösung geht. Die

Darstellung aus Harn.

1) Virch. A. **123**. 519. (1891.) 2) M. m. W. 1904. 61.
3) Mem. of Manchester Phil. Soc. 2. Ser. **14**. 185.
4) B. **12**. 457. (1879.), **14**. 1745. (1881.)
5) B. **28**. 539. u. 2525. (1895.)

vereinigten Aetherlösungen destilliert man ab, bis sich Krystalle abzuscheiden beginnen, filtriert nach 24 Stunden und krystallisiert noch einmal um. Die Ausbeute beträgt kaum 1 g.

Eigenschaften. Indirubin krystallisiert in chokoladebraunen, verzweigten Nadeln oder rhombischen Blättchen und sublimiert beim Erhitzen auf 295—310° unter Bildung von violettroten Dämpfen. Es ist unlöslich in Wasser, verdünnter Salz- oder Schwefelsäure, Alkalien, löslich mit kirschroter Farbe in Alkohol, Aether, Benzol, Chloroform, besonders leicht in heissem, Eisessig und wird aus der essigsauren Lösung durch Wasser und Natriumcarbonat gefällt. Beim Verdünnen der alkoholischen Lösung mit Wasser scheidet es sich in krystallinischen Flocken aus. Es widersteht der Oxydation kräftiger als Indigblau. Mit Traubenzucker in alkalischer Lösung erwärmt geht es in Indirubinweiss über, mit concentrierter Schwefelsäure bildet es Indirubinsulfosäure. Bei der spectroskopischen Untersuchung zeigen alkoholische Lösungen des Indirubins einen Streifen im grüngelben Teil des Spectrums.

Nachweis im Harn. Zum Nachweis von freiem Indirubin im Harn neutralisiert man denselben mit Natriumcarbonat, schüttelt mit Aether aus (dabei bleibt Urorosein ungelöst) und verdunstet den rot gefärbten Aether im Schälchen. Der Rückstand muss sich in Alkohol mit schön roter Farbe lösen, die alkoholische Lösung muss mit etwas Soda und Traubenzucker erwärmt farblos werden und beim Schütteln mit Luft die rote Farbe wieder annehmen (Rosin).

Isolierung von Fäulnisproducten*) nach E. und H. Salkowski[1]). (Untersuchung eines Fäulnisgemisches).

221. Die gefaulten Flüssigkeiten**) werden ohne Filtration destilliert, bis der Rückstand dicklich wird, und nach Zufügen von Wasser zum Rückstande abermals destilliert. Die Untersuchung der vereinigten Destillate geschieht nach A, die des Rückstandes nach B.

A. Untersuchung der Destillate. Sie werden mit Salzsäure angesäuert und mit Aether ausgeschüttelt u. z. in einzelnen Portionen nach einander mit einer und derselben Portion Aether. Die mit Aether ausgeschüttelte, wässerige Lösung enthält fast nur Chlorammonium und wird

---

*) Ptomaine sind hier nicht berücksichtigt. Siehe darüber § 169.

**) Um nicht zu kleine Mengen der einzelnen Fäulnisproducte zu erhalten, ist es nötig, grössere Eiweissmengen faulen zu lassen. E. u. H. Salkowski verfuhren so: 2 Kilo gut ausgepresstes Blutfibrin, 8 Liter Wasser von 40—42°, welchem 2 g Kaliummonophosphat und 1 g Magnesiumsulfat zugesetzt waren und 200 ccm gesättigte Sodalösung wurden gemischt, einige Cubikcentimeter fauler Fleischflüssigkeit mit darin befindlichen Fleischstückchen hinzugefügt. Der Kolben wurde nun mit einem Kork, durch dessen Bohrung ein mit Gummischlauch versehenes Glasrohr gesteckt ist, verschlossen. Der Gummischlauch tauchte in Wasser. Temperatur etwa 42°. Der Kolben wurde ab und zu geschüttelt. Sobald die Gasentwicklung nachliess, wurde der Gummischlauch durch eine Klemme geschlossen. Die Verarbeitung erfolgte nach 5—6 Tagen.

[1]) H.-S. **8.** 417, (1883/84), **9.** 8 u. 491. (1885.)

nicht weiter untersucht. Der Aetherauszug, welcher Indol, Skatol, Phenole und Säuren enthält, wird zur Entfernung von Phenolen und Säuren zweimal anhaltend mit Natronlauge (a) geschüttelt, die ätherische Lösung verdunstet, der Rückstand mit Natronlauge zersetzt und im Dampfstrom destilliert. Dabei bleibt ein Reste von Phenolen und Säuren enthaltender Rückstand (b), während Indol und Skatol in das Destillat übergehen Indol u. Skatol. und aus diesem mit Aether ausgeschüttelt werden können (Trennung und Nachweis siehe §§ 211 und 212). Die die Phenole und Säuren enthaltenden Flüssigkeiten a und b werden vereinigt, angesäuert, mit Soda alkalisch gemacht und mit Aether geschüttelt, die wässerige Lösung (c) enthält die Säuren, die ätherische, welche die Phenole enthält, wird verdunstet, der Rückstand im Dampfstrom destilliert und das Destillat mit Aether ausgeschüttelt. Beim Verdunsten des Aethers hinterbleiben Kresol Kresol u. Phenol. und Phenol (Trennnung und Nachweis siehe § 191).

B. Untersuchung des Rückstandes. Der im Kolben verbliebene Rückstand wird bei durch Soda bewirkter alkalischer Reaction im Wasserbad eingeengt, mit dem dreifachen Volumen Alkohol vermischt und nach 24 stündigem Stehen filtriert. Der Rückstand besteht aus Eiweissresten, Salzen, Bacterien. Das Filtrat wird mit der Lösung c (siehe unter A) vereinigt, bei alkalischer Reaction eingedampft, der Rückstand in Wasser aufgenommen, mit Schwefelsäure stark übersättigt und wiederholt vorsichtig mit Aether ausgeschüttelt. Die leicht eintretenden Emulsionen müssen durch Zusatz von Alkohol oder Erwärmen beseitigt werden. In der wässerigen Lösung bleiben Peptone, Aminosäuren, ein Teil der basischen Stoffe (Ptomaine). Der Rückstand der ätherischen Lösung, der aus Fett, Säuren und basischen Stoffen besteht, wird mit gemessener Menge Natronlauge in der Wärme aufgenommen und die alkalische Lösung ohne Rücksicht auf Trübung durch Fett mit Chlorbarium ausgefällt. Der Niederschlag besteht aus Fett, Barytseifen, Bariumcarbonat. Das klare Filtrat wird eingeengt, mit Salzsäure im Ueberschuss versetzt und mit Aether ausgeschüttelt. In der wässerigen Lösung bleiben basische Substanzen z. B. δ-Amino-n- δ-Amino-n-valeriansäure. valeriansäure (S. 233), als Salzsäureverbindungen zurück. Der Rückstand der ätherischen Lösung (flüchtige Fettsäuren, Bernsteinsäure, aromatische Säuren) wird im Dampfstrom, welcher vorher durch ein gelinde erhitztes Kupferrohr geht, destilliert und das Destillat direct in Natronlauge, deren Menge die Quantität der oben zum Alkalisieren gebrauchten Natronlauge etwas übersteigt, eingeleitet. Die Destillation dauert sehr lange (bei der Versuchsausführung, wie sie in der **Anm. angegeben ist, 24—36 Stunden) und muss so lange fortgesetzt werden, bis alle flüchtigen Säuren übergegangen sind. Man erkennt das daran, dass vorgelegtes, schwach alkalisches Wasser während einstündigen Destillierens nicht sauer wird. Das Destillat (a) enthält die flüchtigen Fettsäuren, Phenylessigsäure und

Phenylpropionsäure, der Rückstand (b) Bernsteinsäure, Indolessigsäure und Oxysäuren.

Die Flüssigkeit a wird auf dem Wasserbade eingedampft, mit Salzsäure stark übersättigt und mit Aether ausgeschüttelt. Der beim Verdunsten des Aethers hinterbleibende Rückstand wird aus einem Siedekölbchen mit eingesetztem Thermometer destilliert, und die Vorlage gewechselt, wenn der Siedepunkt auf 260° gestiegen ist. Unterhalb 260° gehen die flüchtigen Fettsäuren (Trennung siehe § 73) über, der oberhalb 260° übergehende Anteil besteht aus Phenylessigsäure und Phenylpropionsäure (Trennung und Nachweis siehe § 200). Die im Kolben zurückbleibende Flüssigkeit b trübt sich beim Erkalten unter Abscheidung harziger Substanz und wird nach einigen Stunden filtriert. Aus dem Filtrat scheidet sich während 24 stündigen Stehens im Eisschrank reine Indolessigsäure (Nachweis siehe § 215) in weissen, kreidigen Körnchen ab. Auch etwa vorhandene Indolpropionsäure (Nachweis siehe § 216) wird sich an dieser Stelle ausscheiden. Durch Einkochen der Mutterlauge auf die Hälfte ist oft noch eine zweite Abscheidung zu erhalten, ein Teil bleibt indessen stets in Lösung; dieser geht beim Ausschütteln mit Aether zusammen mit den aromatischen Oxysäuren in den Aether über, während Bernsteinsäure (§ 78) zum grössten Teil zurückbleibt. (Etwa vom Aether aufgenommene Bernsteinsäure scheidet sich beim Concentrieren der ätherischen Lösung ab). Aus der heissen wässerigen Lösung des Aetherrückstandes krystallisiert beim Erkalten Hydro-p-cumarsäure (§ 204) und p-Oxyphenylessigsäure (§ 203) aus.

Flüchtige Fettsäuren.

Phenylessigsäure und Phenylpropionsäure.

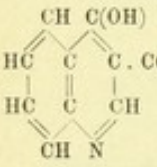
Indolessigsäure und Indolpropionsäure.

Bernsteinsäure.

Hydro-p-cumarsäure u. p-Oxyphenylessigsäure.

Chinolinderivate, Urocaninsäure.

Vorkommen.



222. **Kynurensäure (γ-Oxy-β-Chinolincarbonsäure) $C_{10}H_7NO_3$.** Diese von Liebig[1]) entdeckte Säure ist bisher nur im Hundeharn und im Harn von Canis ochropus (Swain[2]) gefunden worden. Sie tritt hier in geringer Menge und nicht regelmässig auf, wechselt nach Art der Nahrung, mit steigendem Eiweisszerfall zunehmend und zeigt keine Abhängigkeit von der Darmfäulnis (Baumann[3]). In den Körper (Hund, Kaninchen) eingeführtes Tryptophan wird z. T. als Kynurensäure ausgeschieden (Ellinger[4]).

Darstellung.

Camps[5]) erhielt sie synthetisch, indem er den o-Amino-phenylpropiolsäureaethylester in den Formyl-o-aminophenylpropiolsäureester überführte und diesen in wässerig-alkoholischer Lösung mit Natronlauge kochte.

Darstellung aus Hundeharn.

Aus Hundeharn scheidet sie sich auf Zusatz von 4 ccm concentrierter Salzsäure zu 100 ccm (frischem oder vorher eingeengtem) Harn während ein- bis zweitägigem Stehen zusammen mit Schwefel ab. Am Besten fällt man

1) A. **86**. 125. (1853.)
2) A. J. of Ph. **13**. 30. (1905.)
3) H.-S. **10**. 131. (1886.)
4) H.-S. **43**. 325. (1904/05).
5) H.-S. **33**. 390. (1901.)

den Harn nach Hofmeister[1]) mit Salzsäure und Phosphorwolframsäure aus, filtriert, wäscht mit verdünnter Schwefelsäure bis zum Verschwinden der Chlorreaction, erhitzt den abgepressten und in Barytwasser zerteilten Niederschlag nach Zufügen von festem Baryt zum Kochen und filtriert die stark alkalisch reagierende Flüssigkeit ab. Die durch Kohlensäure von Baryt befreite und filtrierte Lösung wird eingeengt und mit Salzsäure bis zur stark sauren Reaction versetzt. Die Säure scheidet sich ab.

Eigenschaften.

Die reine Säure krystallisiert in glänzenden, weissen Nadeln mit 1 Mol. Krystallwasser, das erst bei 150° entweicht. Sie löst sich nicht in kaltem Wasser, wenig in Aether, ziemlich gut in heissem Alkohol, beim Erkalten sich wieder ausscheidend; in conc. Mineralsäuren ist sie löslich, in verdünnten nicht. Das salzsaure Salz $C_{10}H_7NO_3 . HCl$ wird durch Wasser zerlegt. Mit Alkalien bildet sie in Wasser lösliche Salze. Löst man sie in Barytwasser, fällt den überschüssigen Baryt durch Kohlensäure, kocht den Niederschlag mit Wasser aus und dampft das Filtrat ein, so scheidet sich beim Stehen das Barytsalz $(C_{10}H_6NO_3)_2Ba + 3\,H_2O$ in farblosen, dreieckigen Blättchen (characteristische Form) aus. Mit Phosphorwolframsäure bildet Kynurensäure eine in rhombischen Täfelchen krystallisierende Verbindung. Mit Salz- oder Schwefelsäure angesäuerte Lösungen geben noch bei einem Gehalt von 0,06 pCt. Kynurensäure auf Zusatz von Phosphorwolframsäure innerhalb 24 Stunden krystallinische Abscheidung (Hofmeister). Ueber eine Verbindung mit Kreatinin siehe S. 160.

Umwandlungen.

Trocken erhitzt schmilzt Kynurensäure und zerfällt in Kohlensäure und Kynurin, welches sich aus wässeriger Lösung in schönen Krystallen abscheidet (Schmiedeberg und Schultzen[2]). Das Kynurin C_9H_7NO schmilzt bei 201°, löst sich auch in Alkohol, gibt mit Platinchlorid ein gut krystallisierendes Doppelsalz und ist nach Wenzel[3]) identisch mit γ-Oxychinolin. Mit concentrierter Salzsäure auf 240° erhitzt liefert Kynurensäure salzsaures Kynurin und beim Erwärmen mit Bromwasser auf dem Wasserbade scheidet sich unter Entweichen von Kohlensäure als krystallisierendes Pulver Tetrabromkynurin $C_9H_3Br_4NO$, in dem ein Atom Brom sehr locker gebunden ist, aus (Brieger[4]). Beim Erhitzen von Kynurensäure mit Zinkstaub im Wasserstoffstrom entsteht fast reines Chinolin (Kretschy[5]).

Nachweis.

Zum Nachweis dient Jaffe's Probe[6]). Beim Abdampfen von Kynurensäure mit Salzsäure und Kaliumchlorat auf dem Wasserbade bis zur Trockne entsteht ein rötlicher Rückstand, der beim Anfeuchten mit Ammoniak sich zunächst braungrün, nach kurzer Zeit aber smaragdgrün färbt. Die Intensität der Färbung nimmt beim Stehen an der Luft erheblich zu. Beim

1) H.-S. **5**. 67. (1881.)
2) A. **164**. 155. (1872.)
3) M. **15**. 453. (1894.)
4) H.-S. **4**. 89. (1881.)
5) M. **2**. 84. (1881.), **5**. 16. (1884.)
6) H.-S. **7**. 399. (1882/83.)

Erwärmen geht die grüne oder blaugrüne Farbe in einen schmutzig violetten Ton über. Diese Reaction gelingt noch mit minimaler Quantität trockener Kynurensäure, selbst direct aus Harn gefällter noch unreiner Säure, aber um so schöner, je reiner sie ist.

223. **Samandarin, Samandaridin.** Giftige Basen unbekannter Constitution aus dem rahmähnlichen Secret der Hautdrüsen von Salamandra maculosa (Zaleski[1]), Faust[2]). Zur Darstellung nach Faust kocht man die fein zerhackten Tiere mit essigsäurehaltigem Wasser auf und isoliert aus dem Filtrat die Basen nach einem Verfahren, welches auf der Unfällbarkeit durch basisches Bleiacetat und Fällbarkeit durch Phosphorwolframsäure beruht. Im Einzelnen siehe das Original.

Samandaridinsulfat $(C_{20}H_{31}NO)_2 . H_2SO_4$, in rhombischen Blättchen oder Täfelchen krystallisierend; in Wasser schwerer löslich als Samandarinsulfat, auch in Alkohol schwer löslich, optisch inactiv. Krystallinisches Goldchloriddoppelsalz. Bei der trocknen Destillation mit Zinkstaub entsteht Isochinolin; unter seinen flüchtigen Zersetzungsproducten lässt sich Pyrrol nachweisen.

Samandarinsulfat $(C_{26}H_{40}N_2O)_2 . H_2SO_4$, in Nadeln krystallisierend, in Alkohol löslich, in Wasser schwer löslich, $[\alpha]_D = -53{,}69^0$. Aus der wässerigen Lösung des Sulfats fällt auf Zusatz von Soda oder Natronlauge die freie Base als schwach gelbliches, in Wasser lösliches Oel. Andere krystallinische Verbindungen wurden nicht erhalten.

Die Sulfate beider Basen geben mit conc. Salzsäure übergossen und gekocht zunächst Violett- und dann tiefe Blaufärbung.

Samandatrin. Giftige Base unbekannter Constitution aus Salamandra atra (Netolitzky[3]). Sie ist in kaltem Wasser und Alkohol sehr schwer löslich, in Aether löst sie sich im Gegensatz zu Samandarin und Samandaridin.

Samandatrinsulfat $(C_{21}H_{37}N_2O_3)_2, H_2SO_4$ (?). In langen Nadeln oder Rosetten krystallisierend, von bitterem Geschmack, in Wasser schwer löslich. Bei der trockenen Destillation tritt Pyrrol auf (Fichtenspanreaction).

Eine Violettfärbung tritt erst nach minutenlangem Kochen mit conc. Salzsäure ein u. z. ganz schwach, nach 24 Stunden ist die Flüssigkeit blaurot geworden, nach einigen Tagen blau.

Vorkommen. 224. **Urocaninsäure $C_{12}H_{12}N_4O_4$.** Diese ihrer Constitution nach unbekannte Säure wurde bis jetzt nur zweimal u. z. im Hundeharn aufgefunden von ihrem Entdecker Jaffe[4]) und von Siegfried[5]). Bei beiden Hunden war sie regelmässig vorhanden.

Darstellung. Zu ihrer Darstellung wurde der zum Syrup eingedampfte Harn mit heissem Alkohol wiederholt extrahiert und der Rückstand der alkoholischen Auszüge nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure mit Aether mehrmals ausgeschüttelt. Nach dem Abgiessen des Aethers scheidet sich aus der sauren Flüssigkeit das schwefelsaure Salz ab. Siegfried empfiehlt den durch Kalkwasser von den Phosphaten befreiten Harn mit Chlorzink auszufällen und den Niederschlag mit Schwefelwasserstoff zu zersetzen.

---

1) Med. chem. Unters., herausg. v. Hoppe-Seyler. Heft 1. S. 85. (1866.)
2) A. exp. P. u. Ph. **41**. 229. (1898.), **43**. 84. (1900.)
3) A. exp. P. u. Ph. **51**. 118. (1904.)
4) B. **7**. 1669. (1874.), **8**. 811. (1875.)
5) H.-S. **24**. 399. (1898.)

Sie krystallisiert in Prismen oder Nadeln mit 4 Mol. Krystallwasser, löst sich in heissem Wasser, schwer in kaltem, nicht in Alkohol und Aether und verbindet sich mit Säuren und mit Basen. Das Nitrat $C_{12}H_{12}N_4O_4 . 2\,HNO_3$ ist in verdünnter Salpetersäure sehr schwer löslich, das Barytsalz $C_{12}H_{10}N_4O_4Ba$ krystallisiert mit 8 Mol. Wasser, von denen 6 bei 100° entweichen, ist in Wasser löslich, in Alkohol unlöslich. Sie schmilzt bei 212—213° (nach Siegfried höher) unter Bildung von Kohlensäure und etwas Wasser und Zurücklassung eines gelbbraunen Oels, welches beim Erkalten zu einer glasigen, durchscheinenden, grünlich fluorescierenden Masse erstarrt, die sich in Alkohol leicht, schwer in kaltem, leichter in heissem Wasser löst. Diese noch nicht krystallisiert erhaltene Substanz $C_{11}H_{10}N_4O$, Urocanin, ist eine stark alkalisch reagierende Base, welche ein Platindoppelsalz $C_{11}H_{10}N_4O . 2\,HCl . PtCl_4$ bildet (Jaffe), mit ammoniakalischer Silberlösung sowie mit Kupfersulfat und Natriumbisulfit Niederschläge gibt und die Xanthinreaction (S. 176) zeigt (Siegfried). Ueber die Einwirkung von Brom auf Urocaninsäure siehe bei Siegfried. Eigenschaften.

Eine in Bezug auf Löslichkeit, Krystallform, Schmelzpunkt und Zusammensetzung mit der Urocaninsäure übereinstimmende Substanz wurde von Hunter[1]) in einer 7 Monate alten tryptischen Caseinverdauung gefunden. Sie gab die Diazoreaction, aber nicht die Millon'sche Reaction und ist vielleicht ein Histidinderivat.

Verbindung $C_{12}H_9N_4O_4 + H_2O$, bei 208° schmelzende Krystalle, in Zusammensetzung und allgemeinen Eigenschaften der Urocaninsäure ähnlich, wurde von Swain[2]) aus Harn von Canis ochropus isoliert. der Urocaninsäure ähnliche Verbindung.

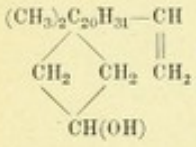
Cholesterine.

225. **Cholesterin $C_{27}H_{46}O$** ist zuerst in der Galle aufgefunden worden. Es kommt, soweit die Untersuchungen reichen, in der Galle aller Tiere mit Ausnahme von Scymnus borealis (Hammarsten[3]) vor. Im Blut und in fast allen Flüssigkeiten und Geweben des menschlichen und tierischen Körpers ist es in geringer, in der Marksubstanz des Gehirns und der Nerven in reichlicher Menge vorhanden. Im Harn findet es sich höchst selten und dann nur in kleiner Quantität. Krystallinische Abscheidungen von Cholesterin kommen in vielen alten Transsudaten und Cystenflüssigkeiten, in Atherombälgen, den sogen. atheromatösen Arteriengeschwüren, im Eiter, in Tuberkelmassen u. s. w. vor. Die meisten Gallensteine von Menschen bestehen der Hauptsache nach, viele ausschliesslich aus krystallisiertem Cholesterin. An manchen Orten findet man Cholesterinester höherer Fettsäuren (siehe § 231). Vorkommen.

In den Geweben des Menschen und der höheren Tiere scheint stets ein und dasselbe Cholesterin vorzukommen. Ob die aus niederen Tieren gewonnenen Cholesterine mit dem typischen identisch sind, ist in jedem Fall zu entscheiden. Das von Henze aus

1) J. of Ph. **37**. XXXVII. (1908.)
2) A. J. of Ph. **13**. 30. (1905.)
3) H.-S. **24**. 322. (1898.)

Schwämmen isolierte (Spongosterin § 229) zeigte sich verschieden und dasselbe gilt von den Cholesterinen aus Pflanzen (Phytosterine § 230), in denen diese Substanz ebenfalls in weitester Verbreitung vorkommt.



Die Ergebnisse neuerer Untersuchungen[1]) über die Konstitution des Cholesterin fasst Windaus[2]) so zusammen: Es stellt ein kompliciertes Terpen dar und ist ein einwertiger, einfach ungesättigter, sekundärer Alkohol, dessen Hydroxylgruppe in einem hydrierten Ring, und zwar zwischen zwei Methylengruppen, steht. Die Doppelbindung findet sich in einer endständigen Vinylgruppe ($CH : CH_2$) und zwar in δ, ε (oder ε, ζ)-Stellung zum Hydroxyl. Das Molekül des Cholesterins enthält eine Isopropylgruppe. Aus der Zahl der Wasserstoffatome folgt, dass im ganzen vier gesättigte hydrierte Ringe vorhanden sind.

Darstellung aus Gallensteinen.

Zur Darstellung aus Gallensteinen extrahiert man sie nach dem Zerreiben mit einer Mischung von Aether und Alkohol, filtriert und kocht das nach dem Verdunsten des Aethers abgeschiedene und abfiltrierte Cholesterin zur Reinigung mit alkoholischer Kalilauge. Nach dem Eindampfen wird der Rückstand mit Aether extrahiert und das beim Verdunsten des Aethers zurückbleibende Cholesterin aus Alkohol-Aether umkrystallisiert.

Darstellung aus Gehirn.

Zur Darstellung aus Gehirn mischt man das zerkleinerte Organ mit etwas Sand und ungefähr drei Teilen Gyps, zerreibt die nach einigen Stunden hart und pulverisierbar gewordene Masse und extrahiert nochmals bei Zimmertemperatur mit Aceton. Beim Eindampfen der vereinigten Acetonauszüge krystallisiert nahezu reines Cholesterin, welches durch Umkrystallisieren aus einer Mischung von Alkohol und Aceton, der etwas Tierkohle zugesetzt ist, völlig rein wird (Rosenheim[3]).

Quantitative Gewinnung aus Geweben und Flüssigkeiten.

Um das Cholesterin aus Geweben und Flüssigkeiten möglichst rein und vollständig zu erhalten, wird zunächst in der § 91 angegebenen Weise ein Aetherauszug hergestellt und der Aetherrückstand nach den Angaben von Ritter[4]) weiter behandelt. Man erhitzt etwa 50 g*) in einer etwa $1^1/_2$ Liter fassenden Schale mit 100 ccm Alkohol auf dem Wasserbade, setzt unter Umrühren Natriumalkoholatlösung (8 g blankes Natrium in 160 ccm 99 proc. Alkohol) hinzu und erhitzt weiter, bis der Alkohol verdunstet ist. Nun fügt man etwa 75 g Kochsalz und soviel Wasser hinzu, dass völlige oder fast völlige Lösung eintritt, verdampft unter häufigem

*) Die zur Verfügung stehende Quantität wird meist eine sehr viel geringere sein. Die quantitativen Angaben sind dann entsprechend zu reducieren.

1) Windaus, Habilitationsschr. Freiburg 1903.
B. **36**. 3752. (1903.), **37**. 2027, 3699 u. 4753. (1904.), **39**. 518. 2008 u. 2249. (1906.), **40**. 257, 2637 u. 3681. (1907.), **41**. 611. (1908.)
Diels und Abderhalden, B. **36**. 3177. (1903.), **37**. 3092. (1904.), **39**. 884. (1906.)
Diels und Linn, B, **41**. 260 u. 544. (1908.)

2) A. d. Pharm. **246**. 117. (1908.)

3) J. of Ph. **34**. 104. (1906.)

4) H.-S. **34**. 430. (1902.)

Umrühren zur Trockne, trocknet weiter im Trockenschrank bei 80°, pulverisiert fein, lässt noch einige Zeit im Exsiccator stehen und extrahiert das Pulver 9 Stunden im Soxhlet'schen Apparat mit Aether. Die ätherische Lösung, welche anfangs oft trübe ist, sich aber bald unter Abscheidung von Glycerin klärt, giesst man in einen $^3/_4$ bis 1 Liter fassenden Erlenmeyer'schen Kolben, spült mit Aether nach, destilliert ab, löst den Rückstand auf dem Wasserbade in möglichst wenig Alkohol und fügt unter Umschwenken Wasser zu, bis der Kolben ziemlich gefüllt ist. Das Cholesterin fällt aus, wird abfiltriert, gewaschen und getrocknet.

Eigenschaften.

Es ist völlig unlöslich in Wasser, verdünnten Säuren, und selbst conc. Alkalien, doch kann es in kolloidale wässerige Lösung übergeführt werden (Porges u. Neubauer[1]). Auch in kaltem Alkohol ist es nicht löslich, dagegen löst es sich reichlich in siedendem Alkohol, in Aether, Chloroform, Benzol, Pyridin, Schwefelkohlenstoff, Aethylacetessigsäureäthylester, Essigäther. Essigäther kann zur Trennung des Cholesterin von manchen anderen ätherlöslichen Stoffen dienen, indem Cholesterin auch bei Zimmertemperatur in ihm löslich ist, während diese andern Stoffe wohl in der Wärme in Lösung gehen, sich aber beim Abkühlen wieder abscheiden (Hepner[2]). Cholesterin löst sich auch in flüchtigen und fetten Oelen, weniger löslich ist es in den Lösungen gallensaurer (cholsaurer, glyco- und taurocholsaurer) Salze, wenig in den wässerigen Lösungen der Seifen. Das reine Cholesterin krystallisiert aus wasserfreiem Aether, Chloroform, Benzol, Essigäther in wasserfreien, feinen, seidenglänzenden Nadeln, aus kochendem Alkohol beim Erkalten in grossen, rhombischen Tafeln (mit 1 Mol. Wasser), die besonders aus einer Mischung von Alkohol und Aether beim Verdunsten des letzteren sehr gross und schön werden. Diese rhombischen Tafeln, welche in trockner Luft durch Verwittern schnell undurchsichtig werden, haben entweder 76° 30′ oder 87° 30′ als spitze Kantenwinkel. Während der Krystallisation zeigt sich oft Abrundung des stumpfen und Zuspitzung des spitzen Winkels, ja zuerst scheinen oft nur Nadeln zu entstehen, dann ungleichseitige Wetzsteinformen und diese gehen endlich in die rhombischen Tafeln über. Die Krystalle sind oft so dünn, dass ihre Conturen nur bei sehr engem Diaphragma unter dem Mikroskope sichtbar werden. Trocknes Cholesterin destilliert im luftleeren Raume bei 360° und schmilzt bei 147—148°. Diels und Linn[3]) fanden den Schmelzpunkt für Cholesterin aus Gallensteinen 146,5°, aus Eigelb 147,5°, aus Gehirn 148° und für je zwei Mischungen 147°, 147° und 147,5°.

Verbindungen: mit Säuren.

In warmem Eisessig löst sich Cholesterin sehr reichlich und beim Erkalten scheidet sich eine molekulare Verbindung von Cholesterin und Essigsäure in nadelförmigen Krystallen aus, welche durch Zusatz von Alkohol

1) B. Z. **7**. 152. (1908.)
2) Pfl. A. **73**. 595. (1898.)
3) B. **41**. 260. (1908.)

oder Wasser wieder zerlegt wird. Durch heissen Eisessig entsteht aus Cholesterin allmählich Essigsäureester. Auch mit Benzoesäure, Propionsäure sind Cholesterinester dargestellt (Obermüller[1]).

mit Alkalien. Der Wasserstoff der Hydroxylgruppe kann durch Natrium oder Kalium und die Hydroxylgruppe durch Chlor (Cholesterylchlorid $C_{27}H_{45}Cl$) oder Wasserstoff (Cholesten $C_{27}H_{46}$) ersetzt werden (Mauthner u. Suida[2]).

mit Halogenen. Entsprechend der in ihm enthaltenen Doppelbindung vermag es ein Molekül Brom und Chlor zu addieren (z. B. Cholesterindibromid $C_{27}H_{46}Br_2O$, Cholesterylchloriddichlorid $C_{27}H_{45}Cl_3$) und ebenso Salzsäure (Cholestankörper z. B. Chlorcholestanol $C_{27}H_{47}OCl$) (Mauthner u. Suida[3]),

mit Salzsäure.

Durch Wasserentziehung (z. B. Erhitzen mit wasserfreiem Kupfersulfat) entsteht Cholesterilen $C_{27}H_{44}$ (Mauthner u. Suida[4]).

Optische Eigenschaften. In 3 proc. Lösung in Essigäther fanden Diels u. Linn $[\alpha]_D^{20°} = -24{,}92°$ (aus Gallensteinen), $-24{,}92°$ (aus Eigelb), $-25{,}64°$ (aus Gehirn). In 8 proc. Lösung in Aether fand Lindenmayer[5]) $[\alpha]_D = -31{,}59°$, in 2 proc. Lösung in Aether Hesse[6]) $[\alpha]_D = -31{,}12°$, in 4—6 proc. Lösung in Aether Burian[7]) $[\alpha]_D = -29{,}92°$, in Chloroformlösung Hesse $[\alpha]_D^{15°} = -(36{,}61° + 0{,}249\,p)$.

Durch Kochen mit Kalilauge wird Cholesterin nicht verändert.

Umwandlungen. Ueber Nitrierungs-, Oxydations- und Reductionsproducte, welche zu teilweiser Aufklärung der Constitution geführt haben, siehe die S. 312 citierten Arbeiten, ferner auch Mauthner u. Suida[8]), Willstätter u. Mayer[9]). Durch conc. Schwefelsäure und Quecksilber und darauf folgende Behandlung mit Salpetersäure entsteht Rhizocholsäure $C_8H_6O_7$, dieselbe Säure wie bei gleicher Behandlung aus Cholsäure (Schrötter[10]). Durch Luft und Licht verändert sich Cholesterin allmählich (Gelbwerden, Erniedrigung des Smp., Abweichen in den Reactionen (E. Schulze u. Winterstein[11]).

Nachweis. Zum Nachweis dienen folgende Reactionen:

1. Das charakteristische Aussehen der Krystalle unter dem Mikroskope. Bringt man nach Verdunsten des Lösungsmittels auf den Objectträger etwas starke Schwefelsäure (5 Tl. conc. Schwefelsäure + 1 Tl. Wasser), so färben sich die Krystalle carminrot, und dann violett. Durch dieselbe Schwefelsäure und ein wenig Jodlösung färben sie sich violett, blau, grün und rot.

2. nach Windaus[12]). Löst man etwas Cholesterin in einem kleinen Röhrchen in möglichst wenig Aether und fügt eine Bromeisessigmischung

1) H.-S. **15**. 37. (1891.)
2) M. **15**. 85. (1894), **27**. 421. (1906.) **28**. 1113. (1907.)
3) M. **27**. 305 u. 421. (1906.)
4) M. **17**. 29. (1896.)
5) J. f. pr. Ch. **90**. 323. (1863.)
6) A. **192**. 178. (1878.)
7) M. **18**. 551. (1897.)
8) M. **17**. 579. (1896.), **24**. 175 und 648. (1903.)
9) B. **41**. 2199. (1908.)
10) M. **29**. 245. (1908.)
11) H.-S. **43**. 316. (1904/05), **48**. 546.
12) Ch.-Z. **30**. 1011. (1906.)

(5 g Brom in 100 g Eisessig) bis zur bleibenden Braunfärbung hinzu, so beginnt alsbald die Abscheidung von Cholesterindibromid, welches in langen Nadeln (Smp. 124—125°) krystallisiert. Phytosterine geben diese Reaction nicht.

3. Farbenreactionen. Sie sind mit Vorsicht zu benutzen, da ausser dem typischen Cholesterin auch andere Cholesterine, viele ungesättigte hochmolekulare Alkohole, manche Harzsäuren sowie einige Terpene sie geben.

a) nach Salkowski[1]). Löst man eine Probe trocknes Cholesterin im trocknen Reagensglase in etwas Chloroform und fügt ein dem Chloroformvolumen gleiches Volumen conc. Schwefelsäure hinzu, so färbt sich die Chloroformlösung schnell blutrot, dann kirschrot und purpurfarbig. Giesst man die Lösung in eine Schale aus, so färbt sie sich bald blau, grün, endlich gelb. Die Schwefelsäure unter der Chloroformlösung zeigt eine deutlich grüne Fluorescenz, verdünnt man sie mit Eisessig, so wird die Lösung rosa- bis purpurrot und behält die grüne Fluorescenz.

b) nach Liebermann-Burchard[2]). Cholesterinkrystalle werden in wenig Chloroform im trocknen Probierrohr gelöst, mit zwei bis drei Tropfen Essigsäureanhydrid und dann vorsichtig tropfenweise mit conc. Schwefelsäure versetzt. Es tritt zunächst eine rosenrote, darauf schön blaue Färbung ein, die dann später in Grün übergeht; handelt es sich um ganz geringe Menge von Cholesterin, so tritt nach einigen Minuten direkt eine Grünfärbung auf.

c) nach Neuberg u. Rauchwerger[3]). Löst man ein wenig Cholesterin in 1—2 cc. absolutem Alkohol, fügt eine Spur Rhamnose oder δ-Methylfurfurollösung*) hinzu und darauf conc. Schwefelsäure, so tritt ein himbeerfarbener Ring an der Berührungsstelle oder nach Mischen unter Abkühlen Himbeerfarbe der ganzen Flüssigkeit auf. Spectroskopisch sieht man einen Streifen, der kurz vor E scharf beginnt und bis b reicht. Die Probe ist nicht so empfindlich, wie die Liebermann-Burchard'sche. Gallensäuren geben dieselbe Reaction.

d) nach Tschugajew[4]). Löst man Cholesterin in Eisessig, fügt überschüssiges Acetylchlorid und etwas geglühtes Zinkchlorid hinzu und erwärmt 5 Minuten, so färbt sich die Flüssigkeit rot oder rosa mit grünlich gelber, eosinartiger Fluorescenz. Die Reaction soll noch bei einer Verdünnung von 1 : 80 000 auftreten.

---

*) Man erhält eine haltbare Lösung, indem man eine Lösung von 5 g Rhamnose in 20 ccm Wasser nach Zusatz von 5 ccm conc. Schwefelsäure unter wiederholter Zugabe von Wasser destilliert, bis das Destillat etwa 250 ccm beträgt.

1) Pfl. A. **6**. 207. (1872.)

2) B. **18**. 1804. (1885.), Burchard, Diss. Rostock 1889.

3) Salkowski-Festschrift. Berlin. Hirschwald. 1904. 279, H.-S. **47**. 335. (1906), siehe auch v. Udránszky, H.-S. **12**. 255. (1888.)

4) Ref. Z. f. ang. Ch. 1900. S. 618.

e) nach Obermüller. Eine Probe reines, trocknes Cholesterin wird in einem trockenen Probierglase mit einigen Tropfen Propionsäureanhydrid versetzt und etwa eine halbe Stunde im kochenden Wasserbade erhitzt. Fügt man nach dem Erkalten Alkohol hinzu, bringt etwas von dem entstandenen Niederschlag an einen Glasstab, erwärmt und hält ihn nun vor einen dunklen Hintergrund, so sieht man während des Abkühlens die geschmolzene Masse violett, dann allmählich blau, grün, grau, orange, carminrot und kupferrot werden. Zum Nachweis kleiner Mengen nicht geeignet.

Vorkommen. 226. **Koprosterin $C_{27}H_{48}O$** wurde von Bondzynski[1]) aus menschlichen Fäces dargestellt, in Hunde- und Pferdefäces ist es nicht aufgefunden worden. Es entsteht jedenfalls im Darm durch Reduction aus Cholesterin. Eingegebenes Cholesterin erscheint zum grossen Teil als Koprosterin in den Fäces. Das Excretin von Marcet[2]) und von Hinterberger[3]) war wahrscheinlich mehr oder weniger reines Koprosterin.

Eine künstliche Darstellung aus Cholesterin durch Reductionsmittel ist nicht gelungen. Mit dem von Willstätter u. Mayer[4]) durch Reduction des Cholesterin mittelst Platin und Wasserstoff erhaltenen Dihydrocholesterin $C_{27}H_{48}O$ (welches mit dem β-Cholestanol von Diels u. Abderhalden[5]) identisch ist) stimmt das Koprosterin nicht überein, ebenso wenig mit dem α-Cholestanol, welches von Diels u. Abderhalden[5]) u. Neuberg[6]) durch Einwirkung von Natrium und siedendem Amylalkohol auf Cholesterin und von Windaus[7]) durch Erhitzen mit Natriumamylat erhalten worden ist. Dieses α-Cholestanol (von Windaus Cyclocholesterin genannt) ist wahrscheinlich kein Reductionsproduct, sondern ein durch Ringschluss gebildetes Isomeres des Cholesterin (Windaus).

Die Gewinnung aus Fäces beruht auf seiner Löslichkeit in Aether.

Eigenschaften. Es löst sich in denselben Lösungsmitteln wie Cholesterin, aber auch in kaltem Alkohol und krystallisiert stets in langen, feinen Nadeln. Es schmilzt bei 95—96° (Hausmann[8]) fand 89—90°), addiert kein Brom oder Jod und zeigt $[\alpha]_D = +24°$. Es gibt im Allgemeinen die Cholesterinreactionen aber mit geringen Abweichungen. Bei der Salkowski'schen Probe (S. 315,3a) tritt zunächst gelbe, erst allmählich orange- und dunkelrote Farbe ein, bei der Liebermann-Burchhard'schen (S. 315,3b) sofort Blaufärbung, der bald Grünfärbung folgt. Der Propionsäureester (Obermüller's Probe, S. 316e) zeigt nicht die Farbenerscheinungen.

227. **Hippokoprosterin.** Von Bondzynski u. Humnicki[9]) und von Gittelmacher-Wilenko[10]) wurden aus Pferdekot zwei dem Cholesterin nahestehende Substanzen isoliert, das in Alkohol leicht lösliche α- und das in Alkohol schwer lösliche β-Hippokoprosterin, welche den Formeln $C_{27}H_{54}O$ und $C_{27}H_{52}O$ entsprechen.

α-Hippokoprosterin krystallisiert aus Alkohol in feinen rhombischen Tafeln, welche in trocknem Zustande wachsartige Beschaffenheit zeigen, Smp. 66—67°. Optisch inactiv. Reactionen von Salkowski (S. 315,3a), Liebermann-Burchard (S. 315,3b), schwach positiv.

β-Hippokoprosterin scheidet sich aus heisser alkoholischer Lösung als aus mikroskopischen Nadeln und Sternen bestehende Gallerte ab. Es ist nicht nur in Alkohol, sondern auch in Aether und Chloroform schwerer löslich als α-H. Smp. 56°. Seine

---

1) B. **29**. 476. (1896.)
Bondzynski u. Humnicki, H.-S. **22**. 396. (1897.)
2) A. de Ch. Ph. **59**. 91. (1860.)
3) A. **166**. 213. (1873.)
4) B. **41**. 2199. (1908.)
5) B. **39**. 884 u. 1371. (1906.)
6) B. **39**. 1155. (1906.)
7) B. **40**. 2637. (1907.)
8) B. Ph. P. **6**. 569. (1905.)
9) H.-S. **22**. 396. (1897.)
10) Anz. Akad. Wiss. Krakau 1906. Ref. C. C. 1906. **2**. 1242.

Benzollösung scheint schwach rechts zu drehen. Reactionen von Salkowski (S. 315,3a) u. Liebermann-Burchard (S. 315,3b) positiv. Es addiert kein Brom.

Es sind vielleicht bakterielle Reductionsproducte der Phytosterine (vergl. Windaus u. Hauth[1]).

228. **Isocholesterin** $C_{27}H_{46}O$ wurde von E. Schulze[2]) im Wollfett*) der Schafe neben Cholesterin aufgefunden. Es ist darin als Ester höherer Fettsäuren vorhanden. Auch in der Vernix caseosa kommt es vor (Ruppel[3]). Vorkommen.

Um Isocholesterin aus Wollfett zu gewinnen, kocht man dasselbe mit Weingeist aus, verseift den ungelösten Teil, isoliert das Gemenge von Cholesterin und Isocholesterin mit Hülfe von Aether und wandelt es durch einige Minuten langes Erhitzen mit Benzoylchlorid im Kölbchen auf 160° in die Benzoesäureester um. Dieselben werden durch Alkohol, in dem sie schwer löslich sind, von unverändertem Cholesterin getrennt und in Aether gelöst. Beim langsamen Verdunsten scheidet sich der Cholesterinester in kleinen, dicken, rechtwinkligen Tafeln, der Isocholesterinester als lockeres Pulver feiner Nadeln (Smp. 194—195°) ab. Letzteres lässt sich von den tafelförmigen Krystallen abschlemmen und durch Kochen mit alkoholischer Kalilauge in Benzoesäure und Isocholesterin zerlegen. Darstellung aus Wollfett.

Das Isocholesterin scheidet sich aus Aether und Aceton in feinen, durchsichtigen Nadeln ab, aus heissem Alkohol beim Erkalten in gallertartigen Massen oder, wenn die Lösung verdünnt ist, in weissen Flocken. Eine conc. heisse alkoholische Lösung erstarrt beim Erkalten zu einer durchscheinenden Gallerte. Es schmilzt bei 138—138,5°, gibt die Liebermann-Burchard'sche Cholesterinreaction (S. 315,3b), während die Salkowski'sche (S. 315,3a) nur sehr wenig ausgeprägt ist. Eigenschaften.

Es zeigt in 7 proc. ätherischer Lösung $[\alpha]_D = +60{,}0°$. Optische Eigenschaften.

Unter der Einwirkung von Luft und Licht erleidet es allmählich eine Veränderung (Sinken des Smp.) (E. Schulze und Winterstein[4]). Umwandlung.

229. **Spongosterin** $C_{19}H_{32}O$ **(?)** aus einem Kieselschwamm des Mittelmeeres (Suberites domuncula) von Henze[5]) isoliert. Es krystallisiert (wahrscheinlich mit Krystallwasser) aus Alkohol in weissen fettig glänzenden Täfelchen oder Blättchen mit meist ausgezähnten Rändern, in Aether, Chloroform, Schwefelkohlenstoff leicht löslich, in Alkohol leichter als Cholesterin. Smp. 119—120°. Es enthält eine Hydroxylgruppe und bildet Ester. Es addiert Brom, aber das Bromproduct (bei 130° schmelzende weisse Blättchen) enthält viel weniger Brom als der Formel $C_{19}H_{32}Br_2O$ entspricht.

Eine 4 proc. Lösung in Chloroform zeigt $[\alpha]_D^{25°} = -19{,}59°$.

Mit Schwefelsäure gibt es keine Rotfärbung (S. 314,1), bei der Reaction von

---

*) Darmstätter u. Lifschütz erhielten aus Wollfett ein in mehrfacher Beziehung abweichendes Isocholesterin. B. **31**. 97 u. 1122. (1898.)

1) B. **40**. 3686. Fussnote. (1907.)

2) B. **5**. 1075. (1872.), **6**. 251. (1873.)
E. Schulze u. Barbieri, J. f. pr. Ch. N. F. **25**. 159. (1882.)

3) H.-S. **21**. 122. (1895/96.)

4) H.-S. **48**. 546. (1906.)

5) H.-S. **41**. 109. (1904.)

Salkowski (S. 315,3a) tritt grüne Fluorescenz ein aber keine schöne rote Farbe, die Reaction von Liebermann-Burchard (S. 315,3b) ist positiv, die von Obermüller (S. 316, e) negativ.

230. **Phytosterine.** Aus Pflanzen sind eine ganze Reihe von Cholesterinen dargestellt, die in Bezug auf Schmelzpunkt, spec. Drehung und Reactionen von einander und vom Cholesterin verschieden sind. Eine Zusammenstellung siehe bei Burian[1]). Inzwischen ist eine ganze Reihe weiterer Phytosterine beschrieben. Siehe auch Windaus[2]).

Vorkommen.

231. **Cholesterinester.** Cholesterinester höherer Fettsäuren (Cholesterinfett) finden sich im Wollfett der Schafe (Hartmann[3]), im Blut von Säugetieren (Hürthle[4]) und Vögeln (Brown[5]), in der Lymphe (vom Hund) (Hürthle[4]), im chylösen Ascites (Wolff[6]), in der grossen weissen Niere und anderen pathologisch veränderten Organen, in denen sich mikroskopisch doppeltbrechende Tröpfchen und Krystalle nachweisen lassen (Panzer[7]), in der Vernix caseosa (Liebreich[8]), in der Epidermis bei Dermatitis exfoliativa (Salkowski[9]) und nach den Untersuchungen von Liebreich[8]) auch in allen keratinösen Substanzen (Haare, Federn, Hufe usw.). Im Wollfett und in der Vernix caseosa sind auch Isocholesterinester nachgewiesen worden.

Darstellung.

Synthetisch gewinnt man sie durch dreistündiges Erhitzen von Cholesterin mit der doppelten Menge Palmitinsäure (Stearinsäure, Oelsäure) auf 200° (Hürthle). Zur Isolierung des Esters löst man nach Salkowski die aus 5 g Cholesterin und 10 g Palmitinsäure (Oelsäure) erhaltene Schmelze in 125 ccm Aether, vermischt diese Lösung mit der doppelten bis dreifachen Menge kalten Alkohols, filtriert den ausgeschiedenen Ester ab, wäscht mit Alkohol aus und reinigt ihn durch mehrmaliges Lösen in Aether und Fällen mit Alkohol. Den Palmitinsäureester kann man auch aus heissem Aceton umkrystallisieren.

Isolierung.

Zu ihrer Isolierung dient ihre Löslichkeit in Aether oder Chloroform. Um sie von Cholesterin zu trennen, benutzte E. Schulze[3]) Alkohol, in dem sie sich sehr viel schwerer lösen, Liebreich Aethylacetessigsäureaethylester, welcher gleichfalls Cholesterin leichter löst.

Isolierung aus Blut.

Um sie aus Blut zu erhalten, verfährt man nach Hürthle[4]) so: Blutserum wird mit dem dreifachen Vol. 96 proc. Alkohol versetzt und geschüttelt.

---

1) M. **18**. 551. (1897.)
2) B. **39**. 4378. (1906.), **40**. 3681. (1907.)
3) Ueber den Fettschweiss der Schafwolle. Dissert. Göttingen 1868. E. Schulze, a. a. O.
4) H.-S. **21**. 331. (1895/96.)
5) A. J. of Ph. **2**. 306. (1899.) 6) B. Ph. P. **5**. 208. (1904.)
7) H.-S. **48**. 519. (1906.), **54**. 239. (1907/08.)
8) Virch. A. **121**. 383. (1890.) Ruppel, a. a. O.
9) Arb. a. d. path. Inst. zu Berlin. Hirschwald 1906. 573.

Nach mehrstündigem Stehen wird abgesaugt und der Rückstand abermals mit Alkohol mehrere Tage bei 30—40° und darauf wiederholt Tage lang bei derselben Temperatur mit einer Mischung von Alkohol und Aether extrahiert. Aus dem zweiten Alkoholauszug scheidet sich in der Kälte der Oelsäureester ab und aus den vereinigten Alkohol-Aetherauszügen der Palmitinsäureester (zuletzt noch etwas Oelsäureester).

Hepner[1]) empfiehlt den durch Fällung von Plasma oder Serum mit Alkohol erhaltenen Niederschlag mit Alkohol auszukochen, die Filtrate einzuengen, den Rückstand mit Wasser aufzunehmen und nach vollständiger Entfernung des Alkohol mit Aether im Scheidetrichter zu schütteln, den Aetherrückstand mit warmem Essigäther zu behandeln. Es löst sich fast alles auf, nach dem Erkalten, während dessen wieder Abscheidungen erfolgen, wird filtriert, der Essigäther verdunstet und der Rückstand in Aether gelöst. Aus der ätherischen Lösung krystallisiert nach Zusatz von Alkohol der Oelsäureester aus.

Isolierung aus der grossen weissen Niere.

Zur Isolierung aus der grossen weissen Niere werden die zerkleinerten Organe mit Alkohol und darauf mit Aceton von Wasser und der Hauptmenge des Fettes befreit, darauf mit Aceton ausgekocht. Beim Abkühlen der heissen Acetonauszüge im Eisschrank scheiden sich die Ester ab (Panzer).

Trennung von Fett.

Zur Trennung der Cholesterinester von Fett hat Salkowski[2]) vorgeschlagen, die schwerere Verseifbarkeit der ersteren durch Alkalien und Lipase zu benutzen. Siehe darüber Pribram[2]).

Eigenschaften.

Die Cholesterinester zeigen die Lösungsverhältnisse des Cholesterins, sind aber in Alkohol schwerer löslich. Sie sind verseifbar, aber weniger leicht als die Fette, sie werden nicht ranzig und geben die Liebermann-Burchard'sche Probe (S. 315, 3b).

Oelsäureester.

Cholesterinölsäureester wurde schon von Boudet[3]) aus Blut isoliert und unter dem Namen Serolin beschrieben. Er krystallisiert in langen, dünnen Nadeln. Smp. 41—45°. $[\alpha]_D = -18{,}48°$. Er gibt die Cholesterinreactionen, aber in etwas modificierter Form.

Palmitinsäureester.

Cholesterinpalmitinsäureester krystallisiert in seideglänzenden oder schneeweissen Blättchen und löst sich in allen Lösungmitteln nicht so leicht wie der Oelsäureester, in Alkohol sehr schwer. Smp. 78°. Die Reactionen von Liebermann-Burchard (S. 315, 3b) und von Neuberg (S. 315, 3c) sind positiv, die Schwefelsäure-Jodreaction (S. 314,1) tritt nicht ein (vielleicht weil keine Benetzung erfolgt), die Reaction von Salkowski (S. 315,3a) ist positiv, doch ist die Rotfärbung nicht so schön (Salkowski).

---

1) Pfl. A. **73**. 595. (1898.) 2) B. Z. **1**. 413. (1906.)
3) A. de Ch. Ph. (2.) **52**. 337. (1833.)

Gallensäuren.

Vorkommen.

232. **Cholsäure (Cholalsäure)** $C_{24}H_{40}O_5$ kommt in geringer Menge im Dünndarm, reichlicher im Dickdarm und in den Excrementen von Rindern, Hunden und wohl auch Menschen vor, auch im icterischen Harn. In der Galle findet sie sich in Verbindung mit Glykocoll und Taurin als Glyko- und Taurocholsäure und wird durch anhaltendes Kochen mit Alkalien oder heiss gesättigtem Barytwasser (Verseifung) aus diesen Säuren frei.

$C_{20}H_{31}\begin{cases}COOH\\CH(OH)\\CH_2(OH)\\CH_2(OH)\end{cases}$

Darstellung.

Zur Darstellung aus Rindergalle benutzt man das Verfahren von Mylius[1]) welches durch Lassar-Cohn[2]), Vahlen[3]) und Pregl[4]) einige Verbesserungen erfahren hat. Rindergalle wird mit dem fünften Teil ihres Gewichts 30 proc. Kalilauge 24 Stunden unter Erneuerung des verdampfenden Wassers gekocht, die Flüssigkeit dann mit Kohlensäure gesättigt und bis zum dicken Syrup verdunstet, dieser noch heiss in Alkohol gegossen, gut geschüttelt und in einen Scheidetrichter gebracht. Nach einiger Zeit lässt man die hauptsächlich Kaliumcarbonat enthaltende Schicht von der überstehenden alkoholischen ab und schüttelt die wässrige Lösung nochmals mit kleiner Menge Alkohol. Die vereinigten alkoholischen Lösungen, welche cholsaures Kali neben fettsaurem, desoxycholsaurem, choleinsaurem Kali enthalten, werden mit Wasser soweit verdünnt, dass höchstens noch 20 pCt. Alkohol sich in der Lösung befinden, dann mit verdünnter Chlorbariumlösung gefällt, so lange ein Niederschlag entsteht, und filtriert. Das Filtrat, unter beständigem Umrühren mit Salzsäure bis zur sauren Reaction (diffuse milchige Trübung) versetzt, scheidet nach kurzer Zeit die Cholsäure in harzigen Massen ab, die nach Abgiessen der Mutterlauge und Durchkneten mit etwas Wasser nach Minuten oder Stunden einen festen Krystallkuchen bilden. Dieser wird zerkleinert, getrocknet, pulverisiert, zur Entfernung der Salzsäure mit ein wenig Ammoniak enthaltendem Alkohol kalt zerrieben und nach dem Absaugen aus heissem Alkohol ein- oder mehrmals umkrystallisiert. Die Säure darf in Ammoniak gelöst sich mit Chlorbarium nicht trüben. Sollte letzteres der Fall sein (Anwesenheit von Choleinsäure), so muss man die ganze Menge in Ammoniak lösen und mit Chlorbarium ausfällen, das Filtrat wieder mit Salzsäure versetzen usw.

Ueber ein einfacheres Verfahren zur Darstellung von Cholsäure und Desoxycholsäure siehe Pregl[5]). Auch Langheld[6]) hat neuerdings eine Methode zur Trennung der Gallensäuren angegeben.

Isolierung aus Fäces.

Ueber die Isolierung aus Faeces siehe später.

Eigenschaften.

Cholsäure löst sich in Wasser schwer (1 Tl. in 4000 Tl. kaltem und 750 Tl. kochendem Wasser), in Alkohol ziemlich leicht (1 Tl. braucht mehr

1) H.-S. **12**. 262. (1888.)
2) H.-S. **19**. 563. (1893.)
3) H.-S. **21**. 253. (1896.)
4) Pfl. A. **71**. 303. (1898.)
5) M. **24**. 19. (1903.)
6) B. **41**. 378. (1908.)

als 20 Tl.); in Alkalien löst sie sich leicht und treibt aus Alkalicarbonaten Kohlensäure aus. Aus kalten wässerigen Lösungen, z. B. aus sehr verdünnter Essigsäure, krystallisiert sie in rhombischen Tafeln mit 1 Mol. Krystallwasser, aus Alkohol in farblosen Tetraedern oder Oktaedern mit 1 Mol. Alkohol (Mylius[1]). Diese Krystalle sind zwar luftbeständig, geben aber beim Trocknen bis 130° den Alkohol vollständig ab und verlieren auch in Wasser Alkohol unter Trübung. Auch aus Methyl-, Allyl- und andern Alkoholen krystallisiert sie mit 1 Mol. Alkohol und geht auch mit Senfölen Verbindungen ein. Sie schmeckt süsslich bitter und schmilzt (alkohol- und wasserfrei) bei 195°. Trockne Cholsäure entwickelt beim Erhitzen nicht unangenehm aromatisch riechende Producte. Gegen Alkalien ist Cholsäure sehr widerstandsfähig, bei 3 stündigem Erhitzen mit 10 proc. Natronlauge auf 200—211° verändert sie sich nicht, erst bei 259—266° scheint eine Veränderung einzutreten (Ekbom[2]).

Jodverbindung.

Mit Jod verbindet sich Cholsäure nach Mylius[3]) zu einer krystallinischen Verbindung, welche im auffallenden Lichte gelben Metallglanz, im durchfallenden Lichte schön blaue Färbung zeigt (siehe Nachweis 1).

Acetylderivate.

Beim Kochen der Cholsäure mit Eisessig entstehen Acetylderivate (Ekbom).

Alkalisalze.

Die Alkalisalze sind in Wasser leicht löslich, in Alkohol weniger leicht und krystallisieren beim Abdampfen der alkoholischen Lösung aus. Eine nicht zu verdünnte alkoholische Lösung der Alkalisalze wird durch Aether krystallinisch gefällt, in einer nicht zu verdünnten wässerigen rufen Bleiacetat und Chlorbarium Niederschläge hervor.

Ba-salz.

Das Bariumsalz krystallisiert in feinen, seidenglänzenden, oft radiär zusammengestellten Nadeln und löst sich in 30 Tl. kaltem, leichter in heissem Wasser, sehr leicht in Alkohol. Beim Umkrystallisieren aus wasserhaltigem Alkohol entstehen leicht saure Bariumsalze oder Gemenge von Salz und freier Säure (Hammarsten[4]).

Pb- u. Ag-salz.

Das Bleisalz und das Silbersalz sind in Wasser unlöslich, in heissem Alkohol löslich.

Optische Eigenschaften.

Die Cholsäure und alle ihre bis jetzt untersuchten Verbindungen drehen rechts. Vahlen fand für die tetraedrische in alkoholischer Lösung $[\alpha]_D = +31{,}55°$, für die krystallwasserfreie in alkoholischer Lösung $[\alpha]_D = +37{,}02°$, für das Kalisalz in 3 proc. wässeriger Lösung $[\alpha]_D = +27$ bis 27,6°, für das Natronsalz in 4 proc. wässeriger Lösung $[\alpha]_D = +27{,}6°$. Die specifische Drehung der Salze nimmt mit abnehmender Concentration zu.

Anhydride.

Beim Erhitzen auf hohe Temperaturen entweder für sich oder mit Eisessig im zugeschmolzenen Rohr oder mit Wasser entziehenden Mitteln bildet sie Anhydride (Choloidinsäure, Dyslysin usw.), welche nicht krystallisieren und beim Kochen mit alkoholischer Kalilauge wieder in Cholsäure übergehen.

---

1) B. **19**. 369. (1886.)
2) H.-S. **50**. 97. (1906/07).
3) H.-S. **11**. 306. (1887.) B. **28**. 385. (1895.)
4) H.-S. **36**. 540. (1902.)

Durch trockne Destillation der freien Cholsäure für sich wird keine Kohlensäure abgespalten, aber es destilliert zunächst viel Wasser über, dann ein zähflüssiges, gelbbraunes, grün fluorescierendes Oel, welches nicht mit Wasserdämpfen flüchtig ist und hauptsächlich über 300° übergeht. Es hat ungefähr die Zusammensetzung $C_{48}H_{66}O_3 (= 2C_{24}H_{40}O_5 - 7H_2O)$, löst sich in Aether, ziemlich in heissem Alkohol, nicht in kaltem Alkohol oder Wasser. Dieses Oel gibt die Pettenkofer'sche Probe (siehe unten) nicht (Schotten[1]).

Oxydationsprodukte.

Durch Oxydation wird Cholsäure übergeführt zunächst in Dehydrocholsäure (S. 323) und dann in Biliansäure und Isobiliansäure (S. 324), ohne dass das Molecül eine wesentliche Störung des inneren Baues zu erfahren scheint. Durch Oxydation mit Salpetersäure erhielt Latschinoff[2]) eine Säure, Cholecamphersäure, der er die Formel $C_{10}H_{16}O_4$ gab. Mit ihr wahrscheinlich identisch ist die von Panzer[3]) ebenfalls durch Salpetersäure erhaltene Säure $C_{14}H_{22}O_6$, die bei der Destillation mit Natronkalk einen Kohlenwasserstoff $C_{11}H_{16}$ liefert. Durch weitgehende Oxydation der Cholsäure erhält man Oxalsäure aber (entgegen älteren Angaben) keine Phthalsäure (Bulnheim[4]), Pregl[5]). Durch conc. Schwefelsäure und Quecksilber und nachfolgende Behandlung mit Salpetersäure entsteht Rhizocholsäure $C_8H_6O_7$, dieselbe Säure wie aus Cholesterin (Schrötter[6]).

Reductionsproducte.

Zink und Ammoniak oder Zink und Natronlauge auch in der Wärme, metallisches Natrium in alkoholischer Lösung in der Wärme, Schwefelwasserstoff wirken nicht auf Cholsäure ein, auch Zink und Eisessig bewirken keine Reduction (Ekbom). Die Angabe von Mylius, dass die Cholsäure durch Fäulnis in Desoxycholsäure übergeht, konnte Ekbom nicht bestätigen. Jodwasserstoff und Phosphor reducieren sie zu einer Monocarbonsäure (oder deren Anhydrid), der sogenannten Cholylsäure $C_{24}H_{40}O_2$, die nicht krystallisiert erhalten wurde (Sennkowski[7]), Pregl[8]).

Nachweis.

Zum Nachweis der Cholsäure dienen die Krystallform, die Rechtsdrehung der alkoh. Lösung, das Aftreten aromatischer Producte bei der trocknen Destillation und vor Allem folgende Reactionen, von denen Probe 1 nur der Cholsäure zukommt, während die Proben 2 und 3 auch von vielen andern einfachen und gepaarten Gallensäuren gegeben werden.

1. Mylius' Jodreaction. Wenn man 0,02 g krystallisierte Cholsäure in 0,5 g Alkohol löst, der Lösung 1 ccm $^n/_{10}$ Jodlösung hinzufügt und das Gemisch allmählich mit Wasser verdünnt, so erstarrt die anfangs braune Flüssigkeit plötzlich zu einem dunkeln Brei mikroskopischer Nadeln, die im auffallenden Lichte gelben Metallglanz und im durchfallenden Lichte blaue Färbung zeigen.

---

1) H.-S. **10**. 175. (1886.)
2) B. **12**. 1518. (1879.), **13**. 1052. (1880.)
3) H.-S. **48**. 192. (1906.)
4) H.-S. **25**. 321. (1898.)
5) M. **24**. 47. (1904.)
6) M. **29**. 245. (1908.)
7) M. **19**. 1. (1898.)
8) Pfl. A. **71**. 303. (1898.), **72**. 266. (1898.)

Orum[1]) stellte fest, dass eine Verunreinigung von Choleinsäure mit etwa 4 pCt. Cholsäure durch die auftretende Blaufärbung noch nachzuweisen ist, wenn die Probe so angestellt wird, dass man 1 ccm der zu prüfenden 2proc. alkoholischen Lösung auf ein Uhrglas bringt und nach dem Verdunsten einige Tropfen einer wässerigen Jodjodkaliumlösung (1pCt. Jod, 2 pCt. Jodkali) zufügt.

2. Fluorescenzreaction. In concentrierter Schwefelsäure löst sich Cholsäure zu einer rotgelben Flüssigkeit, die grüne Fluorescenz zeigt. Ueber das diese Reaction verursachende Oxydationsproduct (Dehydrocholon) siehe S. 324.

3. Pettenkofer's Reaction. Fügt man zu einer etwas Cholsäure enthaltenden wässerigen Flüssigkeit im Reagensglase ein wenig Rohrzucker und dann allmählich tropfenweise unter Umschütteln concentrierte Schwefelsäure, indem man durch Erwärmen oder Abkühlen in kaltem Wasser die Temperatur auf etwa 70° erhält, so tritt, wenn die zunächst gefällte Cholsäure durch den weiteren Zusatz der Schwefelsäure wieder gelöst ist, und noch weiter Schwefelsäure zugesetzt wird, eine zuerst kirschrote, dann prachtvoll purpurrote Färbung der Flüssigkeit ein, die sich im Verlaufe von 8 Tagen unter allmählichem Dunklerwerden mehr in eine blaurote Farbe umwandelt. Die purpurrote Lösung, passend mit Alkohol verdünnt, zeigt einen Absorptionsstreifen zwischen D und E neben letzterer Linie und einen zweiten vor F (Schenck[2]). Anwesenheit von Proteinstoffen und solchen Körpern, die mit Schwefelsäure leicht sich zersetzen, sowie Anwesenheit von viel Farbstoffen oder oxydierenden Substanzen beeinträchtigen die Reaction sehr. Oelsäure, Phosphatide geben dieselbe Reaction. Auch Proteine und andere organische Substanzen z. B. Amylalkohol verhalten sich ähnlich, doch fehlen die Spectralerscheinungen.

Dehydrocholsäure. $C_{20}H_{31}\begin{cases}COOH\\CHO\\CHO\\CO\end{cases}$

Dehydrocholsäure $C_{24}H_{34}O_5$ wurde zuerst von Hammarsten[3]) durch Einwirkung von Chromsäure auf Cholsäure in Eisessig in sehr guter Ausbeute dargestellt. Aus Alkohol krystallisiert sie in alkoholfreien Nadeln vom Smp. 231—232°. Beim Kochen in alkoholischer Lösung wird sie leicht esterificiert (Lassar-Cohn[3]). Sie ist in kaltem Alkohol und kaltem Wasser schwer löslich, hat einen rein bitteren Geschmack und dreht rechts. Das Natronsalz zeigt in wässeriger Lösung $[\alpha]_D = + 27{,}64°$. Sie vereinigt sich mit Hydroxylamin zu einem Trialdoxim, an dem zwei Aldehydgruppen und eine Ketongruppe beteiligt erscheinen (Mylius[4]). Bringt man sie in Eisessig mit Brom zusammen, so entsteht schön krystallisierende Monobrom-

1) Skand. A. Ph. **16**. 300. (1904.)
2) Anatom. physiol. Unters. Wien 1872. S. 47.
3) B. **14**. 71. (1881.)
Latschinoff, B. **18**. 3045. (1885.)
Lassar-Cohn, H.-S. **16**. 493. (1892.)
4) B. **19**. 2005. (1886.), **20**. 1979. (1887.)

dehydrocholsäure (Landsteiner[1]). Sie gibt keine Pettenkofer'sche Probe, aber die Fluorescenzreaction (S. 323, 2 u. 3).

Biliansäure. $C_{19}H_{31}\begin{cases}COOH\\COOH\\COOH\\CO\\CO\end{cases}$

Biliansäure $C_{24}H_{34}O_8$. Diese von Cleve[2]) entdeckte dreibasische Säure entsteht bei der Oxydation von Cholsäure und Dehydrocholsäure neben Isobiliansäure[3]). In sehr reichlicher Ausbeute und in bequemer Weise erhält man sie nach Lassar-Cohn[4]) durch Oxydation von Cholsäure mit Kaliumpermanganat in Sodalösung, Entfärbung durch Zugabe von Natriumbisulfit und Schwefelsäure und Abfiltrieren des rein weissen Niederschlages, welcher aus Biliansäure und Isobiliansäure besteht. Die Trennung von der Isobiliansäure geschieht am besten mit Hülfe der Barytsalze, von denen biliansaures Barium in heissem und kaltem Wasser leicht löslich, isobiliansaures Barium in heissem Wasser so gut wie unlöslich ist. Ueber eine vereinfachte Darstellung aus roher Cholsäure neben Cholansäure siehe Pregl[5]).

Die Biliansäure ist in kaltem Wasser wenig, in Alkohol verhältnismässig leicht löslich, sie krystallisiert aus Alkohol in diamantglänzenden Krystallen (Smp. nach oftmaligem Umkrystallisieren 274—275°), das saure Barytsalz in hexagonalen Täfelchen. Biliansäurediphenylhydrazon $C_{24}H_{34}O_6 \cdot (N_2HC_6H_5)_2$, Isonitrosobiliansäure $C_{24}H_{34}O_6 \cdot (NOH)_2$ (Mylius), Dichlormonodesoxybiliansäure $C_{24}H_{34}O_7Cl_2$ (Pregl).

Biliansäure zeigt in 3,2 proc. Lösung $[\alpha]_D = +48{,}0°$.

Bei der Oxydation entsteht Ciliansäure. Pettenkofer'sche Reaction negativ, Fluorescenzreaction (S. 323, 2 u. 3) positiv.

Isobiliansäure[6]) $C_{24}H_{34}O_8$, dreibasische mit der Biliansäure isomere Säure. Sie krystallisiert aus schwachem Alkohol in stark doppeltbrechenden Prismen und Tafeln. Smp. 244—245° ohne Bräunung oder Aufschäumen (Pregl). $[\alpha]_D = +67{,}72°$ ($c = 2{,}5$).

Das Barytsalz ist in heissem Wasser fast unlöslich, in kaltem löslich. Das Diphenylhydrazon und die Isonitrosoverbindung stimmen in Krystallform und Schmelzpunkt mit den aus der Biliansäure erhaltenen Derivaten überein (Pregl).

Ciliansäure entsteht beim Kochen einer Lösung von Biliansäure in Natronlauge mit Permanganat (Lassar-Cohn[4]) und hat nach Pregl[7]) die Formel $C_{20}H_{28}O_8$. Sie löst sich sehr leicht in Alkohol und krystallisiert aus heissem Alkohol auf Wasserzusatz. Smp. 242°. $[\alpha]_D = +91{,}67°$ ($c = 1{,}8$). Trimethylester $C_{20}H_{25}O_8(CH_3)_3$.

Dehydrocholon, das die Fluorescenzreaction (S. 323, 2) bedingende Oxydationsproduct der Cholsäure, von der wahrscheinlichen Formel $C_{24}H_{48}O$ wurde von Pregl[8]) in

---

1) H.-S. **19**. 285. (1894.)
2) Bl. s. ch. de Paris (2) **35**. 373 u. 429. (1881.)
3) Latschinoff, B. **18**. 3044. (1885.) u. **19**. 480. (1886.)
Mylius, B. **20**. 1981. (1887.)
Bulnheim, H.-S. **25**. 304. (1898.)
4) B. **32**. 683. (1899.)
5) M. **24**. 47. (1904.)
6) Latschinoff, B. **19**. 1530. (1886.)
Mylius, B. **20**. 1986. (1887.)
Pregl, M. **24**. 53. (1904.)
7) M. **24**. 57. (1904.)
8) H.-S. **45**. 166. (1905.)

folgender Weise erhalten: 20 g Cholsäure werden im Kölbchen mit Steigrohr mit 50 ccm Eisessig übergossen, unter Umschütteln mit 10 cc. conc. H_2SO_4 versetzt und über kleiner Flamme zum Sieden erhitzt. Nach etwa $^5/_4$ stündigem Kochen wird die Lösung in ca. 1 Liter Wasser gegossen, die olivgrüne Fällung nach Zusatz von $^1/_4$ Vol. gesättigter Kochsalzlösung abgesaugt, in Aether gelöst und die ätherische Lösung zunächst einige Male mit Wasser, dann mit sehr verdünnter Natronlauge geschüttelt, bis diese nichts durch Säure Fällbares mehr aufnimmt. Der Rückstand der ätherischen Lösung wird in wenig Alkohol gelöst, im Scheidetrichter mit Petroläther (Siedepunkt 30—50°) versetzt und wiederholt mit viel Wasser ausgeschüttelt. Der nach Abdestillieren des Petroläthers bleibende Rückstand wird wieder in Alkohol gelöst, die Lösung in Wasser gegossen, der Niederschlag nach Zusatz von Kochsalzlösung abgesaugt und ausgewaschen.

Es ist leicht löslich in Alkohol, Aether, Benzol, Chloroform, Petroläther, Eisessig, unlöslich in Wasser, Alkalien und verdünnten Mineralsäuren. Es schmilzt im Capillarrohr zwischen 90 und 100° zu einem braunen durchsichtigen Tropfen.

Ganz verdünnte Lösungen in conc. Schwefelsäure zeigen im durchfallenden Licht gelblich-rötliche Farbe und fluorescieren grünlich. Spectroskopisch zeigen sie einen schmalen Streifen über der Linie D und eine deutliche Verdunklung des violetten Teils von der Linie F an.

233. **Choleinsäure** wurde von Latschinoff[1]) als normaler Bestandteil der verseiften Ochsengalle aufgefunden und von Lassar-Cohn[2]) auch in der verseiften menschlichen Galle nachgewiesen. Gullbring[3]) erhielt sie bei der Spaltung der Taurocholeinsäure. Latschinoff gab ihr die Formel $C_{25}H_{42}O_4$, während ihr wahrscheinlich die Formel $C_{24}H_{40}O_4$ zukommt. Vorkommen.

Zu ihrer Gewinnung[4]) benutzt man den Niederschlag, den man bei der Darstellung der Cholsäure aus Rindergalle (siehe S. 320) durch Chlorbarium erhält. Dieses Barytsalz wird durch Kochen mit Sodalösung in das Natriumsalz übergeführt, das Filtrat eingedampft und mit Alkohol extrahiert. Die wässerige Lösung des eingedampften alkoholischen Filtrats wird mit Bariumacetat (zur Entfernung der Fettsäuren) ausgefällt. Aus dem Filtrat fällt auf Zusatz von Salzsäure die Choleinsäure, die sich durch Umkrystallisieren aus Eisessig reinigen lässt. Darstellung.

Sie löst sich sehr schwer in Wasser, etwas leichter in Aether (1 : 750 absol. Aether), ziemlich leicht in Alkohol (1 : 14 absol. Alkohol), aber schwerer als Cholsäure. Die beim Abkühlen einer heissen alkoholischen Lösung sich ausscheidenden Krystalle, feine büschelförmig gruppierte flache Nadeln, sind wasserfrei und schmelzen bei 185—190°. Das Barytsalz krystallisiert aus heisser alkoholischer Lösung in sphärischen Aggregaten radiär gestellter Nadeln. Es löst sich in Wasser bei 20° etwa wie 1 : 1200. Eigenschaften.

Sie dreht rechts. Latschinoff[5]) fand für 6,06 proc. alkoholische Lösung $[\alpha]_D = +56{,}40°$, Vahlen für 2,5 proc. alkoholische Lösung Optische Eigenschaften.

1) B. **18**. 3039. (1885.)
2) H.-S. **19**. 573. (1894.)
3) H.-S. **45**. 455. (1903.)
4) Lassar-Cohn, H.-S. **17**. 607. (1893.)
5) B. **19**. 1140. (1886.)

$[\alpha]_D = +48{,}87°$, mit abnehmender Concentration zunehmend, Langheld[1]) für 5 proc. alkoholische Lösung $[\alpha]_D^{20°} = +47{,}97°$.

Jodreaction (S. 322, 1) negativ.

Oxydationsproducte. Bei der Oxydation mit Chromsäure entsteht Dehydrocholeinsäure[2]), Cholansäure[3]), Isocholansäure[4]), Säuren, die sich zur Choleinsäure ebenso verhalten wie die Dehydrocholsäure, Biliansäure und Isobiliansäure zur Cholsäure.

Vorkommen. 234. **Desoxycholsäure** $C_{24}H_{40}O_4$ wurde von Mylius[5]) aus faulender Rindergalle neben Cholsäure und Choleinsäure, von Vahlen[6]) ebenfalls aus gefaulter Galle erhalten. Pregl[7]) gewann sie auch aus frischer Rindergalle u. z. aus den Mutterlaugen der Cholsäuredarstellung. Diese wurden nach zweitägigem Kochen mit verdünnter Natronlauge mit Salzsäure gefällt und die Fällungen durch Anreiben mit ätherhaltigem Alkohol oder auch mit Eisessig zur Krystallisation gebracht. Aus der ammoniakalischen Lösung dieser Krystallisationen fiel auf Zusatz von Bariumchlorid desoxycholsaures Barium teigig aus (während aus dem Filtrat dieser Fällung durch Salzsäure weitere Mengen von Cholsäure erhalten wurden).

Die Angabe, dass sie aus Cholsäure durch Fäulnis (Mylius) und durch Reduction mit Zink in essigsaurer und ammoniakalischer Lösung (Vahlen) entsteht, hat Ekbom[8]) nicht bestätigen können.

Eigenschaften. Die reine Säure schmilzt bei 172—173°, die mit einem Mol. Eisessig krystallisierende bei 144—145° und die aus verdünntem ätherhaltigen Alkohol mit Aether krystallisierende bei 153—155°. Das mitkrystallisierte Lösungsmittel wird durch Trocknen im Vacuum bei 110—120° entzogen (Pregl). Sie unterscheidet sich von der Cholsäure in folgenden Punkten: 1. Durch ihre leichtere Löslichkeit in Alkohol, 2. durch ihre Schwerlöslichkeit in Essigsäure, 3. durch ihren rein bittern, gar nicht süssen Geschmack, Kratzen im Schlunde. 4. Das Natriumsalz der Säure wird durch 10 proc. Natronlauge aus wässeriger Lösung gefällt, das cholsaure Natrium nicht. 5. Das Bariumsalz der Säure wird aus selbst sehr verdünnter Lösung in Ammoniak durch Bariumchlorid in der Kälte krystallinisch gefällt, das cholsaure Barium erst beim Erhitzen der concentrierten Lösung (Mylius). Indessen vermag cholsaures Barium grosse Mengen von desoxycholsaurem Barium zu lösen (Pregl).

---

1) B. **41**. 378. (1908.)
2) Latschinoff, B. **18**. 3045. (1885.)
3) Latschinoff, a. a. O., B. **19**. 474. (1886.)
Bulnheim, H.-S. **25**. 311. (1898.)
4) Latschinoff, B. **19**. 1529. (1886.)
5) B. **19**. 373. (1886.)
6) H.-S. **21**. 253. (1895/86.), **23**. 99. (1897.)
7) M. **24**. 21. (1904.) 8) H.-S. **50**. 97. (1906/07.)

$[\alpha]_D$ in 2 proc. Lösung = 49,86° (Vahlen), $[\alpha]_D^{20°}$ in 7 proc. alkoholischer Lösung = + 53,28° (Langheld). Optische Eigenschaften.

Die Beziehungen der Choleinsäure (§ 233) zur Desoxycholsäure bedürfen noch der Aufklärung. Latschinoff[1]) hielt beide für identisch, ebenso Lassar-Cohn. Mylius[2]) und Vahlen[3]), ebenso Langheld[4]) erklären beide für verschieden. Gegen die Identität spricht einstweilen noch der Unterschied in dem Schmelzpunkt und die grössere Löslichkeit der Desoxycholsäure in Alkohol. Bemerkenswert ist indessen, dass die von Gullbring[5]) durch Spaltung der Taurocholeinsäure gewonnene Choleinsäure, welche, aus Alkohol krystallisiert, bei 186—187° schmolz, nach dem Umkrystallisieren aus Eisessig bei 145° und nach dem Umkrystallisieren aus Aetheralkohol und Trocknen bei 125° bei 170—171° schmolz. Beziehung der Choleinsäure zur Desoxycholsäure.

235. **Fellinsäure** $C_{23}H_{40}O_4$ hat Schotten[6]) eine Säure genannt, die er aus verseifter menschlicher Galle neben Cholsäure isolierte. Aus Aether und Benzol erhält man sie krystallisiert, im Allgemeinen krystallisiert sie schwierig, in amorphem Zustand schmilzt sie um 120°, schmeckt bitter und dreht rechts. Sie bildet ebenso wie die Desoxycholsäure und Choleinsäure ein schwer lösliches Barytsalz, das sich aus der Lösung in verdünntem Alkohol auf Wasserzusatz in sternförmig gruppierten Nadeln abscheidet. Bei der Pettenkofer'schen Reaction (S. 323, 3) entsteht eine mehr dunkelkirschrote oder blaurote Farbe, die bei Wasserzusatz verschwindet. Diese Säure bedarf noch der weiteren Untersuchung. Vergl. auch Lassar-Cohn[7]). Örum[8]) konnte diese Säure in der menschlichen Galle nicht auffinden und bezweifelt ihre Existenz.

236. **α-Hyocholsäure** $C_{25}H_{40}O_4$ findet sich in Verbindung mit Glykocoll als α-Glykohyocholsäure (§ 245) in der Schweinegalle[9]) und wird bei der Verseifung frei. Sie hat wenig Neigung zu krystallisieren, löst sich sehr wenig in Wasser, aber leicht in Alkohol oder Aether und in Alkalien. Sie gibt die Pettenkofer'sche Reaction (S. 323, 3); aber nicht die Jodreaction (S. 322, 1).

237. **β-Hyocholsäure** $C_{24}H_{40}O_4$ (?) in Verbindung mit Glykocoll als β-Glykohyocholsäure (§ 248) in der Schweinegalle (Jolin[9]), verhält sich der α-Säure sehr ähnlich, unterscheidet sich aber von ihr durch das Verhalten der Natronsalze. Das Natronsalz der α-Säure ist in Alkohol sehr leicht löslich und scheidet sich aus einer warmen conc. wässerigen Lösung in weissen Flocken ab, das Natronsalz der β-Säure scheidet sich aus conc. alkohol. Lösung in grossen, sehr dünnen Tafeln ab und ist in Wasser sehr leicht löslich. Durch gesättigte Neutralsalzlösung wird die Lösung des α-Salzes viel reichlicher gefällt als die des β-Salzes. Auch polarimetrisch ergaben sich Unterschiede. Jodreaction (S. 322, 1) negativ.

---

1) B. **20**. 1043. (1887.)
2) B. **20**. 1968. (1887.)
3) H.-S. **23**. 99. (1897.)
4) B. **41**. 378. (1908.)
5) H.-S. **45**. 455. (1903).
6) H.-S. **11**. 268. (1887.)
7) H.-S. **19**. 566. (1894.)
8) Skand. A. Ph. **16**. 273. (1905.)
9) Strecker u. Gundlach, A. **62**. 205. (1847.)
Jolin, H.-S. **13**. 223. (1889.)

238. **Chenocholsäure** $C_{27}H_{44}O_4$, der α-Hyocholsäure in der Zusammensetzung homolog, wird aus der Taurochenocholsäure durch Kochen mit Barytwasser erhalten (vergl. § 246). Sie krystallisiert sehr schwer beim Stehen der alkoholischen, mit Wasser versetzten Lösung, ist unlöslich in Wasser, löslich in Alkohol oder Aether; die Lösungen reagieren sauer, die Säure wird von verdünnter Kalilauge gelöst, aber nicht von concentrierter. Das Barytsalz ist unlöslich in Wasser. Die Pettenkofer'sche Reaction (S. 323, 3) fällt positiv aus[1]).

239. **Ursocholeinsäure** ($C_{18}H_{28}O_4$ oder $C_{19}H_{30}O_4$) wurde von Hammarsten[2]) aus der verseiften Eisbärengalle, in der sie sich neben Cholsäure und Choleinsäure findet, dargestellt und als Barytsalz analysiert $(C_{18}H_{27}O_4)_2Ba + C_2H_6O$ oder $(C_{19}H_{29}O_4)_2 Ba + H_2O$.

Weisses, lockeres amorphes Pulver, leicht löslich in Alkohol, Aether, Aceton, Chloroform, äusserst wenig in Wasser oder Benzol, von intensiv und widerlich bitterem Geschmack. Smp. 100—101°, bei 120° gelblich werdend. Barytsalz ist löslich in Alkohol, schwer löslich in Wasser (etwas leichter als choleinsaurer Baryt), in warmem nur wenig mehr als in kaltem. Bei Zimmertemperatur löst sich 1 Tl. in etwa 800 Tl., 1 Tl. choleinsaures Ba in 1100—1200 Tl.

Freie Säure in 6,8 proc. alkoholischer Lösung $[\alpha]_D = + 22{,}34°$, Natronsalz in 2,4 proc. wässeriger Lösung $[\alpha]_D = + 16.46°$ mit steigender Concentration etwas abnehmend.

Pettenkofer'sche Reaction und Fluorescenzreaction (S. 323, 2 u. 3) positiv, Jodreaction (S. 322, 1) negativ.

Vorkommen. 240. **Lithofellinsäure** $C_{20}H_{36}O_4$ ist bis jetzt nur in den seltenen orientalischen Bezoaren gefunden worden, die fast ganz aus dieser Säure bestehen.

Darstellung. Aus dem heissen alkoholischen Auszug der gepulverten Steine scheiden sich nach dem Concentrieren allmählich Krusten stark glänzender, farbloser, harter Krystalle ab. Sie stellen sehr spitzige Rhomboeder oder dreiseitige Säulen meist mit zugerundeten Flächen dar. Um sie zu reinigen versetzt man die alkoholische Lösung mit überschüssigem Natriumcarbonat, verdunstet zur Trockne, extrahiert mit absolutem Alkohol, filtriert, dampft ein, löst den Rückstand in Wasser, fällt mit Chlorbarium, filtriert und wäscht mit heissem Wasser aus. Die aus dem eingedampften Filtrat durch Essigsäure ausgefällte Lithofellinsäure wird abfiltriert, gewaschen und aus wenig siedendem Alkohol umkrystallisiert.

Eigenschaften. Sie ist leicht löslich in heissem, schwer in kaltem Alkohol, schwer löslich in Aether und in krystallisiertem Zustande unlöslich in Wasser, dagegen scheint die aus ihren Salzen eben abgeschiedene, amorphe Säure löslich zu sein. Die Krystalle schmelzen bei 205°, beim starken Erhitzen geben sie dieselben aromatischen Dämpfe wie die Cholsäure. Die Alkalisalze sind leicht löslich in Wasser, werden aber durch Aetzalkali, kohlensaures Alkali oder andere Salze aus der conc. heissen Lösung in öligen Tropfen abgeschieden; sie krystallisieren sehr schwer. Das Barytsalz krystallisiert beim Erkalten der heissen conc. wässerigen Lösung in feinen Nadeln. Bei dreistündigem Kochen ihrer alkoholischen Lösung mit wenig Tropfen conc. Salzsäure entsteht ein in Wasser und Alkali unlösliches Oel, welches unter 16 mm Druck bei 245—248° fast unzersetzt destilliert und das Lacton $C_{20}H_{34}O_3$ darstellt (Jünger und Klages[3]).

---

1) Heintz u. Wislicenus, Poggendorff's Ann. **108**. 547. (1859.)
R. Otto, Zeitschr. f. Chem. 1868. S. 635.

2) H.-S. **36**. 537. (1902.)

3) B. **28**. 3045. (1895.) Hier auch ältere Literatur.

Die Lithofellinsäure dreht rechts u. z. beträgt $[\alpha]_D = + 13{,}76^0$. In Verbindung mit Alkalien ist die spec. Drehung grösser als im freien Zustande (Roster[1]). Sehr schöne Pettenkofer'sche Reaction (S. 323, 3). Optische Eigenschaften.

Bei mehrstündigem Kochen ihrer alkoholischen Lösung mit Barytwasser geht sie in eine ungesättigte Säure $C_{18}H_{30}O_3$ über, die nach Verdampfen des Alkohols durch Salzsäure abgeschieden wird und in perlmutterglänzenden, farblosen Schuppen krystallisiert, bei 182° schmilzt und fleischrote Pettenkofer'sche Reaction giebt. Auch sie lässt sich leicht in ein Lacton überführen (Jünger u. Klages). Umwandlungen.

Zum Nachweis der Lithofellinsäure können besonders die Krystallformen, der hohe Schmelzpunkt, die aromatischen Destillationsproducte, die Pettenkofer'sche Reaction und das Verhalten der Alkali- und Barytsalze dienen. Nachweis.

Neben Lithofellinsäure fand Roster[2]) in orientalischen Bezoaren die einbasische Lithobilinsäure $C_{30}H_{58}O_6$ (?), Smp. 199°, welche krystallisiert erhalten wurde, unlöslich in Wasser, leicht löslich in Alkohol und mässig löslich in Aether ist. Sie bildet ein in Wasser unlösliches Barytsalz und zeigt stärkere Rechtsdrehung als Lithofellinsäure. Lithobilinsäure.

Gepaarte Gallensäuren.

241. **Glykocholsäure** $C_{26}H_{43}NO_6$ stellt eine unter Austritt eines Mol. Wasser zu Stande gekommene Verbindung eines Mol. Glykocoll und eines Mol. Cholsäure dar. Sie findet sich besonders reichlich in der Rindergalle hauptsächlich an Natrium gebunden neben Glykocholeinsäure, Taurocholsäure und Taurocholeinsäure, und soll auch sehr reichlich in der menschlichen Galle enthalten sein. Bei Fleischfressern fehlt sie ganz, so weit deren Gallen bis jetzt untersucht sind. In geringer Menge ist sie in den Excrementen der Rinder nachgewiesen, auch icterischer menschlicher Harn enthält sie fast immer in Spuren. Vorkommen.

$C_{23}H_{39}O_3 . CO$
$\quad\quad\quad\quad\quad\quad |$
$\quad\quad\quad\quad\quad HN—CH_2$
$\quad\quad\quad\quad\quad\quad\quad\quad |$
$\quad\quad\quad\quad\quad\quad\quad\quad COOH$

Synthetisch wurde sie durch Vereinigung von über das Hydrazid gewonnenem Cholalazid und Glykocoll in alkalischer Lösung erhalten (Bondi und Müller[3]). Darstellung.

Zur Darstellung der Glykocholsäure und Glykocholeinsäure (§ 242) aus Rindergalle sind verschiedene Methoden angegeben: Darstellung aus Rindergalle.

1. Nach Hammarsten u. Wahlgren[4]). Zum Syrup eingedampfte Galle wird mit Alkohol ausgezogen, das alkoholische Filtrat verdunstet, die wässerige Lösung des Rückstandes mit Bleizuckerlösung gefällt. Der abfiltrierte Niederschlag wird in der Wärme mit Sodalösung zersetzt, die abfiltrierte Lösung zur Trockne verdunstet und der Rückstand mit Alkohol extrahiert. Das alkoholische Filtrat wird verdunstet und die wässerige Lösung des Rückstandes nach Entfärben mit Tierkohle nach Hüfner (siehe § 241, 4) mit Aether versetzt und mit Salzsäure ausgefällt. Die ab-

1) Gaz. chim. **9**. 364 u. 462. (1879.)
Su l'acido lithofellico etc. Firenze 1879.
2) a. a. O. u. Sopra un nuovo acido lithobilico etc. Firenze 1879.
3) H.-S. **47**. 499. (1906.)
4) H.-S. **36**. 556. (1902.), **43**. 121. (1904/05.)

filtrierten Krystallmassen werden durch Auswaschen von Salzsäure befreit*) und wiederholt mit Wasser ausgekocht. Aus dem Filtrat scheidet sich beim Erkalten Glykocholsäure aus, die durch Umkrystallisieren aus Wasser gereinigt wird. Der ungelöste Rückstand (Paraglykocholsäure (S. 332) u. Glykocholeinsäure) wird mit etwas Alkali in Wasser gelöst und die neutrale Lösung mit Bariumchlorid versetzt. Das als zähe Masse sich abscheidende Bariumsalz wird in siedendem Wasser gelöst, die Lösung mit Natriumcarbonat zersetzt, eingedampft und der Rückstand mit Alkohol aufgenommen. Der Rückstand des alkoholischen Filtrats wird in Wasser gelöst und die wässerige Lösung nach Entfärbung mit Tierkohle und hinreichender Verdünnung mit Wasser wie oben durch Aether und Salzsäure gefällt: Glykocholeinsäure. Dieselbe kann zur weiteren Reinigung nochmals der oben beschriebenen Behandlung unterworfen werden.

2. Man dampft zum dicken Syrup ein, extrahiert mit starkem Alkohol, entfärbt die Lösung durch Kochen mit Tierkohle, destilliert den Alkohol ab und fällt die conc. alkoholische Lösung durch einen Ueberschuss von Aether. Das glykochol-, glykocholein- und taurocholsaure Natrium werden hierdurch niedergeschlagen. Den Niederschlag, der sich nach Minuten oder erst nach Stunden bis Tagen in schön seidenglänzende Krystallbüschel (Plattner's krystallisierte Galle) verwandelt, löst man in nicht zu wenig Wasser, fügt Aether hinzu und dann so lange verdünnte Schwefelsäure, bis eine starke, beim Umrühren bleibende Trübung entstanden ist. Nach einigen Stunden ist die ganze Flüssigkeit zum Brei feiner, seideglänzender Nadeln erstarrt, die man auf einem Filter sammelt, auspresst, und durch Waschen mit Wasser von Schwefelsäure befreit. Die weitere Behandlung geschieht wie unter 1* angegeben.

Plattner's krystallisierte Galle.

3. Bleibtreu u. Bontemps[1]) fanden für Greifswalder Ochsengalle (nicht für die Gallen anderer Tiere) folgendes Verfahren geeignet. Die Galle wird mit dem $1^1/_2$—2 fachen Vol. 2 proc. Uranacetatlösung versetzt, der Niederschlag wird abfiltriert und mit warmem Wasser gewaschen. Das gesamte Filtrat wird mit Eisenchlorid in der Siedehitze ausgefällt, der Niederschlag, welcher die Eisensalze der Gallensäuren enthält, filtriert, ausgewaschen, in Wasser zerteilt, mit Ammoniak versetzt und unter Umrühren und Zerteilen der zusammengeballten Klümpchen mit dem Glasstab eine Zeit lang auf dem Wasserbad erhitzt. Man filtriert ab. Fügt man nun dem Filtrat etwas Aether und dann vorsichtig Salzsäure hinzu und schüttelt um, so entsteht meist direkt, sonst nach einigem Stehen ein das ganze Gefäss ausfüllender Krystallbrei. Dieser wird abfiltriert und weiter wie oben unter 1* angegeben behandelt.

*) Von hier an werden die unter 2, 3 u. 4 beschriebenen Methoden ebenso ausgeführt.

1) Pfl. A. **98**. 187. (1903.)
Bontemps, Dissert. Greifswald. 1905.

Da mit dem Uranacetat ausser Farbstoffen auch Gallensäuren ausfallen, so hat man bei diesem Verfahren erhebliche Verluste.

4. Das einfachste Verfahren, welches sich aber nur für Gallen mancher Gegenden z. B. Tübinger Galle eignet, besteht nach Hüfner[1]) darin, dass man frische Galle in einem engen Cylinder mit etwas Aether überschichtet und reine starke Salzsäure (auf 40 ccm Galle 2 ccm) zufügt. Die anfangs milchige Trübung wird bald, oft schon nach wenigen Minuten, krystallinisch. Man giesst den Aether ab, rührt die Masse mit Wasser an, schüttelt stark, filtriert und wäscht mit kaltem Wasser bis das Filtrat farblos abläuft. Jetzt verfährt man weiter wie unter 1* beschrieben.

Ueber die Isolierung von Glykocholsäure aus Flüssigkeiten siehe S. 334. Isolierung aus Flüssigkeiten.

Die Glykocholsäure krystallisiert in feinen Nadeln, löst sich schwer in kaltem (c. 1 : 300), leichter in heissem (c. 1 : 120) Wasser, fast gar nicht in Aether, sehr leicht in starkem Alkohol und in Alkalien. Die alkoholische Lösung wird durch Wasserzusatz getrübt und scheidet Flocken und Tropfen ab, die sich allmählich in feine Krystalle umwandeln. Die Lösung in Alkalien wird durch Zusatz von etwas Mineralsäure gefällt. Die Säure zeigt keinen scharfen Schmelzpunkt. Sie erweicht bei 133° und schmilzt bei 152° zu einer klaren Flüssigkeit und zwar verhalten sich natürliche und synthetische gleich (Bondi und Müller). Sie schmeckt süsslich bitter, reagiert sauer, treibt beim Abdampfen ihrer Lösungen mit Carbonaten die Kohlensäure aus und bildet in Wasser und Alkohol gut lösliche Alkalisalze. Eigenschaften

Man erhält die Alkalisalze beim Abdampfen ihrer alkoholischen Lösung in dünnen vierseitigen Prismen. Die wässerige Lösung der Alkalisalze vermag geringe Mengen von Fett und Cholesterin klar zu lösen. Sie wird durch Bleiacetat gefällt, der Niederschlag löst sich in heissem Alkohol und scheidet sich beim Erkalten zum Teil pulverig oder flockig wieder aus. Auch Kupfersulfat, Eisenchlorid, Uransalze, Silbernitrat rufen Niederschläge in den Lösungen der Alkalisalze hervor. Eine 2 proc. Lösung von glykocholsaurem Alkali wird durch Sättigung mit Kaliumsulfat, Natriumsulfat, Kaliumnitrat, Ammoniumchlorid, Kaliumchlorid, Kaliumacetat, Natriumacetat nicht gefällt, durch Sättigung mit Natriumnitrat, Natriumchlorid, Natriumcarbonat, Kaliumcarbonat reichlich gefällt, durch Sättigung mit Magnesiumsulfat und durch zwei Drittel Sättigung mit Ammoniumsulfat völlig gefällt (Tengström[2]). Aus der Galle scheidet sich aber beim Sättigen mit Kochsalz kein gallensaures Salz ab. Eine Lösung von glykocholsaurem Alkali wird durch Essigsäure nicht gefällt, wohl aber bei Anwesenheit eines neutralen Alkalisalzes z. B. Kochsalz (Wahlgren[3]). Alkalisalze. Das Silbersalz löst sich etwas in Wasser, besonders beim Erwärmen. Ag-salz. Das Barytsalz ist in Wasser leicht löslich. Ba-salz.

Die freie Säure und ihre Salze drehen rechts u. z. beträgt für die Optische Eigenschaften.

1) J. f. pr. Ch. N. F. **10**. 267. (1874.)
2) H.-S. **41**. 217. (1904.) 3) H.-S. **36**. 563. (1902.)

alkoholische Lösung der freien Säure $[\alpha]_D = + 29{,}0°$, für die alkoholische Lösung des Natronsalzes $[\alpha]_D = + 25{,}7°$. In wässeriger Lösung ist die specifische Drehung geringer. Die Concentration zeigt keinen Einfluss auf die specifische Drehung (Hoppe-Seyler[1]).

Spaltung. Durch anhaltendes Kochen mit verdünnter Salzsäure oder Schwefelsäure, ebenso durch Kochen mit Alkalien oder heiss gesättigtem Barytwasser wird die Glykocholsäure in Cholsäure und Glykocoll gespalten. Beim

Umwandlungen. Kochen einer wässerigen Lösung von Glykocholsäure geht diese z. T. und zwar um so reichlicher je länger gekocht wird in die in Wasser nahezu unlösliche Paraglykocholsäure über. Diese bildet perlmutterglänzende Blättchen, hat dieselbe Zusammensetzung wie die Glykocholsäure, schmilzt bei 183—188° und geht beim Umkrystallisieren aus Alkohol wieder in Glykocholsäure über (siehe Wahlgren). Trägt man Glykocholsäure in conc. Schwefelsäure ein, so löst sie sich auf, erwärmt man dann, so scheidet sich Cholonsäure $C_{26}H_{41}NO_5$ als amorpher Niederschlag aus, welcher in Wasser sich nicht löst, in Alkohol leicht löslich ist und nicht krystallisiert. Diese Säure bildet sich auch neben Cholsäure beim Kochen von Glykocholsäure mit starker Salzsäure. Ihr Barytsalz ist in Wasser unlöslich und hierdurch unterscheidet sie sich sowohl von der Glykocholsäure, als auch von der Cholsäure. Auch die Cholonsäure bewirkt rechtsseitige Circumpolarisation und hat eine der Glykocholsäure etwa gleiche specifische Drehung.

Nachweis. Zum Nachweis dienen die Lösungsverhältnisse, der Geschmack, das Drehungsvermögen und die Fluorescenz- und Pettenkofer'sche Reaction (S. 323, 2 u. 3). Vor einer Verwechselung mit Cholsäure schützt das Ausbleiben der Jodreaction (S. 322, 1), vor einer Verwechselung mit Taurocholsäure die Schwerlöslichkeit in Wasser und der fehlende Schwefelgehalt.

Vorkommen. 242. **Glykocholeinsäure** $C_{26}H_{43}NO_5$ oder $C_{27}H_{45}NO_5$ wurde von Wahlgren[2]) in der Rindergalle, von Hammarsten[3]) in der Galle des Moschusochsen und des Menschen gefunden.

Ueber die Darstellung siehe S. 329.

Eigenschaften. Sie krystallisiert in kurzen, dicken Prismen oder prismatischen Nadeln, aber auch, wie die Glykocholsäure, in Büscheln feiner langer Nadeln. Smp. 175—176°. Sie schmeckt fast rein bitter mit nur sehr schwachem süssen Nachgeschmack.

Sie ist in kaltem Wasser fast unlöslich und in siedendem, zum Unterschied von der Glykocholsäure, äussert schwer löslich, in Alkohol, namentlich in warmem, leicht löslich, in Aether und Aceton nur wenig löslich, in Benzol und Chloroform fast unlöslich.

---

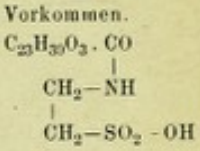
1) J. f. pr. Ch. **89**. 257. (1863.)
2) H.-S. **36**. 556. (1902.)
3) H.-S. **43**. 109. (1904/05.)
Lehrb. d. physiol. Ch. 6. Aufl. S. 314. (1907.)

Die Alkalisalze sind in Alkohol verhältnismässig schwer, in Wasser leicht löslich. Die Lösungen werden ausser durch Schwermetallsalze wie die Glykocholsäure, auch noch durch Calcium-, Magnesium- und Bariumsalze gefällt. Die mit Bariumchlorid erhaltene Fällung ist klebrig und zähe und scheidet sich aus ihrer Lösung in möglichst wenig kochendem Wasser in einzelnen oder zu Ballen vereinigten Krystallnadeln ab. Die Lösungen der Alkalisalze werden auch durch Neutralsalze leichter gefällt als die Lösungen der Glykocholate, z. B. durch gleiches Vol. gesättigter Kochsalzlösung, sie werden auch durch Essigsäure gefällt. Salze.

Durch Kochen mit gesättigtem Barytwasser zerfällt sie in Choleinsäure und Glykocoll. Spaltung

Sie gibt die Fluorescenz- und die Pettenkofer'sche Reaction (S. 323,2 u. 3), letztere mit stark violettem Farbenton.

243. Taurocholsäure $C_{26}H_{45}NSO_7$ stellt eine unter Austritt eines Mol. Wasser zu Stande gekommene Verbindung eines Mol. Taurin und eines Mol. Cholsäure dar. Sie findet sich neben der Glykocholsäure, Glykocholeinsäure und Taurocholeinsäure in der Rindergalle. Die Menschengalle enthält schwankende, geringe Mengen, die Hundegalle ausschliesslich Taurocholsäure und Taurocholeinsäure. Auch in der Galle der Schlangen und Fische kommt sie vor. Im icterischen Harn können geringe Mengen vorhanden sein. Sie ist in der Galle stets an Alkalien gebunden. Vorkommen.



Synthetisch wurde sie erhalten durch Vereinigung von über das Hydrazid gewonnenem Cholalazid mit Taurin in alkalischer Lösung (Bondi u. Müller[1]). Darstellung.

Zur Darstellung eignet sich nach Hammarsten[2]) am besten die Dorschgalle. Sie wird mit Eisenchlorid gefällt, das Filtrat zur Ausfällung von Eisen mit Natriumcarbonat alkalisch gemacht, der Niederschlag abfiltriert, das neue Filtrat fast neutralisiert und mit Kochsalz gesättigt. Das ausfallende Taurocholat wird mit gesättigter Kochsalzlösung gewaschen in Wasser gelöst, nochmals durch Sättigung mit Kochsalz ausgefällt und durch wiederholtes Eintrocknen seiner Lösung und Auflösen des Rückstandes in Alkohol von Kochsalz befreit. Um aus diesem rein weissen Taurocholat die freie Säure zu gewinnen, zerreibt man es mit 2—3 pCt. Schwefelsäure haltigem Alkohol bei Zimmertemperatur und schüttelt, filtriert vom Sulfat ab und fällt das die freie Säure enthaltende Filtrat mit überschüssigem Aether. Die harzige oder flockige Fällung wird alsbald abfiltriert, in wenig absolutem Alkohol gelöst, die Lösung filtriert und von neuem mit Aether gefällt. Die klare Lösung dieser neuen amorphen Fällung in absolutem Alkohol wird mit einigen Tropfen Wasser und darauf mit Aether bis zu starker Opalescenz oder schwach milchiger Trübung versetzt. Von einer event. auftretenden geringen amorphen Fällung filtriert man möglichst rasch ab und setzt, wenn nötig, noch ein wenig Aether hinzu. Nach einiger Zeit fängt Darstellung aus Dorschgalle.

1) H.-S. **47**. 499. (1906.). 2) H.-S. **43**. 127. (1904/05.)

die Krystallisation der Säure an und wenn die Menge der Krystalle sich nicht weiter vermehrt, fügt man der klaren Lösung wieder Aether bis zur schwach milchigen Trübung hinzu. Dieses Verfahren wiederholt man, bis keine weitere Krystallisation mehr erfolgt. In derselben Weise wird umkrystallisiert.

Darstellung aus Hundegalle.

Zur Darstellung aus Hundegalle wird nach Hammarsten[1]) die durch Alkohol vom Schleim befreite Galle eingedampft, der Rückstand in starkem Alkohol gelöst, die Lösung mit viel Aether unter Umschütteln versetzt, die Fällung abfiltriert, ausgepresst und in Wasser gelöst. Die wässerige Lösung der gallensauren Salze wird nun fractionsweise mit Eisenchlorid gefällt und zwar unter Abstumpfung der sauren Reaction mit Soda und Verdünnen mit Wasser und so lange als noch die Niederschläge nach der Zersetzung mit Soda eine stark bitterschmeckende Lösung geben. Aus diesen Niederschlägen lässt sich Taurocholeinsäure gewinnen. Das Filtrat der Eisenfällungen wird fast neutralisiert, eingetrocknet, der Rückstand mit Alkohol erschöpft, die alkoholische Lösung eingetrocknet, wieder mit Alkohol aufgenommen und so mehrfach verfahren. Die Darstellung der freien Säure geschieht wie oben bei der Dorschgalle angegeben.

Darstellung aus Rindergalle.

Für die Darstellung aus Rindergalle hat Bang[2]) ein Verfahren angegeben.

Isolierung der Gallensäuren aus tierischen Flüssigkeiten.

Zur Isolierung von Gallensäuren aus tierischen Flüssigkeiten (Harn, seröse Flüssigkeiten) verfährt man in folgender Weise. Eiweisshaltiger Harn wird zunächst durch Kochen unter Essigsäurezusatz von Eiweiss befreit. Seröse Flüssigkeiten werden nach dem Neutralisieren durch grossen Ueberschuss von Alkohol gefällt. Man filtriert ab, behandelt die Niederschläge mit Alkohol, dampft die vereinigten alkoholischen Filtrate zur Trockne ein, nimmt den Rückstand mit Alkohol auf und den Verdampfungsrückstand dieses alkoholischen Auszugs mit Wasser. Die filtrierte wässerige Lösung bezw. der (eiweissfreie) Harn wird mit Bleiessig und ein wenig Ammoniak gefällt, der abfiltrierte und mit etwas Wasser gewaschene Niederschlag mit Alkohol gekocht und die heiss filtrierte Lösung, welche die Bleisalze der Gallensäuren enthält, mit einigen Tropfen Sodalösung versetzt und im Wasserbade zur Trockne verdunstet. Der Rückstand wird mit abs. Alkohol ausgekocht, die Lösung auf ein kleines Volumen eingeengt, mit einem Ueberschuss von Aether versetzt und in einem verschlossenen Gefäss zur Krystallation (gallensaure Natronsalze) stehen gelassen. Handelt es sich nur darum, die Anwesenheit von Gallensäuren festzustellen, so kann man, ohne die Krystallisation abzuwarten, den harzigen Niederschlag in Wasser lösen und die Reactionen anstellen. Will man aber erfahren, ob Glykocholsäure, Taurocholsäure oder Cholsäure vorliegt, so lässt man die durch Aether gefällten Natronsalze am Besten zunächst krystallisieren, giesst den Aether ab,

1) H.-S. **43**. 140. (1904/05.) 2) B. Ph. P. **7**. 148. (1906.)

löst die Krystalle in wenig Wasser und benutzt das verschiedene Verhalten der Gallensäuren gegen Bleizucker zur Trennung. Durch Bleizucker werden Glykocholsäure und Cholsäure gefällt, während nur sehr geringe Mengen von Taurocholsäure mitgerissen werden, wenn die Flüssigkeit nicht stark alkalisch ist. Nach der Ausfällung dieser Säuren kann die Taurocholsäure durch Bleiessig und etwas Ammoniak gefällt werden.

Eigenschaften.

Taurocholsäure löst sich leicht in Wasser mit stark saurer Reaction, die krystallisierte aber viel weniger leicht als die amorphe; auch in Alkohol löst sie sich (die krystallisierte aber nicht besonders leicht) und in Essigester, in Aether, Benzol, Chloroform, Ligroin, Aceton ist sie unlöslich.

Aus einer absolut alkoholischen Lösung scheidet sie sich auf Zusatz von Aether amorph ab, dagegen krystallinisch, wenn der alkoholischen Lösung vor dem Aetherzusatz einige Tropfen Wasser zugefügt worden sind u. z. bilden sich bei rascher Krystallisation Gruppen feiner Nadeln, bei langsamer schöne Prismen meistens mit durch zwei Flächen abgeschnittenen Enden. Im Exsiccator getrocknet entspricht die krystallinische Säure der Formel $C_{26}H_{45}NSO_7 + H_2O$. Sie schmeckt süss und nur wenig bitter, ist gar nicht hygroskopisch (entgegen früheren Beobachtungen, die an mit Taurocholeinsäure verunreinigter Taurocholsäure gemacht waren). Sie färbt sich beim Erhitzen auf 100° und sogar bei etwas niedrigerer Temperatur gelb oder braun (Hammarsten[1]), sintert bei 140°, beginnt gegen 160° sich zu zersetzen und schmilzt bei 180° zu brauner Flüssigkeit (Bondi und Müller).

Salze.

Taurocholsaures Natron ist in Wasser löslich, verhältnismässig schwer in Alkohol, besser löst es sich in warmem, fällt aber beim Abkühlen z. T. wieder grobflockig aus, wenn nicht die ganze Lösung gallertartig erstarrt. Es kann aus der alkoholischen Lösung durch Aetherzusatz krystallisiert erhalten werden (Hammarsten).

Durch Bleiacetat wird die Taurocholatlösung nicht gefällt, auch nicht durch Eisenchlorid, wohl aber durch Bleiessig und Ammoniak. Eine 2 proc. Lösung von taurocholsaurem Alkali wird durch Sättigung mit Kalium- und Natriumsulfat, Kaliumnitrat, Ammoniumchlorid nicht gefällt, durch Sättigung mit Natriumnitrat, Kaliumchlorid, Kalium- und Natriumacetat, Natrium- und Kaliumcarbonat reichlich, durch Sättigung mit Natriumchlorid bis auf 0,12 pCt., durch Sättigung mit Magnesiumsulfat und $^2/_3$ Sättigung mit Ammoniumsulfat völlig gefällt. Aus der Galle scheidet sich aber das Taurocholat beim Sättigen mit Kochsalz nicht ab (Tengström[2]). Aus einer mit Salzsäure versetzten und darauf mit Kochsalz gesättigten Taurocholatlösung krystallisiert die Säure besonders nach Umschütteln mit Aether (Hammarsten).

Weitere Angaben liegen für die Salze reiner Säure nicht vor.

---

1) H.-S. **43**. 127. (1904/05.) 2) H.-S. **41**. 217. (1904.)

Optische Eigenschaften. Auch die Angaben über das Drehungsvermögen (alkoholische Lösung des Natronsalzes $[\alpha]_D = +24{,}5^0$) beziehen sich auf nicht ganz reine Substanz.

Spaltung. Durch Kochen mit verdünnten Säuren oder Alkalien, auch schon mit Wasser allein zerfällt die Taurocholsäure in Taurin und Cholsäure. Die Spaltung erfolgt viel leichter wie die der Glykocholsäure. Die gleiche Zersetzung erleidet sie bei der Fäulnis in der Galle und im Darmkanal.

Nachweis. Für den Nachweis dienen die Löslichkeitsverhältnisse (leichte Löslichkeit in Wasser), der Geschmack, das Drehungsvermögen, der positive Ausfall der Fluorescenz- und Pettenkofer'schen Reaction (S. 323, 2 u. 3), der negative Ausfall der Jodreaction (S. 322, 1), vor Allem der Schwefelgehalt, auf dem man nach § 55 prüft. Die Alkohollöslichkeit einer Substanz, ihr Schwefelgehalt und der positive Ausfall der Pettenkofer'schen Reaction sprechen für Taurocholsäure, das gleiche Verhalten zeigt nur noch die Taurocholeinsäure (§ 244), welche aber bitter schmeckt und deren Alkalisalze durch Eisenchlorid gefällt werden. Um die beiden Spaltungsproducte der Taurocholsäure nachzuweisen, kocht man 12 Stunden mit heiss gesättigtem Barytwasser (am Besten im zugeschmolzenen Rohr im Wasserbade), leitet Kohlensäure hindurch, verdampft zur Trockne, extrahiert den Rückstand zuerst mit kaltem Wasser, kocht ihn dann mit Wasser aus und filtriert heiss. Den Kaltwasserauszug prüft man nach § 177 auf Taurin, den Heisswasserauszug nach § 232 auf Cholsäure.

244. **Taurocholeinsäure** wurde von Hammarsten[1]) aus Hundegalle und von Gullbring[2]) aus Rindergalle isoliert.

Darstellung aus Hundegalle. Die bei der Darstellung von Taurocholsäure aus Hundegalle erhaltenen Eisenniederschläge (S. 334) werden mit Sodalösung zersetzt, die Lösung wird eingetrocknet und der Rückstand mit warmem Alkohol extrahiert. Die abfiltrierte Lösung wird verdunstet und der Rückstand mit kaltem absolutem Alkohol aufgenommen. Das Eindampfen des alkoholischen Filtrats und die Behandlung des Rückstandes mit Alkohol wird wiederholt, bis leichte und klare Lösung in Alkohol erfolgt. Jetzt wird die Lösung des Salzes in wenig Alkohol mit salzsäurehaltigem Alkohol versetzt und nach dem Filtrieren mit Aether gefällt. Es scheidet sich Taurocholeinsäure ab.

Ueber die Darstellung aus Rindergalle siehe die Originalarbeit.

Sie ist leicht löslich in Alkohol und wird aus dieser Lösung durch eine hinreichende Menge von Aether, Aceton, Benzol, Chloroform gefällt. Sie ist amorph (die aus Hundegalle gewonnene ging nach längerer Zeit grösstenteils in Ballen von feinen Nadeln über) und zerfliesst an der Luft, schmeckt stark bitter ohne süssen Nebengeschmack.

Das Natronsalz wird aus seiner wässerigen Lösung durch Sättigung mit Kochsalz als ölige Masse gefällt. Seine Lösung wird durch Bleizucker, Kupfersulfat, Silbernitrat, Alaun, Chlorbarium nicht gefällt oder getrübt, dagegen reichlich durch Bleiessig und ebenso durch Eisenchlorid.

Bei der Spaltung (12stündiges Erhitzen mit 10proc. Natronlauge im Autoklaven bei etwa 100°) zerfällt sie in Taurin und Choleinsäure.

---

1) H.-S. **43**. 142. (1904/05.) 2) H.-S. **45**. 448. (1905.)

245. **Glykohyocholsäure** wurde von Strecker und Gundlach[1]) aus der Schweinegalle erhalten durch Abscheidung ihres Natriumsalzes mittelst Sättigung der Galle mit Natriumsulfat, Lösen des mit gesättigter Glaubersalzlösung ausgewaschenen Niederschlags in Wasser, Ausfällen der Säure mit Salzsäure. Daneben enthät die Schweinegalle nach Jolin[2]) noch das Natriumsalz einer anderen Säure u. z. in grösserer Menge. Dieses Salz wird durch Natriumsulfat weniger leicht und nur unvollständig abgeschieden und kann infolgedessen abgetrennt werden. Ueber das sehr umständliche Isolierungsverfahren siehe Jolin. J. nennt die von St. und G. gefundene Säure α-Glykohyocholsäure, die von ihm gefundene β-Glykohyocholsäure. Ausserdem ist noch eine Taurin enthaltende Gallensäure vorhanden, deren Darstellung aber bisher nicht gelang.

α-Glykohyocholsäure $C_{27}H_{43}NO_5$ löst sich nicht in Wasser, wenig in Aether, leicht in Alkohol. Sie ist harzig und krystallisiert nur sehr schwierig, schmeckt bitter und dreht rechts. In alkoholischer Lösung betrug $[\alpha]_D = +9{,}7^0$. Sie verbindet sich mit Alkalien zu in Wasser löslichen Salzen. Die Lösungen dieser Salze werden durch Laugen und durch gesättigte Salzlösungen z. B. Natriumsulfat ausgefällt u. z. unter Bildung fein gefalteter Häutchen. Die Salze der alkalischen Erden sind in Wasser schwer löslich. Fluorescenz- und Pettenkofer'sche Reaction (S. 323, 2 u. 3) fallen positiv aus.

β-Glykohyocholsäure $C_{26}H_{43}NO_5$ (?) hat bisher nicht frei von Beimengung einer Taurinverbindung dargestellt werden können. Sie ist der α-Säure sehr ähnlich, aber weniger leicht als Alkalisalz durch conc. Neutralsalzlösungen fällbar.

Beim Kochen mit Alkalien werden beide Säuren in Glykocoll und α- bezw-β-Hyocholsäure (§§ 236 u. 237) gespalten.

246. **Taurochenocholsäure**[3]) findet sich in der Gänsegalle. Zur Darstellung des Natronsalzes wird die Galle mit Alkohol ausgezogen, die alkoholische Lösung mit Aether gefällt, der pflasterartige Niederschlag mit einer conc. Natriumsulfatlösung gewaschen und nach dem Trocknen in abs. Alkohol gelöst, schliesslich die klar filtrierte Lösung mit Aether gefällt. Nach längerem Stehen setzen sich kleine rhombische Tafeln des Natronsalzes $C_{29}H_{50}NSO_7Na$ ab. Bei 140° getrocknet verliert es ein Mol. Wasser. Um aus diesem Salze die freie Säure zu gewinnen, fällt man seine wässerige Lösung mit Bleiessig, zerteilt den abfiltrierten Niederschlag in Alkohol, zerlegt ihn durch Schwefelwasserstoff und dampft das Filtrat ein. Dabei scheidet sich etwas unlösliche Parataurochenocholsäure (?) ab. Die freie Säure krystallisiert nicht, sie löst sich leicht in Wasser und Alkohol. Durch anhaltendes Kochen mit Barytwasser wird sie in Taurin und Chenocholsäure (§ 238) gespalten. Pettenkofer'sche Reaction positiv (S. 323, 3).

247. **Guanogallensäure**[4]). Im Peru-Guano findet sich eine Gallensäure, welche durch Wasser ausgezogen und mit Salzsäure gefällt wird. Alkohol löst sie auf und man erhält sie nach Entfärben mit Blutkohle beim Abdampfen der alkoholischen Lösung als amorphe, gelbliche, in Wasser unlösliche Masse, welche etwas Stickstoff, aber keinen Schwefel enthält. Das Natronsalz ist leicht löslich in Wasser, das Barytsalz etwas schwerer, beide lösen sich leicht in Alkohol. Die Fluorescenz- und die Pettenkofer'sche Reaction (S. 323, 2 u. 3) fallen positiv aus.

248. **Scymnolschwefelsäure.** Unter diesem Namen beschreibt Hammarsten[5]) zwei Aetherschwefelsäuren, welche an Stelle anderer Gallensäuren in der Galle des Hai-

---

1) A. **62**. 205. (1847.)
2) H.-S. **12**. 512. (1888.), **13**. 205. (1889.)
3) Heintz u. Wislicenus, Pogg. Ann. **108**. 547. (1859.)
R. Otto, Zeitschr. f. Chem. 1868. 633.
4) Hoppe-Seyler, Virch. A. **26**. 525. (1863.)
5) H.-S. **24**. 322. (1898.)

fisches (Scymnus borealis) und wahrscheinlich auch einer Roche (Raja batis) als Natriumsalze enthalten sind. Ueber die Darstellung siehe die Originalarbeit S. 324 u. 335.

Das Natriumsalz der α-Säure (in viel grösserer Menge als das der β-Säure vorhanden) ist gewöhnlich amorph, lässt sich aber unter gewissen Bedingungen als feines sandiges Pulver radiär gestreifter Kügelchen erhalten. Es hat sich bisher noch nicht von einer geringen Menge einer stickstoffhaltigen Beimengung trennen lassen, so dass über die Zusammensetzung nichts Bestimmtes zu sagen ist. Es löst sich leicht in Wasser, Aethyl- und Methylalkohol. Völlig trocken zersetzt es sich bei etwa 130°. Seine wässerige Lösung ist farblos, schmeckt bitter süss und wird von Eisenchlorid, Bleiessig und durch das gleiche Volumen 40proc. Kalilauge gefällt. Das Salz gibt die Pettenkofer'sche und die Fluorescenz-Probe (S. 323, 2 u. 3), seine Lösung in 25proc. Salzsäure bei Zimmertemperatur färbt sich innerhalb einiger Minuten prachtvoll indigoblau. Beim Erhitzen mit Säuren und Alkalien zerfällt es in Schwefelsäure und α-Scymnol. Um das

α-Scymnol. α-Scymnol zu isolieren, erhitzt man mit Barytwasser oder 10proc. Kalilauge und kocht den dabei entstehenden Niederschlag mit Wasser aus. Beim Erkalten scheidet sich das α-Scymnol als rein weisse Flöckchen feiner Krystallnadeln ab. Es enthält C 71,79 pCt.; H 10,39 pCt.; O 17,82 pCt. und entspricht wahrscheinlich der Formel $C_{27}H_{46}O_5$. Es ist in kaltem Wasser sehr schwer löslich, etwas leichter in siedendem, in Alkohol, Aether, Aceton leicht löslich, in verdünnten Säuren und Alkalien unlöslich, schmilzt bei 100—101° ohne Zersetzung zu glasiger, durchsichtiger Masse, zersetzt sich erst über 135°. Es gibt die oben angeführten Reactionen der α-Säure, ferner die Liebermann-Burchard'sche Cholesterinreaction (S. 315, 3b), nur mit dem Unterschied, dass die grüne Farbe nicht auftritt, dagegen nicht die Salkowski'sche Cholesterinreaction (S. 315, 3a). Beim Kochen mit Salzsäure wird es in harzähnliche, amorphe Producte verwandelt, die die Pettenkofer'sche Reaction (S. 323, 3) noch geben.

Das Natriumsalz der β-Säure, eine amorphe harzige Masse, bisher noch nicht in reinem Zustand erhalten, ist ebenfalls in Wasser leicht löslich, seine wässerige Lösung schmeckt bittersüss, wird auch durch Eisenchlorid und Bleiessig, nicht aber durch gleiches Volumen 40 proc. Kalilauge gefällt. Es gibt die Pettenkofer'sche Reaction, aber mit 25proc. Salzsäure keine blaue, sondern eine allmählich grün und bräunlichgrün werdende Lösung. Beim Kochen mit Alkalien liefert es Schwefelsäure und

β-Scymnol. β-Scymnol, von dem nur eine Analyse ausgeführt wurde, welche die Formel $C_{29}H_{50}O_5$ ergab. Letzteres ist ein amorpher Körper, der in siedendem Wasser noch schwerer löslich ist als das α-Scymnol, im Uebrigen aber dieselben Lösungsverhältnisse zeigt wie dieses. Es gibt mit Salzsäure dieselbe Reaction wie die β-Säure.

Ausser diesen beiden Säuren ist in sehr geringer Menge noch eine dritte, die γ-Säure, vorhanden, deren Alkalisalz in weissen, zu Ballen vereinigten Nadeln krystallisiert, mit Kupfersulfat, Bleiacetat, Bariumchlorid und mit Essigsäure und Salzsäure Niederschläge gibt, bittersüss schmeckt und die Pettenkofer'sche und Fluorescenz-Reaction (S. 323, 2 u. 3) zeigt. Ob sie Schwefel enthält, ist nicht untersucht.

Aromatische Aetherschwefelsäuren.

Vorkommen. 249. Diese von Baumann[1]) entdeckten sogenannten gepaarten Schwefelsäuren treten im Harn auf, wenn aromatische Hydroxylverbindungen (z. B. Phenole) durch Resorption von der Darmschleimhaut, von der Haut oder vom subcutanen Gewebe aus in das Blut gelangen, oder wenn Stoffe,

1) Pfl. A. **12**. 69. (1876.), **13**. 285. (1876.)
H.-S. **1**. 60. (1878.), **2**. 335. (1879.), **10**. 123. (1886.)
Baumann u. Herter, H.-S. **1**. 244. (1877/78.)

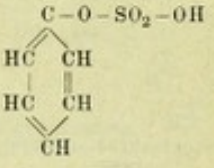
welche im Körper eine Umwandlung zu solchen Hydroxylverbindungen erfahren (z. B. Benzol, Indol, p-Oxybenzoesäure, Tyrosin usw.) eingeführt werden. Bei Fleischfressern und Menschen entstammen unter normalen Verhältnissen die aromatischen Hydroxylverbindungen ausschliesslich der Fäulnis der Eiweissstoffe im Darm, so dass die Menge der gepaarten Schwefelsäuren im Harn mit der Darmfäulnis steigt und fällt. Bei den Pflanzenfressern werden solche Hydroxylverbindungen oder ihre Muttersubstanzen ausserdem noch präformiert mit der Nahrung eingeführt; ihr Harn ist daher normalerweise sehr viel reicher an gepaarten Schwefelsäuren, als der Harn von Menschen oder Fleischfressern. Auch im menschlichen Schweiss finden sich aromatische Aetherschwefelsäuren (Kast[1]).

Die synthetische Darstellung geschieht nach Baumann[2]) durch Einwirkung von pyroschwefelsaurem Kali auf die Hydroxylverbindungen in stark alkalischer Lösung. Darstellung.

Die freien Säuren sind sehr unbeständig. Die Kalisalze krystallisieren und sind in Wasser leicht, in heissem Alkohol schwer, in kaltem absoluten Alkohol gar nicht löslich. Sie zersetzen sich allmählich an feuchter Luft und sehr bald beim Erhitzen mit Wasser über 100°; bei 150—160° gehen viele durch Umlagerung in die Salze der isomeren und beständigeren Sulfosäuren über. In stark alkalischen Lösungen zersetzen sie sich auch beim Kochen wenig oder gar nicht, durch die Fäulnisprocesse werden sie schwierig oder gar nicht angegriffen und kurzes Erhitzen mit verdünnten organischen Säuren zerlegt sie nicht bemerkbar. Durch Kochen mit Mineralsäuren werden sie dagegen schnell unter Wasseraufnahme in die Hydroxylverbindung und saures schwefelsaures Salz zersetzt. Eigenschaften.

Ueber den Nachweis gepaarter Schwefelsäuren im Allgemeinen siehe „Untersuchung des Harns“. Nachweis im Harn.

250. **Phenolschwefelsäure** $C_6H_6SO_4$. Geringe Mengen von phenolschwefelsaurem Kalium finden sich stets im Harne von Pferden, sehr häufig in sehr geringen Mengen auch im Harne von Menschen, Hunden, reichlich im Harne von Menschen und Tieren, denen Phenol auf die Haut oder in Wunden oder in den Darm gebracht ist, auch bei energischer Fäulnis im Darme, besonders nach Einbringung von Tyrosin. Vorkommen.



Für die synthetische Darstellung (Baumann[2]) werden 100 Tl. Phenol und 60 Tl. Kali in 80—90 Tl. Wasser in einem geräumigen Kolben gelöst und in die auf 60—70° abgekühlte Lösung 125 Tl. feingepulvertes Kaliumpyrosulfat allmählich in kleinen Portionen eingetragen. Man digeriert unter häufigem Umschütteln 8—10 Stunden bei 60—70°, fügt etwa $^1/_2$ Liter kochenden 95 proc. Alkohol hinzu, schüttelt gut durch und filtriert heiss (durch Heisswassertrichter) ab. Das sich als Krystallbrei ausscheidende phenolschwefelsaure Kalium wird aus heissem Alkohol umkrystallisiert. Darstellung.

1) H.-S. **11**. 501. (1887.) 2) H.-S. **2**. 335. (1878/79.)

Darstellung aus Harn.

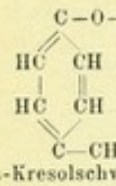
Zur Darstellung aus Harn[1]) verdunstet man 8—10 Liter Harn von Hunden, denen täglich mehrere Gramme Phenol beigebracht sind, zum Syrup, nimmt den Rückstand mit 96 proc. Alkohol auf, versetzt das alkoholische Filtrat kalt mit einer Lösung von Oxalsäure in Alkohol, so lange ein Niederschlag entsteht, filtriert nach 10 Minuten, versetzt das Filtrat mit Kali bis zur schwach alkalischen Reaction, filtriert und lässt den beim Verdunsten erhaltenen Syrup recht kalt, am Besten unter 0°, stehen. Die sich abscheidende blättrige Krystallmasse wird abgesaugt und aus kochendem Alkohol umkrystallisiert.

Eigenschaften.

Das Kalisalz krystallisiert aus starkem Alkohol in Blättchen, aus verdünntem in grossen, rhombischen Tafeln ähnlich dem Cholesterin. Weitere Eigenschaften siehe § 249. Nachweis siehe § 252.

Vorkommen.

251. **Kresolschwefelsäuren** $C_7H_8SO_4$ finden sich im Harn von Menschen, Pferden und wahrscheinlich vielen anderen Säugetieren u. z. in reichlicherer Menge als die Phenolschwefelsäure. Hauptsächlich kommt die p-Verbindung vor, daneben wenig der o- und vielleicht auch der m-Verbindung (Preusse[2]).



p-Kresolschwefelsäure.

Darstellung

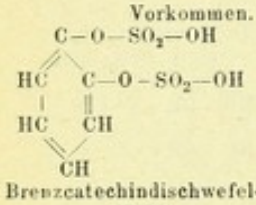
Die synthetische und die Darstellung aus dem Harn geschieht in der im vorigen Paragraphen beschriebenen Weise. Bisweilen ist der Pferdeharn so reich an kresolschwefelsaurem Kalium, dass dasselbe nach Eindampfen des Harns zum Syrup beim Stehen des letzteren in der Kälte auskrystallisiert. Diese Krystallisation tritt leichter ein, wenn der zum Syrup verdunstete Harn mit Alkohol aufgenommen, der Alkoholauszug zum dünnen Syrup verdunstet und einer Temperatur von unter 0° mehrere Tage lang ausgesetzt wird.

Eigenschaften.

Das Kalisalz krystallisiert wie das phenolschwefelsaure Kali. Weitere Eigenschaften siehe § 249. Nachweis siehe § 252.

Vorkommen.

252. **Brenzcatechinschwefelsäure** findet sich stets im Pferdeharn, häufig auch im Menschenharn, fehlt aber bei reiner Fleischnahrung. Nach Einführung von Phenol erscheint sie reichlicher, neben wenig Hydrochinonschwefelsäure. Eine Isolierung aus dem Harn ist noch nicht gelungen.



Brenzcatechindischwefelsäure.

Darstellung und Eigenschaften.

Synthetisch ist brenzcatechinmono- und brenzcatechindischwefelsaures Kali dargestellt (Baumann a. a. O.). Ersteres krystallisiert in fettigen, rhombischen Blättchen ähnlich den Kalisalzen der Phenol- und Kresolschwefelsäure, letzteres bildet ein in Alkohol unlösliches Krystallpulver. Die wässerige Lösung des ersteren färbt sich mit Eisenchlorid violett, die des letzteren gibt keine bestimmte Färbung.

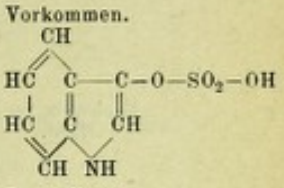
Nachweis der Phenol-, Kresol- u. Brenzcatechinschwefelsäure im Harn.

Zum Nachweis der in den §§ 250—252 behandelten Aetherschwefelsäuren dampft man den Harn auf ein kleineres Volumen ein und schüttelt mit Aether aus, um in freiem Zustand vorhandene Phenole zu entfernen. Man versetzt jetzt den Harn mit starker Salzsäure, destilliert bis der dritte Teil

1) H.-S. **2**. 335. (1878/79.) 2) H.-S. **2**. 355. (1878/79.)

der Flüssigkeit übergegangen ist, schüttelt den Rückstand nach dem Erkalten mit Aether aus und untersucht das Destillat nach § 191 auf Phenol und Kresol, den Aetherauszug nach § 192 auf Brenzcatechin.

253. **Indoxylschwefelsäure (Harnindican)** $C_8H_7NSO_4$ findet sich stets im Harn der Menschen und der Fleischfresser, reichlich im Pferdeharn, ebenfalls reichlich im Hundeharn nach Eingabe von Indol oder o-Nitrophenylpropiolsäure. Vorkommen.



Die Synthese geschieht durch Einwirkung von Kaliumpyrosulfat auf eine Lösung von Indoxyl in Kalilauge (Baeyer[1]). Darstellung.

Zur Darstellung aus dem Harn benutzt man die von G. Hoppe-Seyler[2]) angegebene Modifikation eines Verfahrens von Baumann und Brieger[3]). Der indicanreiche (am Besten nach Eingabe von Indol oder o-Nitrophenylpropiolsäure gesammelte) Hundeharn wird zum dünnen Syrup abgedampft und mit Alkohol versetzt, so lange der entstehende Niederschlag sich noch vermehrt. Die abfiltrierte alkoholische Lösung versetzt man mit dem gleichen Volumen Aether von 0,722 spec. Gew., fällt die nach 24 Stunden abgegossene klare Flüssigkeit mit conc. alkoholischer Oxalsäurelösung, so lange ein Niederschlag entsteht, filtriert schnell und fügt conc. Lösung von Kaliumcarbonat bis zur schwach alkalischen Reaction hinzu. Nach nochmaliger Filtration wird der Aether von der Lösung abdestilliert, der Rest zum dicklichen Syrup eingedampft, mit der 15—20 fachen Menge abs. Alkohols in der Kälte aufgenommen und in einem verschlossenen Gefässe einen Tag stehen gelassen. Alsdann filtriert man den Niederschlag ab, kocht mit Alkohol aus und lässt die Lösung zur Krystallisation stehen. Die Mutterlauge wird mit Aether gefällt, von den zuerst ausfallenden Schmieren schnell abgegossen und in der Kälte längere Zeit stehen gelassen. Es scheiden sich dann ebenso wie aus dem alkoholischen Auszuge des Niederschlags bald Blättchen von indoxylschwefelsaurem Kali aus, die durch Umkrystallisieren aus heissem Alkohol weiter zu reinigen sind. Darstellung aus Harn.

Die Krystalle des indoxylschwefelsauren Kalis gleichen denen des phenol- und kresolschwefelsauren Kalis. Trocken im Reagensglase rasch bis zum schwachen Glühen erhitzt entwickeln sie purpurrote Dämpfe von Indigblau. Beim Erwärmen ihrer wässerigen Lösung mit verdünnter Salzsäure scheidet sich das abgespaltene Indoxyl in öligen Streifen und Tropfen ab und gleichzeitig tritt ein eigentümlicher von dem des Indols und Skatols verschiedener fäkalartiger Geruch auf. Die öligen Streifen und Tropfen sowie der Geruch verschwinden bald und es entsteht ein brauner Niederschlag, welcher einen roten Farbstoff und Indigblau enthält. Wird die Spaltung mit Salzsäure bei Gegenwart von gelinde oxydierenden Substanzen, am Besten etwas Eigenschaften.

1) B. **14**. 1744. (1881.)
Thesen, H.-S. **23**. 23. (1896/97.)
2) H.-S. **7**. 423. (1882/83.) 3) H.-S. **3**. 254. (1879.)

Eisenchlorid, ausgeführt, so entsteht Indigblau. Auf Zusatz von conc. Salzsäure und Eisenchlorid zu einer Lösung des Kalisalzes entsteht schon in der Kälte erst grüne, dann blaue Färbung und weiter, schneller beim Erwärmen auf 60—70°, Ausscheidung von Indigblau, dem Spuren des roten Farbstoffs beigemischt sind.

Nachweis im Harn.

Ueber den Nachweis der Indoxylschwefelsäure im Harn siehe „Untersuchung des Harns".

254. **Skatoxylschwefelsäure $C_9H_9NSO_4$.** Ihr Vorkommen im normalen Harn ist nicht erwiesen. Otto[1]) erhielt sie aus dem Harn eines Diabetikers. Ob sie im Harn von Hunden und Kaninchen nach Eingabe von Skatol erscheint, ist zweifelhaft, jedenfalls nur in geringer Menge (Brieger[2]).

Der Versuch, sie synthetisch darzustellen, ergab nur sehr geringe Ausbeute. Die Darstellung aus Harn geschieht nach dem im vorigen Paragraphen beschriebenen Verfahren. Das Kalisalz entwickelte trocken erhitzt rote Dämpfe, seine wässerige Lösung gab mit conc. Salzsäure einen roten Farbstoff (siehe S. 382 unten).

Gepaarte Glukuronsäuren.

1. Verbindungen der Glukuronsäure mit Phenolen und Alkoholen.

Vorkommen.

255. Eine ganze Reihe Stoffe der aromatischen und der Fettreihe gehen in den Körper eingeführt entweder direct, sofern sie eine Hydroxylgruppe enthalten oder nach erfolgter Hydroxylierung oder Umwandlung in Alkohol eine Verbindung mit Kohlehydrat ein und erscheinen im Harn, nach Bial[3]) auch in der Galle, als sogenannte gepaarte Glukuronsäuren. Die verschiedenen Tierarten und der Mensch verhalten sich in Bezug auf die Fähigkeit, diese Synthese einzugehen, den einzelnen Stoffen gegenüber vielfach verschieden. Nach den Untersuchungen von P. Mayer und Neuberg[4]) finden sich auch im normalen Menschenharn kleine Mengen gepaarter Glukuronsäuren u. z. Phenol- und Indoxyl- bezw. Skatoxylglukuronsäure, nach P. Mayer[5]) auch im Blute.

Von gepaarten Glukuronsäuren sind in krystallisiertem Zustand isoliert die Urochloralsäure[6]) (nach Eingabe von Chloralhydrat), die Camphoglukuronsäure[7]) (nach Eingabe von Campher), die Euxanthinsäure (nach Eingabe von Euxanthon), die Phenolglukuronsäure[8]) und die Thymolglukuronsäure[9]), welche nach Eingabe von Phenol bezw. Thymol neben den entsprechenden gepaarten Schwefelsäuren auftreten, und viele andere*).

*) Eine Zusammenstellung findet sich bei Neuberg, Ergebnisse der Physiol. **3**. 1. 435. (1904.)

1) Pfl. A. **33**. 607. (1884.)
2) H.-S. **4**. 414. (1880.) Mester, H.-S. **12**. 130. (1888.) Grosser, H.-S. **44**. 328. (1905.)
3) C. f. Ph. **21**. 751. (1908.)
4) H.-S. **29**. 256. (1900.)
5) H.-S. **32**. 518. (1901.)
6) v. Mering, H.-S. **6**. 480. (1882.)
7) Schmiedeberg u. Meyer, H.-S. **3**. 422. (1879.)
8) Külz, Z. f. B. **27**. 247. (1890.)
9) Külz, a. a. O., Blum, H.-S. **16**. 514. (1892.)

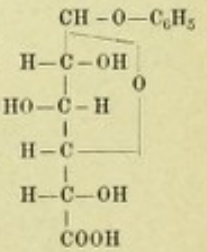
Ueber die synthetische Darstellung von Phenolglukuronsäure und Euxanthinsäure siehe am Schluss dieses Paragraphen. Darstellung.

Die Darstellung aus dem Harne gründet sich auf die Löslichkeit dieser Verbindungen in einer Mischung von Aether-Alkohol oder auch auf ihre Fällbarkeit durch basisches Bleiacetat, doch gilt weder die eine noch die andere Trennungsmethode in allen Fällen. Darstellung aus Harn.

Die gepaarten Glukuronsäuren drehen links und werden bei der Behandlung mit verdünnten Säuren meist erst in der Wärme unter Wasseraufnahme in Glukuronsäure und einen Paarling, der in allen Fällen eine Hydroxylverbindung ist, gespalten. Dieselbe Spaltung erfahren sie (wenigstens Phenolglukuronsäure und Euxanthinsäure) langsam durch Emulsin und Kefirlactase (Neuberg und Neimann[1]). Manche reducieren Fehling'sche Lösung direct beim Erwärmen, die meisten erst nach vorausgegangener Spaltung. Die Alkalisalze krystallisieren im Allgemeinen, besonders gut die Alkaloidsalze. Sie geben ebenso wie die Glukuronsäure die Phloroglucin- und wohl, wenn auch weniger prompt und erst nach längerem Kochen, die Orcinsalzsäurereaction (S. 127) und die Reaction von Tollens (S. 133). Letztere Reaction gestattet eine Unterscheidung von den Pentosen. Eigenschaften.

Zum Nachweis dienen die Linksdrehung der die Verbindung enthaltenden Lösung, welche nach dem Kochen mit Säuren abnimmt oder in eine Rechtsdrehung übergeht, das meist erst nach dem Kochen mit Säure auftretende Reductionsvermögen und die genannten Reactionen, ferner ein von P. Mayer und Neuberg angegebenes Verfahren. Man spaltet die auf die eine oder andere Weise, z. B. durch Fällung mit Bleiessig isolierte, noch ganz unreine gepaarte Säure durch Kochen mit einer Mineralsäure, neutralisiert mit Soda, fügt p-Bromphenylhydrazinchlorhydrat und die erforderliche Menge Natriumacetat hinzu und prüft die beim Erwärmen entstandene und aus der heiss filtrierten Flüssigkeit abgeschiedene Hydrazinverbindung auf ihr Drehungsvermögen, indem man 0,2 g des Rohproducts in einer Mischung von 4 ccm reinem Pyridin und 6 ccm absoluten Alkohol löst und in 10 cm langer Röhre bei Natriumlicht polarisiert. Die p-Bromphenylhydrazinverbindung der Glukuronsäure dreht unter diesen Verhältnissen — 7° 25′ d. h. ausserordentlich viel stärker, als irgend eine andere in Frage kommende. Die genauen Angaben über dieses Verfahren, mit Hülfe dessen auch der Nachweis der gepaarten Glukuronsäuren im normalen menschlichen Harn (50 Liter) gelang, siehe bei P. Mayer und Neuberg. Nachweis.

Phenolglukuronsäure $C_{12}H_{14}O_7$ wurde von Neuberg u. Neimann[1]) durch Einwirkung von Phenolkalium auf Diacetylbromglukuronsäure in alkoholischer Lösung synthetisch erhalten und ist mit der aus Harn (nach Phenoleingabe) gewonnenen identisch (Salkowski u. Neuberg[2]). Sie krystallisiert aus heissem



1) H.-S. **44**. 114. (1905.) 2) B. Z. **2**. 307. (1907.)

Wasser in langen farblosen Nadeln. Schmelzpunkt der synthetischen 150—151°, der natürlichen 1—2° niedriger. $[\alpha]_D = -83{,}3°$ (synthetisch), und $-81{,}9°$ (natürlich). Beide werden durch Emulsin gespalten.

Euxanthinsäure wurde ebenfalls von Neuberg u. Neimann synthetisch erhalten.

2. Verbindungen der Glukuronsäure mit Säuren.

256. Es sind bis jetzt zwei bekannt und zwar die Dimethylaminobenzoeglukuronsäure $C_{51}H_{19}NO_8$ (Jaffe[1]), welche nach Eingabe von p-Dimethylaminobenzaldehyd im Kaninchenharn, und die Benzoesäureglukuronäure $C_{13}H_{14}O_8$ (Magnus-Levy[2]), welche nach Eingabe von Benzoesäure im Hammelharn auftritt. Beide reducieren direkt die Fehling'sche Lösung und geben die Orcinsalzsäurereaction (S. 127). Die letztere dreht rechts, die erstere jedenfalls nicht links.

Chondroitinschwefelsäure $C_{18}H_{27}NSO_{17}$.

Vorkommen. $C_{18}H_{26}NO_{13}-O-SO_2-OH$

257. Sie wurde zuerst von C. Th. Mörner[3]) im Knorpel aufgefunden, in ihren Reactionen genau beschrieben und als Aetherschwefelsäure erkannt, von Schmiedeberg[4]) weiter eingehend untersucht. Sie findet sich in allen Knorpeln, auch in Enchondromen (Mörner[5]), in Skelettknochen von Rochen und Haifisch (Lönnberg[6]), in denjenigen normalen Geweben, die reichliche Menge elastischer Elemente enthalten z. B. Lig. nuchae vom Rind (Krawkow[7]), in der inneren Schicht der grossen Arterien (Mörner[5]), in geringer Menge auch in der Grundsubstanz der Knochen von Säugetieren und Fischen (Mörner[8]), Krawkow), sowie im menschlichen Harn und in Rindernieren (K. Mörner[9]), ferner in allen amyloidentarteten Organen (Oddi[10]), Krawkow). Sie wurde auch in einem Fibrom nachgewiesen (Krawkow). Im Knorpel findet sie sich in Form löslicher und unlöslicher Verbindungen mit Leim und Eiweiss (z. B. als Chondromukoid) und auch in präformiertem Zustand. So ist sie oder eine ähnliche Säure auch im Tendo-, Osseo- und Ligamentomukoid enthalten (Posner u. Gies[11]). Ebenso soll das Amyloid eine Verbindung dieser Säure mit Eiweiss darstellen.

Darstellung.

Zur Darstellung nach Schmiedeberg wird das bei der Verdauung der zerkleinerten Nasenscheidewandknorpel vom Schwein mit Pepsinsalzsäure unlöslich Zurückbleibende mit 2—3 proc. Salzsäure behandelt, die trübe

1) H.-S. **43**. 374. (1904/05.)
2) B. Z. **6**. 502. (1907.)
3) Skand. A. Ph. **1**. 210. (1889.)
4) A. exp. P. u. Ph. **28**. 355. (1891.)
5) H.-S. **20**. 357. (1895.)
6) Upsala Läkareförenings förh. **24**. 495. (Maly's Jbr. 1889. S. 325) u. **25**. 249.
7) A. exp. P. u. Ph. **40**. 195. (1898.)
8) H.-S. **23**. 311. (1897.)
9) Skand. A. Ph. **6**. 332. (1895.)
10) A. exp. P. u. Ph. **33**. 376. (1894.)
11) A. J. of Ph. **11**. 330. (1904.)

salzsaure Flüssigkeit mit etwa $^1/_4$ Vol. Alkohol versetzt, die aus dem klaren Filtrat durch mehr Alkohol und Aether gefällte Masse (das sog. Peptochondrin) mit Alkohol, schliesslich mit Wasser zur Entfernung der Salzsäure durchgeknetet, in Alkali gelöst und die Lösung abwechselnd mit Kupferacetat und Kali, dann mit Alkohol versetzt. Es entsteht ein blauer Niederschlag von chondroitinschwefelsaurem Kupferoxydkali, während der grösste Teil der Kupferoxydalbuminate in Lösung bleibt. Ueber die Einzelheiten der Darstellung und die weitere Reinigung siehe die Originalarbeit. Eine etwas einfachere Methode der Darstellung siehe bei Oddi.

Eigenschaften.

Das Kupfersalz ist ein in Wasser leicht lösliches, blaugrünes Pulver, dem Kalisalz ist immer etwas Chondroitin beigemengt. Die freie Säure ist wegen ihrer leichten Zersetzlichkeit nicht darstellbar. Weder sie noch ihre Salze vermögen zu diffundieren, auch nicht durch Schilfmembranen (Pons[1]). Ihre wässerigen Lösungen werden durch bas. Bleiacetat, Zinnchlorür, Quecksilberoxydulnitrat gefällt, durch die meisten übrigen Metallsalze, Mineralsäuren, Essigsäure, Pikrinsäure, Gerbsäure nicht gefällt. Lösungen, welche chondroitinschwefelsaures Kali und Eiweiss oder Leim enthalten, werden gefällt 1. durch Essigsäure (Fällung im Ueberschuss der Säure unlöslich), 2. durch Mineralsäuren (Fällung im Ueberschuss löslich), 3. ausser durch die oben genannten Salze auch durch Kupfersulfat, Bleiacetat, Eisenchlorid, Alaun. Mit Kupferoxyd und Natronlauge bildet Chondroitinschwefelsäure eine rein blaue Lösung. Kocht man Chondroitinschwefelsäure mit Salzsäure, so reduciert die Lösung und gibt mit Chlorbarium einen Niederschlag von Bariumsulfat. Sie gibt nicht die Orcinsalzsäurereaction*) (S. 127) und bei der Destillation mit Salzsäure kein Furfurol, dagegen die p-Dimethylaminobenzaldehydreaction von Ehrlich. Auch das Chondroitin (siehe unten) gibt diese Reaction, nicht aber das Chondrosin (siehe unten) (Orgler u. Neuberg[2]).

Spaltung.

Nach Schmiedeberg zerfällt sie bei Gegenwart von Salzsäure schon in der Kälte allmählich in Schwefelsäure und Chondroitin $C_{18}H_{27}NO_{14}$ (eine einbasische Säure, weiss, amorph, bröckelig, beim Verdunsten ihrer wässerigen Lösung eine dem arabischen Gummi ähnliche, glasige Masse bildend, nicht reducierend) und das Chondroitin weiter beim Erhitzen mit Salzsäure in Essigsäure und Chondrosin nach der Gleichung $C_{18}H_{27}NO_{14} + 3H_2O = 3C_2H_4O_2 + C_{12}H_{21}NO_{11}$. Beim Kochen einer Lösung mit dem gleichen Vol. conc. Salzsäure ist nach 1 Stunde das Maximum der Schwefelsäureabspaltung erreicht (Pons). Das Chondrosin ist eine Säure, die sich mit Säuren und Basen zu verbinden vermag, gummiartig, Fehling'sche Lösung reducierend und rechtsdrehend. Für das Sulfat (3—4 proc. Lösung),

Chondroitin.

Chondrosin.

*) Nach Fränkel[3]) tritt diese Reaction nach vorausgegangenem Kochen mit 25proc. Schwefelsäure ein. Das Präparat war nach Oddi dargestellt.

1) B. Ph. P. **9**. 393. (1907.)
2) H.-S. **37**. 416 u. 424. (1902/03.)
3) A. **351**. 344. (1907.)

auf freies Chondrosin berechnet, beträgt $[\alpha]_D = + 42{,}0^0$. In Bezug auf die Einzelheiten der Darstellung aller dieser Spaltungsproducte muss auf die Arbeit von Schmiedeberg verwiesen werden. Die Ansicht von Schmiedeberg, dass das Chondrosin eine anhydrische Verbindung von Glukosamin und Glukuronsäure darstelle, hat sich nach Orgler und Neuberg[1]) als nicht zutreffend erwiesen. Nach diesen entsteht bei der Spaltung des Chondrosin mit gesättigtem Barytwasser (48 Stunden bei 40°) neben noch nicht isoliertem Kohlehydrat Tetraoxyaminocapronsäure (§ 182). Ueber andere Spaltungsproducte der Chondroitinschwefelsäure siehe Fränkel[2]).

Nachweis. Zum Nachweis der Chondroitinschwefelsäure verfährt man nach C. Th. Mörner[3]) folgendermassen. Das fein zerkleinerte Material wird bei Zimmertemperatur mit 2 Tl. 2 proc. Kalilauge digeriert. Nach 2 Tagen verdünnt man mit 3 Tl. Wasser, filtriert durch Leinwand, macht das Filtrat mit Essigsäure deutlich sauer, fügt sofort überschüssiges Bariumcarbonat hinzu, kocht auf, filtriert und dampft nach Hinzufügen von etwas Bariumcarbonat auf dem Wasserbad bis zur Trockne. Der Rückstand wird einige Minuten mit Wasser gekocht, das Filtrat mit Alkohol gefällt, der Niederschlag mit kochendem Alkohol ausgewaschen, in Wasser gelöst und die wässerige Lösung geprüft, ob sie auf Zusatz von Leimlösung und Essigsäure einen Niederschlag gibt und ob sie nach dem Kochen mit Salzsäure reduciert und freie Schwefelsäure enthält.

258. **Glukothionsäuren** nennt Levene der Chondroitinschwefelsäure ähnliche noch näher zu untersuchende Substanzen, die er aus Tendomukoid[4]), verschiedenen Geweben[5]) und Leukocyten[6]) gewonnen.

Sie sind in Wasser, verdünnten Säuren, Alkalien löslich, in Eisessig unlöslich. Sie geben weder die Biuret- noch die anderen Farbenreactionen der Proteine. Orcinsalzsäurereaction (S. 127) sehr schön violett, bei der Destillation mit Salzsäure geht Furfurol in das Destillat. Die Chondroitinschwefelsäure gibt diese beiden Reactionen nicht. Beim Kochen mit Salzsäure wird reducierende Substanz und Schwefelsäure abgespalten.

Protagon.

Vorkommen u. Zusammensetzung. 259. Unter diesem Namen beschreibt Liebreich[7]) einen leicht zersetzlichen, compliciert zusammengesetzten krystallisierten Körper, den er aus dem Gehirn isolierte. Es findet sich nur in den markhaltigen Nervenfasern. Die Zusammensetzung ist nach Liebreich C 66,74; H 11,74; N 2,80; P 1,23; O 17,49 pCt. Die späteren Analysen von Gamgee

1) H.-S. **37**. 407. (1902/03.)
2) A. **351**. 344. (1907.)
3) H.-S. **20**. 358. (1895.)
4) H.-S. **31**. 395. (1900/01), **39**. 1. (1903.)
5) H.-S. **37**. 400. (1902/03), **45**. 386. (1905.), **47**. 151. (1906.)
6) B. Z. **4**. 78. (1907.)
7) A. **134**. 29. (1865.)

und Blankenhorn[1]) ergaben für denselben Körper C 66,39; H 10,69; N 2,39; P 1,06 pCt. Es enthält nach Kossel[2]) auch Schwefel u. z. 0,5 bis 0,8 pCt. Sehr ähnliche Werte wurden von Baumstark[3]), Kossel, Lesem und Gies[4]), Cramer[5]) u. a. erhalten. Thudichum[6]) ist sehr energisch gegen die Auffassung des Protagon als einheitliche Substanz aufgetreten. Auch Kossel fand, dass Präparate, welche nach einer etwas abweichenden Methode dargestellt waren, abweichende Werte zeigten und Wörner und Thierfelder[7]) stellten eine wechselnde Zusammensetzung der Präparate fest, so dass sie das Protagon ebenfalls nicht als einheitlichen Körper betrachten. Ich halte an dieser Auffassung, auch nach den letzten Veröffentlichungen von Cramer[8]) und Mitarbeitern, fest in Uebereinstimmung mit Thudichum, Gies[9]) und seinen Mitarbeitern, welche über diese Frage besonders eingehende Untersuchungen angestellt haben, Rosenheim und Tebb[10]) u. a.

Weiteres Vorkommen.

Protagonartige Stoffe wurden auch aus Leukocyten (Lilienfeld[11]), Sputum (Ad. Schmidt[12]) und Fr. Müller[13]), Nebennieren (Orgler[14]), Nieren (Dunham[15]), roten Blutkörperchen (Pascucci[16]), Bang und Forssman[17]) gewonnen.

Darstellung.

Zur Darstellung nach Gamgee und Blankenhorn wird möglichst vollständig von Blut und Häuten befreites, ganz frisches Gehirn 12 bis 18 Stunden bei 45° mit 85 proc. Alkohol digeriert, heiss filtriert und die ungelöste Substanz mit neuer Menge Alkohol behandelt. Das Verfahren wird so lange (4—5 mal oder öfter) wiederholt (jedesmal mehrere Stunden), als sich beim Abkühlen des Filtrates auf 0° noch ein gelblich weisser flockiger Niederschlag abscheidet. Die abfiltrierten Niederschläge werden durch Schütteln in einer Flasche mit Aether von Cholesterin und anderen ätherlöslichen Stoffen befreit und im Exsiccator getrocknet. Der so erhaltene schneeweisse Körper wird pulverisiert, mit etwas Wasser angefeuchtet, in

1) H.-S. **3**. 260. (1879.)
2) A. f. A. u. Ph. Ph. A. 1891. 359. Kossel u. Freytag, H.-S. **17** 431. (1893.)
3) H.-S. **9**. 145. (1885.)
4) A. J. of Ph. **8**. 183. (1902.)
5) J. of Ph. **31**. 31. (1904.)
6) Chemische Constitution des Gehirns. Tübingen 1901.
7) H.-S. **30**. 542. (1900.)
8) Lochhead and Cramer. B. Ch. J. **2**. 350. (1907.) Wilson and Cramer, J. of exp. Ph. **1**. 97. (1908.)
9) a. a. O. Posner and Gies, J. B. Ch. **1**. 59. (1905.) Gies, J. B. Ch. **3**. 339. (1907.)
10) J. of Ph. **36**. 1. (1907.) Proc. of the Physiol. Soc. J. of Ph. **37**. (1908.)
11) H.-S. **18**. 475. (1894.)
12) B. k. W. 1898. S. 73.
13) B. k. W. 1898. S. 75.
14) Salkowski-Festschrift. Berlin. Hirschwald. 1904. S. 285.
15) Ref. B. C. **4**. 89. (1905/06.)
16) B. Ph. P. **6**. 543. (1905.)
17) B. Ph. P. **8**. 249. (1906.)

Alkohol suspendiert und langsam auf 45° erhitzt. Beim Erkalten scheidet sich Protagon ab, welches abfiltriert, mit Aether gewaschen und getrocknet, nochmals in derselben Weise umkrystallisiert werden kann.

Eigenschaften. Es bildet bei der langsamen Abscheidung aus alkoholischer Lösung mikroskopische Nadeln, welche sich rosettenförmig zusammenlagern und bei der Ausscheidung aus ganz conc. Lösung gekrümmte Form zeigen. Die Krystallgruppen haben oft das Ansehen von scharf contourierten, radial gestreiften Knollen mit höckerigen oder gezackten Rändern. Zerrieben und über Schwefelsäure getrocknet bildet es ein weisses, nicht hygroskopisches Pulver. Es löst sich schwer in kaltem Alkohol, leicht in warmem Alkohol und warmem Aether. Mit Wasser quillt es gelatinös und bildet schliesslich eine opalescierende Lösung Nach Levene[1]) gibt es die Orcinsalzsäurereaction (S. 127). Es zeigt schwache Rechtsdrehung (Wilson und Cramer, Rosenheim und Tebb).

Spaltung. Beim Kochen mit Barytwasser entstehen die Zersetzungsproducte des Lecithins und Cerebroside (§ 261).

260. **Paranucleoprotagon.** Mit diesem Namen bezeichnen Ulpiani u. Lelli[2]) einen Stoff, welchen sie erhielten, indem sie einen Chloroformauszug des Gehirns mit Essigaether fällten und den abfiltrierten Niederschlag mit Aether und mit Chloroform erschöpften. Diese Verbindung, in der die Gesammtmenge des Protagons enthalten sein soll, wird durch 85proc. Alkohol bei 45° in Protagon und Paranuclein gespalten. Bei einer Nachprüfung erhielten Steel u. Gies[3]) zwar auch, wenn auch in kleiner Menge, einen Stoff, welcher durch Alkohol in protagonartige Stoffe und ein Protein gespalten werden konnte. In vielen Punkten konnten sie aber die Angaben von U. u. L. nicht bestätigen, so dass weitere Untersuchung nötig ist.

Cerebroside.

Vorkommen. 261. Mit diesem Namen bezeichnet Thudichum[4]) in der Nervensubstanz vorgebildete stickstoffhaltige phosphorfreie Substanzen, welche bei der hydrolytischen Spaltung Galactose liefern. Er selbst hat zwei Cerebroside, Phrenosin und Kerasin, beschrieben, in betreff deren Darstellung auf die Originalarbeit verwiesen werden muss. Die Cerebroside finden sich hauptsächlich oder vielleicht ausschliesslich in der weissen Substanz.

Phrenosin. Es wurde nicht ganz rein erhalten. Die aus den Spaltungsproducten berechnete Zusammensetzung verlangt C 69,00; H 11,08; N 1,96 pCt., während die aus der Analyse sich ergebenden Mittelwerte C 67,96; H 11,43; N 1,997 pCt. sind.

Es ist in kaltem Alkohol und in Aether unlöslich und scheidet sich aus heissem Alkohol als weisse krystallinische Masse ab, u. z. bilden sich beim Abkühlen einer absolut alkoholischen Lösung auf der Oberfläche zahllose Punkte, welche sich zu Körnern, dann Rosetten vergrössern und nach

1) H.-S. **53**. 499. (1907.)
2) Gaz. chim. **32**. 1: 466. (1902.)
3) A. J. of Ph. **20**. 378. (1907.)
4) Die chemische Constitution des Gehirns. Tübingen. Pietzcker. 1901.

und nach untersinken. Eine bestimmte Krystallform konnte nicht festgestellt werden. Es quillt nicht mit Wasser. Die Pettenkofer'sche Reaction (S. 323, 3) fällt positiv aus; sie tritt, allerdings langsamer, auch ohne Zuckerzusatz auf.

Bei der vollständigen Spaltung durch Kochen mit verdünnter Schwefelsäure entsteht Galactose, Neurostearinsäure $C_{18}H_{36}O_2$ und eine Base Sphingosin $C_{17}H_{35}NO_2$ u. z. aus einem Molekül Phenosin je ein Molekül unter Aufnahme von 2 Mol. Wasser. Das Sphingosin hat Thudichum einer eingehenden Untersuchung unterworten. Siehe darüber im Original.

Kerasin, von ähnlicher Zusammensetzung wie das Phrenosin, ist leicht löslich in heissem Alkohol und beinahe unlöslich in kaltem. Aus warmem Weingeist scheidet es sich nur langsam ab u. z. in feinen langen Nadeln, welche eine gelatinöse Masse bilden. Der Pettenkofer'schen Reaction gegenüber verhält es sich wie Phrenosin. Bei der hydrolytischen Spaltung entstehen Galactose, eine Fettsäure und eine Base, welche wahrscheinlich Sphingosin ist.

Cerebron*) nannten E. Wörner und Thierfelder[1]) eine von ihnen aus dem Protagon isolierte Substanz C 69,19; H 11,35; N 1,76 pCt.

Zur Darstellung löst man 100 Tl. Protagon (§ 259) in 500 Tl. 75 pCt. Chloroform enthaltendem Methylalkohol unter ganz gelindem Erwärmen. Beim Stehen in verschlossenem Kolben scheidet sich bis zum nächsten Tage an der Oberfläche eine harte weisse Kruste ab. Man filtriert, kühlt das Filtrat ab und krystallisiert die dabei ausfallende und abfiltrierte Masse noch einige Male aus demselben Lösungsmittel um, bis die Abscheidung wieder in Form einer harten weissen Kruste an der Oberfläche der klaren Flüssigkeit erfolgt. Aus den im Vacuum zur Trockne eingeengten Mutterlaugen lassen sich durch Umkrystallisieren aus demselben Lösungsmittel noch weitere Mengen der gleichen charakteristischen Abscheidung erhalten. Die vereinigten Massen werden in der 25—30 fachen Menge 20 pCt. Chloroform enthaltendem Methylalkohol heiss gelöst. Die beim Erkalten Darstellung.

*) Eine mit dem Cerebron offenbar identische Substanz wurde schon früher von Gamgee aus dem Gehirn isoliert und Pseudocerebrin benannt (siehe darüber H.-S. **43**. 21). Das Cerebron zeigt grosse Aehnlichkeit mit dem Phrenosin und Vieles spricht dafür, dass in ihm nur ein reineres Phrenosin vorliegt. Besonders Gies[2]) ist dafür eingetreten, dass es als Phrenosin bezeichnet wird. Ich werde den Namen Cerebron fallen lassen, sobald weitere vergleichende Untersuchungen, mit denen ich beschäftigt bin, mich von der Identität überzeugt haben. Einstweilen sind eine Reihe von Angaben Thudichum's über das Phrenosin nicht vereinbar mit den von mir am Cerebron gemachten Beobachtungen.

1) H.-S. **30**. 542. (1900.)
Thierfelder, H.-S. **43**. 21. (1904/05.), **44**. 366. (1905.)
Kitagawa u. Thierfelder, H.-S. **49**. 286. (1906.)

2) Posner and Gies, J. B. Ch. **1**. 59. (1905/06.)
Gies, J. B. Ch. **2**. 159. (1906/07.)

sich bildenden Abscheidungen werden zur Entfernung von phosphorhaltigen Beimengungen wiederholt bei etwa 40—50° mit 10 pCt. Chloroform enthaltendem Methylalkohol extrahiert und darauf in demselben Lösungsmittel heiss gelöst. Wenn die beim Erkalten sich abscheidende Masse noch phosphorhaltig ist, so muss die Extraction mit 10 pCt. Chloroform enthaltendem Methylalkohol bei 40—50° wiederholt werden.

Eigenschaften. Weisse, in Wasser nicht quellende Substanz, in Aether unlöslich, in Alkohol, leichter in chloroform- oder benzolhaltigem Alkohol, in der Wärme löslich, beim Erkalten wieder ausfallend u. z. meist nicht krystallinisch, sondern in einheitlichen knolligen Gebilden. Aus heissem 20 pCt. Chloroform enthaltenden Aceton scheidet es sich in concentrisch zusammengestellten Nädelchen oder Blättchen ab. Gelegentlich fällt es auch aus 10 pCt. Chloroform enthaltendem Methylalkohol fast seiner ganzen Menge nach in Form glitzernder Krystallblättchen aus, welche nach dem Trocknen im Vacuum eine zusammenhängende verfilzte silberweiss glänzende und glitzernde Masse von elastischer Beschaffenheit darstellen. In 85 proc. Alkohol suspendiert und einer Temperatur von 50° ausgesetzt, backt die amorphe Masse zusammen und allmählich wachsen aus den Knollen nadel- und blättchenförmige Krystalle (unvollkommen ausgebildete sechsseitige Tafeln mit ganz scharfen Begrenzungslinien) hervor. Smp. wurde zu 212° gefunden, manche Präparate schmolzen schon etwas über 200°. Es addiert Brom.

Optische Eigenschaften. Eine 5 proc. Lösung in 75 pCt. Chloroform enthaltendem Methylalkohol zeigte $[\alpha]_D = +7{,}6°$, (Schwankungen von 6,3—8,03°).

Beim Kochen mit Schwefelsäure wurde Galactose, Cerebronsäure (S. 80) und Sphingosin erhalten.

Die Untersuchung des Cerebron und seiner Spaltungsproducte ist noch nicht abgeschlossen.

Cerebrin, Homocerebrin. Diese beiden Cerebroside, welche dem Phrenosin und Kerasin sehr ähnlich und vielleicht mit ihnen identisch sind, wurden von Parkus[1]) und von Kossel und Freytag[2]) aus dem Gehirn oder dem Protagon nach vorausgegangener Verseifung isoliert.

Darstellung. Parkus kocht frische Gehirnmasse mit Barytwasser auf und extrahiert den abfiltrierten, ausgewaschenen und getrockneten Niederschlag wiederholt mit kochendem absoluten Alkohol aus. Die beim Erkalten der filtrierten Lösung abgeschiedene Masse wird mit Aether erschöpft. Aus dem so erhaltenen phosphorfreien Rohcerebrin gewinnt er durch Umkrystallisieren aus Alkohol das in Alkohol schwerer lösliche Cerebrin. Aus dem leichter löslichen Anteil trennt er das Homocerebrin von dem sogenannten Enkephalin, welches wahrscheinlich erst während der Darstellung entstanden war, mit Hülfe von Aceton. Kossel und Freytag lösen das Protagon (§ 259) in

1) J. f. pr. Ch. N. F. **24**. 310. (1881.)
2) H.-S. **17**. 431. (1893.)

Methylalkohol, versetzen mit einer heissen Lösung von Aetzbaryt in Methylalkohol unter Umschütteln und erwärmen einige Minuten auf dem Wasserbad. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert, in Wasser zerteilt und durch Kohlensäure zerlegt. Man filtriert ab, wäscht mit Alkohol aus, zieht den Rückstand bei 50° mit absolutem Alkohol aus und filtriert wieder. Beim Erkalten des Filtrats scheiden sich die Cerebroside ab. Durch Umkrystallisieren aus Alkohol lässt sich das schwerer lösliche Cerebrin von dem leichter löslichen Homocerebrin trennen.

Cerebrin. Cerebrin C 69,08; H 11,47; N 2,13 pCt. nach Parkus, in heissem Alkohol, Aceton, Chloroform löslich, in kaltem und heissem Aether unlöslich, scheidet sich aus alkoholischen Lösungen als krystallinisches Pulver ab, welches aus farblosen Globuliten besteht. Die knolligen Aggregate sind durchsichtig und haben glatte Ränder, getrocknet bilden sie ein leichtes, lockeres Pulver, welches in heissem Wasser wenig aufquillt. Smp. 170° oder 176°. Erhitzt riecht es nach verbranntem Fett und brennt mit leuchtender Flamme. Beim Zerreiben mit concentrierter Schwefelsäure tritt allmählich eine Rotfärbung ein (Pettenkofer'sche Reaction). Bei der Oxydation mit Salpetersäure entsteht Stearinsäure.

Homocerebrin. Homocerebrin C 70,06; H 11,59; N 2,23 pCt. steht an Menge dem Cerebrin nach, löst sich in denselben Flüssigkeiten wie dieses, ausserdem in warmem Aether und ist in Alkohol löslicher. Aus langsam verdunstenden Lösungen scheidet es sich in feinen, nadelförmigen Gebilden ab, welche oft eine zusammenhängende Gallerte darstellen. Getrocknet bildet es eine wachsartige, schwer zerreibliche Masse. In heissem Wasser quillt es auf, ohne Kleister zu bilden. Smp. bei 155°. Gegen concentrierte Schwefelsäure verhält es sich wie Cerebrin. Von Kossel wurde (ebenso wie aus Cerebrin) eine Bromverbindung dargestellt, sie ist linksdrehend $[\alpha]_D = -12{,}48°$. Durch Oxydation mit Salpetersäure entsteht Stearinsäure.

Spaltung. Diese Cerebroside spalten bei mehrstündigem Erhitzen auf 120° mit verdünnter Schwefelsäure Galactose[1]) ab, welche durch Einengen der filtrierten und von Schwefelsäure befreiten Flüssigkeit leicht krystallinisch erhalten werden kann.

Pyosin, Pyogenin. Pyosin, Pyogenin. Zu den Cerebrosiden können auch diese von Hoppe-Seyler[2]) aus Milz und aus Eiterkörperchen, später von Kossel u. Freytag[3]) aus Eiterkörperchen isolierten Stoffe gezählt werden. Pyosin enthält C 64,34; H 10,43; N 2,64 pCt. und Pyogenin C 62,62; H 10,45; N 2,47 pCt. Sie scheiden sich in Knollen ab, zeigen die Löslichkeitsverhältnisse der Cerebroside und spalten beim Erhitzen mit Schwefelsäure ein Kupferoxyd reducierendes Kohlehydrat ab. Auch aus Spermatozoen hat Kossel ein Cerebrosid erhalten.

---

1) Thierfelder, H.-S. **14**. 209. (1890.)
2) Med. chem. Unters. Herausg. von Hoppe-Seyler, Berlin. Hirschwald. H. 4. S. 486. 1871.
3) H.-S. **17**. 431. (1893.)

Die Farbstoffgruppen der Blutfarbstoffe.

262. Die Blutfarbstoffe (siehe diese) werden durch Säuren und Alkalien in Globin und die Farbstoffgruppe zerlegt u. z. entsteht aus den Hämoglobinen neben Eiweiss Hämochromogen (§ 263), aus den Oxyhämoglobinen neben Eiweiss Hämatin (§ 264). Ersteres geht bei Anwesenheit auch nur geringer Mengen von freiem Sauerstoff sofort in Hämatin über, bei Abwesenheit von Sauerstoff ist es in alkalischer Lösung beständig, wird aber in saurer Lösung bald unter Abspaltung von Eisen in Hämatoporphyrin (§ 266) übergeführt. Dieser letztere Farbstoff entsteht auch aus Hämatin durch energischere Säurewirkung.

Vorkommen.

263. **Hämochromogen**[1]) ist nur als Spaltungsproduct des Hämoglobins oder Reductionsproduct des Hämatins bekannt.

Hämochromogen bildet sich sehr häufig in Spirituspräparaten von Pancreas, Leber, Milz, Muskeln. Uebergiesst man die Organe im Ganzen oder nach ihrer Zerkleinerung mit Alkohol und lässt ohne Umrühren einige Tage stehen, so erscheinen die unteren Schichten rosenrot bis purpurrot, die oberen grau bis bräunlich und die spectroskopische Untersuchung des reflectierten Lichtes ergibt in den roten, unteren Schichten die Spectralstreifen des Hämochromogens mit aller Schärfe. Bringt man sie an die Luft, so werden sie bald oberflächlich graubraun durch Hämatinbildung. Uebergiessen mit Aether wirkt ähnlich wie Alkohol, und so sind wahrscheinlich die Angaben von Struve[2]) zu erklären. Bei längerem ruhigen Stehen unter Alkohol verliert sich die Hämochromogenfärbung langsam von oben nach unten entsprechend dem Sauerstoffzutritt und Aufhören der Fäulnis durch Diffusion des Alkohols.

Darstellung.

Eine Darstellung des Hämochromogens ist wegen seiner grossen Affinität zu Sauerstoff bis jetzt nicht gelungen. Erhitzt man Hämoglobin in hinreichend starkem Alkali auf 100° bei Abwesenheit von Sauerstoff, so scheidet sich Hämochromogen als violett-grauer, pulveriger*) Niederschlag ab. Beim Erkalten löst er sich teilweise oder vollständig wieder. Seine Ammoniakverbindung gewann v. Zeynek[3]) als rote bis braunrote Substanz durch Reduction von in alkoholischem Ammoniak suspendiertem Hämatin mit alkoholischem Hydrazin in einem besonders construierten Apparate. Die Verbindung hatte die Zusammensetzung C 63,83; H 5,66; N 11,48; Fe 9,25 pCt. Eine alkalische Lösung von Hämochromogen erhält man durch Versetzen einer alkalischen Hämatinlösung mit einem Reductionsmittel z. B. Schwefelammonium, Stokes'sche Lösung (Anh.), Hydrazinhydrat, eine saure nach Milroy[4]), indem man durch eine alkoholische nur 0,4—0,8 pCt. Oxalsäure enthaltende Lösung von Hämatin

*) Die Angabe von Hoppe-Seyler (H.-S. **13**. 495), es auf diese Weise krystallisiert erhalten zu haben, scheint von ihm selbst nicht aufrecht erhalten worden zu sein.

1) Hoppe-Seyler, Med. chem. Unters. Heft 4. S. 540. (1871.)
2) B. **9**. 623. (1876.)
3) H.-S. **25**. 492. (1898.)
4) Proc. of the Physiol. Soc. XII. J. of Ph. **32**. (1905.)

Wasserstoff leitet und dann eine Spur Zinkstaub hinzufügt. Die alkalische Lösung zeigt schön kirschrote, die saure rote Farbe.

Spectrum: in alkalischer Lösung.

Eine alkalische Lösung zeigt bei genügender Verdünnung zwei sehr deutliche Absorptionsstreifen (siehe Spectraltafel), von denen der eine tief schwarze mit seiner Mitte einer Wellenlänge von 556,4 entspricht und fast in der Mitte zwischen D und E liegt, der andre nicht so dunkle und bei der Verdünnung der Lösung früher verschwindende mit seiner Mitte einer Wellenlänge von 520,4 entspricht und den Zwischenraum zwischen E und b ausfüllt noch etwas über b hinüberreichend (Hoppe-Seyler[1]). Lewin, Miethe u. Stenger[2]) fanden, dass die maximale Absorption in den beiden Streifen den Wellenlängen 558 und 526 entspricht. Auch bei starker Concentration der Lösung zeigen sich bei der spectroskopischen Betrachtung keine anderen Streifen und das blaue Licht bis G hin ist sehr wenig absorbiert. Die dunkelste Stelle des Streifens im violetten Teil des Spectrums entspricht nach Gamgee[3]) $\lambda = 420{,}0$, nach Lewin, Miethe und Stenger $\lambda = 385$. Die saure Lösung des Hämochromogen zeigt einen Streifen zwischen D und E ($\lambda = 580-550$) (Milroy).

in saurer Lösung.

Umwandlung.

Bei Gegenwart von Sauerstoff geht es sofort unter Veränderung der Farbe der Lösung in Hämatin über. Selbst verdünnte Säure in alkoholischer Lösung entzieht dem Hämochromogen auch bei gewöhnlicher Temperatur sehr bald das Eisen und es bildet sich das an der Luft beständige Hämatoporphyrin.

Kohlenoxydhämochromogen.

Kohlenoxydhämochromogen entsteht nach Hoppe-Seyler[4]) durch Einwirkung von Alkali auf Kohlenoxydhämoglobin bei Abwesenheit von Sauerstoff im zugeschmolzenen Rohr und scheidet sich aus dieser Lösung beim Erhitzen auf 100° ab, um beim Erkalten sich wieder aufzulösen. Pregl[5]) erhielt es in einem für diesen Zweck besonders construierten Apparat als dunkelblauviolettes an Kaliumpermanganat erinnerndes Pulver, welches völlig getrocknet an trockener Luft beständig ist. Im Kohlenoxydhämochromogen kommen auf 1 At. Fe 1 Mol. CO (Hoppe-Seyler, Hüfner und Küster[6]).

Die alkalischen Lösungen des Kohlenoxydhämochromogen zeigen dieselben spectroskopischen Erscheinungen wie das Kohlenoxydhämoglobin, gehen aber an der Luft allmählich in Hämatinlösungen über (Hoppe-Seyler). Durch Ferricyankalium werden die Lösungen unter Kohlenoxydentwicklung zersetzt (Pregl). Beim Erhitzen im Wasserstoffstrom wird Kohlenoxyd abgegeben und es entsteht Hämochromogen.

Vorkommen.

264. **Hämatin,** nur als Zersetzungsproduct des Oxyhämoglobins oder Oxydationsproduct des Hämochromogens bekannt, findet sich häufig im Darm-

1) H.-S. **13**. 477. (1889.)
2) Pfl. A. **118**. 80. (1907.)
3) Z. f. B. **34**. 505. (1896.)
4) H.-S. **13**. 477. (1889.)
5) H.-S. **44**. 173. (1905.)
6) A. f. A. u. Ph. Ph. A. Supplb. 1904. 387.

canal, wo es durch die Einwirkung des Magensaftes auf den Blutfarbstoff der Speisen oder auf ausgetretenes Blut gebildet wird oder wohin es bereits präformiert in den Speisen gelangt. Bei Fleischnahrung wird es daher stets in den Fäces angetroffen. Selten kommt es in alten Blutextravasaten vor.

Darstellung: Die Darstellung des Hämatins direct aus Blut oder Blutfarbstoff hat bedeutende Schwierigkeiten zu überwinden. Hoppe-Seyler schlug vor, es durch Schütteln von defibriniertem Blut mit Aether, Zusatz von starker Essigsäure, wiederholtes Schütteln, Abgiessen und Filtrieren der dunkelbraunen ätherischen Lösung, sofort nachdem sie sich abgeschieden hat, Stehenlassen, Abfiltrieren des auffallenden Niederschlags und Waschen desselben mit Aether, Alkohol und Wasser zu gewinnen.

aus Oxyhämoglobin durch Verdauung. v. Zeynek[1]) erhielt es durch Verdauung von in Wasser gelöstem Oxyhämoglobin mit Pepsinsalzsäure und starkes Verdünnen der verdauten Lösung mit 0,4 proc. Salzsäure als braunen, schlammartigen Niederschlag, der durch Verrühren mit 1 proc. Salzsäure von beigemengten Schollen befreit und durch Dekantieren mit Wasser gereinigt wurde. Das so gewonnene Hämatin ist weniger widerstandsfähig gegen verdünnte Säuren, gegen hohe Temperaturen bei Gegenwart von Wasser usw., als das aus Häminkrystallen gewonnene sogenannte typische Hämatin und wird auch bei länger dauernder Verdauung verändert (v. Zeynek[2]).

aus Hämin. Am Einfachsten stellt man Hämatin aus Häminkrystallen (§ 265) dar. Die reinen Krystalle werden in äusserst verdünnter reiner Kalilauge kalt gelöst, die filtrierte Lösung wird mit verdünnter Salzsäure gefällt und der flockige, braune Niederschlag mit heissem Wasser gewaschen, bis das ablaufende Wasser keine Chlorreaction mehr gibt (es ist langes Auswaschen erforderlich*). Das Hämatin wird dann erst bei mässiger Wärme, endlich bei 120—150° getrocknet.

Bei dieser Reaction wird das Chlor des Hämins durch Hydroxyl ersetzt. Die Rückverwandlung des Hämatins in Hämin war bisher nicht geglückt (Küster[3]), so dass man eine gleichzeitig verlaufende Aenderung der molecularen Structur annahm. Vor kurzem ist es indessen Eppinger[4]) gelungen, das Hämatin fast quantitativ in typisches Hämin zurückzuführen.

Zusammensetzung. Dem aus Hämin gewonnenen Hämatin kommt nach Küster[5]) die schon von Hoppe-Seyler[6]) in Betracht gezogene Formel $C_{34}H_{34}N_4FeO_5$ zu.

Vergleiche auch die Angaben S. 360 oben.

*) Da nach neueren Angaben die völlige Abspaltung des Chlors durch einmaliges Lösen in Alkali nicht gelingt, empfiehlt es sich Lösen und Fällen zu wiederholen.

1) H.-S. **30**. 126. (1900.)
2) H.-S. **49**. 472. (1906.)
3) H.-S. **40**. 396. (1903/04.)
4) Dissert. Philos. Fak. München 1907.
v. Siewert, A. exp. P. u. Ph. **58**. 386. (1908.)
5) H.-S. **40**. 415. (1903/04.)
6) Med. chem. Unters. Herausg. von Hoppe-Seyler. Berlin. Hirschwald. 1871. S. 525.

Es besitzt blauschwarze Farbe und lebhaften Metallglanz, ist nicht erkennbar krystallisiert, gibt aber so wie manches in Glanz und Farbe ihm ähnliche Rotgiltigerz einen braunen Strich auf Porzellan und fein pulverisiert ein dunkelbraunes Pulver, ist somit pleochromatisch. Es kann auf 180° erhitzt werden, ohne dass es sich zersetzt; sehr stark erhitzt verkohlt oder verglimmt es, ohne zu schmelzen und sich aufzublähen, unter Entwickelung von Blausäure und lässt in der Form der Stücke, die zum Versuche verwendet wurden, ein Skelett von reinem (auch manganfreiem) Eisenoxyd (ungefähr 13 pCt. des Hämatins betragend) zurück. Es ist unlöslich in Wasser, Alkohol, Aether, Chloroform, verdünnten Säuren, ein wenig löslich in Eisessig, besonders in der Wärme. Auch bei monatelanger Berührung mit conc. Schwefelsäure löst es sich nicht völlig auf. In säurehaltigem Alkohol löst es sich in geringer Menge, es löst sich ferner in allen Alkalilösungen, auch sehr verdünnten, selbst in Alkohol beim Zusammenschütteln mit kohlensaurem Alkali. Die alkalischen Lösungen vermögen nicht zu diffundieren. Sie erscheinen in dickeren Schichten in durchfallendem Lichte schön rot, in dünner Schicht olivengrün, die sauren Lösungen in jeder Dicke der Schicht braun gefärbt. Alkalische Lösungen von Hämatin werden durch Kalk- oder Barytsalze in rotbraunen Flocken gefällt, auch Niederschläge von phosphorsaurem Kalk nehmen Hämatin aus Lösungen in sich auf. Auf dieser letzteren Eigenschaft beruht eine Methode des Nachweises von Blut im Harn (siehe „Untersuchung des Harns“). Auch Bleiacetat fällt bei vorsichtigem Zusatz Hämatin aus seinen Lösungen. Eigenschaften.

Die sauren und alkalischen Lösungen absorbieren am wenigsten das äusserste Rot im Spectrum bis etwa zur Linie B, am Stärksten das violette Licht. Eine alkalische Lösung zeigt bis zu einer Concentration von 0,015 g Hämatin in 100 ccm bei einer Dicke der Flüssigkeitsschicht von 1 ccm einen schlecht begrenzten Absorptionsstreifen zwischen den Linien C und D, letzterer Linie anliegend. Eine saure Lösung (in schwefelsäurehaltigem Alkohol) zeigt einen Absorptionsstreifen nahe bei C zwischen dieser Linie und D; ein anderer weniger scharf begrenzter, viel breiterer und bei weiterer Verdünnung etwas früher verschwindender, findet sich zwischen D und F. Dieser letztere Streifen zerlegt sich bei vorsichtiger Verdünnung der Flüssigkeit zunächst in zwei ungleich dunkle Bänder; das neben F befindliche ist dunkler, der hellste Zwischenraum zwischen E und b. Ein sehr schmaler, schwacher Streifen erscheint bei gewisser Verdünnung zwischen D und E, dicht neben D, sodass in diesem Falle vier Streifen vorhanden sind (siehe Spectraltafel). Ein nicht scharf zu bestimmendes Band findet sich auf der Grenze von violettem und ultraviolettem Licht (Gamgee). Die Lage der Streifen des sauren Hämatin ist leicht veränderlich, daher auch abweichende Angaben in der Literatur: Lewin, Miethe und Stenger geben für saure Hämatinlösungen in Aceton drei Streifen an, deren maximale Absorptionen entsprechen $\lambda = 630$, 540 und Spectrum: in alkalischer Lösung. in saurer Lösung.

502. Einen Streifen im nicht sichtbaren Teil des Spectrums haben sie auch nicht erhalten, nur eine $\lambda = 402$ beginnende einseitige Absorption nach Ultraviolett.

Veränderung des Spectrum durch Reductionsmittel und durch Cyankalium.

Durch Behandlung mit Reductionsmitteln z. B. Schwefelammonium, Stokes'sche Lösung (Anh.), Hydrazinhydrat verändert die Hämatinlösung ihre Farbe und bei der Spectraluntersuchung sieht man die Streifen des Hämochromogens (§ 263). Fügt man zu einer alkalischen Hämatinlösung Cyankalium, so wird die Lösung durchsichtiger rotbraun, absorbiert am Schwächsten das Licht zu beiden Seiten der Linie C und zeigt beim Verdünnen einen schlecht begrenzten Absorptionsstreifen zwischen D und E.

Umwandlungen.

In ammoniakalischer Lösung scheint sich das Hämatin allmählich zu verändern; beim Eintrocknen einer solchen Lösung bei 100° wird Ammoniak hartnäckig zurückgehalten in einer Verbindung, die sich in Wasser leicht auflöst. Auch durch Einwirkung von verdünntem Alkali in der Wärme und allmählich auch in der Kälte erleidet Hämatin Veränderungen (Küster[1]). Durch Kochen mit conc. Kalilauge erfährt es dagegen keine bemerkbare Aenderung, beim Schmelzen mit Kali entweicht Ammoniak, doch geht die Zerlegung sehr langsam vor sich. Auch durch Erhitzen mit starker Salzsäure wird das Hämatin erst über 150° zersetzt, verdünnte Salpetersäure greift es auch beim Kochen schwer an; sehr schnell wird es unter Entfärbung zersetzt, wenn Chlor in seine alkalische Lösung eingeleitet wird. In conc. Schwefelsäure löst es sich zu einer dunkelroten Flüssigkeit ohne Gasentwickelung, indem sich Hämatoporphyrin (§ 266) bildet; eine Abspaltung von Eisen erfolgt auch durch wässerige schweflige Säure unter Mitwirkung des Lichtes (v. Zeynek[2]). Bei der Oxydation mit Natriumbichromat in Eisessig und anderen Oxydationsmitteln entsteht Hämatinsäure (§ 269), bei der Reduction durch Zinn und Salzsäure ein dem Urobilin nahestehender Farbstoff. Die reducierte Lösung gibt die Ehrlich'sche Reaction (Rotfärbung mit p-Dimethylaminobenzaldehyd und Salzsäure) (Neubauer[3]). Trocken erhitzt bildet es reichlich Pyrrol.

Nachweis.

Der Nachweis beruht auf seinen Lichtabsorptionserscheinungen, besonders auf der Beobachtung des charakteristischen Spectrums des Hämochromogens (§ 263), das aus Hämatin durch Reductionsmittel entsteht. Von Hämoglobin und Oxyhämoglobin trennt man es durch seine Fällbarkeit durch Bleiacetat.

Darstellung:

265. **Haemin.** Die von Teichmann zuerst beobachteten Häminkrystalle erhält man im Kleinen durch Kochen einiger Tropfen Blut im Reagensglase mit überschüssigem Eisessig oder durch Eindampfen eines Tropfens Blut mit 12 bis 20 Tropfen Eisessig nach einmaligem Aufkochen

1) H.-S. **28**. 15. (1899.)
2) H.-S. **49**. 478. (1906.)
3) Sitzb. d. Ges. f. Morph. u. Physiol. in München. **19**. 32. (1903.)

über kleiner Flamme auf dem Wasserbade. Von Hoppe-Seyler[1]) wurden die Häminkrystalle zuerst in grösserem Massstabe nach einem dem Teichmann'schen Eisessigverfahren sich anschliessenden dargestellt, analysiert und untersucht. Andere Methoden sind von Nencki und Sieber, Schalfejeff, K. A. H. Mörner, v. Siewert angegeben.

nach Nencki u. Sieber.

1. Verfahren von Nencki u. Sieber[2]). Blutkörperchenbrei, wie er sich aus einer Mischung von defibriniertem Blut mit dem neunfachen Volumen 4proc. Kochsalzlösung absetzt, wird mit soviel (etwa dem doppelten Volumen) 90proc. Alkohol unter Umrühren vermischt, bis die Flüssigkeit zu einem Coagulum erstarrt, das nach 24 Stunden abfiltrierte Coagulum auf Fliesspapier zum Trocknen ausgebreitet, nach 24stündigem Liegen (es hat jetzt ungefähr 34—37 pCt. Trockenrückstand) fein zerrieben und in kleinen Portionen zu je 400 g mit dem 4fachen Gewicht reinen Amylalkohols (Sdp. 130°) im Kolben auf dem Sandbade zum Kochen erhitzt. Sobald die Flüssigkeit ins Sieden gerät, wird sie mit 25 ccm reiner Salzsäure (1,12 spec. Gew.) versetzt, noch 7—10 Minuten im Sieden erhalten und dann heiss filtriert. Nach 24 Stunden giesst man von den an Boden und Wandungen abgeschiedenen Krystallen ab, mischt den Krystallbrei mit 90 proc. Alkohol, bringt ihn auf ein Filter, entfernt den Amylalkohol durch Waschen mit Aethylalkohol, schüttelt den Filterrückstand mit Chloroform, bringt wieder auf ein Filter, wäscht mit Chloroform, bis das Filtrat nur wenig gefärbt abläuft, dann mit Alkohol, dann mit kaltem Wasser bis zum Verschwinden der Chlorreaction, darauf mit Alkohol und Aether und trocknet im Vacuum. Ausbeute bis zu 1 g aus einem Liter Blut. Ein Verfahren zum Umkrystallisieren ist noch nicht bekannt.

Wesentlich bessere Ausbeuten geben die drei folgenden Verfahren.

nach Schalfejeff.

2. Verfahren von Schalfejeff in der Ausführung von Nencki und Zaleski[3]). In einen Liter Eisessig wird pulverisiertes Kochsalz bis zur Sättigung bei Zimmertemperatur eingetragen und die Lösung auf dem Wasserbade auf 90—95° erwärmt. Der heissen Lösung wird 200 ccm frisches, defibriniertes und durch Musselin filtriertes Blut zugesetzt, die Mischung unter häufigem Umrühren noch 10 Min. auf dem Wasserbade erwärmt und, wenn die Temperatur der Lösung wieder 85—90° erreicht hat, durch Musselin in hohe Bechergläser filtriert. Nach 24 stündigem Stehen wird die Essigsäure abgegossen und der Bodensatz von Krystallen wiederholt mit Wasser dekantiert, schliesslich auf dem Filter mit Wasser, dann mit 60—70 proc. Alkohol nachgewaschen und im Vacuum getrocknet. Zum Umkrystallisieren werden 15 Vol. 96 proc. Alkohol mit 4 Vol. Wasser und 1 Vol. wässerigem Ammoniak (spec. Gew. 0,91) versetzt und 40—60 ccm davon für je 1 g Hämin verwendet. Nach $^1/_4$ bis $^1/_2$ Stunde bei Zimmertemperatur und häufigem Umschütteln ist die Hauptmenge gelöst; die filtrierte Lösung wird in auf 105—115° erwärmten, mit Kochsalz gesättigten Eisessig in kleinen Portionen eingetragen (4—6 Vol. Eisessig auf 1 Vol. der ammoniakalischen Lösung). Die ausgeschiedenen Krystalle werden mit

1) Med. chem. Unters. Herausg. v. Hoppe-Seyler. Heft 3. S. 379. (1868) und Heft 4. S. 523. (1871.)
2) A. exp. P. u. Ph. **18**. 401. (1884), Bialobrzeski, B. **29**. 2842. (1896.)
3) H.-S. **30**. 389. (1900.)

2 pM. Salzsäure enthaltendem Wasser, hierauf stufenweise mit verdünntem (bis zu 80 proc.) Alkohol, dem 2 pM. Salzsäure zugesetzt sind, gewaschen und im Vacuum getrocknet. Ausbeute 3,5—4 g aus 1 Liter Blut. Nach Küster[1]) ist es besser zum Umkrystallisieren, welches auf einer Abspaltung und Wiederanlagerung von Salzsäure beruht, Chinin- oder Pyridin-Chloroform zu verwenden und so zu verfahren: Je 1 g Hämin wird mit 5 ccm Pyridin und 40 ccm Chloroform 15 Min. geschüttelt, die filtrierte Lösung in 150 ccm mit Kochsalz gesättigtem Eisessig, welcher auf 105° erhitzt und dann mit 0,5 ccm conc. Salzsäure versetzt ist, eingetragen. Die nach 24 Stunden abgesetzten Krystalle werden filtriert und mit verdünnter Salzsäure haltiger Essigsäure nachgewaschen.

nach Mörner. 3. Verfahren von K. A. H. Mörner[2]). 1 Liter Blut wird mit 3 Litern Wasser gemischt und nach Zusatz von 10 ccm 1 proc. Schwefelsäure bis zum lebhaften Aufwallen erhitzt, das Coagulum wird coliert, ausgewaschen und scharf abgepresst, dann wird mit ca. $^1/_2$ Liter 90 proc. Alkohols angerieben und wieder scharf abgepresst. Jetzt wird der Blutkuchen mit 1750 ccm 90 proc. Alkohols, dem ein erkaltetes Gemisch von 17,5 ccm conc. Schwefelsäure und 17,5 ccm 90 proc. Alkohols zugesetzt ist, verrieben und bei Zimmertemperatur eine Stunde digeriert, dann coliert, der Rest ausgepresst, die erhaltene, dunkel gefärbte Lösung filtriert, das Filtrat rasch zum Sieden erhitzt und jetzt pro Liter 8 ccm 25 proc. Salzsäure, die mit ca. 12 ccm 90 proc. Alkohols versetzt sind, eingetragen und durch Einstellen in kaltes Wasser abgekühlt. Nach zweitägigem Stehen wird der über dem abgesetzten Hämin stehende Alkohol abgegossen, der Krystallbrei abgesaugt, mit etwas Weingeist und dann mit Wasser gewaschen, in gelinder Wärme getrocknet und mit Petroläther behandelt. Ausbeute ca. 3 g aus 1 Liter Blut. Küster[3]) gelang es, auch dieses Hämin mit Hülfe von Chinin- oder Pyridinchloroform umzukrystallisieren.

nach v. Siewert. 4. Verfahren von v. Siewert[4]). Man löst die gesenkten und vom Serum befreiten Blutkörperchen in ihrem 3—4 fachen Vol. Wasser, filtriert durch Musselin und coaguliert nach Zusatz von etwas Essigsäure durch Kochen. Das abgepresste, fein zerriebene und an der Luft bis zu einem Wassergehalt von etwa 33 pCt. getrocknete Coagulum wird in Portionen von 150—200 g mit 95 proc. Alkohol zu dünnem Brei zerrieben und durch Zufügen von 3—5 ccm 10—15 proc. Kalilauge in eine dickflüssige Lösung verwandelt. Zu dieser fügt man tropfenweise unter Umrühren conc. Schwefelsäure, saugt den Eiweissniederschlag ab, verreibt ihn noch mit Alkohol und filtriert. Man vereinigt die einzelnen Portionen der so

1) H.-S. **40**. 398. (1903/04.)
2) Nordiskt Medic. Arkiv. Festband No. 1 u. Nr. 26. (1897.) H.-S. **29**. 187. Anmerkung 3. (1900.)
3) H.-S. **40**. 403. (1903/04.)
4) A. exp. P. u. Ph. **58**. 386. (1908.)

gewonnenen Hämatinlösungen, neutralisiert mit Kalilauge und bringt das dabei ausfallende Hämatin durch vorsichtigen Zusatz von 1 Vol.-proc. alkoholischer Schwefelsäure wieder in Lösung. Die vom ausgeschiedenen Kaliumsulfat abfiltrierte, klare, dunkelgefärbte Flüssigkeit wird in abgemessenen Mengen in Kolben schnell auf 70° erhitzt, mit 4 — 5 ccm gesättigter alkoholischer Salzsäure auf je 1 Liter versetzt und abkühlen gelassen. Die nach 24 — 48 Stunden abgeschiedenen Krystalle werden abfiltriert, mit Alkohol, Wasser, Alkohol und Aether gewaschen und getrocknet. Gut ausgebildete rhombische und sechseckige Krystalle ohne Beimengungen. Ausbeute wechselnd, etwa 2 g aus 1 Liter Blut.

nach Rosenfeld.

5. Verfahren von Rosenfeld[1]). Ueber das Umkrystallisieren des nach diesem Verfahren gewonnenen Hämin aus Chinin-Chloroform siehe Küster[2]).

Einheitlichkeit und Zusammensetzung.

Die Analysen des nach den verschiedenen Methoden erhaltenen Hämin ergaben verschiedene Zusammensetzung.

Die nach dem Verfahren von Nencki und Sieber erhaltenen Krystalle enthalten regelmässig Amylalkohol und zwar entsprach die Zusammensetzung der Formel $(C_{32}H_{31}N_4FeClO_3)_4 . C_5H_{12}O$. Der Amylalkohol entweicht bei 135°. Diese Angaben von Nencki und Sieber erfuhren im wesentlichen eine Bestätigung durch W. Küster[3]). Die nach Schalfejeff dargestellten Krystalle entsprachen der Formel $C_{34}H_{33}N_4FeClO_4$, unterschieden sich also von den nach dem Amylalkoholverfahren erhaltenen durch die Acetylgruppe und wurden deshalb von Nencki als Acethämin bezeichnet. Zu der sehr ähnlichen Formel $C_{34}H_{36}N_4FeClO_5$ gelangte Hoppe-Seyler. Die nach Mörner dargestellten Krystalle entsprachen der Formel $C_{35}H_{35}N_4FeClO_4$, unterschieden sich also durch die Propionylgruppe. Mörner bezeichnete sie als β-Hämin. Nach Nencki und Zaleski sollten sie als Monoaethyläther des Acethämins $C_{36}H_{37}N_4FeClO_4$ aufzufassen sein, wofür die Analysenzahlen ebenfalls sehr gut stimmen.

Nach neueren Untersuchungen[4]) nimmt man aber an, dass dem Hämin die Zusammensetzung $C_{34}H_{33}N_4FeClO_4$ zukommt und besonders durch Küster[5]) ist gezeigt worden, dass die Unterschiede in der Zusammensetzung der nach verschiedenen Methoden gewonnenen Präparate auf ungenügender Reinigung beruhen und dass alle nach dem Umkrystallisieren der Formel $C_{34}H_{33}N_4FeClO_4$ entsprechen. Es gibt also nur ein Hämin. Zaleski[6]) bevorzugt

---

1) A. exp. P. u. Ph. **40**. 137. (1898.) 2) H.-S. **40**. 407. (1903/04.)
3) B. **27**. 572. (1894.) u. **30**. 109. (1897.)
Beiträge zur Kenntnis des Hämatins. Habilitationsschrift. Tübingen 1896.
H.-S. **28**. 10. (1899.)
4) Zaleski, H.-S. **37**. 74. (1902/03.)
Hetper u. Marchlewski, H.-S. **41**. 38. (1904.), **42**. 65. (1904.)
K. A. H. Mörner. H.-S. **41**. 542. (1904.)
5) H.-S. **40**. 391. (1903/04.) 6) H.-S. **43**. 11. (1904/05.)

neuerdings die Formel $C_{34}H_{32}N_4FeClO_4$. Das Eisen ist dreiwertig und wahrscheinlich mit einer Valenz an Chlor, mit den beiden anderen an Stickstoff gebunden (Zaleski[1]), Eppinger[2]), Küster und Fuchs[3]). Ferner enthält das Hämin zwei Hydroxylgruppen, deren Wasserstoffatome durch Alkyle ersetzt werden können unter Bildung von Aethern. Im Hämatin ist das Chlor durch die Hydroxylgruppe ersetzt, so dass also das Hämin als salzsaures Salz des Hämatins aufzufassen wäre.

Beziehung des Hämatin zum Hämin.

Eigenschaften.

Die Häminkrystalle bilden ein seideglänzendes Krystallpulver von blauschwarzer Farbe und dem Metallglanz des Hämatins. Die mikroskopischen Krystalle sind oft lange, schmale, zugespitzte, rhombische Blättchen und nadelförmige Gebilde im durchfallenden Licht von brauner Farbe, unlöslich in Wasser, in Aether nur spurenweise, in Alkohol und Chloroform nur wenig löslich, leicht löslich in verdünnten Alkalien. Beim Erhitzen bis gegen 200° bleiben die Krystalle unverändert, an der Luft stärker erhitzt verglimmen sie unter Entwickelung von Blausäure und Hinterlassung eines Skeletts von Eisenoxyd. Hämin bildet Mono- und Dimethyl-, Aethyl-, Amylester, von denen die Dialkylverbindungen in Alkalien unlöslich sind (Nencki und Zaleski[4]). Durch Einwirkung von wässeriger Alkalilauge auf Hämin entsteht Hämatin, indem das Chlor durch Hydroxyl ersetzt wird. Aus Hämatin lässt sich wieder Hämin zurückgewinnen (siehe S. 354).

Alkylester.

Dehydrochloridhämin.

Durch Lösen des Hämins (u. z. des nach verschiedenen Methoden dargestellten) in kaltem Anilin, Eintragen der filtrierten Lösung in 20 proc. Essigsäure, Auswaschen der ausgefallenen Masse mit verdünnter Essigsäure und Reinigen mit Aether (die Einzelheiten des Verfahrens siehe im Original) entsteht Dehydrochloridhämin $C_{34}H_{32}N_4FeO_4$, welches um die Elemente der Salzsäure ärmer ist als das Hämin und eine grauschwarze amorphe Masse darstellt, die sich leicht in Alkalien, Ammoniak, Sodalösung und Eisessig auflöst, schwer in Aether und Chloroform löslich ist und unlöslich in Alkohol, Aceton, ebenso auch in verdünnnter Salz-, Schwefel-, Phosphorsäure, hier aber auf Zusatz von Aceton sofort in Lösung gehend (Küster[5]). Es enthält eine Spur von Chlor. Es lässt sich wieder in Hämin zurückverwandeln, aber nicht mehr, nachdem es zuvor in Alkalien gelöst und aus dieser Lösung durch Säuren wieder gefällt worden ist. Reibt man Häminkrystalle mit conc. Schwefelsäure zusammen, so lösen sie sich unter Entwickelung von Salzsäure und es entsteht Hämatoporphyrin. Ueber Anilinohämine, welche bei der Einwirkung von siedendem Anilin auf Hämin entstehen, siehe Küster[6]). Ueber die Einwirkung von Phenylhydrazin und

Anilinohämin.

Einwirkung von Phenylhydrazin.

---

1) H.-S. **43**. 11. (1904/05.)
2) Dissertation. Philos. Fak. München 1907.
3) B. **40**. 2021. (1907.)
4) H.-S. **30**. 384. (1900.)
5) H.-S. **40**. 408. (1903/04.)
6) H.-S. **40**. 423. (1903/04.)

Bromphenylhydrazin auf Hämin siehe v. Fürth[1]), über ein krystallisiertes Derivat von der Zusammensetzung $C_{36}H_{36}N_4O_3$ siehe Küster und Fuchs[2]). Derivat $C_{36}H_{36}N_4O_3$.

Bei der Reduction von Hämin mit Jodwasserstoff und Jodphosphonium entsteht Hämopyrrol (§ 268), bei der Reduction einer durch Erwärmen hergestellten Lösung von Hämin in einem Gemisch von Weingeist und Essigsäure mit Salzsäure und Zinkstaub tritt Entfärbung ein. Die filtrierte Flüssigkeit färbt sich an der Luft und zeigt dann das Spectrum des Urobilin und Hämatoporphyrin (Merunowicz und Zaleski[3]). Reductionsproducte.

266. **Hämatoporphyrin.** Aus Hämochromogen oder Hämatin oder Hämin können auf verschiedene Weise aber immer unter Einwirkung von Säuren eisenfreie Farbstoffe erhalten werden, die ihre Zusammengehörigkeit durch ihre Zusammensetzung, ihren Ursprung und vor Allem durch ihr spectroskopisches Verhalten erkennen lassen, die jedoch leicht veränderlich sind und von denen sich noch nicht sicher angeben lässt, in welcher Beziehung sie zu einander stehen. Der Name Hämatoporphyrin und die ersten eingehenden Untersuchungen stammen von Hoppe-Seyler[4]). Dieselben wurden von Nencki und Sieber[5]) fortgeführt. Entstehung.

Hämatoporphyrin findet sich im Magen- und Darminhalt bei Einführung von conc. Schwefelsäure in den Magen. Nach Garrod[6]) kommt es, wenn auch nur in Spuren, sehr wahrscheinlich in jedem normalen Harn vor. In Harnen von Kranken (Bleikolik, Darmblutungen, Lebererkrankungen) oder nach Arzneimitteleingabe (Sulfonal) ist es von Mac Munn, Neusser, Salkowski[7]), Hammarsten[8]) und vielen anderen nachgewiesen worden. Vorkommen.

Aus Hämochromogen entsteht es bei Abwesenheit von Sauerstoff bezw. Anwesenheit von reducierenden Stoffen durch jede auch die schwächste Säure, langsamer erfolgt unter sonst gleichen Verhältnissen die Bildung aus Kohlenoxydhämochromogen. Zu seiner Gewinnung aus Hämatin oder Hämin bedarf es energischerer Säurewirkung. Die beste Darstellungsweise ist die von Nencki und Zaleski[9]) angegebene, welche zum krystallisierten salzsauren Salz führt: Je 5 g Hämin werden in 75 ccm bei 10° C. mit Bromwasserstoff gesättigten Eisessig*) in kleinen Portionen und unter häufigem Umrühren eingetragen. Man lässt nun die Flüssigkeit 3—4 Tage bei Zimmertemperatur stehen, schüttelt öfters um und giesst, wenn alles Hämin gelöst ist und die Lösung die schön rote Farbe des Hämatoporphyrins angenommen hat, den Kölbcheninhalt in destilliertes Darstellung.

---

*) Kann von Kahlbaum in Berlin bezogen werden.

1) A. **351**. 1. (1907.) 2) B. **40**. 2021. (1907.)
3) Anz. d. Ak. d. W. Krakau 1906. S. 729.
4) Med. chem. Unters. Herausg. v. Hoppe-Seyler. Heft 4. S. 523. (1871.)
5) A. exp. P. u. Ph. **18**. 401. (1884.), **20**. 325. (1886.), **24**. 430. (1888.)
6) J. of Ph. **13**. 598. (1892.), **15**. 108. (1894.), **17**. 349. (1895.)
7) H.-S. **15**. 286. (1891.)
8) Skand. A. Ph. **3**. 319. (1892.) 9) H.-S. **30**. 423. (1900.)

Wasser. Nach mehrstündigem Stehen, wobei nur ein ganz geringer Bodensatz entsteht, wird filtriert und die filtrierte Lösung so lange mit Natronlauge versetzt, bis aller Bromwasserstoff neutralisiert ist, wobei der in verdünnter Essigsäure unlösliche Farbstoff fast vollständig ausfällt. Man lässt absitzen und wäscht den Niederschlag durch Decantation so lange aus, bis das Filtrat mit Silbernitrat keinen Niederschlag mehr gibt. Der ausgewaschene Niederschlag wird, nachdem er durch Liegen auf Fliesspapier den grössten Teil des Wassers verloren, noch feucht mit reiner verdünnter Natronlauge auf warmem Wasserbade eine Viertelstunde digeriert, von dem abgeschiedenen Eisenoxydulsalz abfiltriert und aus dem alkalischen Filtrat durch Essigsäure der Farbstoff gefällt. Das abgeschiedene Hämatoporphyrin wird jetzt von Neuem gut ausgewaschen, vom Filter abgehoben, mit wenig Wasser in einer Schale zu einem dicken Brei angerührt und unter Umrühren mit kleinen Portionen Salzsäure so lange versetzt, bis der Farbstoff in Lösung gegangen ist. Das salzsaure Hämatoporphyrin ist in Wasser leicht löslich, mit zunehmendem Gehalt an Säure nimmt die Löslichkeit bedeutend ab; es ist deshalb ratsam, nach erfolgter Lösung von dem geringen harzigen Rückstand abzufiltrieren und dem Filtrate noch Salzsäure zuzusetzen. Sollte jetzt noch ein harziger Niederschlag entstehen, so filtriert man von Neuem davon ab und stellt das Filtrat im Vacuum über Schwefelsäure zur Krystallisation auf. Gewöhnlich schon nach einigen Stunden erstarrt die Flüssigkeit in der Schale zu einem Krystallbrei. Man lässt jedoch noch 2—3 Tage im Vacuum stehen, filtriert hierauf auf einem Saugfilter ab und wäscht die Krystalle mit 10 proc. Salzsäure nach. Durch einmaliges Umkrystallisieren der auf obige Weise zwischen Fliesspapier getrockneten Krystalle wird das salzsaure Hämatoporphyrin chemisch rein erhalten.

Zusammensetzung u. Eigenschaften.

Dieses salzsaure Hämatoporphyrin krystallisiert in braunroten Nadeln von der Zusammensetzung $C_{16}H_{18}N_2O_3 . HCl$ (nach Zaleski[1]) $C_{34}H_{38}N_4O_6 . 2\,HCl$). Aus seiner schwach salzsauren Lösung wird das freie Hämatoporphyrin durch essigsaures Natron als braunroter, flockiger Niederschlag gefällt. Das so dargestellte Hämatoporphyrin ist in fixen und kohlensauren Alkalien, verdünnten Mineralsäuren und Alkohol leicht löslich, in Wasser und verdünnter Essigsäure fast unlöslich. In warmer Natronlauge gelöst scheidet es sich beim Erkalten als Natronsalz in kleinen Krystalldrusen ab. Ueber weitere Salze und Ester siehe die Arbeiten von Nencki und seinen Mitarbeitern. Durch vorsichtigen Zusatz von Bleiacetat wird es aus seinen Lösungen gefällt.

Spectrum: in saurer Lösung.

Die sauren Lösungen des Hämatoporphyrins zeigen schöne violette, concentriertere kirschrote Farbe und bei spectroskopischer Prüfung einen schmalen, nicht sehr dunklen Absorptionsstreifen zwischen C und D, dicht

1) H.-S. **37**. 74. (1902/03.)

an D anliegend (die dunkelste Stelle entspricht nach Lewin, Miethe und Stenger[1]) $\lambda = 593$) und einen breiteren, dunklen Streifen zwischen D und E, dessen dunkelste Stelle $\lambda = 550$ entspricht und der nach rot zu eine schattenhafte Fortsetzung hat, welche weiterhin (etwa entsprechend $\lambda = 575$) wieder als Streifen erscheint. Unter Umständen sieht man ausser den beschriebenen 2 oder 3 Streifen noch weitere violettwärts von den erwähnten (Schulz[2]), Lewin[1]). Die Streifen im unsichtbaren Teil des Spectrum entsprechen nach Lewin[1]) den Wellenlängen 403 und 380. Die alkalischen Lösungen sehen zum Teil auch violett, zum Teil feurig rot bis braun aus; die braune Farbe findet man am häufigsten, sie entspricht aber wohl nicht den reinsten Lösungen. Spectroskopisch sind die alkalischen Lösungen ausgezeichnet durch 4 Absorptionsstreifen, von denen der erste zwischen C und D näher an D, der zweite und dritte zwischen D und E, jeder einer dieser Linien nahe, der vierte von b bis gegen F gelegen ist. Indessen ist die Lage und Intensität der Streifen des auf verschiedene Weise hergestellten Hämatoporphyrins eine etwas abweichende, so dass die Angaben nicht ganz übereinstimmen, besonders bezieht sich das auf die mittleren Streifen. Unter Umständen sieht man auch einen 5. Streifen, welcher blau- oder rotwärts vom ersten liegt (vergl. Schulz). Der Streifen im unsichtbaren Teil entspricht nach Lewin einer Wellenlänge von 388. Siehe beide Spectren in der Spectraltafel.

in alkalischer Lösung.

Beim Erwärmen einer Lösung von Hämatoporphyrin in verdünntem Ammoniak mit Stokes' Flüssigkeit (Anh.) und etwas Hydrazin in einer Flasche auf dem Wasserbad erhielt Laidlaw[3]) Hämochromogen, welches er weiter in Hämatin überführen konnte. Beim Kochen mit Natronlauge wird kein Ammoniak abgespalten, beim trocknen Erhitzen entwickelt sich Pyrrolgeruch. Bei der Oxydation mit Natriumbichromat in Eisessig entsteht Hämatinsäure (§ 269). Bei der Reduction mit Zinn und Salzsäure entsteht ein dem Urobilin ähnlicher Farbstoff.

Umwandlungen.

Eine Lösung von Hämatoporphyrin in 50 proc. Essigsäure wird durch Salzsäure und Zinkstaub entfärbt. Diese farblose Lösung gibt die Ehrlich'sche Reaction (Rotfärbung mit p-Dimethylaminobenzaldehyd und Salzsäure) (Neubauer[4]). Der Luft ausgesetzt färbt sie sich wieder unter Bildung von Substanzen, die das Spectrum des Urobilins und Hämatoporphyrins zeigen (Merunowicz und Zaleski[5]).

Das geschilderte Hämatoporphyrin hat die Zusammensetzung des Bilirubin, zeigt auch manche Aehnlichkeiten mit diesem, z. B. geht beim

Aehnlichkeit mit Bilirubin.

---

1) Pfl. Arch. **118**. 80. (1907.)
2) A. f. A. u. Ph. Ph. A. 1904. Suppb. 271.
3) J. of Ph. **31**. 464. (1904.)
4) Sitzb. d. Ges. f. Morph. u. Physiol. in München. **19**. 32. (1903.)
5) Anz. der Akad. d. Wiss. Krakau 1906. S. 729.

Uebergiessen mit rauchender Salpetersäure und gelindem Erwärmen die rote Farbe in grün, blau und gelb über, ist aber mit ihm nicht identisch.

Hämatoporphyrine anderer Zusammensetzung.

Durch Einwirkung von conc. Schwefelsäure auf Hämatin oder Hämin und nachheriges Eintragen der Lösung in Wasser wurden von Hoppe-Seyler und auch von Nencki und Sieber Hämatoporphyrine erhalten, welche zwar im spectroskopischen Verhalten mit dem beschriebenen ganz übereinstimmten, aber in ihren Löslichkeitsverhältnissen (sie waren wenig löslich oder unlöslich in verdünnten Säuren und in Alkohol) und der Zusammensetzung von ihm sich unterschieden. Hoppe-Seyler's Körper entsprach der Formel $C_{34}H_{36}N_4O_6$, mit der auch das dargestellte saure phosphorsaure Salz übereinstimmte, Nencki's der Formel $C_{32}H_{34}N_4O_5$. Nencki hält ihn für ein Anhydrid des oben beschriebenen.

Nachweis.

Der Nachweis des Hämatoporphyrins geschieht mit Hülfe des Spectroskops. Von Hämoglobin und Oxyhämoglobin kann man es durch seine Fällbarkeit mittelst Bleiacetat trennen.

Ueber seinen Nachweis im Harne siehe „Untersuchung des Harns".

267. **Mesoporphyrin.** Nencki u. Zaleski[1]) erhielten diesen Farbstoff aus dem Hämin durch Einwirkung von jodwasserstoffhaltigem Eisessig und Jodphosphonium und gaben ihm die Formel $C_{16}H_{18}N_2O_2$. Neuere Untersuchungen führten Zaleski[2]) zu der Formel $C_{34}H_{38}N_4O_4$. Es entsteht auf demselben Weg auch aus Hämatoporphyrin.

Eigenschaften.

Es krystallisiert aus essigsaurer Lösung auf Zusatz von Alkohol. Rote krystallinische Substanz, in ihren Eigenschaften dem Hämatoporphyrin sehr ähnlich, schmilzt nicht beim Erwärmen auf 310°, unlöslich in Wasser, wenig löslich in Alkohol und Aether, leicht in Alkalien und Ammoniak, schwerer und nur beim Erwärmen in Mineralsäuren und Eisessig. Das amorphe Mesoporphyrin, wie man es durch Ausfällen der alkalischen Lösung des salzsauren Salzes mit einem geringen Ueberschuss von Essigsäure erhält, löst sich leicht in starker Essigsäure, in Alkohol und in Gemischen von Alkohol und Essigsäure.

Verbindungen: mit Salzsäure. mit Alkoholen.

Das salzsaure Salz $C_{34}H_{38}N_4O_4 \cdot 2HCl$ ist dem salzsauren Hämatoporphyrin sehr ähnlich. Der Methyl- und besonders der Aethyläther krystallisieren gut im Gegensatz zu den Aethern des Hämatoporphyrins, welche nicht krystallisiert erhalten werden konnten (Nencki u. Zaleski[3]). $C_{34}H_{36}N_4O_4(C_2H_5)_2$ dünne stark lichtbrechende Plättchen von violettem Metallglanz, völlig unlöslich in wässerigen Alkalien, auch nicht löslich in kochender 20 proc. Alkalilauge, leicht in Aether, Chloroform, Eisessig und auch in kochendem Alkohol. Smp. 202—205°.

Andere Verbindungen.

Ueber eine Reihe von krystallinischen Metallverbindungen (Ammonium-, Zink-, Kupfersalz) sowie von Metallverbindungen des Aethyläthers siehe bei

1) B. **34**. 997. (1901.)
2) H.-S. **37**. 54. (1902/03.)
3) H.-S. **30**. 427. (1900.)

Zaleski, über eine krystallisierte chlorhaltige Eisenverbindung (hydrogenisiertes Hämin), welche dem Hämin sehr nahe steht, siehe bei Zaleski[1]).

Das spectroskoptische Verhalten ist dem des Hämatoporphyrin sehr ähnlich, nur findet beim Mesoporphyrin eine unbedeutende Verschiebung sämmtlicher Streifen nach dem violetten Teil zu statt. Das Chlorhydrat zeigt in salzsaurer Lösung 3 Streifen zwischen D u. E entsprechend den Wellenlängen 589, 567 u. 546. Dazu noch ein allmählich auftretender feiner, schwer sichtbarer im Rot ($\lambda = 608$) und einer im Violett ($\lambda = 399$) (Lewin, Miethe u. Stenger[2]). Spectrum.

Eine Lösung des Mesoporphyrin in 50 proc. Essigsäure wird durch Salzsäure und Zinkstaub entfärbt. Die filtrierte Flüssigkeit färbt sich an der Luft zunächst gelb, schliesslich braunrot. Die gelbe Lösung zeigt den Urobilinstreifen, aus der braunroten, welche das Mesoporphyrinspectrum gibt, wurde Mesoporphyrin wieder erhalten (Merunowicz u. Zaleski[3]). Umwandlungen.

Hämopyrrol und Hämatinsäuren.

268. **Hämopyrrol** $C_8H_{13}N$ (Nencki u. Zaleski[4]) entsteht bei der Einwirkung von jodwasserstoffhaltigem Eisessig und Jodphosphonium auf Hämin unter bestimmten relativen Verhältnissen als einziges Reductionsproduct. Es entsteht auch unter denselben Bedingungen aus Phyllocyanin, einem nahen Derivat des Chlorophylls[5]). Entstehung.

Nach Küster[6]) ist das Hämopyrrol ein Gemisch von zwei Pyrrolderivaten, welche er als saures und basisches Hämopyrrol bezeichnet. Marchlewski[7]) hält einstweilen an der Einheitlichkeit fest*). Einheitlichkeit.

Es ist eine flüchtige Substanz, die bei der Destillation als farbloses, auf dem Wasser schwimmendes Oel erhalten wird, aber sehr leicht zersetzlich ist und noch nicht analysenrein erhalten wurde. Es löst sich in viel Wasser, in verdünnter Mineralsäure, nicht in Essigsäure und färbt einen mit Salzsäure befeuchteten Fichtenspan intensiv rot. Seine wässerige Lösung gibt mit Sublimatlösung einen in Wasser unlöslichen, in Alkohol löslichen, amorphen, weissen Niederschlag $(C_8H_{12}N)_2Hg \,.\, (HgCl_2)_4$, mit warmer Pikrinsäure ein Pikrat, das sich beim Erkalten auf 0° in gelben Nadeln oder sechsseitigen Blättchen (Smp. 108°) abscheidet $C_8H_{13}N \,.\, C_6H_3N_3O_7$ Ueber Reactionsproducte mit Benzoldiazoniumchlorid siehe Marchlewski und Mitarbeiter[9]). Eigenschaften.

An der Luft färbt sich das Hämopyrrol allmählich rot und nach zwei Umwandlungen.

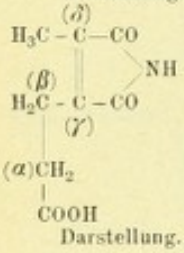
*) Siehe indessen die soeben erschienene Arbeit von Marchlewski u. Retinger[8]).

1) H.-S. **43**. 11. (1904/05.) 2) Pfl. A. **118**. 80. (1907.)
3) Anzeig. d. Akad. d. W. Krakau 1906. S. 729.
4) B. **34**. 997. (1901.)
5) Nencki u. Marchlewski, B. **34**. 1687. (1901.)
6) B. **40**. 2017. (1907.), H.-S. **55**. 526. (1908.)
7) H.-S. **51**. 464. (1907.) 8) B. Z. **10**. 437. (1908.)
9) H.-S. **43**. 415. (1904/05.) **45**. 176. (1905.), **54**. 151. (1907/08.)

Tagen gibt die wässerige Lösung die Reactionen des Urobilin (§ 278): Rosafarbe mit grüner Fluorescenz auf Zusatz von Ammoniak und Chlorzink und Streifen zwischen b u. F. Das saure und basische Hämopyrrol geben bei der Oxydation mit Chromsäure Methylaethylmaleinsäureimid (Smp. 67—68°.)

Hämopyrrol gibt die Ehrlich'sche Reaction: Rotfärbung auf Zusatz von Mineralsäure und p-Dimethylaminobenzaldehyd (Neubauer[1]).

Entstehung.



269. **Imid der dreibasischen Hämatinsäure $C_8H_9NO_4$** (Imid der γ-Penten-α, γ, δ-Tricarbonsäure). Es wurde von W. Küster[2]) als Oxydationsproduct des Hämatin erhalten und entsteht auch bei der Oxydation des Hämatoporphyrin[3]) und des Bilirubin[4]). Es geht schon während der Darstellung teilweise in das Anhydrid der dreibasischen Hämatinsäure (§ 270) über.

Darstellung.

Zu seiner Darstellung wird Hämatin, wie es als feiner Schlamm beim Fällen einer alkalischen Lösung mit Säure gewonnen wird, in Portionen von 5 g in der 60 fachen Menge heissem Eissessig gelöst, in die Lösung 12,5 g Chromtrioxyd (entsprechend 21 Atomen Sauerstoff auf 1 Mol. Hämatin) auf einmal eingetragen und nun sofort der grösste Teil der Essigsäure abdestilliert. Der Rückstand wird mit heissem Wasser aufgenommen, und die Flüssigkeit unter Erneuerung des Wassers bis zur völligen Entfernung der Essigsäure erwärmt. Man filtriert von einem dunkelbraunen Niederschlag ab und extrahiert erschöpfend mit Aether. Die beim Verdunsten des Aethers hinterbleibende Rohsäure (Ausbeute ungefähr 70 pCt.) wird in der Kälte in Natriumcarbonat gelöst, die alkalische Lösung rasch dreimal mit Aether extrahiert und darauf sofort wieder angesäuert. Bei grösseren Mengen tritt hierbei eine Trübung ein, welche sich etwa in einem Tage absetzt, worauf die abgegossene klare Lösung ausgeäthert wird. Die nach Abdestillieren des Aethers hinterbleibende Säure wird nun am Besten in Wasser gelöst und diese Lösung von Neuem ausgeäthert. Die wässerige Lösung des Aetherrückstandes wird in der Kälte mit Calciumcarbonat*) behandelt, nach eintägigem Stehen abfiltriert, das Filtrat mit Aether extrahiert und hierauf erhitzt, aber weder zu lange noch zu stark. Dabei scheidet sich das basische Kalksalz der Säure $C_8H_8O_5$ ab. Das Filtrat wird am Besten nochmals mit Calciumcarbonat behandelt und wiederum

*) Von hier an kann man die Reinigung in der Weise vereinfachen, dass man nur etwa den vierten Teil der berechneten Menge Calciumcarbonat in die wässerige Lösung einträgt. Die vorhandenen Nebenproducte namentlich die Säure $C_8H_8O_5$ bilden nämlich eher ein Calciumsalz als die schwache Säure $C_8H_9NO_4$, welche nun durch erschöpfendes Ausäthern schon sehr rein gewonnen wird. Der Aetherrückstand braucht nur noch einmal aus der gleichen Menge heissen Wassers umkrystallisiert zu werden.

1) Sitzb. d. Ges. f. Morph. u. Physiol. in München. **19**. 32. (1903.)
2) Habilit.-Schrift. Tübingen 1896. B. **32**. 677. (1899.), H.-S. **28**. 1. (1899.), **44**. 397. (1905.), A. **315**. 174. (1901.)
3) W. Küster, B. **30**. 105. (1897.), **32**. 677. (1899.), H.-S. **28**. 34. (1899.)
4) H.-S. **26**. 314. (1899.), B. **35**. 1268. (1902.)

schwach erhitzt. Sobald kein Ausfall mehr stattfindet, wird die Lösung im Vacuum bei gewöhnlicher Temperatur eingedunstet und der Rückstand aus der etwa vierfachen Menge heissen Wassers umkrystallisiert. Es scheidet sich das Kalksalz der Verbindung $C_8H_9NO_4$ in zu Drusen vereinigten Nadeln ab, die im Vacuum getrocknet der Formel $(C_8H_8NO_4)_2Ca + H_2O$ entsprechen. Zersetzt man dies Kalksalz mit Salzsäure, schüttelt mit Aether aus und krystallisiert den Aetherrückstand zweimal aus der doppelten Menge heissem Essigester um, so erhält man das Imid der dreibasischen Hämatinsäure.

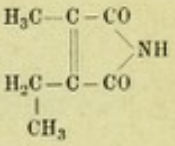
Eigenschaften.

Das Imid krystallisiert aus heissem Wasser in zu Drusen vereinigten Nadeln, ist in Wasser, Alkohol, Aether, namentlich in der Wärme sehr leicht löslich (in Wasser von Zimmertemperatur zu 4 pCt.), schmilzt, wenn bis 100° rasch erhitzt wird, bei 113,5—114,5°, gibt eine Reihe gut krystallisierender Salze. Ueber das Kalksalz siehe oben. Ueber Methyl- und Aethylester siehe Küster[1]).

Umwandlungen.

Beim Erhitzen mit alkoholischem Ammoniak im Rohr auf 130° und ebenso bei der trockenen Destillation entsteht aus dem Imid unter Kohlensäureabspaltung das Imid der zweibasischen Hämatinsäure (siehe unten). Beim Erhitzen mit 50 proc. Schwefelsäure oder mit Barytwasser (Küster) lässt es sich verseifen und in das Anhydrid der dreibasischen Hämatinsäure (§ 270) überführen. Diese Umwandlung lässt sich auch bewirken, indem man das Imid durch Salzsäure und Alkohol verestert, den Ester mit wässerigem Ammoniak bis zu seiner Lösung schüttelt, aus dem hierbei entstandenen Diammoniumsalz nach Ansäuern mit Schwefelsäure den Ester mit Aether extrahiert und verseift (Küster).

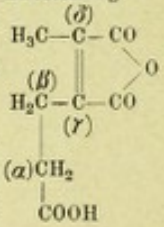
Imid der zweibasischen Hämatinsäure $C_7H_9NO_2$ (Methylaethylmaleinsäureimid). Ueber seine Gewinnung siehe oben. Es krystallisiert in farblosen Nadeln, ist in Aether und Alkohol leicht, in kaltem Wasser schwer löslich, reagiert neutral, erinnert in seinem Geruch an Juchtenleder. Smp. 68°. Es stimmt in allen Punkten mit dem synthetisch dargestellten überein.



Bei der Verseifung mit Barytwasser geht aus ihm das Bariumsalz einer Säure hervor, die in freiem Zustande nur als Anhydrid existiert. Dieses Anhydrid $C_7H_8O_3$, ein farbloses Oel (Sdp. 229—230°) ist mit dem ebenfalls synthetisch dargestellten Methylaethylmaleinsäureanhydrid $C_7H_8O_3$ identisch (Küster).

Entstehung.

270. **Anhydrid der dreibasischen Hämatinsäure $C_8H_8O_5$** (Anhydrid der γ-Penten-α, γ, δ-Tricarbonsäure). Ueber seine Gewinnung aus dem Imid siehe oben. Es wurde von Marchlewski[2]) auch durch Oxydation von Phylloporphyrin erhalten.



Es krystallisiert, aber in verschiedenen Formen, kann auch zunächst als Oel auftreten*). Es ist in Alkohol, Aether, Eisessig verhältnismässig

*) Diese Beobachtungen sowie kleine Differenzen im Schmelzpunkt lassen an die Existenz einer isomeren Form denken, in der die Anhydridbildung zwischen den Carboxylen 2 u. 3 eingetreten ist (Küster, H.-S. **54**. 502.).

1) H.-S. **54**. 501. (1907/08.) 2) J. f. pr. Ch. N.F. **65**. 161. (1902.)

leicht, in heissem Wasser sehr leicht löslich. Smp. 96—97°. Seine wässerige Lösung zersetzt die Carbonate der alkalischen Erden in der Kälte, beim Erhitzen der klaren Lösung scheiden sich die Salze (auf 4 Mol. $C_8H_8O_5$ 5 At. Metall und wechselnde Menge Wasser enthaltend) fast quantitativ ab. Ueber Methyl- und Aethylester und über Anilinanlagerungsprodukte siehe Küster[1])

Umwandlungen. Mit alkoholischem Ammoniak im zugeschmolzenen Rohr auf 100—110° erhitzt wird es in das Imid zurückverwandelt. Diese Umwandlung vollzieht sich auch sehr glatt, wenn man das Ammoniakanlagerungsprodukt des Methylesters des Anhydrids unter vermindertem Druck destilliert. Dabei wird je 1 Mol. Wasser und Ammoniak abgespalten und es entsteht der Ester des Imids, welcher mit 10 proc. Schwefelsäure auf dem Wasserbad verseift werden kann, ohne dass der Imidring angegriffen wird (Küster).

Mit alkoholischem Ammoniak im Rohr auf 130° erhitzt, geht es unter Kohlensäureabspaltung und Ersatz eines Sauerstoffatoms durch die Imidgruppe in das Imid der zweibasischen Hämatinsäure über (siehe oben). Bei der trockenen Destillation bildet sich aus dem Anhydrid Methylaethylmaleinsäurenanhydrid, bei der Oxydation mit Kaliumpermanganat in schwefelsaurer oder mit Natriumbichromat in essigsaurer Lösung entsteht Bernsteinsäure, bei der Reduction mit Zinkstaub und Essigsäure entstehen zwei stereoisomere, dreibasische, optisch inaktive gesättigte Säuren $C_8H_{12}O_6$ (Hämotricarbonsäure), die sich nur durch ihren Schmelzpunkt (175° und 141°) und Löslichkeitsverhältnisse unterscheiden (Küster[2]).

Gallenfarbstoffe.

Für die Abstammung der Gallenfarbstoffe von den Blutfarbstoffen, welche schon aus physiologischen Gründen nicht zu bezweifeln ist, sprechen auch die Resultate der chemischen Untersuchung, so z. B. die gleiche procentische Zusammensetzung von Bilirubin und Hämatoporphyrin, die Bildung von Hämatinsäure bei der Oxydation sowohl von Bilirubin als von Hämatin u. s. w. Die künstliche Umwandlung von Blutfarbstoff in Gallenfarbstoff ist noch nicht gelungen.

Vorkommen. 271. **Bilirubin** $C_{16}H_{18}N_2O_3$ (oder $C_{32}H_{36}N_4O_6$) findet sich an Kalk gebunden reichlich in den Gallensteinen, in geringer Menge und in freiem Zustande in der Galle von Menschen, Rindern, Pferden, Hunden, Katzen und allen Vertebraten, soweit die Untersuchungen reichen, auch im Blutserum von Pferden. Es kommt wohl stets im Dünndarminhalt vor und ist auch im icterischen Harn meist nachzuweisen. Die in alten Blutextravasaten aufgefundenen sog. Hämatoidinkrystalle bestehen meistens aus Bilirubin und schliesslich findet sich dieser Farbstoff zuweilen in Cystenflüssigkeiten z. B. der Mamma und der Struma.

1) H.-S. **54**. 501. (1907/08.) 2) A. **345**. 1. (1906.)

Die Zusammensetzung und die Eigenschaften des Bilirubins sind von Städeler[1]) festgestellt worden. Maly[2]) hat diese Angaben bestätigt und die Analysen von Hoppe-Seyler lassen gleichfalls keinen Zweifel an der Richtigkeit der Städeler'schen Formel.

Darstellung aus Gallensteinen.

Zur Darstellung benutzt man Gallensteine von Rindern oder Menschen und zwar, da die Ausbeute an reiner Substanz nur einige Prozente beträgt, grössere Mengen und verfährt nach Städeler und Küster[3]) in folgender Weise. Die fein gepulverten und durch ein engmaschiges Sieb getriebenen Concremente werden getrocknet, mit Aether erschöpft, mit Wasser so oft ausgekocht, bis sich dieses nur noch schwach färbt und mit 10 proc. Essigsäure extrahiert. Das durch langes Waschen mit Wasser von der Säure befreite Pulver wird wieder getrocknet und abermals mit Aether ausgezogen. Nun folgt eine durch Wochen fortgesetzte Behandlung mit kaltem 96 proc. Alkohol, wobei die Auslaugung durch kräftiges Schütteln unterstützt wird. Der Alkohol nimmt dabei einen grünen Farbstoff fort. Die wieder getrocknete Masse wird zur Entfernung des Choleprasin (siehe § 274) mit heissem Eisessig behandelt, darauf von der Essigsäure durch Wasser, vom Wasser durch Alkohol befreit, getrocknet und im Soxhlet'schen Apparat mit Chloroform extrahiert. Aus der Chloroformlösung scheidet sich Bilirubin in Krusten ab, während ausser weiteren Mengen von Bilirubin, die sich aus der eingeengten Chloroformlösung noch abscheiden, ein durch Einwirkung von Chloroform aus dem Bilirubin künstlich entstandener chlorhaltiger Körper in Lösung bleibt. Zur Reinigung wird das Bilirubin noch ein zweites und drittes Mal derselben Behandlung mit Chloroform unterworfen, dann erschöpfend mit Alkohol extrahiert und zuletzt aus der Chloroformlösung durch Fällen mit Alkohol als amorphes Pulver erhalten oder aus kochendem Dimethylanilin umkrystallisiert.

Isolierung aus Flüssigkeiten.

Um Bilirubin aus Flüssigkeiten, welche gleichzeitig Blutfarbstoff, Methämoglobin, Urobilin u. s. w. enthalten, zu isolieren, fällt man mit einer mässigen Quantität Kalkmilch unter gutem Umschütteln, leitet sofort, um die Zersetzung von Blutfarbstoff oder Methämoglobin zu beschränken, Kohlensäure ein und filtriert. Den ausgewaschenen Niederschlag bringt man in Alkohol, fügt Chloroform und dann Essigsäure bis zur Uebersättigung des Kalks hinzu, filtriert und scheidet das Chloroform durch Zufügen von Wasser ab. Die Chloroformlösung wird abgegossen, durch ein trocknes Filter filtriert und verdunstet. Das zurückbleibende Bilirubin kann mit etwas Alkohol und Aether gewaschen werden. Quantitativ genau ist diese Be-

1) A. **132**. 323. (1864.)
2) Sitzungsber. d. Wien. Akad. **57**. II. 95. (1868.)
A. **175**. 76. (1875.)
3) H.-S. **26**. 314. (1899.), **47**. 294. (1906), B. **35**. 1268. (1902.)

stimmung nicht, sie gibt meist viel zu niedrige Werte, weil die Kalkfällung nicht vollkommen ist, auch bei der weiteren Behandlung etwas Bilirubin zersetzt wird. Die ganze Procedur muss so schnell wie möglich ausgeführt werden. Hämatin wird aus Flüssigkeiten durch den Kalk wie Bilirubin gefällt und gelangt mit letzterem in die Chloroformlösung. Hämatin findet sich aber im Organismus nicht, höchstens im Magen und Darmcanal.

Eigenschaften. Reines Bilirubin krystallisiert aus heissem Dimethylanilin beim Erkalten meist in breiten, an beiden Enden schief abgeschnittenen Säulen und auch in charakteristischen Keulenformen (Küster). Aus Chloroform scheidet es sich beim Verdunsten in rhombischen Tafeln und Prismen ab u. z. sind dieselben schöner ausgebildet, wenn die Lösung noch nicht ganz rein ist. Reines krystallisiertes Bilirubin hat eine schöne braunrote Farbe, noch unreines, amorphes stellt ein orangefarbiges Pulver dar, dem Schwefelantimon in der Farbe ähnlich. Bilirubin ist völlig unlöslich in Wasser und Glycerin, sehr wenig löslich in Aether, Benzol, Schwefelkohlenstoff, Amylalkohol, etwas löslicher in Alkohol. In Dimethylanilin löst es sich wie 1 : 100, in heissem sehr viel reichlicher. Die Löslichkeit in Chloroform ist wie 1 : 600 angegeben worden, indessen ist sie schwer zu bestimmen, da grosse Neigung zu übersättigten Lösungen besteht (Orndorff u. Teeple[1]). Alle Lösungen haben gelbe bis bräunlich-rote Farbe. In einer 1,5 cm dicken Schicht ist noch bei 500 000 facher Verdünnung gelbliche Färbung zu erkennen. In alkalischen Flüssigkeiten löst es sich leicht auf und wird, soweit es nicht zersetzt ist, durch Salzsäure aus diesen Lösungen unverändert

Verbindungen: mit Alkalien. wieder abgeschieden. Da die Alkaliverbindungen in Chloroform unlöslich sind, kann man einer Chloroformlösung das Bilirubin durch verdünntes Alkali entziehen (Unterschied vom Lutein). Aus einer conc. wässerigen Lösung wird durch conc. Natronlauge Bilirubinnatrium ausgefällt. Bili-

mit Ca. rubincalcium fällt auf Zusatz von Chlorcalcium zu einer ammoniakalischen Bilirubinlösung als rostfarbiger, flockiger Niederschlag aus, der über Schwefelsäure im Vacuum getrocknet metallisch glänzend dunkelgrün erscheint, zerrieben ein dunkelbraunes Pulver $(C_{16}H_{17}N_2O_3)_2Ca$ darstellt und

mit andern Metallen. in Wasser, Alkohol, Aether und Chloroform unlöslich ist. Auch durch Chlorbarium, Bleizucker, Bleiessig und Silbernitrat wird eine ammoniakalische Bilirubinlösung gefällt, die Silberverbindung bildet bräunlich-violette Flocken. Silberoxyd wird durch Bilirubin nicht reduciert, auch beim Kochen nicht.

Azoverbindungen. Bilirubin bildet Monazo- und Diazoverbindungen z. B. mit saurem Acetophenondiazoniumsulfat ein Gemisch von Acetophenondisazobilirubin $C_{32}H_{34}N_4O_6 \cdot 2\ C_8H_7N_2O$, mikroskopische prismenförmige pleochroitische Nädelchen, welche schon von Pröscher[2]) erhalten worden sind und Aceto-

1) Salkowski-Festschrift. Berlin. Hirschwald. 1904. S. 289.
2) H.-S. **29**. 411. (1900.)

phenonmonazobilirubin, welche am besten durch Schwefelkohlenstoff von einander getrennt werden können (Orndorff u. Teeple).

Spectrum.

Bilirubinlösungen zeigen keine Absorptionsstreifen, auch nicht im violetten und ultravioletten Teil des Spectrums. Setzt man aber einer verdünnten Lösung von Bilirubinalkali in Wasser Ammoniak im Ueberschuss und Chlorzinklösung hinzu, so wird sie zunächst tiefer orange, dann olivenbraun und grün und zeigt einen Streifen im Rot zwischen C und D nahe an C. Zum Nachweis des Bilirubin geeignet (Hammarsten[1]).

Umwandlungen.

Wenn man Bilirubin in alkalischer Lösung auf flachen Tellern der Luft aussetzt, so wird die Lösung grün durch Bildung von Biliverdin. Vermischt man eine schwach alkalische oder neutrale Bilirubinlösung mit nicht zu verdünnter Salpetersäure, die etwas salpetrige Säure enthält (wie dies gewöhnlich der Fall ist), so geht die Farbe der Flüssigkeit zunächst in Grün, dann in Blau, Violett, Rot und endlich in Gelb über. Auf dieser Reaction beruhen die Gmelin'sche und Hammarsten'sche Reaction (S. 372).

Bilicyanin. Choleletin.

Von den hierbei auftretenden Farbstoffen wird der blauviolette Bilicyanin[2]) (Choleverdin, Cholecyanin[3]) und der rotgelbe Choletelin[4]) genannt. Eine Reindarstellung dieser Körper ist keineswegs gelungen (Maly fand für das Choletelin C 55,5, H 5,3 pCt.), doch kennt man durch die Untersuchungen von Jaffe[5]), Heynsius und Campbell, Stokvis ihre spectroskopischen Eigenschaften. Die stark sauren violettblauen Bilicyaninlösungen zeigen 2 oder, wenn die Oxydation schon etwas vorgeschritten ist, 3 Streifen, von denen die beiden ersten vor D und zwischen D u. E liegen, der dritte (also erst bei weiterer Oxydation auftretende) vor F. Bei neutraler Reaction sind die Lösungen des Bilicyanin blaugrün oder stahlblau mit roter Fluorescenz und bei alkalischer grün. Die sauren gelbbraunen Lösungen des Choletelin zeigen nur einen Streifen u. z. vor F.

Weitere Umwandlungen.

Bei der Oxydation mit Natriumbichromat in Eisessig entsteht Hämatinsäure (Küster), bei der Reduction mit Zinkstaub oder nascierendem Jodwasserstoff in kleinen Mengen ein Körper, welcher wahrscheinlich Hämopyrrol ist (Orndorff u. Teeple). Durch Einwirkung von Natriumamalgam oder von Zinn und Salzsäure bildet sich nach Maly[6]) Hydrobilirubin (§ 273). Beim Erhitzen auf Platinblech entwickelt sich Pyrrolgeruch und die Dämpfe röten einen mit Salzsäure angesäuerten Fichtenspan. Beim Verdunsten einer Lösung von Bilirubin in Chloroform selbst im Vacuum unter Lichtabschluss tritt ein grün gefärbtes in Eisessig lösliches Umwandlungsprodukt auf (Küster).

Nachweis.

Zum Nachweis des Bilirubin dienen folgende Reactionen:

---

1) Lehrbuch der physiol. Chemie. 6. Aufl. 1907. S. 322.
2) Heynsius u. Campbell, Pfl. A. **4**. 497. (1871.)
3) Stokvis, Maandblad v. d. Genootsch. teer bevord van Nat. gen. etc. Amsterdam 1870. S. 10. C. f. med. W. 1872. S. 785 u. 1873. S. 449.
4) Maly, Sitzungsb. d. Wien. Akad. **59**. II. 597. (1869.)
5) C. f. med. W. 1868. S. 241. 6) A. **163**. 77. (1872.)

1. Gmelin's Probe. Bringt man in ein Cylinderglas eine wässerige Bilirubin- (oder Biliverdin-) lösung und, am Besten mit einer Pipette, darunter eine Salpetersäure (spec. Gew. mindestens 1,4), die etwas salpetrige Säure enthält, mit der Vorsicht, dass die Flüssigkeiten sich nicht zu sehr an der Grenze mischen, so bildet sich eine Farbenskala in der Reihenfolge aus, dass unten zunächst an der Salpetersäure gelbrote, darüber rote, dann violette, darüber blaue und zu oberst grüne Färbung erkennbar wird. Die Reaction gelingt noch gut bei einer Verdünnung von 1 : 80 000. Eiweiss stört diese Reaction nicht, mässiger Gehalt an Urobilin im Harne oder von Lutein im Blutserum ebenfalls nicht erheblich, wohl aber die dunkle Färbung von Methämoglobin oder Hämatin.

2. Hammarsten's Probe[1]). Von einem Säuregemisch, welches aus 1 T. 25 proc. Salpetersäure und 19 T. 25 proc. Salzsäure besteht, durch Stehen gelblich geworden sein muss und sich mindestens 1 Jahr hält, mischt man vor jedesmaligem Gebrauch 1 T. mit 4 T. Alkohol. Setzt man zu einigen ccm dieser sauren, farblosen Flüssigkeit einige Tropfen Bilirubinlösung, so entsteht sofort eine dauerhafte schön grüne Farbe. Durch Zusatz von mehr Säuregemenge zu dieser grünen Flüssigkeit kann man sehr leicht nacheinander und beliebig langsam sämtliche Farben der Gmelin'schen Reaction erhalten.

3. Das S. 371 oben beschriebene spectroskopische Verhalten nach Zusatz von Ammoniak und Chlorzink zu der verdünnten Bilirubinalkalilösung.

Nachweis im Harn. Ueber den Nachweis von Gallenfarbstoffen im Harn siehe „Untersuchung des Harns".

Vorkommen. 272. **Biliverdin** $C_{16}H_{18}N_2O_4$ (oder $C_{32}H_{36}N_4O_8$). Das Biliverdin, dessen Formel von Maly[2]) festgestellt wurde, ist ein Oxydationsproduct des Bilirubin und findet sich neben diesem in der Galle vieler Tiere und reichlich in den Rändern der Placenta der Hündin; ferner im Darminhalt, im Erbrochenen und icterischen Harn.

Darstellung aus Bilirubin. Zur Darstellung aus Bilirubin lässt man nach Städeler eine akalische Lösung in flachen Gefässen längere Zeit an der Luft stehen, fällt dann mit Salzsäure, wäscht den abfiltrierten Niederschlag mit Wasser, löst ihn in Alkohol und lässt das alkoholische Filtrat verdunsten. Küster erhielt indessen auf diesem Wege keinen einheitlichen Körper.

Darstellung aus Hundeplacenta. Um es aus Hundeplacenta zu gewinnen, wäscht man diese zunächst mit Wasser gut aus, extrahiert dann mit einer Mischung von Chloroform und Alkohol, dampft das Filtrat ein, zieht den Rückstand mit kaltem Alkohol aus, filtriert und verdunstet bei mässiger Wärme zur Trockne.

Eigenschaften. Das Biliverdin ist ein amorpher, dunkelgrüner Körper. Beim Ver-

1) Maly's Jbr. 1898. S. 310. 2) A. **175**. 76. (1875.)

dampfen einer Lösung in Eisessig erhält man unvollkommene, grün gefärbte, rhombische Plättchen mit abgestumpften Ecken. Es ist in Wasser, Aether und Chloroform unlöslich, in Alkohol leicht löslich. In selbst sehr verdünnten Alkalien löst es sich und wird durch Kalk-, Baryt- und Bleisalze, sowie durch Säuren wieder gefällt. Auch conc. Schwefelsäure löst es mit grüner Farbe, Zusatz von Wasser scheidet es unverändert ab. Seine Lösungen zeigen keine Absorptionsstreifen.

Durch Salpetersäure erfährt es die gleichen Veränderungen wie Bilirubin (Umwandlung der Farbe in Blau, Violett, Rot und Gelb), durch Oxydation mit Natriumbichromat in eisessigsaurer Lösung entsteht Hämatinsäure. Durch schweflige Säure wird eine alkalische Lösung von Biliverdin, besonders schnell beim Erwärmen, gelb gefärbt, und diese Lösung verhält sich gegen Salpetersäure der Bilirubinlösung sehr ähnlich. Durch Natriumamalgam oder Zinn und Salzsäure wird es ebenso wie Bilirubin in Hydrobilirubin (§ 273) verwandelt (Maly[1]). Umwandlungen.

Zum Nachweis dienen die Gmelin'sche und die Hammarsten'sche Probe (S. 372). Vom Bilirubin unterscheidet es sich durch seine grüne Farbe, seine Löslichkeit in Alkohol und Unlöslichkeit in Chloroform. Nachweis.

273. Hydrobilirubin $C_{32}H_{40}N_4O_7$, der von Maly[1]) durch Reductionsmittel (Natriumamalgam) aus Bilirubin und Biliverdin erhaltene Körper, ist ein rotbraunes Pulver, sehr wenig löslich in Wasser, leicht löslich in Alkohol, Chloroform und in Alkalien, durch Säuren wieder fällbar. Es stimmt auch in seinen spectroskopischen und Fluorescenzerscheinungen mit dem Urobilin (§ 278) überein und wurde von Maly für identisch mit Urobilin gehalten. Die Identität erscheint ausgeschlossen, da das Hydrobilirubin 9—10 pCt., das Urobilin nur etwas über 4 pCt. Stickstoff enthält (Garrod u. Hopkins[2]). Indessen ist zu bemerken, dass die Reinheit der Substanzen nicht feststeht.

274. **Andere Gallenfarbstoffe.** Weitere Gallenfarbstoffe sind besonders aus Gallensteinen gewonnen, aber noch ungenügend untersucht.

Choleprasin wurde von Küster[3]) in Gallensteinen vom Rind aufgefunden, aber noch nicht in reinem Zustande erhalten.

Zu seiner Gewinnung verfährt man zunächst wie auf S. 369 angegeben ist. Die Essigsäure wird im Vacuum zum grössten Teil abdestilliert und der Rückstand in viel ein wenig Ammoniak enthaltendes Wasser gegossen. Die dabei entstehende schlammige Ausscheidung wird abfiltriert, säurefrei gewaschen und getrocknet.

Es unterscheidet sich in seiner (allerdings auch nicht feststehenden) Zusammensetzung wesentlich von Bilirubin, auch enthält es Schwefel. Feucht löst es sich leicht in Eisessig, nach dem Trocknen nur äusserst schwierig; es ist unlöslich in Alkohol. Es löst sich in Ammoniak.

Bei der Destillation mit Zinkstaub gibt es die Pyrrolreaction, bei der Oxydation mit Chromsäure aber keine Hämatinsäure.

---

1) A. **163**. 77. (1872.)
2) J. of Ph. **22**. 451. (1898.)
3) H.-S. **47**. 322. (1906.)

Bilifuscin. Unter diesem Namen wurden von Brücke[1]) aus menschlicher Galle, von Städeler[2]) aus Gallensteinen, von v. Zumbusch[3]) aus menschlichen Gallensteinen dargestellte Farbstoffe beschrieben, welche aber in ihren Eigenschaften nicht übereinstimmen und auch nicht als reine Substanzen angesehen werden können. Das Städeler'sche Präparat gab die Gmelin'sche Probe. Die beiden andern taten es nicht. Der Körper von v. Zumbusch lieferte bei der Zersetzung mit rauchender Schwefelsäure kein Ammoniak.

Biliprasin (Städeler) ist identisch mit Biliverdin, vergl. darüber auch die Arbeiten von Dastre und Floresco[4]).

Bilihumin hat Städeler den nach der Behandlung der Gallensteine mit Wasser, Aether, Salzsäure, Chloroform und Alkohol und ammoniakalischem Wasser bleibenden Rückstand genannt.

275. **Den Gallenstoffen nahestehende Farbstoffe** sind in den Gehäusen von Mollusken von Fr. N. Schulz[5]), welcher ältere Angaben von Krukenberg zum Teil bestätigen konnte, nachgewiesen worden.

Roter Farbstoff aus Haliotis rufescens, unlöslich in Chloroform, leicht löslich in verdünnten wässerigen und alkoholischen Säuren, aus der sauren Lösung durch Phosphorwolframsäure fällbar. Noch nicht isoliert. Gmelin'sche Reaction (S. 372) bei zweckmässiger Anordnung positiv, doch zeigen die dabei entstehenden Umwandlungsproducte keine Spectralerscheinungen. Bei der Reduction mit Natriumamalgam entsteht Hydrobilirubin (§ 273).

Grüner Farbstoff (daneben ist auch ein blauer vorhanden) aus Haliotis californiensis ebenfalls in verdünnten Säuren löslich und durch Phosphorwolframsäure fällbar. Nicht isoliert. Sehr schöne Gmelin'sche Probe (S. 372). Die dabei auftretenden Umwandlungsproducte zeigen ebenso wie der ursprüngliche grüne Farbstoff Spectralerscheinungen, welche aber mit dem des Bilicyanin und Choletelin (S. 371) nicht übereinstimmen. Eine Bildung von Hydrobilirubin lässt sich nicht mit Sicherheit nachweisen. Beim Schmelzen mit Kali entstehen in reichlicher Menge Indol und Pyrrol. Ueber die Farbstoffe aus andern Molluskengehäusen siehe bei Krukenberg.

Phylloerythrin (Cholohämatin, Bilipurpurin).

Vorkommen.

276. Auf Vorkommen und spectrale Eigenschaften dieses Farbstoffs in der Ochsengalle hat zuerst Hoppe-Seyler[6]) aufmerksam gemacht. Es wurde dann von Mac Munn[7]) in Schaf- und Rindergalle aufgefunden und als Cholohämatin beschrieben, von Hammarsten[8]) in der Galle des Moschusochsen und Nilpferdes gefunden, später in krystallisiertem Zustande von Loebisch u. Fischler[9]) aus Rindergalle und von Marchlewski[10])

1) Allg. Wien. Ztg. 1859. 335.
Simony, Wien. Akad. Sitzb. **73**. III. 18. Mai 1876.
2) A. **132**. 323. (1864.)
3) H.-S. **31**. 446. (1900/01).
4) A. de Ph. [5] **9**. 725 u. 737. (1897.) 5) Z. f. allg. Physiol. **3**. 91. (1903.)
6) Die früheren Auflagen dieses Handbuches z. B. 2. Aufl. (1865.) S. 165.
7) J. of Ph. **6**. 22. (1885.)
8) Lehrb. d. physiol. Ch. 6. Aufl. 1907. S. 325, H.-S. **43**. 111. (1904/08.)
9) M. **24**. 335. (1903.) 10) H.-S. **41**. 33. (1904.)

aus Rinderserum dargestellt. An der Identität dieser Farbstoffe lässt sich nach den Untersuchungen von Marchlewski[1]) nicht zweifeln. Marchlewski[2]) stellte auch die Abhängigkeit des Auftretens dieses Farbstoffs von dem Chlorophyllgehalt der Nahrung und damit seine Beziehung zum Chlorophyll fest.

Analysiert ist bisher nur das „Bilipurpurin". Es hatte die Zusammensetzung $C_{32}H_{34}N_4O_5$ (eine Analyse). Zusammensetzung.

Es findet sich in den genannten Gallen als Chromogen und entsteht aus diesem durch Einwirkung des Luftsauerstoffs (Gamgee[3]). Chromogen.

Darstellung aus frischer Rindergalle nach Loebisch und Fischler. Darstellung. Grössere Mengen (aus 100 Litern wurden nur 0,5 g erhalten) werden auf dem Wasserbad zum dicken Syrup eingedampft. Der Rückstand wird mit Alkohol zu einem Brei angerührt und in kleinen Portionen in Alkohol eingetragen. Die nach 8 — 12 stündigem Stehen abdecantierte alkoholische Flüssigkeit wird verdunstet, der Rückstand in Wasser gelöst und nach Ansäuern mit verdünnter Schwefelsäure mit Aether geschüttelt. Der rot gefärbte ätherische Auszug wird nach völligem Trocknen über Calciumchlorid abfiltriert und verdunstet und die hinterbleibende braune fettglänzende, krystallinische Masse nach Erschöpfen mit Ligroin und mit Alkohol wiederholt aus heissem Chloroform umkrystallisiert.

Dunkelviolette, metallisch glänzende Schüppchen (doppeltbrechende Rhomben oder Rhomboide von 103° bezw. 77°). Löslich in Chloroform, heissem Amylalkohol und heissem Eisessig, unlöslich in Aether und Alkohol, kaum löslich in heissem Alkohol. Die Lösungen sind dichroitisch, sie erscheinen im durchfallenden Licht dunkel rotviolett, im reflectierten dunkel saftgrün, in starken Verdünnungen schwach bordeauxrot bezw. gelbgrün. Bis 330° erhitzt verändert sich der Farbstoff scheinbar nicht. In concentrierten Mineralsäuren löst es sich mit grasgrüner Farbe, nach einigem Stehen erscheinen die Lösungen in durchfallendem Licht indigoblau, in reflectiertem purpurrot. Aus ihnen lässt sich das Bilipurpurin unverändert wiedergewinnen. Concentrierte wässerige Alkalien lösen den Farbstoff sehr schwer, verdünnte nur wenig leichter, in der Wärme rascher als in der Kälte, und wirken verändernd auf ihn ein. Durch Oxydationsmittel z. B. durch Brom wird der in Chloroform gelöste Farbstoff in eine grünbraune Substanz übergeführt. Eigenschaften.

Bei der spectroskopischen Untersuchung sieht man 4 Streifen (ausserdem 2 Streifen im Ultraviolett), welche besonders von Marchlewski (siehe die citierten Arbeiten) genau beschrieben worden sind. Spectrum.

---

1) H.-S. **43**. 207 u. 464. (1904/05.)
2) H.-S. **41**. 33. (1904.), **45**. 466. (1905.)
3) Die physiol. Chemie der Verdauung. Leipzig 1897. S. 346.

Andere Chlorophyllderivate.

Zwei andere Derivate des Chlorophyll wurden von Schunk[1]) aus den Fäces von mit Gras gefütterten Rindern isoliert. Von ihnen scheint das eine mit dem Phylloxanthin identisch zu sein, das andere ist dem Phyllocyanin sehr ähnlich und wird Skatocyanin genannt.

Harnfarbstoffe.

Vorkommen.

277. **Urochrom**, der Hauptfarbstoff des Harns, früher von Thudichum u. a., wenn auch nicht in reinem Zustande, dargestellt, ist von Garrod[2]) genauer untersucht und in folgender Weise dargestellt worden:

Darstellung nach Garrod.

Der Harn (ca. 1 Liter) wird gelinde erwärmt, mit Ammonsulfat gesättigt, filtriert und das Filtrat mit absol. Alkohol (auf 10 Vol. 2—3 Vol. absol. Alkohol) versetzt. Die sich abscheidende alkoholische Schicht, welche den Farbstoff enthält, wird in viel Wasser gegossen, durch Eintragen von Ammonsulfat bei gelinder Wärme wieder zur Abscheidung gebracht, durch Aufgiessen auf festes Ammonsulfat und schwaches Erwärmen entwässert und nun unter Erhaltung der alkalischen Reaction durch zeitweiligen Zusatz von Ammoniak auf dem Wasserbade eingedampft. Den braunen Rückstand wäscht man zur Entfernung von Indoxylschwefelsäure schnell mit Essigäther und lässt ihn dann einige Stunden unter absol. Alkohol stehen. Die erhaltene alkoholische Lösung wird bis zur starken Orangefärbung eingeengt, in mindestens das gleiche Vol. Aether eingegossen, der ausgeschiedene Farbstoff abfiltriert, mit Aether gewaschen, nach dem Trocknen mit Chloroform und zuletzt mit absol. Alkohol gewaschen. Die Darstellung ist mit grossem Verlust verbunden.

Dieses Präparat, welches nicht analysiert worden ist, kann seiner Darstellung nach kein einheitlicher Körper sein.

Nach Bondzynski[3]) und seinen Mitarbeitern ist Urochrom eine Proteinsäure, welche in die Gruppe der Alloxyproteinsäuren (siehe später) gehört und von allen anderen Harnproteinsäuren durch ihre Fällbarkeit durch Kupferacetat getrennt werden kann.

Die Isolierung aus dem Harn geschieht nach Dombrowski[3]) in folgender Weise:

Darstellung nach Dombrowski.

Der Harn wird mit einer ammoniakalischen Lösung von Barium- und Calciumacetat gefällt (auf 10 Liter Harn eine Lösung von 86 g Calciumacetat und 53 g Bariumacetat und 43 ccm 21 proc. Ammoniak), nach mehrstündigem Stehen filtriert und das (von Phosphorsäure, Schwefelsäure und fast aller Harnsäure freie) Filtrat nach Neutralisation mit Essigsäure mit einer durch Ammoniak neutralisierten Lösung von Kupferacetat versetzt. Der bald entstehende amorphe grüngraue Niederschlag wird nach 24 Stunden abfiltriert, ausgewaschen, in Wasser zerteilt und bei 50° mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Nach Entfernung des Schwefelwasserstoffs im Vacuum in einer Kohlensäureatmosphäre unter gelindem Erwärmen wird die filtrierte Flüssigkeit mit einem kleinen Ueberschuss von Barytwasser versetzt, schnell

1) Proc. royal Soc. **69**. 307. (1901.), Ref. Maly's Jbr. 1902. 481.
2) Proc. roy. Soc. **55**. 394. (1894.), Huppert, Analyse. 10 Aufl. S. 506.
3) Bondzynski, Dombrowski u. Panek, H.-S. **46**. 110. (1905.) Dombrowski, H.-S. **54**. 188. (1907/08.)

filtriert, nach Einleiten von Kohlensäure wieder filtriert, im Vacuum concentriert und mit Alkohol gefällt. Aus dem so gewonnenen Bariumsalz wurde das Silbersalz dargestellt.

Zusammensetzung. Die Zusammensetzung des so dargestellten Urochroms steht noch nicht fest. Vorläufige Analysen des freien Urochroms und des Silbersalzes ergaben C 43,09; H 5,14; N 11,15; S 5,09, wobei noch zu bemerken, dass wohl bei der Fällung durch Kupferacetat eine Reduction des Kupfers zu Kupferoxydul auf Kosten des Urochroms vor sich gegangen ist. Bemerkenswert ist der hohe Schwefelgehalt.

Eigenschaften. Dunkelgelbes Pulver, in Wasser löslich mit saurer Reaction, in absolutem Alkohol schwer löslich, in Aether, Chloroform, Benzol unlöslich. Von den amorphen Salzen lösen sich das Natrium- und Bariumsalz in Wasser, aber nicht in Alkohol. Die wässerige Lösung des Urochroms wird gefällt durch Kupfer-, Quecksilber- und basisches Bleiacetat, Eisenchlorid, Phosphorwolfram- und Phosphormolybdaensäure, nicht durch Jodjodkalium und Quecksilberjodidjodkalium und fast gar nicht durch Quecksilberchlorid. Durch Mineralsäuren färbt sie sich erst beim Erwärmen rotbraun. Mit Natronlauge und Nitroprussidnatrium zeigt sie eine wieder verschwindende purpurrote Färbung.

Eine Urochromlösung zeigt keinen Absorptionsstreifen und keine Fluorescenz, auch nicht auf Zusatz von Chlorzink oder Ammoniak.

Umwandlung. Das Urochrom ist zersetzlich. Alkalilaugen spalten schon bei Zimmertemperatur Schwefel ab (Abscheidung von Schwefelblei auf Zusatz von Bleiacetat). Auf Zusatz von einer verdünnten ferricyankaliumhaltigen Eisenchloridlösung entsteht sofort blaue Farbe und Abscheidung von Berliner Blau. Jodsäure wird zu Jodwasserstoffsäure reduciert.

Bei der trockenen Destillation von Urochromcalcium entwickeln sich Dämpfe, welche den Geruch und die Reactionen des Pyrrol geben. Hämopyrrol entsteht unter denselben Bedingungen, wie sie zu seiner Bildung aus Hämin führen (§ 268), nicht.

Beim Kochen mit Salzsäure wird ein schwefelhaltiges Melanin abgespalten.

Näheres speciell auch über die Bindungsverhältnisse des Schwefels im Urochrom siehe bei Dombrowski.

Verhalten zu Aldehyd. Eine alkalische Lösung wird durch Aldehyd nicht verändert. Garrod gab an, dass sein Urochrom durch dies Reagens in einen dem Urobilin ähnlichen Farbstoff (Absorptionsstreifen, grüne Fluorescenz auf Zusatz von ammoniakalischem Zinkchlorid) umgewandelt werde.

Vorkommen. 278. **Urobilin**, zuerst von Jaffe[1]) dargestellt und benannt, später besonders von Garrod und Hopkins[2]) untersucht, findet sich in jedem Harn

1) Virch. A. **47**. 405. (1869.)
2) J. of Ph. **20**. 112. (1896.), **22**. 451. (1898.)

(in ganz frischem hauptsächlich oder ausschliesslich als Chromogen, Urobilinogen) (§ 279). Reichlicher kommt es im Harn vor bei Erkrankungen der Leber und Gallenwege, bei Cirkulationsstörungen (Stauungsleber), bei vielen fieberhaften Infectionskrankheiten und bei manchen Vergiftungen (Urobilinurie). Auch im unteren Dünndarm, Dickdarm und in den Fäces (Stercobilin) finden sich Urobilin und Urobilinogen von der Geburt an, nicht im Meconium. Beide sind normaler Weise auch stets in der Galle nachweisbar. Unter pathologischen Verhältnissen ist es auch in serösen Flüssigkeiten und in der Lymphe, sehr selten im Blut gefunden worden. Magnus-Levy[1]) fand es in der autolysierten Leber. Im Harn und in Fäces von Kaninchen fehlt es nach Fromholdt[2]).

Entstehung. Es entsteht jedenfalls aus Gallenfarbstoff.

Zusammensetzung. Die mittlere Zusammensetzung des Urobilin (aus Harn und aus Fäces) ist C 63,58; H 7,84; N 4,11 pCt. (Garrod und Hopkins).

Darstellung aus Harn nach Jaffe. Zur Darstellung aus Harn hat Jaffe folgendes Verfahren angegeben: Man fällt eine grosse Menge Harn mit Bleiessig aus, kocht den sorgfältig mit Wasser gewaschenen und getrockneten Niederschlag mehrmals mit Alkohol aus und zerlegt ihn darauf mit Schwefelsäure enthaltendem absoluten Alkohol. Die Lösung wird mit Ammoniak übersättigt, filtriert, das Filtrat mit gleichem Vol. Wasser verdünnt und mit Chlorzink versetzt. Die dabei entstehende meist braunrote Fällung wird mit kaltem, dann mit heissem Wasser bis zum Verschwinden der Chlorreaction ausgewaschen, mit Alkohol ausgekocht, bei gelinder Wärme getrocknet, pulverisiert und in wässerigem Ammoniak gelöst, die filtrierte Flüssigkeit mit Bleizucker gefällt. Der in der Regel intensiv rot gefärbte Niederschlag wird mit kaltem Wasser gewaschen (aber nicht zu lange), getrocknet und mit schwefelsäurehaltigem Alkohol zerlegt. Die so erhaltene saure Lösung wird mit dem halben Volum Chloroform vermischt und mit einem grossen Ueberschuss von Wasser geschüttelt. Die klar abgesetzte Chloroformlösung schüttelt man schnell noch ein oder zwei Mal mit nicht zu viel Wasser, destilliert das Chloroform ab, wäscht den Rückstand mit wenig Aether, löst wieder in Chloroform, filtriert und destilliert das Chloroform ab. Bei urubilinreichen Harnen kann man direkt den Harn mit nicht zu geringem Ueberschuss von Ammoniak versetzen, filtrieren, das Filtrat mit einer concentrierten Lösung von Chlorzink ausfällen und nun weiter verfahren wie oben beschrieben.

Das aus urobilinreichen Harnen gewonnene Urobilin scheint reiner zu sein, als das aus normalen erhaltene.

Darstellung aus Harn nach Méhu u. a. Ferner kann man die Darstellung aus Harn unter Benutzung der zuerst von Méhu[3]) beobachteten Eigenschaft des Urobilins, durch Sättigung des Harns mit Ammonsulfat ausgefällt zu werden, sowie einiger von Fr. Müller

1) B. Ph. P. **2**. 278. (1902.) 2) H.-S. **53**. 340. (1907.)
3) J. de Ph. Ch. [4.] **28**. 159. (1878.)

und Huppert[1]) gemachter Vorschläge in folgender Weise vornehmen. Der Harn wird mit alkalischer Chlorbariumlösung (auf 100 Tl. Harn 30 Tl. einer Mischung von 1 Vol. gesättigter Chlorbariumlösung und 2 Vol. gesättigtem Barytwasser) zur Entfernung von Harnsäure und Hämatoporphyrin versetzt, filtriert, sodann wird aus dem Filtrat durch conc. Natriumsulfatlösung der überschüssige Baryt entfernt, die Flüssigkeit mit Schwefelsäure nahezu neutralisiert, filtriert und mit Ammonsulfat gesättigt. Der Niederschlag wird auf dem Filter gesammelt, mit gesättigter Ammonsulfatlösung gewaschen und, nachdem er lufttrocken geworden, nach Zusatz von verdünnter Schwefelsäure mit einer Mischung von 1 Tl. Aether und 2 Tl. Alkohol in der Wärme ausgezogen. Die abfiltrierte Lösung wird mit Chloroform gemischt, im Scheidetrichter mit ungefähr dem doppelten Volumen Wasser geschüttelt und zur Abscheidung der Chloroformlösung stehen gelassen. Man lässt jetzt die Chloroformlösung ab, wäscht sie mit dem doppelten Volumen Wasser und entzieht ihr das Urobilin durch Schütteln mit ammoniakalischem Wasser. Aus der ammoniakalischen Lösung vertreibt man das Ammoniak in der Wärme. Andere Methoden sind von Garrod und Hopkins angegeben.

Darstellung aus Fäces.

Zur Darstellung aus menschlichen Fäces verrührt man diese mit Alkohol, filtriert nach etwa 10 Stunden ab, verjagt einen Teil des Alkohols und schüttelt wiederholt mit grösseren Mengen Petroläther (zur Entfernung von anderen Farbstoffen, Fett, Indol, Skatol), so lange sich der Petroläther noch merklich färbt (Fromholdt). Die Flüssigkeit wird nun mit Ammoniak und Zinkchlorid gefällt und der Niederschlag weiter behandelt, wie Jaffe für die Darstellung des Urobilin aus Harn angibt. Ein anderes Verfahren ist von Garrod und Hopkins[2]) angegeben.

Eigenschaften.

Das Urobilin ist bis jetzt nur amorph erhalten worden, zeigt rote, rotbraune oder rotgelbe Farbe, löst sich wenig in Wasser oder Aether, leicht in Alkohol, Amylalkohol oder Chloroform, auch in wässerigen Alkalilösungen oder Ammoniak, aus denen es durch Säuren wieder gefällt wird. Es erscheint in seinen neutralen alkoholischen Lösungen je nach der Concentration braungelb, gelb oder rosa mit grüner Fluorescenz, in alkalischen Lösungen mehr gelb, in sauren alkoholischen rosen- bis bräunlichpurpurrot. Die Lösungen verändern an der Luft mehr und mehr ihre Färbung ins Bräunliche unter allmählich fortschreitender Zersetzung des Farbstoffs. Mit der Lösung des Farbstoffs getränkte Papierfilter oder Baumwolle und Wolle geben beim Waschen mit Wasser, Alkohol, Chloroform den Farbstoff nur unvollkommen wieder ab. Durch Sättigen seiner Lösungen mit Ammonsulfat (aber nicht mit Ammonchlorid) wird es abgeschieden, aus dem Harn auch durch Phosphorwolframsäure. Durch neutrales und basisch

1) Huppert, Analyse des Harns. 10. Aufl. S. 527.
2) J. of Ph. **22**. 451. (1898.)

essigsaures Blei wird der Farbstoff gefällt, teilweise durch Chlorzink oder Zinksulfat und Ammoniak. Die ammoniakalische Lösung wird auf Zusatz von etwas Zinksalz rot und zeigt eine sehr kräftige, noch bei sehr starker Verdünnung erkennbare grüne Fluorescenz, die alkalische färbt sich auf Zusatz von etwas Kupfersulfat violett oder rötlich (Biuretreaction).

Spectrum. Im durchfallenden Lichte spectroskopisch untersucht zeigen sehr verdünnte saure Lösungen einen Absorptionsstreifen zwischen den Linien b und F, etwas näher an letzterer Linie und auch über sie hinausgehend (siehe Spectraltafel). In alkalischen Lösungen ist der Streifen schwächer und mehr nach b gerückt u. z. in der ammoniakalischen noch schwächer als in der ätzalkalischen, sehr deutlich aber in der Ammoniak und Zink enthaltenden, stark fluorescierenden Lösung.

Nachweis im Harn. Ueber den Nachweis des Urobilin im Harn siehe „Untersuchung des Harns".

Urobilin u. Hydrobilirubin. Das von Maly durch Reduction von Gallenstoff erhaltene Hydrobilirubin (§ 273) ist mit dem Urobilin trotz weitgehender Uebereinstimmung in seinen Eigenschaften nicht identisch. Dem Urobilin, besonders in ihrem optischen Verhalten ähnliche Substanzen wurden von Hoppe-Seyler durch Reduction von Hämatin und Hämoglobin, von Nencki u. Sieber durch Reduction von Hämatoporphyrin, von Zaleski durch Reduction von Mesoporphyrin (siehe die betreffenden Substanzen) erhalten. Auch das Hämopyrrol geht an der Luft in einen dem Urobilin ähnlichen Stoff über.

279. **Urobilinogen**[1]). Die Muttersubstanz des Urobilin findet sich in frischem Harn, frischen Faeces und in der Galle. Es ist noch nicht in fester Form erhalten worden. Es zeigt ähnliche Lösungsverhältnisse wie das Urobilin und kann dem mit Essigsäure angesäuerten Harn durch Schütteln mit Essigäther, Chloroform, Amylalkohol zusammen mit dem Urobilin und manchen andern Stoffen entzogen werden. Aus der essigätherischen Lösung geht das Urobilinogen nicht, das Urobilin unvollständig in Wasser beim Schütteln über, in Sodalösung gehen beide beim Schütteln über.

Beim Sättigen des Harns mit Ammonsulfat scheidet es sich zusammen mit dem Urobilin ab, durch neutrales oder basisches Bleiacetat wird es aber nicht oder nur sehr unvollständig gefällt.

Es ist sehr unbeständig. Beim Stehen seiner Lösung am Licht (bes. direktes Sonnenlicht) wird es bald in Urobilin umgewandelt, schneller in mineralsaurer als in essigsaurer oder alkalischer Lösung und in diesen wieder schneller als in neutraler. Oxydationsmittel, z. B. Jod, Salpetersäure, Wasserstoffsuperoxyd rufen diese Umwandlung schnell hervor.

Es zeigt keine Absorptionsstreifen und keine Fluorescenz, gibt aber im Gegensatz zu Urobilin die Ehrlich'sche Reaction d. h. seine Lösungen färben sich schön rot auf Zusatz von Mineralsäure und p-Dimethylaminobenzaldehyd u. z. je nach der Concentration der Lösung sofort oder erst nach dem Kochen. Die Lösungen zeigen ein charakteristisches Spectrum im Gelbgrün: einen breiten verwaschenen Streifen von λ 615—570 und einen schwachen undeutlichen bei λ 555—540. Näheres über den hierbei auftretenden Farbstoff sowie über Diazoreactionen, welche das Urobilinogen, aber nicht das Urobilin geben, siehe bei Thomas.

---

1) Jaffe, Virch. A. **47**. 405. (1869.)
Saillet, Rev. de méd. **17**. 109. (1897.)
Eine zusammenfassende Darstellung über das Urobilinogen findet sich bei K. Thomas, Dissert. Freiburg. med. Fak. 1907.

280. **Uroerythrin.** Dieser von Prout als rosige Säure, von Golding Bird als Purpurin bezeichnete, von Heller untersuchte Farbstoff ist in neuerer Zeit von Zoja, Riva und besonders von Garrod[1]) genauer beschrieben worden. Er findet sich sehr häufig in normalem Harn, die rote Farbe des sedim. later. bedingend, vermehrt nach Muskelanstrengungen und starkem Schwitzen, bei Digestionsstörungen, Herz- und Lungenaffectionen, besonders bei rheumatischen Krankheiten und solchen, die Circulationsstörungen in der Leber bewirken. Vorkommen.

Zur Darstellung benutzt man das Uratsediment, welches sich beim Abkühlen des Harns bildet. Dasselbe wird abfiltriert, in Wasser unter mässigem Erwärmen gelöst, die Lösung mit Ammonchlorid gesättigt, der Niederschlag (Urate und Uroerythrin) abfiltriert und mit gesättigter Ammonchloridlösung gewaschen, bis alles Urobilin entfernt ist. Jetzt digeriert man den Niederschlag an einem dunklen Orte einige Stunden mit warmem Alkohol, filtriert, versetzt das Filtrat mit mindestens 2 Tl. Wasser und schüttelt mehrmals mit Chloroform (zur Entfernung von Hämatoporphyrin). Fügt man jetzt einige Tropfen Essigsäure hinzu und schüttelt abermals mit Chloroform, so nimmt dieses das Uroerythrin auf. Nach dem Waschen mit Wasser lässt man die Chloroformlösung im Dunkeln bei mässiger Temperatur verdunsten (Garrod). Darstellung.

Das Uroerythrin hat eine rosa Farbe, ist amorph und wird, besonders in seinen Lösungen, durch Licht leicht gebleicht (charakteristisches Verhalten). Das beste Lösungsmittel ist Amylalkohol, es folgen dann Essigäther, Alkohol, Chloroform, Wasser. Sehr verdünnte Lösungen sind rosa, concentrierte rötlich orange. Sie fluorescieren nicht, auch nicht nach Zusatz von Chlorzink und Ammoniak, zeigen aber eine starke Lichtabsorption, die in der Mitte zwischen D und E beginnt, bis F reicht und eigentlich aus zwei durch einen Schatten verbundenen Streifen besteht (siehe Spectraltafel). Durch concentrierte Schwefelsäure werden die Lösungen carminrot, durch Alkalien (ausser Ammoniak) durch Purpur und Blau hindurch schnell grün gefärbt. Eigenschaften. Spectrum.

Zum Nachweis schüttelt man den Harn vorsichtig mit Amylalkohol. Die Orangefarbe, das spectroskopische Verhalten und das Abblassen der Färbung bei der Belichtung lassen das Uroerythrin erkennen. Auch das Verhalten gegen Alkalien und concentrierte Schwefelsäure ist charakteristisch. Nachweis.

Hämatoporphyrin. Ueber diesen Farbstoff und sein Vorkommen im Harn siehe § 266.

281. Urorubrohämatin $C_{68}H_{94}N_8Fe_2O_{26}$ und Urofuscohämatin $C_{68}H_{106}N_8O_{26}$ nennt Baumstark[2]) zwei Farbstoffe, welche er bei einem Fall von Lepra aus dem Harn isolierte. Ersterer war in Wasser, Alkohol, Aether, Chloroform unlöslich, gab mit Alkalien eine schön braunrote nicht dichroitische Flüssigkeit und zeigte in saurer Lösung

1) J. of Ph. **17**. 439. (1895.) 2) B. **7**. 1170. (1874.)

einen Absorptionsstreifen vor der Linie D und einen zweiten hinter D. Der zweite löste sich in Alkalien mit brauner Farbe ohne Dichroismus und gab kein charakteristisches Spectrum. Beide scheinen in naher Beziehung zum Hämatin zu stehen.

Aus Chromogenen entstehende Harnfarbstoffe.

Urobilin aus Urobilinogen entstehend siehe § 278.

282. **Urorosein** wurde von Nencki u. Sieber[1]) zuerst beobachtet, von Rosin[2]) u. Herter[3]) weiter untersucht. Das Chromogen ist, wie Salkowski[4]) vermutete und Herter feststellte, Indolessigsäure. Es findet sich in vielen pathologischen und normalen Harnen und gibt sich dadurch zu erkennen, dass es auf Zusatz von starker Salzsäure und ganz verdünnter Kaliumnitritlösung in einen roten Farbstoff (Urorosein) übergeführt wird. In Harnen, welche eine Zeit lang gestanden haben und in denen durch Mikroorganismen salpetrige Säure entstanden, entsteht der Farbstoff schon durch Zusatz von Säure allein (Herter).

Eigenschaften. Urorosein ist unlöslich in Aether und in Chloroform (Unterschied von Indirubin und von Skatolrot), löslich in Wasser, Aethyl- und Amylalkohol mit schönroter Farbe. Die Farbe verschwindet auf Zusatz von Alkalien,

Spectrum. um auf Zusatz von Säuren wiederzukehren. Die amylalkoholische Lösung zeigt einen scharfen Streifen im Grün zwischen D und E, näher an D.

Die Muttersubstanz wird durch Eintragen von Ammonsulfat bis zur wolkigen Trübung gefällt, und kann so von Urobilin getrennt werden. Durch Bleiacetat und Ammoniak wird sie nicht gefällt.

Farbstoff, dessen Chromogen Staal[5]) aus normalem Harn in folgender Weise isolierte. Der mit Ammonsulfat gesättigte und von ausgeschiedenem Urobilin, Uroerythrin usw. abfiltrierte Harn wird nach dem Einengen und Ansäuern mit etwas Essigsäure mit Essigäther ausgeschüttelt, der Essigäther durch wiederholtes Schütteln mit Wasser von Indican befreit und eingeengt. Dabei scheidet sich Hippursäure ab. Durch weiteres Einengen und Aufnahme des Rückstandes mit kaltem Essigäther gelingt es die Hippursäure ziemlich völlig zu entfernen und das Chromogen in noch unreinem Zustande als braune syrupartige Masse zu erhalten. Seine Lösung gibt mit Salzsäure allein keine Färbung, wohl aber mit Salzsäure und einem Oxydationsmittel z. B. Salzsäure und wenig Kaliumnitrit eine schöne Purpurfarbe (der das Chromogen enthaltende Harn färbt sich schon auf Zusatz von Salzsäure allein). Die Lösungsverhältnisse des Farbstoffes sind dieselben wie für das Urorosein angegeben, indessen zeigt er noch einen zweiten schwächeren mehr nach E zu gelegenen Absorptionsstreifen. Das Chromogen ist keine gepaarte Schwefelsäure oder Glukuronsäure und gibt bei der Sublimation, Reduction und auch bei der bacteriellen Zersetzung keine Spur Skatol oder Indol (Staal).

Farbstoff, dessen Muttersubstanz nach Eingabe von Skatol im Harn von Tieren erscheint (§ 254) und der durch Zusatz von Salzsäure oder Salzsäure und einem Oxydationsmittel aus dem Chromogen entsteht. Dieser Farbstoff, welcher früher schon von Brieger[6]) u.

1) J. f. pr. Ch. N. F. **26**. 333. (1882.)
2) D. m. W. 1893. S. 51.
3) J. B. Ch. **4**. 239 u. 253. (1908.)
4) H.-S. **42**. 216. Fussnote. (1904.)
5) H.-S. **46**. 236. (1905.)
6) H.-S. **4**. 414. (1880.)

Otto[1]) und von Mester[2]) studiert wurde, ist neuerdings besonders von Grosser[3]) und Porcher u. Hervieux[4]) untersucht worden. Er löst sich in Alkohol und Amylalkohol, nicht in Chloroform und Aether und nicht in Wasser. Seine amylalkoholische Lösung zeigt einen Streifen zwischen D und E zwischen den Wellenlängen 577 u. 550 (P. u. H.). Beim Erhitzen mit Zinkstaub gibt er Skatol (Grosser).

Zu den Melaninen gehörige Farbstoffe, welche in Harnen von Kranken mit melanotischen Neubildungen beim Stehen an der Luft oder durch Oxydationsmittel (Eisenchlorid) aus Muttersubstanzen entstehen (K. A. H. Mörner[5]), v. Jaksch[6]) u. a.[7]).

Braune und schwarze Pigmente, Melanine.

283. Mehr oder weniger dunkle, braune bis ganz schwarze Pigmente finden sich in der Chorioidea und Retina des Auges, dem Rete Malpighii vieler Tiere und des Menschen, besonders bei Negern, in den Haaren und Federn, der Haut von Reptilien und Fischen, dem Horne, Fischbein, in den Pigmentzellen an serösen Häuten bei Fröschen, Schlangen u. s. w. Fast bei allen erwachsenen Menschen findet sich mehr oder weniger reichlich ein schwarzer Farbstoff in Lungen und Bronchialdrüsen, und meist zeigt er sich bei Sectionen in denjenigen Organen als schiefergraue Färbung, welche von diesen Organen Lymphe empfangen. In melanotischen Carcinomen und Sarkomen finden sich schwarze Pigmente oft in grossen Massen abgelagert. Auch im Harn von Kranken mit melanotischen Tumoren treten solche Farbstoffe oder Chromogene derselben auf. Für viele dieser Körper erscheint eine Beziehung zum Blutfarbstoff ausgeschlossen und eine Abstammung von Eiweiss speciell von dessen aromatischen und heterocyklischen Atomkomplexen (Tyrosin, Tryptophan) nicht zu bezweifeln. Siehe darüber v. Fürth u. Schneider[8]), v. Fürth u. Jerusalem[9]), Spiegler[10]). Vorkommen.

Diese sämtlichen Pigmente sind amorph, bilden kleinere oder grössere Körnchen. In ihrer Zusammensetzung weichen sie sehr von einander ab, doch enthalten sie im allgemeinen mehr Kohlenstoff und weniger Stickstoff und Wasserstoff als die Eiweissstoffe. Manche sind eisenhaltig, andere eisenfrei. Dasselbe gilt vom Schwefel. Der Schwefelgehalt ist bei einigen sehr hoch gefunden. Viele der analysierten Substanzen waren von zweifelhafter Reinheit. Sie sind unlöslich in Wasser, Alkohol, Aether, ebenso in Säuren. In Alkalien sind sie zum Teil schwerlöslich oder unlöslich, zum Teil leicht löslich. Viele geben bei der Zersetzung Pyrrol, Indol, Skatol. Allgemeine Eigenschaften.

Die dunklen Pigmente der Retina und Chorioidea, der Haut, der melanotischen Carcinome, der Haare und Federn, des Fischbeins u. s. w. werden schnell zerstört, wenn sie in Alkalilauge gelöst oder suspendiert mit Chlor behandelt werden; in den Lungen und Bronchialdrüsen von Menschen

1) Pfl. A. **33**. 607. (1884.)
2) H.-S. **12**. 130. (1888.)
3) H.-S. **44**. 328. (1903.)
4) H.-S. **45**. 486. (1905.)
5) H.-S. **11**. 66. (1887.)
6) H.-S. **13**. 385. (1889.)
7) Hansen u. Nölke, D. Ach. f. kl. Med. **62**. 347. (1899.)
8) B. Ph. P. **1**. 229. (1902.)
9) B. Ph. P. **10**. 131. (1907.)
10) P. Ph. P. **4**. 40. (1904.), **10**. 253. (1907.)

findet sich dagegen zuweilen ein Körper, der bei völlig schwarzer Farbe und Unlöslichkeit in Kalilauge von Chlor nicht angegriffen wird, also wohl Kohle ist, da man diese Eigenschaft fast an keinem anderen organischen Körper kennt. Dieser Stoff ist in sehr feinen Körnchen in diesen Geweben eingelagert, doch finden sich zuweilen in den Lungen Splitter von Holzkohle, welche durch die Respiration dahin gelangt sind und welche durch das Mikroskop gut unterschieden werden können. Concentrierte Salpetersäure greift die schwarzen Pigmente meist sehr langsam an.

Isolierte Melanine.

Melanine sind isoliert aus Chorioidea[1]), aus melanotischen Geschwülsten von Menschen[2]) (Phymatorhusin), aus melanotischen Geschwülsten von Pferden[3]) (Hippomelanin), aus menschlichen und tierischen Haaren[4]), aus Negerhaut und Negerhaaren[5]), aus Tintenfischen[6]) (Sepiamelanin) u. s. w. Ueber die Zusammensetzung einiger dieser Melanine siehe die Zusammenstellung bei Mörner und bei Chittenden und Albro[7]), sowie in dem Sammelreferat von v. Fürth[8]).

Umwandlungen.

Spiegler erhielt aus Schimmelhaaren und weisser Schafwolle hellgraubraune Pulver, welche durch Einwirkung von Ammoniak schwarz wurden. Sie gaben ebenso wie die Melanine aus schwarzen Pferdehaaren und schwarzer Schafwolle bei der Oxydation mit Chromsäure Methyldibutylessigsäure $C_{11}H_{22}O_2$. Hämatinsäure wurde nicht erhalten, ebenso nicht bei der Reduction des schwarzen Pigments mit Jodwasserstoff und Jodphosphonium Hämopyrrol; auch aus Chorioidealpigment erhielt er kein Hämopyrrol.

Das aus melanotischen Lebern von H. Wolff dargestellte Melanin lieferte beim Erhitzen mit Bromwasserstoff und Brom auf 120° ein Oel, aus dem durch weitere Behandlung eine vermutlich mit Xyliton $C_{12}N_{18}O$ identische Substanz erhalten wurde. v. Zumbusch konnte unter den hydrolytischen Zersetzungsproducten von aus Leber gewonnenem Melanin Cystin, Tyrosin und Hexonbasen nicht auffinden.

---

1) Rosow, Arch. f. Ophthalm. **9**. III. 63. (1863.)
Sieber, A. exp. P. u. Ph. **20**. 362. (1886.)
Hirschfeld, H.-S. **13**. 407. (1889.)
Landolt, H.-S. **28**. 192. (1899.)

2) Berdez u. Nencki, A. exp. P. u. Ph. **20**. 346. (1886.)
Nencki u. Sieber, A. exp. P. u. Ph. **24**. 17. (1888.)
Mörner, H.-S. **11**. 66. (1887.)
Miura, Virch. A. **107**. 250. (1887.)
Brandl u. Pfeiffer, Z. f. B. **26**. 348. (1890.)
Schmiedeberg, A. exp. P. u. Ph. **39**. 70. (1897.)
Zdarek u. v. Zeynek, H.-S. **36**. 493. (1902.)
v. Zumbusch, H.-S. **36**. 511. (1902.)
Wolff, B. Ph. P. **5**. 476. (1904.)

3) Berdez u. Nencki, a. a. O. Nencki u. Sieber, a. a. O.
v. Fürth u. Jerusalem, B. Ph. P. **10**. 131. (1907).

4) Sieber, a. a. O. Nencki u. Sieber. a. a. O.
Jones, A. J. of Ph. **2**. 380. (1899.)
Spiegler, a. a. O.

5) Abel u. Davis, J. exp. Med. **1**. 361; citiert nach Maly's Jbr. 1896. 529.

6) Nencki u. Sieber a. a. O. 7) A. J. of Ph. **2**. 291. (1899.)

8) C. f. allg. Path. u. path. A. **15**. 617. (1904.)

v. Fürth und Jerusalem erhielten aus Hippomelanin weder Indol und Skatol noch Xyliton und Methyldibutylessigsäure. Sie fanden weitgehende Uebereinstimmung zwischen dem Hippomelanin und dem aus Tyrosin durch Einwirkung pflanzlicher Tyrosinase entstandenen künstlichen Melanin.

Die Unterscheidung der genannten Farbstoffe von den Blut- und Gallenfarbstoffen macht keine Schwierigkeiten; ihre Unterscheidung von Holzkohlen-, Steinkohlen-, Braunkohlenstaub wird zum Teil nur mikroskopisch möglich sein.

284. **Melanoidine (Melanoidinsäuren**[1]**).** Beim Kochen von Proteinen mit Mineralsäuren treten den Melaninen ähnliche Stoffe auf. Braune oder schwarze leicht pulverisierbare Substanzen von sehr wechselnder Zusammensetzung, in Alkalien mehr oder weniger leicht löslich, aus diesen Lösungen durch Säuren wieder fällbar.

Das aus käuflichem Serumalbumin erhaltene Melanoidin gab bei der Zinkstaubdestillation Pyridin, pyrrolähnliche Körper und Skatol. Erstere beiden Substanzen treten auch bei der Behandlung mit Jodwasserstoff und Jodphosphonium auf (Samuely).

Eisenablagerungen.

Ablagerungen von gelbbrauner Farbe bestehend aus Ferrihydrat mit Calciumphosphat und -carbonat kommen pathologisch sehr reichlich in der Leber und in den Mesenteriallymphdrüsen vor und bleiben zurück, wenn die zerkleinerte Drüsenmasse zunächst mit viel Wasser kalt extrahiert, dann mit verdünnter Natronlösung erwärmt, abfiltriert und sorgfältig mit Wasser ausgewaschen wird. Diese Massen lieferten in einem Falle lufttrocken gewogen 69 pCt. Fe_2O_3 neben 11 bis 12 pCt. $Ca_3(PO_4)_2$ und über 5 pCt. $CaCO_3$. Solche Eisenablagerungen können nicht wohl aus zersetztem Blutfarbstoff herrühren; sie können in einem Menschen mehr Eisen enthalten als das gesammte Blut desselben.

Lipochrome.

Unter diesem Sammelnamen hat man eine nicht geringe Zahl unvollkommen bekannter und meist nicht rein dargestellter Farbstoffe zusammengefasst, die darin übereinstimmen, dass sie in Fetten, Aether, Alkohol, Amylalkohol, Benzol, Chloroform, auch in wässerigen Seifenlösungen löslich sind, aber meist nicht frei von Fetten oder Seifen erhalten werden konnten.

Vorkommen.

285. **Luteine.** Zu ihnen gehören die Farbstoffe, welche die gelbe Farbe des Eigelbs, der Corp. lutea, des Blutserums (Thudichum[2]), Krukenberg), des Fettgewebes, mancher Pflanzenteile z. B. der Maiskörner, vieler Staubfäden und Blüten (Thudichum) bewirken. Ein krystallisiertes Lutein erhält man nach Staedeler und Holm[3]) aus den Corp. lutea der Kühe. Aus Eidotter, Blutserum usw. hat Lutein bisher nicht rein dargestellt werden können, da keine Methode, es von den Fetten zu trennen, bekannt ist. Im Eidotter ist wahrscheinlich neben dem gelben noch ein roter Farbstoff vorhanden, deren Trennung und Isolierung aber bisher nicht gelungen ist. Die von Maly[4]) aus den Eiern von Maja squinado (Seespinne) dargestellten Luteine, Vitellolutein und Vitellorubin, können auch nicht als reine Stoffe angesehen werden.

---

1) Mulder, J. f. pr. Ch. **21**. 343. (1840.)
Schmiedeberg, A. exp. P. u. Ph. **39**. 65. (1897.)
Chittenden u. Albro, a. a. O., Samuely, B. Ph. P. **2**. 355. (1902.)
2) C. f. d. med. Wiss. 1869. S. 1.
3) J. f. pr. Ch. **100**. 142. (1867.) 4) M. **2**. 18. (1881.)

Darstellung von krystallisiertem Lutein.

Krystallisiertes Lutein aus den Corp. lutea der Kühe erhält man, indem man die fein zerkleinerten, gelben Massen mit Chloroform extrahiert und die orangefarbene Lösung bei gewöhnlicher Temperatur verdunsten lässt. In dem zurückbleibenden Fett scheiden sich Krystalle ab, welche mit verdünntem Alkohol und wenig Aether gewaschen werden. Die Krystalle sind mikroskopische, spitze Rhomboeder, meist dünne rhombische Plättchen, schwach pleochromatisch, im gereinigten Zustande in der Färbung der Chromsäure ähnlich.

Eigenschaften.

Die Luteine fallen aus wässerigen Seifenlösungen beim Zusatz einer Säure vollständig, beim Zusatz von Chlorcalciumlösung grösstenteils mit den fetten Säuren zusammen nieder. Durch Mercuriacetat werden sie vollständig gefällt. Durch Sonnenlicht erleiden sie schnell Zersetzung unter Entfärbung. Mit Salpetersäure übergossen werden sie zuerst grün, dann blau, zuletzt gelb oder farblos. Durch dieses Verhalten lassen sie sich gut von den Gallenfarbstoffen und andern gelben oder orangefarbenen Pigmenten unterscheiden, vom Bilirubin auch dadurch, dass sie ihrer Chloroformlösung durch verdünnte Alkalilösung nicht entzogen werden. Stärkere Säuren, selbst Essigsäure färben sie grün oder blau. Kochen mit mässig verdünnten Alkalien scheint sie nicht zu verändern.

Spectrum.

Die Lösungen der Luteine absorbieren sehr kräftig blaues und violettes Licht; verdünnt man eine Luteinlösung mit Alkohol oder Aether mehr und mehr, während man sie mit dem Spectroskope untersucht, so zeigen sich bald zwei deutliche Absorptionsstreifen, von denen der eine die Linie F in sich fasst, aber weiter nach G als nach b hinreicht, der zweite ungefähr die Mitte zwischen F und G einnimmt. Kleine Abweichungen in der Lage der Streifen sind bei Luteinen verschiedener Herkunft beobachtet. In dem Chloroformauszug der Corp. lutea von Kühen fanden Lewin, Miethe und Stenger[1]) drei Absorptionen im Blau etwa entsprechend den Wellenlängen 497, 462,5 und 435, im violetten Teil keine Absorption. Ganz ähnliche Streifen zeigte die Chloroformlösung von gelblichem, blutfreiem Rinderknochenmark (Lewin, Miethe und Stenger). Wie Thudichum fand, variieren die Absorptionsstreifen hinsichtlich ihrer Lage im Spectrum etwas je nach dem Lösungsmittel. Ueber die Uebereinstimmung im spectroskopischen Verhalten der tierischen und pflanzlichen Luteine siehe auch Schunck[2]).

Der alkohollösliche Farbstoff, welcher die intensive gelbrote Färbung der in Folge von Inanition völlig atrophisch und fettfrei gewordenen Fettzellen im Knochenmark und in den Genitaldrüsen von Fröschen bewirkt, nimmt auf Zusatz von Jodjodkaliumlösung sofort eine bläuliche Färbung an, welche alsbald in ein Dunkelblauschwarz übergeht (E. Neumann[3]).

286. **Tetronerythrin.** Auerhähne, Hasel- und Birkhähne sind durch eine eigentümliche, stark rot gefärbte, runzlige Partie in der Umgebung ihrer Augen, „die Rosen“, ausgezeichnet, in denen ein orangeroter, leicht veränderlicher Farbstoff enthalten ist, der durch Alkohol, Aether, Chloroform, Schwefelkohlenstoff usw. extrahiert werden kann. Weder Wurm[4]), der die Untersuchung zuerst vorgenommen, noch Hoppe-Seyler gelang es, den Farbstoff von Fetten, Cholesterin und Lecithin zu trennen und krystallisiert zu erhalten. Er ist frei von Eisen und Kupfer. Bei der Verseifung durch Kochen mit Barytwasser wird er nicht zerstört, doch lässt er sich der Seifenlösung durch Aether nicht entziehen. Säuren verändern ihn nicht. Salze der Schwermetalle rufen keine gefärbten Niederschläge hervor, wenn nicht der Farbsteff durch Fette usw. niedergerissen wird. Die Farbstofflösungen verblassen im Licht sehr schnell und sind äusserst empfindlich gegen Ozon, so dass ozonhaltiger Aether oder Alkohol den Farbstoff bald entfärben. Bei der Spectraluntersuchung zeigen die Lösungen starke Absorption von

1) Pfl. A. **118**. 122. (1907.)
2) Ref. C. C. 1903. 2. 1195.
3) Virch. A. **170**. 363. (1902.)
4) Z. f. wiss. Zool. 1871. S. 535.

violettem und blauem Licht, auch die Gegend des Blaugrün wird stark absorbiert. Ein charakteristisches Spectrum wurde nicht beobachtet.

Einen mit dem Tetronerythrin identischen oder ihm sehr ähnlichen Farbstoff fand Krukenberg[1]) in mehreren Arten von Schwämmen. Auch im Crustaceenblut findet sich ein solcher Farbstoff (neben Hämocyanin) (Halliburton[2]). Tetronerythrin soll bei vielen wirbellosen Tieren vorkommen.

Andere Farbstoffe.

287. **Sehpurpur**[3]). Um eine blutfarbstofffreie Sehpurpurlösung zu erhalten, extrahiert man die Netzhäute mit einer völlig alkoholfreien, wässerigen, sehr schwach alkalisch reagierenden Lösung von gallensaurem Natron, sättigt die Lösung mit krystallisiertem Magnesiumsulfat, wäscht den harzigen Niederschlag, welcher das Cholat und den Farbstoff enthält, aber frei von Blutfarbstoff ist, mit gesättigter Magnesiumsulfatlösung aus und löst ihn in Wasser. Statt dessen kann man auch die mit Alaun gehärteten Netzhäute zunächst mit Wasser, dann mit 10 proc. Kochsalzlösung behandeln und nun mit einer Lösung von gallensaurem Salz extrahieren. Zur Conservierung der Sehpurpurlösungen empfiehlt sich Sättigung mit Kochsalz. Die Lösung ist purpurrot. Entfernt man das Cholat durch Dialyse, so scheidet sich der Sehpurpur ab. Im Sonnenlicht geht die Farbe in Rot, Orange und Gelb über. Beim Erwärmen auf etwas über 50° wird der Farbstoff allmählich zerstört, ebenso zerstören ihn Alkalien, Säuren, Alkohol und Aether. Im Spectrum ruft er keine bestimmten Absorptionsstreifen hervor, sondern nur eine diffuse Absorption, besonders bei E.

288. **Turacin** wurde ein rotvioletter Farbstoff von Church[4]) genannt, den er aus den Flügelfedern von einigen Species der Musophagiden mit verdünnten Alkalien extrahiert und mit Säuren aus dieser Lösung gefällt hat. C 53,69; H. 4,60; Cu 7,01; N 6,96 pCt. Seine alkalischen Lösungen zeigen zwei deutliche Absorptionsstreifen in Grün und Gelb und einen auf der Grenze von Grün und Blau. Dieser Farbstoff scheint dem Blutfarbstoff nahe zu stehen, siehe darüber auch Gamgee[5]). Durch Einwirkung von conc. Schwefelsäure entsteht ein kupferfreier purpurroter Farbstoff, welcher weitgehende Uebereinstimmung mit dem Hämatoporphyrin zeigt, aber in einigen Punkten abweicht und Turacoporphyrin genannt wurde. Laidlaw[6]) erhielt durch Kochen einer ammoniakalischen Lösung von Hämatoporphyrin (aus Blutfarbstoff) mit Kupferammoniak einen Körper, der in jeder Beziehung mit dem Turacin übereinstimmte.

Zahlreiche andere Farbstoffe sind aus Vogelfedern und aus Avertebraten in mehr oder weniger reinem Zustande dargestellt worden. Ihre Besprechung würde zu weit führen.

289. **Pyocyanin** $C_{14}H_{14}N_2O$ ist von Fordos[7]) der vom Bac. pyocyaneus gebildete Farbstoff genannt worden. In der voraseptischen Zeit wurde häufig eine Blaufärbung des Eiters beobachtet. Lücke[8]), welcher zuerst diese Erscheinung auf die Gegenwart dieser Mikroorganismen zurückführte, isolierte den Farbstoff aus den mit dem blauen Eiter ge- Vorkommen.

---

1) C. f. med. Wiss. 1879. 705. 2) J. of Ph. **6**. 300. (1885.)
3) W. Kühne, Unters. a. d. phys. Institut d. Univ. Heidelberg. Bd. 1—4.
L. Hermann, Handb. d. Physiol. **3**. 235.
Kühne, Z. f. B. **32**. 21. (1895.)
Koettgen u. Abelsdorf, Sitzb. d. preuss. Akad. d. Wiss. 1895. S. 621.
4) Chem. News. **19**. 265. (1869), **65**. 218. (1892.)
5) Proc. royal soc. **59**. 339. (1896.) 6) J. of Ph. **31**. 469. (1904.)
7) C. r. **56**. 1128. (1862.)
8) Langenbeck's Arch. f. Chirurg. **3**. 135. (1862.)

tränkten Compressen. Ledderhose[1]) gewann ihn in grösseren Mengen durch Ausschütteln der Reinculturen des Bac. pyocyaneus mit Chloroform und untersuchte ihn genauer.

Eigenschaften. Pyocyanin krystallisiert in mikroskopischen Nadeln oder durch rechtwinklige Kanten begrenzten Blättchen. Die Krystalle sind luftbeständig, schmelzen beim Erhitzen und zersetzen sich. Sie lösen sich leicht in Wasser, Alkohol und Chloroform, schwerer in Aether. Durch Säuren färbt sich eine Pyocyaninlösung rot und durch Alkalien wieder blau. Schüttelt man die Chloroformlösung mit wässeriger Alkalilösung, so geht der Farbstoff in diese unter Violettfärbung über. Mit Pikrinsäure und Platinchlorid bildet es krystallisierende Verbindungen. Aus der alkoholischen oder wässerigen Lösung wird es durch Alaun oder Bleiacetat nicht gefällt. Es zeigt keine deutlichen Absorptionsstreifen, aber schwefelsaures Pyocyanin absorbiert sehr stark das Licht von D bis F.

Umwandlungen. In verdünnten Säuren gelöst ist es ziemlich beständig, während es besonders in unreiner wässeriger oder alkoholischer Lösung, auch unreinem Chloroform sich bald zerlegt. Starke Säuren verändern es beim Erwärmen. Durch Chlor, rauchende Salpetersäure und Terpentinöl wird es zerstört. Es geht leicht über in einen von Fordos Pyoxanthose genannten gelben Farbstoff, der in Wasser wenig, in Aether, Chloroform, Alkohol leicht löslich ist und in mikroskopischen Nadeln krystallisiert.

Allgemeines über die Proteine. 290. Die **Proteine** finden sich bei Menschen und Tieren in allen Geweben und Flüssigkeiten und bilden in den meisten die Hauptmasse der festen Stoffe. Sehr arm an ihnen sind im normalen Zustande Thränen, Schweiss und Harn. Es sind hochmolekulare Verbindungen, welche alle Kohlenstoff, Sauerstoff, Stickstoff und Wasserstoff, zumeist auch Schwefel enthalten. In vielen findet sich auch Phosphor, in manchen Eisen, in einzelnen auch Kupfer, Jod, Brom, Chlor. Sie stimmen darin überein, dass sie die Biuretreaction (S. 392, 8) geben, beim Erhitzen den Geruch nach verbranntem Horn entwickeln und bei der hydrolytischen Spaltung Mono- und Diaminosäuren liefern. Eine rationelle, auf chemischer Basis ruhende Einteilung dieser grossen Körperklasse ist bei der ungenügenden Kenntnis des chemischen Aufbaues zur Zeit noch nicht möglich. Es erscheint zweckmässig, folgende Gruppen zu unterscheiden:

Einteilung der Proteine.

1. Eiweissstoffe (Albuminstoffe).
2. Histone.
3. Protamine.
4. Albuminoide.
5. Proteide.

Diese Einteilung, welche nur zum Teil auf chemischen Principien, hauptsächlich auf rein äusseren Merkmalen und Unterschieden im physikalischen Verhalten beruht, ist nur eine vorläufige und keine scharfe. Manche Proteine können mit demselben Recht mehreren Gruppen zugeteilt werden.

Eiweissstoffe (Albuminstoffe).

Kurze Uebersicht.

1. Native Eiweissstoffe: Albumine, Globuline.
2. Umwandlungsprodukte der nativen Eiweissstoffe: Fibrin, coagu-

---

1) Deutsche Zeitschr. f. Chirurg. **28**. 201. (1888.)

lierte Albuminstoffe, Acidalbumine, Albuminate (Albuminsäuren).

3. Intermediäre Spaltungsprodukte der nativen Eiweissstoffe und ihrer Umwandlungsprodukte: Albumosen, Peptone, Kyrine, Polypeptide.
4. Oxydierte, nitro- u. halogensubstituierte, desamidierte Eiweissstoffe.

Native Eiweissstoffe.

Zusammensetzung und allgemeine Eigenschaften.

291. Sie enthalten alle Kohlenstoff, Sauerstoff, Stickstoff, Wasserstoff und Schwefel, aber in wechselnden Mengen, doch liegen die gefundenen Werte innerhalb folgender Grenzen:

C 51,5—53,5 pCt. O 21,5—24,0 pCt. N 15,0—16,7 pCt.
H 6,5—7,3 pCt. S 0,5—2,3 pCt.

Die Molekulargewichte sind sehr hoch, haben aber noch nicht mit Sicherheit festgestellt werden können. Bei der gewöhnlichen Darstellungsweise werden sie amorph erhalten, unter bestimmten Bedingungen ist es gelungen, manche krystallinisch zu gewinnen. Alle enthalten etwas Asche, welche auch durch Dialyse nicht ganz entfernt werden kann. Sie sind zum Teil in Wasser, zum Teil nur in salzhaltigem Wasser löslich, in Aether, Schwefelkohlenstoff, Chloroform und derartigen Lösungsmitteln unlöslich; in Alkohol lösen sich manche in geringem Grade. Sie diffundieren nicht (oder richtiger ausserordentlich langsam), ihre Lösungen zeigen alle Linksdrehung. Sie verhalten sich wie Basen und wie Säuren, indem sie sowohl mit Säuren, wie mit Metallen lockere und nicht nach constanten Verhältnissen erfolgende Verbindungen einzugehen vermögen. Die Verbindungen mit Alkalien sind in Wasser löslich, die mit Schwermetallen unlöslich, die mit Säuren z. Tl. löslich, z. Tl. unlöslich. Die Eiweissstoffe werden aus ihren wässerigen Lösungen durch Eintragen von Ammon- oder Zinksulfat ausgefällt („ausgesalzen"), manche auch durch Magnesiumsulfat oder Natriumchlorid oder andere Neutralsalze. Ebenso werden sie durch Alkohol abgeschieden. In beiden Fällen erfolgt die Abscheidung ohne Aenderung der Eigenschaften.

Umwandlungs- und nächste Spaltungsproducte.

Durch längere Alkoholeinwirkung erleiden die nativen Eiweissstoffe eine Aenderung: sie gehen in den coagulierten Zustand über und werden in den gewöhnlichen Lösungsmitteln unlöslich. Die gleiche Umwandlung tritt beim Erhitzen einer Eiweisslösung bei Gegenwart von Salz und bei schwach saurer Reaction ein. Das Eiweiss scheidet sich als coaguliertes Eiweiss (§ 314) ab. Durch Säuren und Alkalien werden die nativen Eiweissstoffe ebenfalls umgewandelt (denaturiert) und in Acidalbumine (§ 315) und Alkalialbuminate (§ 316) übergeführt. Durch eine Reihe spaltender Agentien entstehen aus ihnen Albumosen, Peptone u. s. w. (§ 317 ff.). Sie bilden Oxydations- und Substitutionsproducte (§ 351 ff. und § 356).

Die nativen Eiweissstoffe werden eingeteilt in Albumine (§ 295 ff.) und Globuline (§ 302 ff.).

Zersetzungen: durch Säuren.

292. **Zersetzungen der Eiweissstoffe.** Von den Producten, welche beim Kochen von Eiweissstoffen mit Säuren z. B. mit conc. Salzsäure entstehen, sind bis jetzt isoliert: Ammoniak, Glykokoll, Alanin, Valin, Leucin, Isoleucin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Cystin, Serin, Diaminotrioxydodekansäure*), Arginin, Lysin, Histidin, Prolin, Oxyprolin, Phenylalanin, Tyrosin, Tryptophan, Glukosamin, ferner als secundäre Producte, Kohlensäure, Schwefelwasserstoff, Aethylsulfid (?), Furfurol, Huminsubstanzen. Auf den verschiedenen relativen Mengen, in denen diese Elementargruppen an dem Aufbau der einzelnen Eiweissstoffe beteiligt sind, beruht jedenfalls zum Teil wenigstens ihre Verschiedenheit.

Ueber die Methoden zur Isolierung dieser Spaltungsproducte siehe § 472 ff.

durch Alkalien.

Beim Kochen mit Alkalien oder Erhitzen mit gesättigtem Barytwasser auf 150° erfolgt die Spaltung in ähnlicher Weise, wenn auch unter Bildung mancher secundärer Producte.

durch Mikroorganismen.

Unter den Producten der bacteriellen Zersetzung sind nachgewiesen: Ammoniak, Kohlensäure, Schwefelwasserstoff, Methylmercaptan, Essigsäure, Buttersäure, Isobuttersäure, Isovaleriansäure, d-Valeriansäure, d-Capronsäure, Bernsteinsäure, δ-Amino-n-valeriansäure, Leucin, Tyrosin, Hydro-p-cumarsäure, p-Oxyphenylessigsäure, Kresol, Phenol, Phenylpropionsäure, Phenylessigsäure, Tryptophan, Indolpropionsäure, Indolessigsäure, Skatol, Indol, Ptomaine.

durch Trypsin.

Durch das Trypsin erfolgt die Spaltung in ähnlich weitgehender Weise wie durch Kochen mit Säure.

durch Schmelzen mit Alkalien.

Beim Schmelzen mit Aetzkali hat man Ammoniak, Kohlensäure, Wasserstoff, Schwefelwasserstoff, Methylmercaptan, Leucin, Tyrosin, p-Oxybenzoesäure, Skatol, Indol, Phenol, flüchtige Fettsäuren, Oxalsäure erhalten. Beim Erhitzen mit Natronkalk destillieren Ammoniak, Pyrrol und ähnliche Stoffe über.

durch Oxydation.

Bei der Oxydation mit Permanganat entstehen flüchtige Fettsäuren, Oxalsäure, Oxamid, Bernsteinsäure, Benzoesäure, Guanidin, bei der Oxydation mit Wasserstoffhyperoxyd und Eisensalz entsteht Aceton. Destillation mit Kaliumchromat oder Braunstein und Schwefelsäure bildet aus den Eiweissstoffen verschiedene flüchtige Fettsäuren, Blausäure, Aldehyde, Nitrile, Bittermandelöl, Kohlensäure. Unterchlorigsaures Salz zersetzt unter Entwicklung von Stickstoff, Kohlensäure und reichlicher Oxalsäurebildung. Königswasser bildet Oxalsäure, Fumarsäure, Chlorazol.

Nachweis.

293. **Reactionen der Eiweissstoffe.** Man teilt sie ein in Fällungs- und Farbenreactionen. Da keine einzige an und für sich für Eiweissstoffe

*) Bisher nur bei der Hydrolyse des Casein erhalten.

charakteristisch ist, so ist es für die sichere Erkennung unerlässlich, mehrere dieser Reactionen anzustellen.

A. Fällungsreactionen: 1. Beim Sättigen einer Eiweisslösung mit Ammonsulfat fällt alles Eiweiss aus. Der Niederschlag ist unverändertes Eiweiss. Fällungsreactionen.

2. Beim Erhitzen einer Eiweisslösung, die durch Zusatz von verdünnter Essigsäure schwach sauer oder von Salpetersäure stark sauer gemacht ist, zum Kochen, entsteht ein Niederschlag von coaguliertem Eiweiss. Ist die Eiweisslösung salzfrei oder salzarm, so ist zunächst Salz z. B. das gleiche Volumen gesättigter Natriumsulfatlösung hinzuzufügen.

3. Durch Salpetersäure werden Eiweisslösungen schon in der Kälte gefällt. Bringt man unter eine Eiweisslösung in einem Reagensglas conc. Salpetersäure, so entsteht an der Berührungsstelle eine weisse Ausscheidung (Heller's Probe).

4. Fügt man zu einer Eiweisslösung etwas Salzsäure und dann tropfenweise vorsichtig Natriummetaphosphat, so entsteht ein im Ueberschuss der Säure und des Metaphosphats löslicher Niederschlag.

5. Salze der Schwermetalle (Kupfersulfat, Eisenchlorid, Sublimat, neutrales und basisches Bleiacetat u. a.) rufen Niederschläge hervor, die zum Teil im Ueberschuss des Fällungsmittels löslich sind.

6. Säuert man Eiweisslösung mit Essigsäure oder Salzsäure an und fügt dann einige Tropfen Ferrocyankalium hinzu, so entsteht ein weisser, flockiger Niederschlag. Ist die Flüssigkeit sehr reich an Kochsalz oder anderen Salzen, so entsteht der Niederschlag erst nach Verdünnen mit Wasser. Spuren von Eiweiss geben diesen Niederschlag erst nach einigen Stunden gut erkennbar.

7. Wie Ferrocyankalium und Essigsäure wirken auch andere sogen. Alkaloidreagentien fällend z. B. Phosphorwolframsäure + Salz- oder Schwefelsäure, Kaliumquecksilber- oder Kaliumwismuthjodid + Salzsäure, Gerbsäure + Essigsäure, Pikrinsäure + Citronensäure, Trichloressigsäure.

Nach den Bestimmungen von Hofmeister[1]) geben die Eiweissstoffe des Blutserums mit Gerbsäure, Phosphorwolframsäure, Kaliumquecksilber- oder Kaliumwismuthjodid noch in 0,001 proc. Lösung erkennbare Fällung oder Trübung, mit Essigsäure und Ferrocyankalium höchstens noch in 0,002 proc. Lösung. Die Anwendung dieses letzteren Reagens bietet aber gegenüber den andern den Vorteil, dass der in verdünnten Lösungen erhaltene und auf dem Filter gesammelte Niederschlag noch mit Hülfe der Farbenreactionen (siehe weiter unten) geprüft werden kann, was bei den durch die andern Reagentien erhaltenen Fällungen nicht ohne Gefahr von Täuschungen möglich ist.

B. Farbenreactionen. Mit Hülfe dieser Reactionen können ausser Flüssigkeiten auch feste Massen, sowie die nach 1, 2, 3, 4, 6 erhaltenen Niederschläge auf ihre Eiweissnatur geprüft werden. Farbenreactionen.

1) H.-S. 2. 288. (1878/79.)

8. Biuretprobe. Mit überschüssiger Natronlauge*) und sehr wenig verdünnter Kupfersulfatlösung entsteht violette Färbung. Tritt sie nicht alsbald ein oder verschwindet sie bald, so ist noch mehr Kupfersulfat zuzusetzen, ein Ueberschuss aber sorgfältig zu vermeiden, da bei zuviel Kupferzusatz Blaufärbung eintritt, welche nicht charakteristisch ist.

9. Millon's Probe. Mit Millon's Reagens (Anh.) erhitzt tritt purpurrote Färbung ein.

Diese Reaction beruht auf der Anwesenheit von Tyrosin im Eiweissmolekül.

10. Xanthoproteinprobe. Mit einigen Tropfen starker Salpetersäure versetzt und erhitzt, tritt Gelbfärbung und auf nachherigen Zusatz von Ammoniak oder Natronlauge im Ueberschuss orangerote Färbung ein.

Diese Reaction beruht auf der Anwesenheit von aromatischen Atomcomplexen, welche in gelbgefärbte Nitroderivate übergeführt werden, sowie von Tryptophan, welches ebenfalls die Xanthoproteinprobe gibt (Rohde[1]), Salkowski[2]).

11a) Adamkiewicz's Probe. Mit Glyoxylsäurelösung**) (Anh.) und conc. Schwefelsäure entsteht Blauviolettfärbung. Bei passender Verdünnung zeigt die spectroskopische Prüfung einen Absorptionsstreifen zwischen b und F. Die Lösung zeigt auch schwache Fluorescenz.

Beim Erhitzen von Eiweiss, welches zuvor mehrmals mit Alkohol ausgekocht und mit Aether behandelt worden ist, mit starker Salzsäure, tritt ebenfalls eine schöne tiefe Blauviolettfärbung ein (Liebermann's Reaction). Diese Reaction ist nach Cole[3]) identisch mit der Probe von Adamkiewicz, denn sie beruht auf dem Gehalt des Aethers an Glyoxylsäure.

b) Beim Erhitzen mit einer Spur Rohrzucker und conc. Salzsäure entsteht purpurrote Färbung (Furfurolbildung aus Rohrzucker). Streifen im blauwärtsgelegenen Teil des Grünen etwa von λ 490—560 (Cole).

Eine leichte Reaction wird bisweilen beobachtet, wenn gewisse Eiweisskörper mit starker Salzsäure oder 50proc. Schwefelsäure allein erhitzt werden, indem das für den Eintritt der Reaction nötige Furfurol aus Eiweiss selbst gebildet wird.

c) Reichl's Probe[4]). Beim Erhitzen mit einigen Tropfen einer alkoholischen Lösung von Benzaldehyd, ziemlich viel 50proc. Schwefelsäure und einem Tropfen Eisenchloridlösung entsteht dunkelblaue Färbung.

d) Ehrlich-Neubauer's Probe. Fügt man einige Tropfen einer

---

*) In kalter Natronlauge unlösliche Stoffe kocht man mit Natronlauge und prüft nach dem Erkalten.

) Statt des ursprünglich von Adamkiewicz[5]) benutzten Eisessigs, dessen Wirksamkeit, wie Hopkins und Cole fanden, nur auf seinem Gehalt an Glyoxylsäure beruht. Proc. Roy. Soc. **68. 21. (1901.)

1) H.-S. **44**. 170. (1905.)

2) H.-S. **12**. 218. (1888.)

3) J. of Ph. **30**. 311. (1903/04.)

4) M. **10**. 317. (1889) u. **11**. 155. (1890).

5) B. **8**. 161. (1875), Pfl. A. **9**. 156. (1874), A. exp. P. u. Ph. **3**. 423. (1875.)

5 proc. schwachschwefelsauren Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd hinzu und darauf vorsichtig und unter Umschütteln conc. Schwefelsäure, so tritt rotviolette Färbung auf, welche nach kurzer Zeit einen dunkelvioletten Ton annimmt (Neubauer[1]), Rohde[2]).

Die unter 11a—d angeführten Reactionen beruhen auf der Anwesenheit des Tryptophan im Eiweissmolekül.

12. Diazoreaction. Beim Versetzen einer sodaalkalischen Eiweisslösung mit einigen Cubikcentimetern einer unmittelbar vorher bereiteten sodaalkalischen Lösung von einer Spur Diazobenzolsulfosäure*) tritt sofort oder nach wenigen Minuten eine mehr oder minder dunkel kirschrote Färbung ein (Pauly[3]).

Diese Reaction beruht auf der Anwesenheit von Histidin und von Tyrosin im Eiweissmolekül.

13. Schwefelbleiprobe. Beim Kochen mit wenig Bleiacetat und überschüssiger Natronlauge entsteht Gelb-, Braun- oder Schwarzfärbung oder ein schwarzer Niederschlag von Schwefelblei.

Diese Reaction beruht auf der Anwesenheit von Cystin im Eiweissmolekül.

14. Molisch's Probe. Mit einigen Tropfen alkoholischer Lösung von α-Naphthol und etwas conc. Schwefelsäure entsteht rote bis violette Färbung.

Diese Reaction wird auf die Anwesenheit eines Kohlehydratcomplexes im Eiweissmolekül bezogen. Indessen ist bei der ausserordentlichen Empfindlichkeit der Reaction für Kohlehydrate (noch 0,1 mg Glukose oder Arabinose geben eine starke Reaction) schwer eine Täuschung durch beigemengtes Kohlehydrat auszuschliessen.

294. **Abscheidung der Eiweissstoffe aus Flüssigkeiten.** 1. Zur Abscheidung von nativen Eiweissstoffen aus Flüssigkeiten kocht man dieselben und fügt, falls nicht schon saure Reaction vorhanden ist, so lange verdünnte Essigsäure hinzu, bis eine gute flockige Gerinnung erreicht ist. Wegen der Löslichkeit der Albuminstoffe in überschüssiger Essigsäure ist es nötig, mit dem Zusatz der Säure vorsichtig zu verfahren. Eine völlige Abscheidung, welche sich durch Ausbleiben jeglicher Trübung auf Zusatz von einem Tropfen

Abscheidung aus Flüssigkeiten.

---

*) Herstellung: 2 g feingepulverte Sulfanilsäure werden mit 3 ccm Wasser und 2 ccm conc. Salzsäure zu einem Brei geschüttelt und in kleinen Portionen innerhalb einer Minute mit einer Lösung von 1 g frischem Kaliumnitrit in 1—2 ccm Wasser versetzt, wobei nach jedem Zusatz mit kaltem Wasser gekühlt wird. Die Sulfanilsäure geht grösstenteils rasch in Lösung und an ihre Stelle tritt ein dichter, weisser, krystallinischer Niederschlag von Diazobenzolsulfosäure, der nach einigen Minuten abgesaugt und mit wenig Wasser ausgewaschen wird. Anwesenheit von unveränderter Sulfanilsäure schadet nicht (Pauly).

1) Sitzungsber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. in München. 1903. H. 2. S. 32.

2) H.-S. **44**. 161. (1905.) 3) H.-S. **42**. 518. (1904.)

Ferrocyankalium*) zum Filtrat zu erkennen giebt, wird auf diese Weise nur selten erreicht. Um auch die in Lösung gebliebenen Reste (sowie etwa vorhandenes Acidalbumin und Alkalialbuminat) zu entfernen, empfiehlt es sich nach Hofmeister (a. a. O.), das Filtrat mit frischgefälltem Bleioxydhydrat unter Zusatz von etwas Bleiacetat einige Minuten zu kochen und wieder zu filtrieren. An Stelle des Bleioxydhydrats kann auch Zinkoxyd oder Zink- bezw. Bleicarbonat benutzt werden.

Die Entfernung von nativen Eiweissstoffen (sowie von Acidalbumin und Alkalialbuminat) lässt sich auch nach 2. und 3. erreichen:

2. Die Flüssigkeit, welche ausser nur wenig Essigsäure keine andere freie Säure enthalten darf, wird mit einer Lösung von essigsaurem Eisenoxyd in genügender Menge versetzt, zum Kochen erhitzt und so lange im Sieden erhalten, bis das Eisenoxyd als basisches Salz ganz ausgefällt ist. Die filtrierte Lösung soll eisenfrei sein. Es ist zuweilen zweckmässiger eine Mischung von Eisenchlorid und überschüssigem Natriumacetat anzuwenden (Hoppe-Seyler).

3. Ammon- oder Zinksulfat in Substanz wird bis zur vollständigen Sättigung bei Siedetemperatur und neutraler oder saurer Reaction eingetragen.

Fürchtet man den Einfluss hoher Temperatur auf andere in der Lösung befindliche Substanzen, so kann die Abscheidung von Eiweissstoffen (sowie von Acidalbumin und Alkalialbuminat) auch bewirkt werden:

4. Durch vorsichtigen Zusatz von Bleiessig, so lange ein Niederschlag entsteht, und nachträgliches Zufügen von wenigen Tropfen Ammoniak oder

5. Durch Gerbsäure, Kaliumquecksilberjodid oder Phosphorwolframsäure. Die Lösungen müssen hierbei freie Säure enthalten und zwar ist bei Anwendung der Gerbsäure schwach essigsaure, des Kaliumquecksilberjodids mässig salzsaure und der Phosphorwolframsäure stark salz- oder schwefelsaure Lösung zu empfehlen.

6. Durch Zusatz von Alkohol im Ueberschuss zu der neutralisierten und mit etwas Salz versetzten Flüssigkeit.

Albumosen und Peptone, welche übrigens in den meisten tierischen Flüssigkeiten nicht vorkommen, werden durch die unter 1 und 2 aufgeführten Verfahren nicht oder nur unvollständig, vollständiger durch die unter 4 und 5 aufgeführten ausgefällt.

7. Durch Mastix und durch Kaolin. Ueber diese sehr brauchbaren Methoden siehe bei „Untersuchung der serösen Flüssigkeiten".

Ueber die Abscheidung des Eiweisses aus Harn siehe bei „Harn".

A. Albumine.

Allgemeine Eigenschaften der Albumine. Unterschiede von den Globulinen.

295. Sie sind löslich in Wasser in allen Verhältnissen. Die wässerigen Lösungen werden nicht gefällt durch sehr verdünnte Säuren oder ver-

*) Durch Essigsäure und Ferrocyankalium werden allerdings auch manche Albumosen gefällt, doch scheinen diese in den tierischen Flüssigkeiten (mit Ausnahme der Verdauungsflüssigkeiten) für gewöhnlich nicht vorzukommen.

dünnte Alkalicarbonatlösungen, auch nicht bei neutraler Reaction durch Sättigung mit Kochsalz oder Magnesiumsulfat oder durch Halbsättigung mit Ammonsulfat, wohl aber durch Sättigung mit diesem Salze. Durch Erhitzen der wässerigen Lösung bei Gegenwart von neutralen Alkalisalzen oder Salzen der alkalischen Erden werden sie gefällt und zugleich in coagulierte Eiweissstoffe übergeführt. Durch Alkohol werden sie weniger leicht gefällt als die Globuline und bei Berührung mit Alkohol langsamer coaguliert als diese. Sie sind in Krystallen erhalten worden und zwar sind die Krystalle der verschiedenen Albumine, wenn nicht identisch, so doch isomorph (Wichmann[1]).

296. **Serumalbumin** findet sich reichlich im Blutplasma und Serum, in der Lymphe, im Chylus, in pathologischen Transsudaten und tritt bei Nierenkrankheiten von den Eiweissstoffen meist am reichlichsten in den Harn über. Vorkommen.

Um es aus Blutserum oder pathologischen Transsudaten in reinem Zustande zu gewinnen, sättigt man diese Flüssigkeiten bei 30° mit gepulvertem Magnesiumsulfat, wäscht den entstandenen Niederschlag (Serumglobulin) bei 30° mit gesättigter Magnesiumsulfatlösung aus und sättigt das Filtrat mit Ammoniumsulfat. Der abfiltrierte und ausgepresste Niederschlag wird in Wasser gelöst, durch Sättigen mit Ammoniumsulfat bei 40° wieder zur Abscheidung gebracht und abermals in Wasser gelöst. Nach Entfernung der Salze durch sehr anhaltende Dialyse gegen destilliertes Wasser fällt man die Lösung durch im Ueberschuss zugesetzten starken Alkohol, filtriert den Niederschlag und wäscht ihn mit Alkohol und Aether (Hammarsten und Starke[2]). Statt dessen kann man auch das Filtrat der Magnesiumsulfatfällung mit 1 pCt. Essigsäure versetzen, den Niederschlag nach einigen Stunden abfiltrieren, abpressen, in wenig Wasser lösen, die neutralisierte Lösung (event. nach mehrmaliger Wiederholung des ganzen Processes) durch Dialyse von Salz befreien und mit Alkohol fällen (Johansson[3]). Darstellung.

Krystallisiert ist es zuerst von Gürber[4]) aus Pferdeblutserum erhalten. Gürber erhielt es auch aus Kaninchenblut, doch gelang dies andern nicht. Auch in bezug auf Blut von Hund, Katze, Ochs, Schwein, Hammel, Gans, waren die Bemühungen vergeblich, nur Gruzewska[5]) gibt an, es auch aus dem Blut von Meerschweinchen, Katze, Ochs und Natter erhalten zu haben.

Das Darstellungsverfahren ist von Pemsel[6]) verbessert worden: Pferdeblutserum (oder auch durch Kaliumoxalat ungerinnbar gemachtes Pferdeblutplasma) wird mit dem gleichen Vol. gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt, nach mehrstündigem Stehen vom Niederschlag abfiltriert und Darstellung von krystallisiertem Serumalbumin.

1) H.-S. **27**. 575. (1899.)
2) Maly's Jbr. 1881. S. 17. 3) H.-S. **9**. 310. (1885.)
4) Sitzungsber. d. phys. med. Ges. zu Würzburg. 1894. S. 143. Michel, Verh. d. phys. med. Ges. zu Würzburg. N. F. **29**. 117. (1895.)
5) C. r. **128**. 1535. (1899.) 6) Bei Krieger, Diss. Strassburg. 1899.

zum globulinfreien Filtrat $^n/_5$ Schwefelsäure bis zur beginnenden bleibenden Trübung zugefügt (auf 100 ccm in der Regel 10—12—14 ccm). Beim Stehen scheiden sich allmählich, manchmal erst sehr langsam Krystalle ab; bei Zimmertemperatur rascher und reichlicher als in der Kälte, noch günstiger ist eine Temperatur von 40° (Inagaki[1]). Stets aber krystallisiert nur ein Teil des Serumalbumins. Das Umkrystallisieren erfolgt aus wässeriger Lösung durch Zusatz von Ammonsulfat und Säure. Beim ersten und zweiten Umkrystallisieren löst sich nicht Alles in Wasser, später erfolgt stets völlige, wenn auch langsame Lösung (Cohn[2]). Die von anderen gemachten Angaben, dass schon nach ein- bis zweimaligem Umkrystallisieren keine Krystallisation mehr erfolgt, sondern nur amorphe Abscheidung, konnte Cohn nicht bestätigen.

Nach Moll[3]) erfolgt die Krystallisation rascher und frei oder fast frei von amorphen Beimengungen, wenn das Serum vor der Fällung mit Ammonsulfat durch Zusatz von 25 ccm $^n/_{10}$ Salzsäure auf 100 ccm neutralisiert wird. Das globulinfreie Filtrat versetzt er auch bis zur beginnenden Trübung mit $^n/_5$ H_2SO_4.

Um ein salzfreies Präparat zu erhalten, wird die wässerige Lösung der Krystalle in heissen Alkohol gegossen und das Coagulum mit Wasser gewaschen.

Zusammensetzung.

Die Zusammensetzung wurde gefunden für:

	C	H	N	S	
amorphes Serumalbumin aus Pleuratranssudat	52,25	6,65	15,88	2,27 pCt.	(Hammarsten u. Starke)
amorphes Serumalbumin aus Pferdeblutserum	53,05	6,85	16,04	1,79 „	(Hammarsten u. Starke)
krystallisiertes Serumalbumin aus Pferdeblutserum	53,08	7,1	15,93	1,9 „	(Michel).

K. Mörner[4]) fand, dass das Serumalbumin aus Pferdeblut Neigung hat, während seiner Darstellung eine feste Verbindung mit Schwefelsäure einzugehen. In den Krystallen liegt eine Verbindung von Albumin und Schwefelsäure vor (siehe auch Inagaki). Nach ihrer Entfernung aus dem krystallisierten und coagulierten Präparate durch Auswaschen mit Ammoniak fand er 1,73 pCt. S. Der Procentgehalt des bleischwärzenden Schwefels beträgt 1,29 pCt. (Schulz[5]), Mörner). Der Schwefel ist vermutlich in Form von Cystin oder einer cystinähnlichen Gruppe vorhanden (Mörner).

Die Frage nach der Identität des krystallisierten und amorphen Serumalbumins und nach der Einheitlichkeit des amorphen ist noch zu beantworten. Zwingende Gründe, die Existenz mehrerer Serumalbumine anzunehmen, liegen zur Zeit nicht vor (siehe darüber auch Oppenheimer[6]), Inagaki). Vor kurzem ist Mellanby[7]) wieder für das Vorkommen von 2 Albuminen (ein krystallisiertes und ein amorphes) eingetreten.

Coagulation.

Das Serumalbumin ist klar in Wasser löslich, gerinnt in 1proc. möglichst salzfreier, neutraler Lösung bei etwa 50°, durch Kochsalzzusatz

1) Verh. d. phys. med. Ges. zu Würzburg. N. F. **38**. No. 1. (1905.)
2) H.-S. **43**. 42. (1904/05.)
3) B. Ph. P. **4**. 567. (1904.)
4) H.-S. **34**. 243. (1902.)
5) H.-S. **25**. 16. (1898.)
6) Verh. d. physiol. Ges. zu Berlin. **28**. 10. (1903.)
7) J. of Ph. **36**. 288. (1907/08.)

wird die Coagulationstemperatur erheblich erhöht. In der Mischung mit Serumglobulin, wie es im Blutserum sich findet, tritt über 60° Trübung und bei 72 bis 75° flockige Fällung ein. Durch Schütteln der wässerigen, etwas salzhaltigen Lösung mit Aether wird es nicht coaguliert, in ziemlich salzfreier Lösung ist es durch starken Alkohol ohne Veränderung fällbar, bei Anwesenheit von etwas Salz wird es durch Alkohol coaguliert (Unterschied von Ovalbumin).

Optische Eigenschaften.

Für amorphes Serumalbumin aus Pferdeblut fand Starke $[\alpha]_D = -60{,}05°$, für krystallisiertes derselben Herkunft Michel $[\alpha]_D = -61$ bis $61{,}2°$.

Verhalten zu Säuren.

Durch Kohlensäure, Essigsäure und andere in Wasser lösliche Fettsäuren wird das Serumalbumin nicht aus seinen wässerigen Lösungen gefällt. Wenn die Temperatur nicht hoch ist, auch die Säure in grosser Verdünnung angewendet wird und ihre Einwirkung nicht zu lange dauert, kann durch vorsichtiges Neutralisieren mit Calciumcarbonat, Soda oder verdünntem Ammoniak eine klare neutrale Lösung von Serumalbumin wieder erhalten werden. Je höher dagegen die Temperatur, je stärker die Concentration der zugesetzen Säure und je grösser ihre relative Quantität ist, desto schneller wird das Serumalbumin in Acidalbumin umgewandelt. Gegen Mineralsäuren ist es viel resistenter als das Eieralbumin. Versetzt man eine Lösung mit einer geringen Menge einer verdünnten Mineralsäure, so wird es weder gefällt noch verändert. Erst bei einem Salzsäuregehalt von 14—15 pCt. sind nach 1 Stunde bei Zimmertemperatur Acidalbumin und Albumosen in reichlicher Menge nachweisbar. Ein Niederschlag tritt bei dieser Concentration nur allmählich und in geringer Menge ein, erst nach vielen Stunden oder bei Erhöhung der Temperatur auf 40° wird er reichlich (Goldschmidt[1]). Der mit starker Salzsäure entstehende Niederschlag, der in Wasser gelöst die spec. Drehung $[\alpha]_D = -78{,}7°$ gezeigt hat und aus salzsaurem Acidalbumin besteht, löst sich im Ueberschuss der Salzsäure. Salze schwerer Metalle bilden meist schnell Acidalbumin. Auch der durch Essigsäure und Ferrocyankalium erzeugte Niederschlag wird nach kurzem Stehen in Acidalbumin umgewandelt. Durch Hitze coaguliertes Serumalbumin löst sich leicht in Salpetersäure (Unterschied von Ovalbumin).

Verhalten zu Alkalien.

Von verdünntem Ammoniak wird Serumalbumin nur allmählich verändert. Kali- und Natronlauge verwandeln es in wässeriger Lösung unter Steigerung der Circumpolarisation in Albuminat und Albumosen; selbst geringe Mengen Kali (0,2 pCt.) haben diese Wirkung. Concentrierte Kali- oder Natronlauge zu conc. Serumalbuminlösung gesetzt bringt die Lösung zur Erstarrung als gallertiges Alkalialbuminat.

Nach Moll[2]) wird Serumalbumin beim Erhitzen seiner wässerigen, Hydroxyde, Carbonate oder Phosphate der Alkalien in bestimmter geringer Menge enthaltenden Lösung

1) Diss. Strassburg 1898.
2) B. Ph. P. **4**. 563. (1904.) u. **7**. 311. (1906.)

auf etwa 60° zum Teil in Substanzen übergeführt, welche in Bezug auf ihre physikalischen Reactionen (Wasserunlöslichkeit, Salzlöslichkeit und Fällungsgrenzen) sowie auf ihren Schwefelgehalt mit dem Serumglobulin (Eu- u. Pseudoglobulin) (§ 306) übereinstimmen (Moll). Bei fortgesetzter Einwirkung entsteht Alkalialbuminat.

Hydrolyse. Ueber die Producte der hydrolytischen Spaltung siehe die Tabelle § 478 Stickstoffverteilung: 1,01 pCt. Amid-, 9,61 pCt. Monamino-, 5,3 pCt. Diamino- und 0,16 pCt. Melaninstickstoff (Gümbel[1]). Langstein[2]) erhielt aus Serumalbumin nach vorausgegangener tiefgreifender Alkalibehandlung durch Kochen mit Säure Glukosamin. Die Menge war aber so klein (in einem Versuch wurde nichts erhalten), dass die Möglichkeit, das gefundene Glukosamin entstamme einer Verunreinigung, nicht von der Hand zu weisen ist, um so mehr, als es gelungen ist, durch wiederholtes Umkrystallisieren Serumalbumin zu erhalten, welches die Probe von Molisch (S. 393, 14) nicht gibt (Abderhalden, Bergell u. Dörpinghaus[3]).

297. **Ovalbumin (Eieralbumin).** Die ersten Untersuchungen über Abscheidung, Zusammensetzung und Eigenschaften des Eieralbumins stammen von Hammarsten und Starke (a. a. O.). Doch war das von ihnen untersuchte Präparat vermutlich ein Gemenge. Krystallisiertes Ovalbumin erhält man nach dem von Hopkins und Pinkus[4]) modificierten Verfahren von Hofmeister[5]) in folgender Weise: Das Weisse frischer Hühnereier*) wird mit genau der gleichen Menge gesättigter Ammonsulfatlösung zu Schaum geschlagen und nach einigen Stunden oder am nächsten Tag filtriert. Zu dem Filtrat lässt man aus einer Bürette 10 proc. Essigsäure zufliessen, bis es milchig wird und fügt dann noch für je 100 ccm 1 ccm der Essigsäure hinzu. Der Niederschlag ist zunächst amorph, aber schon nach etwa 1 Stunde erkennt man mikroskopisch den Beginn der Krystallisation und, wenn die Mischung gelegentlich geschüttelt wird, ist nach 4 oder 5 Stunden alles krystallinisch geworden. Nach 24 Stunden werden die Krystalle abfiltriert und zwei oder dreimal mit halbgesättigter Ammonsulfatlösung, die 1 pM. Essigsäure enthält, gewaschen, dann in wenig Wasser gelöst (10 bis 12 proc. Lösung). Zu der Lösung fügt man nach und nach unter gelegentlichem leisem Schütteln kleine Mengen Ammonsulfatlösung, bis ein bleibender Niederschlag (nicht nur Trübung) entsteht und dann noch 2 ccm auf je 1 Liter. Der Niederschlag wird schnell krystallinisch und die Abscheidung ist in 24 Stunden beendet. Durch leises Schütteln des Gefässes wird sie sehr begünstigt. Bei der mikroskopischen Prüfung sieht man nur

Darstellung von krystallisiertem Ovalbumin.

*) Auch aus Truthenneneiern ist krystallisiertes Ovalbumin erhalten (Worms[6]); über Albumin aus Tauben- und Enteneiern siehe Panormow[7]).

1) B. Ph. P. **5**. 308. (1904.)
2) B. Ph. P. **1**. 259. (1902.)
3) H.-S. **41**. 530. (1904.)
4) J. of Ph. **25**. 306. (1900.)
5) H.-S. **14**. 165. (1890.), **16**. 187. (1892.)
6) Ref. C. C. 1906. **2**. 1508.
7) Ref. C. C. 1900. **2**. 770 u. 1906. **1**. 372.

Krystalle u. z. in Garben zusammenliegende feine Nadeln, die abfiltriert eine schneeweisse Masse darstellen. Aus 1000 ccm Eiereiweiss erhält man 50 g oder mehr. Zur vollkommenen Entfernung des Ovomucoids und anderer Eiweisskörper ist mehrmaliges Umkrystallisieren zu empfehlen, vergl. dazu auch Schulz u. Zsigmondy[1]). Die wiederabgeschiedenen Krystalle sind stets in Wasser leicht löslich (K. A. H. Mörner[2]). Durch Waschen mit 1 pCt. Essigsäure enthaltender gesättigter Kochsalzlösung lassen sich die Krystalle völlig von Ammonsulfat befreien. Um das Ovalbumin salzfrei zu erhalten, giesst man die wässerige Krystalllösung in Alkohol und wäscht das entstandene Coagulum mit Wasser.

Langstein[3]), welcher die Krystallisation durch Zufügen von Schwefelsäure (anstatt Essigsäure) bewirkt, empfiehlt bei der Darstellung folgende Punkte zu berücksichtigen: Die Ammonsulfatlösung muss gegen Lacmoid völlig neutral reagieren. Das Eiweiss jedes Eies muss auf seine Reaction geprüft werden und darf nur, wenn diese gegen Lacmus alkalisch ist, benutzt werden. Das Alter der Eier ist ohne Bedeutung. Die Krystallisation ist bei Zimmertemperatur vorzunehmen. Cohn[4]) empfiehlt nur frische Eier und 10proc. Essigsäure zu verwenden, auch erhielt er aus der abfiltrierten Mutterlauge auf weiteren Zusatz von 10proc. Essigsäure bis zur bleibenden Trübung eine weitere Krystallisation.

Zusammensetzung.

Die Zusammensetzung wurde gefunden:

C	H	N	S	
53,28	7,26	15,00	1,09 pCt.	(Hofmeister)
52,70	7,12	15,43	1,57 „	(Hopkins)
52,75	7,10	15,51	1,62 „	(Osborne u. Campbell[5])
52,46	7,19	15,29	1,34 „	(Langstein).

Osborne und Campbell fanden im Gegensatz zu den anderen noch 0,12 pCt. P., ebenso Willcock[6]) 0,13 pCt. P. Auch Kaas[7]) fand in verschiedenen Präparaten Phosphor, dessen Menge aber mit jeder Umkrystallisation abnahm, also wohl auf Beimengungen zu beziehen ist. Der Procentgehalt des bleischwärzenden Schwefels beträgt 0,43 bis 0,49 (Schulz[8]), Osborne[9]), Mörner). Der Schwefel ist nur zum Teil als Cystin, zum Teil in anderer Form vorhanden (Mörner). Eieralbumin hat nicht die Neigung, Schwefelsäure zu binden, wie das Serumalbumin.

Coagulation.

2,5—5 proc. Lösungen von krystallisiertem Ovalbumin in reinem Wasser trüben sich bei 60° und werden bei 64° flockig gefällt. Anwesenheit von Kochsalz erhöht den Coagulationspunkt, bei 10 pCt. Kochsalzgehalt trübt sich eine 2,5 proc. Lösung bei 68° und gerinnt flockig bei 70° (Osborne und Campbell). Durch Schütteln der wässerigen Lösung mit und ohne

1) B. Ph. P. **3**. 147. (1903.)
2) H.-S. **34**. 274. (1902.)
3) B. Ph. P. **1**. 83. (1902.)
4) H.-S. **43**. 41. (1904/05.)
5) J. A. Ch. S. **22**. 422. (1900.) oder 23. Report of the Connecticut Agricultural Exper. Station 1900. p. 348.
6) Willcock u. Hardy, Ref. C. C. 1907. **2**. 821.
7) M. **27**. 403. (1906.)
8) H.-S. **25**. 16. (1898.)
9) Stud. f. the Res. Labor. of the Connecticut agr. exp. stat. Report f. 1900. p. 443.

Aether wird es allmählich coaguliert, Alkohol coaguliert salzhaltige und ziemlich salzfreie Lösungen (Unterschied von Serumalbumin).

Optische Eigenschaften.

Die specifische Drehung für krystallisiertes Ovalbumin beträgt $[\alpha]_D = -30{,}70^0$ (unabhängig von Anwesenheit von Ammonsulfat) (Hopkins); Willcock[1]) fand sie um einige Zehntel niedriger, nach Osborne und Campbell beträgt sie im Mittel $-29{,}4^0$. Die Abweichungen erklären sich wohl aus den für die Bestimmung des Albumins benutzten Methoden. Durch Einwirkung von Säuren und Alkalien wird die specifische Rotation der Lösungen des Eieralbumins erhöht, ohne dass sie jemals die Höhe der specifischen Rotationen des Serumalbumins erreicht. Siehe darüber auch Willcock.

Verhalten gegen Säuren und Alkalien.

Gegen Säure ist Eieralbumin viel weniger resistent als Serumalbumin, schon bei 0,2—0,3 pCt. Salzsäuregehalt der Lösung ist nach 1 Stunde reichlich Acidalbumin und Albumose nachweisbar. Bei 3,6 pCt. Salzsäuregehalt entsteht sofort ein voluminöser, flockiger Niederschlag, der sich gegen den weiteren Angriff der Säure auch bei 40° äusserst widerstandsfähig erweist (Goldschmidt). In starker Salzsäure löst sich Eieralbumin schwieriger als Serumalbumin. Durch Hitze coaguliertes Eieralbumin löst sich schwer in Salpetersäure. Durch starke Kalilauge wird es in genügend conc. Lösung in eine fest gallertige Masse verwandelt (Lieberkühn's Alkalialbuminat), aber auch schon bei schwach alkalischer Reaction (0,25 pCt.) beginnt alsbald die Umwandlung in Alkalialbuminat.

Reductionsvermögen.

Ovalbumin (auch coaguliertes) vermag bei Zimmertemperatur oder 40° aus Schwefel Schwefelwasserstoff zu bilden und andere Reduktionen auszuführen (Hefftter[2]).

Hydrolyse.

Ueber die Produkte der hydrolytischen Spaltung siehe die Tabelle § 478. Stickstoffverteilung: 1,34 pCt. Amid-, 10,58 pCt. Monamino-, 3,30 pCt. Diamino- und 0,29 pCt. Melaninstickstoff (Osborne u. Harris[3]).

Bei der hydrolytischen Spaltung entstehen flüchtige Schwefelverbindungen, aber kein Schwefelwasserstoff (Mörner).

Beim Kochen des am besten vorher in Alkali gequollenen Ovalbumins mit Salzsäure wird Glukosamin abgespalten (Seemann[4]), Langstein[5]); die erhaltenen Mengen sind sehr verschieden und nehmen mit dem Umkrystallisieren ab. Unter den beim Kochen mit Barytwasser entstehenden Spaltungsproducten fand Fränkel das Albamin (S. 138).

298. **Conalbumin** nennen Osborne und Campbell (a. a. O.) ein Albumin, das sie im Hühnereiweiss neben dem Ovalbumin fanden. C 52,25; H 6,99; N 16,11; S 1,70 pCt. Es hat einen niedrigeren Coagulationspunkt und eine höhere specifische Drehung, als das Ovalbumin und ist nicht krystallisiert erhalten worden. Beim Kochen

1) J. of Ph. **37**. 27. (1908.)
2) B. Ph. P. **5**. 213. (1904.)
3) J. A. Ch. S. **25**. 323. (1903.)
4) Diss. Marburg. (1898.)
5) H.-S. **31**. 49. (1901.)

mit Salzsäure wird ebenfalls Glukosamin abgespalten (Langstein[1]). Stickstoffverteilung: 1,21 pCt. Amid-, 10,49 pCt. Monamino-, 4,16 pCt. Diamino- und 0,26 pCt. Melaninstickstoff (Osborne u. Harris[2]).

299. **Lactalbumin.** Zu seiner Darstellung sättigt man Milch oder Colostrum bei 30° mit Magnesiumsulfat, fällt das Filtrat durch Zusatz von 0,5—1 pCt. Essigsäure und filtriert ab. Der abgepresste Niederschlag wird in wenig Wasser gelöst, die Lösung genau mit Natronlauge neutralisiert, anhaltend gegen destilliertes Wasser dialysiert und nach Eindunsten in flacher Schale bei 30—40° auf kleines Volumen mit starkem Alkohol gefällt. Der mit Alkohol und Aether gewaschene und getrocknete Niederschlag stellt ein feines, weisses Pulver dar (Sebelien[3]). Von Wichmann[4]) wurde es krystallisiert erhalten. Darstellung.

Die amorphe Substanz hat die Zusammensetzung C 52,19; H 7,18; N 15,77; S 1,73 pCt. Es stimmt mit dem Serumalbumin in der Gerinnungstemperatur und in seinem Verhalten gegen Säuren und Alkalien überein, dreht aber bedeutend schwächer. $[\alpha]_D = -36{,}4$ bis $36{,}98°$. Eigenschaften.

300. **Oxyhämocyanin, Hämocyanin**[5]). Aus dem Blut der Arterie von Octopus erhielt Frédéricq Oxyhämocyanin als einzigen albuminartigen Körper, der blau gefärbt ist und wie das Oxyhämoglobin durch Evacuieren in freiwerdenden Sauerstoff und eine farblose Substanz, Hämocyanin, zerlegt werden kann. Auch im Blut von anderen Mollusken (Weinbergschnecke) und von Arthropoden (Hummer, Krabben) ist es nachgewiesen. Von Henze wurde es mit Hülfe eines dem beim Ovalbumin S. 398 beschriebenen ähnlichen Verfahrens (unter Benutzung von Ammonsulfat und Essigsäure) krystallinisch erhalten. C 53,66; H 7,33; N 16,09; S 0,86; Cu 0,38 pCt. Die blaue Lösung u. z. sowohl die durch Dialyse salzfrei gemachte als die kochsalzhaltige beginnt bei 68° zu opalescieren und ist bei 72° völlig geronnen. Sättigung mit Ammonsulfat wirkt völlig ausfällend, Sättigung mit Magnesiumsulfat nicht. Die gewöhnlichen Eiweissreactionen (§ 293) sind positiv, die Biuretreaction schon ohne Kupferzusatz. Auf vorsichtigen Zusatz von verdünnter Salzsäure fällt unter Verschwinden der Blaufärbung und Abspaltung von Kupfer ein weisser, flockiger Körper von den Eigenschaften des Acidalbumins aus (Henze). Es ist kein Proteid und spaltet sich nicht, wie Frédéricq meinte, nach Art des Hämoglobins, in Eiweiss und eine Kupfer enthaltende farbige Substanz. Stickstoffverteilung: 0,93 pCt. Amid-, 10,20 pCt. Monamino-, 4,45 pCt. Diamino- und 0,43 pCt. Melaninstickstoff. Unter den hydrolytischen Spaltungsproducten wurden Leucin, Glutaminsäure, Lysin, Histidin, Tyrosin nachgewiesen (Henze).

301. **Myogen***) (Myosinogen von Halliburton[6]). Zur Darstellung Darstellung.

*) Das Myogen weicht in manchen Punkten von den Albuminen ab.

1) B. Ph. P. **1**. 100. (1902.)
2) J. A. Ch. S. **25**. 323. (1903.)
3) H.-S. **9**. 453. (1885.)
4) H.-S. **27**. 575. (1899.)
5) Frédéricq, Bull. de l'acad. roy. de Belgique. (2.) **47**. No. 4. (1879.)
Halliburon, J. of Ph. **6**. 300. (1885.)
Henze, H.-S. **33**. 370. (1901.), **43**. 290. (1904/05.)
Kobert, Pfl. A. **98**. 410. (1903.).
Dhéré, Ref. B. C. **7**. 603. (1908).
6) J. of Ph. **8**. 133. (1887.)

nach v. Fürth[1]) dient die Pressflüssigkeit frischer, durch Ausspülen mit 0,6 proc. Kochsalzlösung blutfrei gemachter, quergestreifter Muskeln von Wirbeltieren, z. B. Kaninchen. Dieses Muskelplasma wird entweder dialysiert, nach dem Filtrieren zur Entfernung von Myosinresten auf 52° erhitzt, wieder filtriert und mit Alkohol gefällt oder mit $1^1/_4$ Vol. gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt und nach Abfiltrieren der Fällung mit gepulvertem Ammonsulfat gesättigt. Den abfiltrierten, mit gesättigter Ammonsulfatlösung gewaschenen und abgepressten Niederschlag löst man in Wasser, erhitzt die wässerige Lösung auf 40° (zur Entfernung von löslichem Myogenfibrin), filtriert und fällt das Filtrat mit Alkohol.

Eigenschaften.

Die Lösungen coagulieren, schnell erhitzt, zwischen 55 und 65°; sie werden durch Sättigung mit Kochsalz oder Magnesiumsulfat etwas (wenn auch nur sehr unvollkommen) gefällt, durch Halbsättigung mit Ammonsulfat noch nicht, aber durch Sättigung mit diesem Salze vollkommen. Mineralsäuren geben im Ueberschuss lösliche Fällungen, Essigsäure und ebenso Schwermetallsalze nur bei Gegenwart von Neutralsalzen. Eine Lösung von Myogen mit Natronlauge vorsichtig erwärmt gibt auf Zusatz von 15 proc. Salmiaklösung einen voluminösen, gallertigen Niederschlag (Unterschied von Myosin).

Lösliches Myogenfibrin. Myogenfibrin

Während salzfreie Myogenlösungen beständiger sind, kommt es in salzhaltigen, besonders beim Erwärmen auf 30—40°, zur Bildung von löslichem Myogenfibrin (bei 40° coagulierend) und weiterhin zur Abscheidung von Myogenfibrin. Diese Umwandlung wird befördert durch die Anwesenheit mancher Substanzen, z. B. Calcium- oder Ammoniumchlorid, Rhodannatrium, salicylsaurem Natron, Coffeinsalzen usw. Das Myogen wird sehr leicht in Acidalbumin umgewandelt, schon durch 1 proc. Essigsäure.

Der aus den Wirbellosen durch ein entsprechendes Verfahren erhaltene Eiweissstoff stimmt mit dem Myogen nicht überein (v. Fürth[2]), Przibram[3]). Der aus glatten Muskelfasern gewonnene ist noch nicht genügend untersucht. Die vorliegenden Angaben stimmen nicht überein (Velichi[4]), Vincent[5]).

B. Globuline.

Allgemeine Eigenschaften der Globuline. Unterschiede von den Albuminen.

302. Sie sind löslich in verdünnter Lösung neutraler Salze, wie Chlornatrium, Chlorammonium, Magnesiumsulfat. Diese Lösungen werden beim Erhitzen coaguliert. In Wasser sind sie unlöslich oder schwer löslich und werden deshalb bei gewöhnlicher Temperatur durch Zusatz von viel Wasser oder durch Dialyse aus ihren salzhaltigen Lösungen abgeschieden*). Der Niederschlag mancher Globuline wird beim längeren

*) Eine Ausnahme machen die Krystalline (§ 310), welche ihrer sonstigen Eigenschaften wegen den Globulinen zugerechnet werden müssen, aber in Wasser löslich sind.

1) A. exp. P. u. Ph. **36**. 231. (1895) u. **37**. 389. (1896.)
2) H.-S. **31**. 338. (1900/01.)
3) B. Ph. P. **2**. 143. (1902.)
4) C. f. Ph. **12**. 351. (1899.)
5) H.-S. **34**. 417. (1901/02.)

Stehen unter Wasser in neutraler Salzlösung unlöslich. Alle Globuline werden durch Sättigung der neutralen Lösung mit Magnesiumsulfat*) bei 30° ohne Aenderung ihrer Eigenschaften ausgefällt, ebenso durch Sättigung mit Ammoniumsulfat, vollständig oder fast vollständig auch schon durch Halbsättigung mit letzterem Salz. Einige (Serumglobulin, Fibrinogen, Fibringlobulin, Myosin) werden durch Sättigung ihrer neutralen Lösung mit Kochsalz gefällt, andere (α- und β-Krystallin, Thyreoglobulin) nicht. Durch Alkohol werden die Globuline leichter gefällt als die Albumine und bei Berührung mit Alkohol schneller coaguliert.

303. **Myosin.** Mit diesem Namen bezeichnet man sowohl das aus frischem Muskelplasma dargestellte und von Halliburton[1]) Paramyosinogen genannte Globulin als auch das aus toter Muskelsubstanz gewonnene. Die Angaben über das Verhalten beider z. B. in Bezug auf die Coagulationstemperatur, Fällbarkeit durch Salze sind nicht ganz übereinstimmend. Ob diese Verschiedenheiten durch die Annahme, dass das aus den toten Muskeln erhaltene Globulin mit Myogen verunreinigt ist, ihre Erklärung finden, bedarf weiterer Untersuchung.

Zur Darstellung aus Muskelplasma nach von Fürth[2]) wird die Press- Darstellung.
flüssigkeit frischer durch Ausspülen mit physiologischer Kochsalzlösung blutfrei gemachter (Kaninchen-) Muskeln entweder der Diffusion unterworfen oder mit $^3/_4$ Vol. gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt. Die abgeschiedene Substanz wird mit physiologischer Kochsalzlösung behandelt, filtriert, das Filtrat wieder mit $^3/_4$ Vol. gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt und Lösung und Fällung nochmals wiederholt. Die ganze Darstellung muss schnell geschehen; trotzdem ist die Ausbeute eine geringe, da das Myosin die Neigung hat, unlöslich zu werden. Um das Myosin aus toten Muskeln zu erhalten, wird die gut zerkleinerte, schnell mit kaltem Wasser sorgfältig ausgewaschene Masse mit 10—15proc. Salmiaklösung zusammengerührt, einige Stunden stehen gelassen und zuerst durch Leinwand, dann durch Papier filtriert. Man lässt die Lösung in Wasser tropfen, wäscht die ausgeschiedenen Gerinnsel mit Wasser gut aus, löst sie wieder in Salmiaklösung und fällt abermals mit Wasser (Danilewsky[3]).

Die wässerige Lösung des Myosins aus Muskelplasma trübt sich bei Coagulation.
längerem Stehen spontan, schneller beim Erwärmen bis auf 35°; der Niederschlag, Myosinfibrin, ist in Neutralsalzlösungen unlöslich und zeigt die Myosinfibrin.
Eigenschaften coagulierter Albuminstoffe. Beim schnellen Erhitzen auf 44 bis 47° trübt sich die Lösung; ein Niederschlag erfolgt bei 47—50°, eine

*) Viele pflanzliche Globuline verhalten sich insofern anders als sie durch Sättigung mit Magnesiumsulfat nicht gefällt werden und durch Ammoniumsulfat erst bei weit über Halbsättigung.

1) J. of Ph. **8**. 133. (1887.)
2) A. exp. P. u. Ph. **36**. 231. (1895.) 3) H.-S. **5**. 158. (1881.)

vollständige Abscheidung bei 50—53° (v. Fürth). Die Salmiaklösung des aus toten Muskeln dargestellten Myosins beginnt bei 42° sich zu trüben und wird bei 55° flockig coaguliert (Danilewsky).

Eigenschaften. Beim Zufügen von Ammonsulfat zu einer Lösung von Myosin (aus Muskelplasma) beginnt die Fällung bei 12—17 pCt. Salzgehalt und ist bei 28 pCt. beendet (v. Fürth). Das aus toten Muskeln gewonnene Myosin verlangt zu seiner Abscheidung aus Lösungen einen höheren Procentgehalt an Magnesiumsulfat als das aus Muskelplasma gewonnene (Halliburton). Säuren rufen in Myosinlösungen Niederschläge hervor, die im Ueberschuss sich leicht lösen. Myosin wird durch Säuren und Alkalien leicht in Acidalbumin resp. Alkalialbuminat umgewandelt.

Aus glatter Muskulatur erhält man nach dem Verfahren von v. Fürth ein Globulin, über dessen Eigenschaften Velichi (a. a. O.) und Vincent (a. a. O.) abweichende Angaben machen, das aber jedenfalls nicht mit dem Myosin übereinstimmt. Ebenso ist das aus dem Muskelplasma der Wirbellosen dargestellte Myosin kein typisches (v. Fürth[1]).

Vorkommen. 304. **Fibrinogen** enthalten alle diejenigen Flüssigkeiten, welche beim ruhigen Stehen bei gewöhnlicher Temperatur von selbst gerinnen unter Bildung von Fibrin oder zur Gerinnung gebracht werden, wenn man einige Tropfen der aus frischem, geronnenen Blut ausgepressten Flüssigkeit hinzufügt und die Mischung eine Zeit lang stehen lässt. Es findet sich in Blut, Lymphe, Knochenmark (P. Th. Müller[2]), manchen Trans- und Exsudaten.

Darstellung. Zur Darstellung wird durch Oxalatzusatz (0,3 pCt.) ungerinnbar gemachtes (Pferde-) Blut centrifugiert, das Plasma über Nacht bei 0° stehen gelassen, filtriert und mit dem halben Vol. gesättigter Kochsalzlösung versetzt; die von dem geringfügigen Niederschlag abfiltrierte Flüssigkeit wird nun mit soviel gesättigter Kochsalzlösung versetzt, dass auf 1 Teil Oxalatplasma 2 Teile kommen. Der jetzt entstehende Niederschlag wird in 6—8proc. Kochsalzlösung gelöst, mit dem gleichen Vol. gesättigter Kochsalzlösung gefällt und dieses Verfahren mehrmals wiederholt. Löst man jetzt den stark abgepressten Niederschlag in Wasser und diffundiert gegen ganz schwache (0,003 proc.) Natronlauge, so erhält man eine salzfreie oder fast salzfreie reine Fibrinogenlösung, aus der durch Alkohol das Fibrinogen abgeschieden werden kann (Hammarsten[3]).

Nach Huiskamp[4]) enthält die Fibrinogenlösung noch Fibringlobulin (§305) in lockerer Verbindung mit dem Fibrinogen. Um es zu entfernen, versetzt man die Lösung mit dem doppelten Volum gesättigter Fluornatriumlösung, löst den entstandenen gallertigen Fibrinogenniederschlag in $^1/_{20}$ proc. Ammoniak, neutralisiert nach Zusatz von Kochsalz bis zu 3—5 pCt. und wiederholt die Fällung. Das Fibringlobulin bleibt in Lösung.

---

1) H.-S. **31**. 338. (1900/01.) 2) B. Ph. P. **6**. 454. (1905.)
3) H.-S. **22**. 333. (1897.) u. **28**. 98. (1899), Pfl. A. **19**. 563. (1879) u. **22**. 431. (1880) u. Maly's Jbr. 1882. S. 11.
4) H.-S. **44**. 182. (1905.), **46**. 273. (1905.)

Nach Reye[1]) gewinnt man Fibrinogen durch Versetzen von 12 Tl. durch Fluornatrium (0,56—0,6 pCt.) ungerinnbar gemachten Plasmas mit 30 Tl. Wasser und 16 Tl. gesättigter Ammonsulfatlösung und Auswaschen des abfiltrierten Niederschlags mit entsprechend conc. Ammonsulfatlösung als schneeweissen, flockigen Niederschlag, der an der Luft getrocknet und bei 80° coaguliert mit heissem Wasser salzfrei gewaschen werden kann.

Zusammensetzung.

Das aus Pferdeblut dargestellte Fibrinogen hat die Zusammensetzung: C 56,93; H 6,90; N 16,66; S 1,25 pCt. (Hammarsten). Mörner fand 1,13 pCt. S und 0,465 pCt. bleischwärzenden Schwefel. Der Schwefel ist nur z. Tl., vielleicht zur Hälfte, in Form von Cystin vorhanden (Mörner).

Coagulation.

Seine salzhaltige Lösung coaguliert nach Hammarsten[2]) bei 52—55°, nach Frédéricq[3]) bei 55—56°.

Eigenschaften.

Kohlensäure und verdünnte Säuren rufen Fällungen hervor, die alsbald in verdünnten Salzlösungen unlöslich werden. Durch das gleiche Vol. gesättigter Kochsalzlösung werden selbst sehr verdünnte Fibrinogenlösungen ziemlich reichlich gefällt, während Serumglobulin bei diesem Salzgehalt (16 pCt.) nur dann ausfällt, wenn es sehr reichlich vorhanden ist; auch durch Ammonsulfat wird es schon bei einem geringeren Salzgehalt gefällt als Serumglobulin. In salzfreien, mit sehr wenig Alkali hergestellten, nicht aber in salzhaltigen Lösungen ruft Chlorcalcium einen Niederschlag von Fibrinogenkalk hervor. Das durch Aussalzen, durch Wasserzusatz oder durch Säure ausgeschiedene Fibrinogen verliert sehr leicht die Fähigkeit, sich wieder zu lösen.

Optische Eigenschaften.

Für Fibrinogen aus Pferdeblut fand Mittelbach[4]) $[\alpha]_D = -52{,}5°$, für Fibrinogen aus Rinderblut Cramer[5]) $[\alpha]_D = -36{,}8°$. Dieses aus Rinderblut dargestellte zeigte auch eine abweichende Zusammensetzung.

Auf Zusatz von Fibrinferment gerinnt eine Fibrinogenlösung unter Abscheidung von Fibrin (§ 313), in Lösung bleibt Fibringlobulin (§ 305).

305. **Fibringlobulin** nennt Hammarsten[6]) ein bei etwa 64° coagulierendes Globulin von der Zusammensetzung C 52,70; H 6,98; N 16,06 pCt. (Schwefel wurde nicht bestimmt), welches aus Fibrinogenlösung, nachdem sich die Umwandlung zu Fibrin vollzogen hat, durch Sättigung mit Kochsalz abgeschieden werden kann. Es ist auch im Blutserum vorhanden und lässt sich durch Versetzen von 2 Tl. Serum mit 5,2 Tl. Wasser und 2,8 Tl. gesättigter Ammonsulfatlösung zusammen mit anderen Stoffen abscheiden (Hammarsten[7]). Beim Erhitzen einer Fibrinogenlösung auf 55—60° bleibt gleichfalls ein Körper von obiger Coagulationstemperatur in Lösung (Hammarsten[8]) und desgleichen bei der Fällung einer Fibrinogenlösung mit Essigsäure (Frederikse[9]). Nach Huiskamp ist das Fibringlobulin im Blutplasma in lockerer z. Tl. schon hydrolytisch gespaltener Verbindung mit dem eigentlichen (gerinnungsfähigen) Fibrinogen vorhanden. Ueber seine Abtrennung siehe S. 304 unten.

---

1) Diss. Strassburg. 1898.
2) Maly's Jbr. 1876. S. 15.
3) Bull. de l'acad. de Belg. [2] **64**. No. 7. (1877.)
4) H.-S. **19**. 289. (1894.)
5) H.-S. **23**. 74. (1897.)
6) Maly's Jbr. 1882. S. 11.
7) H.-S. **28**. 98. (1899.)
8) Pfl. A. **22**. 431. (1880.)
9) H.-S. **19**. 143. (1894.)

Vorkommen. 306. **Serumglobulin** (Paraglobulin, fibrinoplastische Substanz) ist in Blut, Lymphe, Transsudaten, anscheinend in sehr geringer Menge in der Milch (Sebelien[1]) und krankhafter Weise auch im Harn vorhanden.

Darstellung. Nach Hammarsten[2]) wird es gewonnen durch Verdünnen des schwach mit Essigsäure angesäuerten Blutserums mit der 10—15 fachen Menge Wasser und Reinigen des entstandenen Niederschlags entweder durch wiederholtes Auflösen in möglichst verdünntem Alkali und Fällen mit wenig Essigsäure oder durch Auflösen in verdünnter Kochsalzlösung und Fällen mit Wasser. Nach Reye[3]) erhält man Serumglobulin, indem man Serum auf 30 proc. Sättigung mit Ammonsulfat bringt (2 Tl. Serum, 5 Tl. Wasser und 3 Tl. gesättigte Ammonsulfatlösung), von dem entstandenen Niederschlag (Fibringlobulin) abfiltriert und zu dem Filtrat so viel Ammonsulfatlösung zufügt, dass eine nahezu halb gesättigte Lösung von Ammonsulfat entsteht. Das dabei ausfallende Globulin wird mehrfach in Wasser gelöst und mit Ammonsulfat gefällt. Es enthält ganz kleine Mengen von Nucleoproteid. Auch durch Sättigung des Serums mit Magnesiumsulfat wird Serumglobulin ausgefällt zusammen mit Fibringlobulin und Nucleoproteid, die allerdings nur in sehr geringer Menge vorhanden sind.

Einheitlichkeit des Serumglobulins. Das Serumglobulin wird (abgesehen von den eben genannten Beimengungen) für ein Gemenge gehalten. Die Menge des durch Verdünnung oder Säurezusatz oder Dialyse aus dem Serum erhaltenen Globulins ist immer bedeutend geringer, als die durch Halbsättigung mit Ammonsulfat oder Sättigung mit Magnesiumsulfat gewonnene. Das durch Salzfällung erhaltene scheidet sich bei der Dialyse seiner Lösungen z. Tl. ab (wasserunlöslicher Teil), z. Tl. bleibt es in Lösung und ist auch durch Kohlensäuredurchleiten und Essigsäurezusatz nicht fällbar (wasserlöslicher Teil). Indessen stimmen beide in Zusammensetzung, Drehung, Coagulationstemperatur und Verhalten gegen Fällungsmittel überein (Hammarsten[4]), Marcus[5]). Durch fractionierte Fällung mit Ammonsulfat ist das durch Salzfällung erhaltene in zwei Teile zerlegt worden, von denen der leichter fällbare (28—30proc. Sättigung mit Ammonsulfat) dem wasserunlöslichen Teil, der schwerer fällbare (34—46proc. Sättigung) dem wasserlöslichen Teil entsprechen sollte (Fuld und Spiro[6]), Pick[7]). Ersterer wurde Euglobulin, letzterer Pseudoglobulin genannt. Indessen enthalten nach Freund und Joachim[8]) (vergl. auch Hammarsten[9]) beide Fractionen wasserunlösliche und wasserlösliche Teile. Auch Porges und Spiro[10]), welche das Globulin durch Fällung mit Ammonsulfat in drei Fractionen zerlegten, fanden gelegentlich in jeder dieser 3 Fractionen wasserlösliches und wasserunlösliches. Das durch Verdünnen und Essigsäurezusatz gewonnene Globulin scheidet sich bei der Dialyse seiner Lösungen ebenfalls nicht völlig ab und lässt sich durch Ammonsulfat auch fractioniert fällen. Alle die durch verschiedene Fällbarkeit und verschiedene Löslichkeit erhaltenen

---

1) H.-S. **9**. 445. (1885.)
2) Pfl. A. **17**. 413. (1878), **18**. 38. (1878), **22**. 431. (1880.)
Freund u. Joachim, H.-S. **36**. 430. (1902.)
Huiskamp, H.-S. **46**. 394. (1905.)
3) Diss. Strassburg. 1898.
4) H.-S. **8**. 467. (1883/84.)
5) H.-S. **28**. 559. (1899.)
6) H.-S. **31**. 140. (1901.)
7) B. Ph. P. **1**. 360. (1902.)
8) H.-S. **36**. 407. (1902.)
9) Ergebn. d. Physiol. **1**. 346. (1902.)
10) B. Ph. P. **3**. 277. (1903.)

Fractionen zeigen aber dieselbe Zusammensetzung, dasselbe Lichtbrechungsvermögen (Reiss[1]), ungefähr dieselbe Gerinnungstemperatur (die von Freund und Joachim beobachteten Unterschiede sind zu wenig prägnant) und dieselbe specifische Drehung (die von Porges und Spiro gefundenen Differenzen sind zu klein, als dass sie sich nicht durch die Ungenauigkeit der Methode erklären liessen). Da auch die Unterschiede in Bezug auf Lösungsvermögen in Wasser sowie in Bezug auf Fällbarkeit durch Säure auf aus dem Serum stammende Beimengungen zurückzuführen sind (Hammarsten, K. Mörner[2]) so gründet sich die Annahme, dass das Globulin eine Gemenge darstellt lediglich auf seine fractionierte Fällbarkeit durch Ammonsulfat und andere Salze.

Zusammensetzung.

Mittlere Zusammensetzung C 52,71; H 7,01; N 15,85; S 1,11 pCt. (Hammarsten). K. A. H. Mörner[2]) fand 1,02 pCt. S und 0,67 pCt. bleischwärzenden Schwefel. Wahrscheinlich ist die Gesamtmenge des Schwefels als Cystin vorhanden (Mörner).

Coagulation.

Coagulationstemperatur in 10 proc. Kochsalzlösung 69—76° (Hammarsten). Die Lösungen werden durch Halbsättigung mit Ammonsulfat und durch Sättigung mit Magnesiumsulfat bei gewöhnlicher Temperatur vollkommen, durch Sättigung mit Kochsalz nur unvollkommen gefällt (Hammarsten). Durch Dialyse und durch Säurezusatz findet nur teilweise Fällung statt.

Optische Eigenschaften.

Das aus Rinder- und Pferdeblut nach dem Säureverfahren dargestellte Serumglobulin zeigt in verdünnter Kochsalz- oder Magnesiumsulfatlösung $[\alpha]_D = -47{,}8°$ (Frédéricq[3]).

Hydrolyse.

Ueber die Producte der hydrolytischen Spaltung siehe die Tabelle § 478. Von den 15,85 pCt. Gesamtstickstoff kommen etwa 10,59 pCt. auf Monamino- und 3,87 pCt. auf Diaminostickstoff (Hausmann[4]). Dass beim Kochen mit Säuren aus Serumglobulin (aus Blut, Ascitesflüssigkeit, Harn) ein reducierendes und osazonbildendes Kohlehydrat abgespalten wird, fand zuerst K. Mörner[5]). Langstein[6]) wies die Anwesenheit von Glukose und Glukosamin nach, fand die Menge der reducierenden Substanz auf Traubenzucker berechnet zu etwa 1,3 pCt. und bemühte sich die Muttersubstanz dieser Kohlehydrate zu isolieren. Abderhalden, Bergell und Dörpinghaus[7]), welche nur Traubenzucker feststellen konnten, fanden etwa 0,1 pCt. reducierende Substanz (auf Traubenzucker berechnet). Die Möglichkeit, dass diese Kohlehydrate aus Beimengungen des Globulins stammen, ist nicht ganz von der Hand zu weisen.

Desamidierung.

Ueber die Einwirkung von salpetriger Säure auf Globulin siehe Lampel[8]).

Glutolin. Faust[9]) isolierte aus dem hauptsächlich Serumglobulin enthaltenden

1) B. Ph. P. **4**. 150. (1904.)
2) H.-S. **34**. 253. (1902.)
3) Arch. de biol. **1**. 17. (1880.)
4) H.-S. **27**. 104. (1899.)
5) C. f. Ph. **7**. 581. (1894.), H.-S. **34**. 253. (1901/02.)
6) M. **24**. 445. (1903.), **25**. 453. (1904.), **26**. 531. (1905.), Ergebn. d. Phys. **3**. 460 (1904.)
7) H.-S. **41**. 530. (1904.)
8) M. **28**. 625. (1907.)
9) A. exp. P.u.Ph. **41**. 309. (1898.)

Niederschlag, welcher beim Versetzen von Pferdeblutserum mit dem gleichen Volum gesättigter Ammonsulfatlösung entsteht, einen Körper von der Zusammensetzung C 51,21; H 7,24; N 17,47; S 0,64 pCt., der in Neutralsalzlösungen jeder Concentration unlöslich, nur in Alkalien und Ammoniak löslich und aus diesen Lösungen durch Säure wieder fällbar war. Er gab die Biuret- und die Millon'sche Reaction, letztere nicht sehr stark, nicht oder nur sehr schwach die Schwefelbleiprobe (§ 293). Bei der hydrolytischen Spaltung entstand Glykocoll. Faust hält das Glutolin für eine Zwischenstufe zwischen den Eiweissstoffen und Glutin. Die Methode der Darstellung erregt den Verdacht, dass es sich um ein Umwandlungsproduct des Serumglobulins handelt. Siehe darüber Spiro[1]) und Hammarsten[2]).

Darstellung. 307. **Percaglobulin** ist in den Rogen (u. zw. in dem Safte der Ovarialhöhle, nicht in den Eiern) von Barsch enthalten und von C. Th. Mörner[3]) genau untersucht. Man behandelt die aufgeschnittenen frischen Ovarien 10 Minuten lang mit dem etwa gleichen Gewicht $^n/_{10}$ Kochsalzlösung, coliert, wiederholt die Behandlung mit dem halben Gewicht der Kochsalzlösung und filtriert die vereinigten Colate. Aus dieser Lösung fällt es durch Verdünnen mit Wasser, besonders bei geringem Zusatz von Säure oder Einleiten von Kohlensäure, durch Dialyse und ferner durch teilweise oder vollständige Sättigung mit gewissen Neutralsalzen.

Eigenschaften. Es unterscheidet sich von anderen Globulinen durch seinen adstringierenden Geschmack, hohen Schwefelgehalt (1,92 pCt.), seine Fällbarkeit durch $^3/_4$ pCt. Salzsäure, seine Eigenschaft, gewisse Glukoproteide und Polysaccharide auszufällen und selbst durch sie ausgefällt zu werden.

Es geht leicht, besonders bei längerer Berührung mit Wasser in eine schwerlösliche Modification über, das Percaglobulan, welches auch in Bezug auf Fällbarkeit von der nativen Substanz abweicht.

308. **Ovoglobulin.** Zu seiner Darstellung versetzt man Hühnereiweiss mit dem gleichen Vol. gesättigter Ammonsulfatlösung und reinigt den entstandenen Niederschlag durch wiederholtes Lösen in verdünnter Kochsalzlösung (wobei sich ein Teil als unlöslich erweist) und Ausfällen mit Ammonsulfatlösung. Es scheidet sich auch durch Sättigung der Eiweisslösung mit Magnesiumsulfat aus. Bei der hydrolytischen Spaltung wurde ungefähr 11 pCt. Glukosamin gewonnen (Langstein[4]).

Eichholz[5]), Osborne u. Campbell[6]) nennen das Globulin, welches sie durch Verdünnen des Eiweiss mit Wasser bezw. durch Halbsättigung mit Ammonsulfat und Dialyse des Niederschlags erhielten, Ovomucin. Die von Langstein und von Osborne und Campbell erhaltenen Substanzen zeigten nicht dieselbe Zusammensetzung. Ob das Ovoglobulin eine einheitliche Substanz bildet, ist noch unentschieden. Siehe besonders die Arbeit von Langstein.

Lactoglobulin, siehe darüber die Arbeiten von Sebelien[7]), Tiemann[7]), Morochowetz[9]). Es ist noch unentschieden, ob es von dem Serumglobulin verschieden ist.

309. **Krystallisierendes Globulin aus Harn** wurde ein einziges Mal aus dem Harn eines Kranken von Noël-Paton[10]) gewonnen. Der Harn schied, manchmal schon

1) H.-S. **28**. 174. (1899.)
2) Ergebn. d. Phys. **1**. 337. (1902.)
3) H.-S. **40**. 429. (1903/04.)
4) B. Ph. P. **1**. 83. (1902.)
5) J. of Ph. **23**. 163. (1898.)
6) J. A. Ch. S. **22**. 422. (1900.) oder 23. Report of the Connecticut Agric. Exp. Station. 1900. p. 348.
7) H.-S. **9**. 446 (1885.)
8) H.-S. **25**. 363. (1898.)
9) Le Physiol. Russe **9**. 48. (1906.), cit. nach B. C. **6**. 409. (1907.)
10) Reports f. the Lab. of the Roy. coll. of Physic. Edinburgh. **4**. 47. (1892.) Huppert, H.-S. **22**. 500. (1897.) C. f. med. W. 1898. S. 481.

nach 1—2 Tagen, ein reichliches, krystallinisches Sediment (lange, schmale Tafeln mit zweiflächiger, stumpfwinkliger Zuspitzung) ab, unlöslich in Wasser, gesättigter Kochsalz- und Magnesiumsulfatlösung, halbgesättigter Ammonsulfatlösung, löslich in verdünnten Neutralsalzlösungen, Säuren, Alkalien. Zusammensetzung: C 51,89; H 6,88; N 16,06: S 1,24 pCt. Die Lösungen in Neutralsalz coagulierten bei 56—59°. Durch verdünnte Salzsäure wurde es langsam in der Kälte, schnell in der Wärme in Acidalbumin umgewandelt. Seine Lösungen konnten durch Blut nicht zur Gerinnung gebracht werden.

310. **Globuline der Krystalllinse** wurden von C. Th. Mörner[1]) genauer untersucht und unterscheiden sich von den anderen Globulinen dadurch, dass sie aus ihren Lösungen durch Wasser nicht gefällt werden können; sie werden auch nicht durch Kochsalz gefällt, aber durch Sättigung mit Magnesiumsulfat und Natriumsulfat bei 30° und durch das anderthalbfache Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung völlig ausgeschieden.

α-Krystallin. *α*-Krystallin fällt aus dem filtrierten Wasserauszug der Linsen durch vorsichtigen Essigsäurezusatz aus und kann durch wiederholtes Lösen in ganz verdünntem Ammoniak und Fällen mit Essigsäure gereinigt werden. Es ist aus wässeriger, salzfreier oder salzarmer Lösung durch Kohlensäure und vorsichtigen Zusatz von Essigsäure fällbar, hat die Zusammensetzung C 52,83; H 6,94; N 16,68; S 0,56 pCt. und coaguliert bei etwa 72°. $[\alpha]_D = -46{,}9°$ (annähernd).

β-Krystallin. *β*-Krystallin wird dargestellt, indem man den filtrierten, wässerigen Auszug des inneren Viertels der Linsen vorsichtig mit verdünnter Essigsäure ausfällt, das neutralisierte Filtrat mit Magnesiumsulfat sättigt und die dialysierte Lösung des Niederschlags mit Alkohol fällt. Es ist aus seiner salzfreien Lösung nur unvollkommen durch Kohlensäure und Essigsäure fällbar, enthält 17,4 pCt. N und 1,27 pCt. S und coaguliert bei 63°. $[\alpha]_D = -43{,}2°$.

Darstellung. 311. **Thyreoglobulin.** Das jodhaltige Globulin der Schilddrüse erhält man nach Oswald[2]) als schneeweisse Masse, indem man den Wasserauszug der fein zerkleinerten Drüsensubstanz mit dem gleichen Vol. gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt, den mit halbgesättigter Ammonsulfatlösung gewaschenen Niederschlag in Wasser löst, klar filtriert, Fällung und Lösung wiederholt und nun entweder direct mit Essigsäure fällt und den Niederschlag auf dem Filter mit schwach angesäuertem Wasser salzfrei wäscht oder dialysiert und mit Alkohol fällt.

Zusammensetzung u. Eigenschaften. Die aus den Schilddrüsen und Kröpfen (soweit sie kolloidhaltig sind) verschiedener Tiere und des Menschen erhaltenen Präparate stehen einander in Eigenschaften und Zusammensetzung nahe, enthalten aber verschiedene Jodmengen. Auch Präparate, die von verschiedenen Individuen derselben Species gewonnen wurden, zeigten Unterschiede im Jodgehalt. Das Thyreo-

1) H.-S. **18**. 61. (1894.)

2) H.-S. **27**. 14. (1899.) **32**. 121. (1901.), B. Ph. P. **2**. 545. (1902.), Virch. A. **169**. 444. (1902.) Zusammenfassendes Referat B. C. **1**. 249. (1903.)

globulin aus Schweinedrüsen: C 52,21; H 6,83; N 16,59; J 0,46; S 1,86 pCt. Die aus Züricher Kälbern gewonnenen Präparate waren jodfrei; ebenso auch die aus kolloidfreien rein parenchymatösen Kröpfen erhaltenen. In 10 pCt. Magnesiumsulfat enthaltender Lösung coagulieren die Präparate aus Schweinedrüsen bei 65—66°, die aus Hammel-, Ochsen-, Kalbsdrüsen bei 67°. Durch Sättigen der Lösungen mit Kochsalz tritt nur Trübung ein, durch Sättigung mit Magnesiumsulfat oder Halbsättigung mit Ammoniumsulfat Ausfällung. Durch verdünnte Essig- oder Salzsäure wird es aus seinen salzhaltigen Lösungen gefällt. Der Niederschlag löst sich im Ueberschuss des Fällungsmittels. Das Jod ist in fester Bindung, erst nach dem Veraschen mit Natron und Salpeter nachweisbar (S. 35); beim Kochen mit conc. Salzsäure tritt der grösste Teil des Jods aus der organischen Bindung heraus. Nach dem Kochen mit verdünnter Säure reduciert die Flüssigkeit Fehling'sche Lösung, ausserdem entsteht Jodothyrin (Thyreojodin), ein Körper, den zuerst Baumann[1]) aus der mit Säure gekochten Schilddrüse gewonnen hat. Es stellt ein bräunliches, nicht einheitliches, in Wasser unlösliches, in Alkalien lösliches Pulver mit wechselndem Jodgehalt (bis über 14 pCt.) dar.

Jodothyrin.

Vorkommen.

312. **Eiweisskörper von Bence Jones.** In sehr seltenen Fällen (es handelte sich stets um Kranke mit Knochenmarksveränderungen) tritt im Harn ein zuerst von Bence Jones[2]) beobachteter Eiweisskörper auf, der dem Harne die Eigenschaft verleiht, beim Erwärmen auf 40—60° oder höher eine Fällung zu geben, die bei höherer Temperatur eine völlige oder mehr weniger völlige Lösung erfährt, beim Erkalten wieder erscheint. Die Angaben über die in den einzelnen Fällen isolierten Stoffe weichen nicht unerheblich von einander ab. Die Eigenschaften stimmen in manchen Punkten mit denen der Albumosen überein, doch scheinen sie den genuinen Eiweisskörpern zuzugehören.

Isolierung und Eigenschaften.

Die Isolierung aus dem Harne erfolgt durch Versetzen mit dem doppelten Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung oder mit dem doppelten Volumen Alkohol. Krystallisiert wurde er von Grutterink und de Graaff erhalten (C 52,42, H. 6,83, N 15,66, S 1,46 pCt.), einmal gelegentlich auch von Magnus-Levy. Der durch Alkohol ausgefällte Körper löst sich, wenigstens wenn die Einwirkung des Alkohols nur kurz dauerte, mehr oder weniger leicht wieder in Wasser. Die wässerige Lösung des Ammonsulfatniederschlags lässt sich durch Dialyse salzfrei machen, ohne dass eine Ausscheidung erfolgt. Beim Erwärmen auf 50—60° beginnt die Abscheidung (in manchen Fällen erfolgte sie in einer salzfreien Lösung nicht), bei höherer Temperatur findet wieder Lösung statt. Magnus-Levy konnte in seinem Falle durch Zusatz von Salmiak die Wiederlösung bei 100° begünstigen, durch Zusatz von Harnstoff das Auftreten des Niederschlags beim Erwärmen ganz verhindern. Das in der Wärme entstandene Coagulum löste sich in manchen Fällen in Wasser, in andern nicht, aber in Sodalösung. Salpetersäure giebt einen Niederschlag, der in manchen Fällen im Ueberschuss löslich war, in andern nicht, beim Erwärmen sich in den einzelnen Fällen mehr oder weniger vollständig löste. Gerb-

---

1) H.-S. **21**. 319. u. 481. (1896.), **22**. 1. (1897.) Roos, H.-S. **25**. 1. (1898.)

2) Philos. Transact. **1**. 55. (1848.). Neuere Untersuchungen rühren von Magnus-Levy, H.-S. **30**. 200. (1900.) und von Grutterink und de Graaff, H.-S. **34**. 393. (1902.), **46**. 472. (1905.) her. Bei Magnus-Levy Literatur.

säure, Pikrinsäure, Metallsalze, Essigsäure + Ferrocyankalium geben Fällungen; alle Farbenreactionen der Eiweissstoffe (§ 293, B) sind positiv. Bei Zusatz von Lauge oder Säure und darauffolgender Neutralisation entstand in den meisten Fällen Niederschlag (Neutralisationspräcipitat). In den meisten Fällen war der Körper der Dialyse unzugänglich. Bei der Verdauung mit Pepsin-Salzsäure entstehen Deuteroalbumosen und Pepton, Magnus-Levy und Grutterink und de Graaff erhielten auch Protalbumose.

Ueber die Producte der hydrolytischen Spaltung siehe die Tabelle § 478. Bei der hydrolytischen Spaltung eines krystallisierten Präparates wurden von Grutterink und de Graaff 25,10 pCt. des Gesammtstickstoff als Basenstickstoff (3,99 pCt. im Ammoniak, 3,26 pCt. im Histidin, 9,80 pCt. im Arginin, 8,05 pCt. im Lysin) erhalten. Hydrolyse.

Umwandlungsproducte der nativen Eiweissstoffe.

313. **Fibrin.** Es entsteht aus Fibrinogen (§ 304) bei der Gerinnung des aus der Ader gelassenen Blutes, bei der Gerinnung von Lymphe, Transsudaten, von reiner Fibrinogenlösung nach Zusatz von Fibrinferment als Gallerte, die sich allmählich zusammenzieht und beim Schlagen faserig und elastisch wie Kautschuck wird. Frei von eingeschlossenen Blutkörperchen erhält man es aus filtriertem Pferdeblutplasma und Transsudaten. Mit sehr verdünnter Chlornatriumlösung lässt es sich gut auswaschen. Zur Reinigung behandelt man es dann weiter mit Wasser, Alkohol, Aether. Darstellung.

Seine Zusammensetzung ist in guter Uebereinstimmung mit zahlreichen älteren Analysen von Hammarsten[1]) gefunden zu C 52,68; H 6,83; N 16,91; S 1,10; O 22,48 pCt. Das nicht erhitzte und nicht mit Alkohol behandelte Fibrin löst sich langsam unter Quellung in nicht zu verdünnten und nicht zu concentrierten wässerigen Lösungen neutraler Salze wie Kalium- oder Natriumnitrat, Chlornatrium, Bromkalium, Jodkalium, chlorsaurem Kali. In verdünnter Salzsäure ebenso in Essigsäure oder Alkalilauge quillt frisches Fibrin hoch auf und löst sich sehr langsam; in sehr verdünnter Salzsäure löst es sich zunächst fast gar nicht. Es gibt die in § 293 B beschriebenen Farbenreactionen. Durch Einwirkung von Alkohol wird es coaguliert, noch schneller durch Erhitzen auf 75°. Coaguliertes Fibrin ist weniger durchscheinend weiss und weniger dehnbar als frisches; bei der Pepsin- oder Trypsinverdauung und bei der Fäulnis geht es langsamer in Lösung, ohne dass sich die Bildung von Globulinen (wie das bei frischem Fibrin der Fall ist) nachweisen lässt (Hasebroek[2]). Zusammensetzung u. Eigenschaften.

314. **Coagulierte Albuminstoffe** entstehen aus Albuminen, Globulinen, Fibrin durch Erhitzen bei Anwesenheit von Wasser oder durch längere Einwirkung von Alkohol in neutraler Lösung, ferner durch anhaltendes Schütteln der wässerigen Lösungen. Darstellung.

Sie sind sämtlich in kaltem und heissem Wasser, in verdünnter Salzlösung, in Alkohol, in Aether unlöslich, lösen sich schwer in verdünnten Eigenschaften.

1) Pfl. A. **22**. 431. (1880.) 2) H.-S. **II**. 348. (1887.)

Alkalien, auch in Ammoniak, in verdünnter Salzsäure oder Essigsäure Sie geben die in § 293 B beschriebenen Farbenreactionen. Durch starke Mineralsäuren werden sie in Acidalbumine und durch concentrierte Alkalilaugen in Alkalialbuminate übergeführt.

Darstellung. 315. **Acidalbumine (Syntonine[1])** entstehen 1. durch Einwirkung von Säuren auf Eiweissstoffe. Die Schnelligkeit, mit der die Umwandlung erfolgt, ist bei den verschiedenen Eiweissstoffen verschieden (bei Globulinen leichter wie bei Albuminen, bei Eieralbumin leichter als bei Serumalbumin) und abhängig von Concentration der Säuren und Temperatur. Coagulierte Eiweissstoffe werden erst in der Wärme oder durch starke Mineralsäuren in Acidalbumin umgewandelt. 2. Durch Einwirkung von Pepsin-Salzsäure auf native und coagulierte Eiweissstoffe, Fibrin. 3. Bei der Fällung der Eiweissstoffe durch Salze schwerer Metalle, z. B. Eisenchlorid, Sublimat, Platinchlorid.

Eigenschaften. Sie sind in Wasser und neutralen Salzlösungen unlöslich, leicht löslich in verdünnten Säuren und verdünnten Alkalien, auch kohlensauren Alkalien und werden durch Neutralisation unverändert wieder ausgeschieden, zum Teil gallertartig, wie das Syntonin aus Myosin. In einer alkalischen Lösung entsteht durch Zusatz einer Säure eine Fällung bei noch alkalischer Reaction (Unterschied von Albuminaten). Beim Eintragen von Neutralsalzen in ihre saure Lösung fallen sie aus. Sie sind keine Säuren wie die Albuminate. Sie geben alle die in § 293 B beschriebenen Farbenreactionen. Durch Einwirkung von Alkalien in mässiger Wärme, auch von Alkalicarbonaten werden sie in Albuminate übergeführt.

Die aus den einzelnen Eiweissstoffen hervorgegangenen Acidalbumine zeigen Verschiedenheit in Zusammensetzung, specifischer Drehung usw.

Hemiprotein. Hemiprotein (Antialbumid). Durch Kochen mit verdünnten Säuren[2]), auch schon durch Säurewirkung bei niederer Temperatur[3]) (die Bedingungen, unter denen die Bildung erfolgt, sind bei den einzelnen Eiweissstoffen sehr verschieden) entsteht aus Eiweiss neben in Säure löslichem Syntonin, Albumosen, u. s. w. ein Körper, der in Säure unlöslich, in Alkalien löslich, gegen Säure und Pepsin-Salzsäure sehr widerstandsfähig ist und erst beim Erhitzen mit stärkeren Säuren unter gleichzeitigem Zerfall in entferntere Spaltungsproducte gelöst wird. Dieser Körper wurde von Schützenberger Hemiprotein, von Kühne[4]) Antialbumid genannt.

Die Acidalbumine und Hemiproteine, ihre Beziehungen zu einander und zu den Eiweissstoffen, aus denen sie hervorgehen, bedürfen noch sehr der Untersuchung.

---

1) Panum, Virch. A. **4**. 419. (1851.); Hoppe-Seyler, Z. anal. Ch. **3**. 424; Soyka, Pfl. A. **12**. 347. (1876.); Mörner, Pfl. A. **17**. 468. (1878); Rollett, Wien. Akad. Sitzber. **84**. Abtl. III. 332. (1881.): Johansson, H.-S. **9**. 310. (1885.); Goldschmidt, Diss. Strassburg. 1898.

2) Schützenberger, Bl. s. ch. de Paris. **23**. 121. (1875.)

3) Goldschmidt, a. a. O. 4) Z. f. B. **19**. 159. (1883.)

316. **Albuminate (Alkalialbuminate, Albuminsäuren)** entstehen durch Einwirkung von Alkalien auf Eiweissstoffe schon bei gewöhnlicher Temperatur und geringem Alkalescenzgrad, schneller in der Wärme und bei stärkerer Concentration[1]). Beim Zusammenbringen von starken Alkalien und conc. Eiweisslösungen scheidet sich das Albuminat als Gallerte ab (Lieberkühn). Die Umwandlung coagulierter Eiweissstoffe findet erst in der Wärme oder durch starke Alkalien statt. Darstellung.

Die Bildung geht einher mit einer Abspaltung von Ammoniak event. auch von Schwefelwasserstoff; sie können nicht in Acidalbumine umgewandelt werden. Sie sind in Wasser und Alkohol etwas löslich, in neutralen Salzlösungen unlöslich, leicht löslich in verdünnten Säuren und Alkalien, auch kohlensauren Alkalien, durch Neutralisation wieder abscheidbar und zwar erfolgt die Fällung einer alkalischen Lösung auf Zusatz einer Säure bei saurer Reaction (Unterschied von den Acidalbuminen). Aus den sauren Lösungen werden sie durch Eintragen von Neutralsalz gefällt, aus den alkalischen nur schwierig oder gar nicht. Die Albuminate sind Säuren, ihre wässerigen Lösungen reagieren sauer; in Wasser zerteilt treiben sie aus Barium-, Strontium-, Calciumcarbonaten Kohlensäure aus und lösen sich in Verbindung mit diesen Metallen (Unterschied von Acidalbuminen). Aus ihren möglichst neutralen Lösungen werden sie durch Kupfersalze und andere Schwermetallsalze gefällt. Sie geben die Farbenreactionen, die Schwefelbleiprobe kann negativ ausfallen (§ 293 B). Sie drehen die Ebene des polarisierten Lichtes stärker nach links als die Eiweissstoffe, aus denen sie entstanden. Serumalbumin zeigt bei Behandlung mit starker Kalilauge eine Steigerung von $[\alpha]_D$ auf $-86{,}0°$, Eieralbumin auf $-47{,}0°$. Eigenschaften.

Die einzelnen Albuminate zeigen Verschiedenheiten unter einander, je nach der Herkunft und der Intensität der Alkaliwirkung.

Körper, die sich den Reactionen nach wie Alkalialbuminate verhalten, entstehen auch durch Einwirkung von organischen Basen, Cholin, Piperidin, ferner von Harnstoff und anderen Säureamiden (die hier wie typische Basen wirken) in conc. Lösung auf Eiweisslösungen. Diese Stoffe vermögen auch coagulierte Eiweissstoffe zu lösen[2]).

Intermediäre Spaltungsproducte der Eiweissstoffe und ihrer Umwandlungsproducte.

317. Durch Fermente, Einwirkung von Wasser bei erhöhter Temperatur, von Mineralsäuren, Alkalien, oxydierenden Mitteln, Mikroorganismen erfahren die nativen Eiweissstoffe und ihre Umwandlungsproducte (ebenso wie andere Proteine) eine mehr und mehr fortschreitende hydrolytische Spaltung, welche, wenn die spaltenden Kräfte stark genug sind, schliesslich eine vollständige (Zerfall in Aminosäuren und Diaminosäuren) wird.

---

1) Lieberkühn, Poggendorff's Ann. **86**. 118. (1852); Hoppe-Seyler, a. a. O.; Soyka, a. a. O.; Mörner, a. a. O. Rollett, a. a. O.; Schmiedeberg, A. exp. P. u. Ph. **39**. 1. (1897.); Maas, H.-S. **30**. 61. (1900.)

2) Vergl. darüber Spiro, H.-S. **30**. 182. (1900).

Aus der grossen Zahl intermediärer Spaltungsproducte, welche bei diesem Prozess neben- und nacheinander auftreten, sind unzweifelhafte chemische Individuen bisher nur in kleiner Anzahl isoliert worden. Sie stellen alle schon verhältnismässig kleine Moleküle dar und gehören in die Gruppe der Polypeptide (§ 330). Die Hauptmenge des Gemisches der Spaltungsproducte, speciell die ganze Menge der der Muttersubstanz noch näher stehenden und noch Eiweisscharakter zeigenden Producte der Hydrolyse, harrt trotz vielfacher Bemühungen noch der Entwirrung. Man nennt nach einem Vorschlag von Kühne die durch Ammonsulfat ausfällbaren Spaltungsproducte Albumosen (§ 318ff.), die durch dieses Salz nicht fällbaren und noch Biuretreaction gebenden Peptone, und nimmt an, dass erstere grössere Moleküle darstellen, während in den Peptonen Producte einer weiter vorgeschrittenen Hydrolyse vorliegen.

Diese Auffassung ist nicht mehr aufrecht zu erhalten, seitdem man weiss, dass manche einfach zusammengesetzte Polypeptide ebenfalls durch Ammonsulfat aussalzbar sind, während andere complicierter gebaute diese Fällbarkeit nicht zeigen.

Das Prinzip, auf dem diese Trennung beruht das verschiedene Verhalten der einzelnen Spaltungsproducte Salzen gegenüber, ist auch zur weiteren Aufteilung der Albumosen benutzt worden. Es mag hier gleich bemerkt werden, dass eine Isolierung chemischer Individuen mit diesen Methoden nicht möglich ist.

Aus dem Peptongemenge hat Siegfried einige von ihm für rein gehaltenen Substanzen isoliert (§ 326). Hierher gehört eine Gruppe basischer Spaltungsproducte, welche Siegfried isoliert und als Protokyrine (§ 329) beschrieben hat.

Albumosen.

318. Die Trennung*) der Albumosen von den Peptonen und der Albumosen von einander mit Hilfe von Salzfällungen ist zuerst von Kühne und seinen Schülern Chittenden u. Neumeister[1]) in Angriff genommen, dann von Hofmeister und seinen Schülern[2]) weiter geführt worden. Aber erst Haslam[3]) hat die Methode auf eine zuverlässigere Basis gestellt und die einzelnen Fractionen besser von einander trennen gelehrt.

Darstellung nach Kühne.

319. **Darstellung nach Kühne.** 1. Kühne benutzte zur Trennung von Albumosen und Peptonen Ammonsulfat: Bei der Sättigung der Lösung mit Ammonsulfat fallen die Albumosen aus, die Peptone nicht. Unter den Albumosen unterschied er pri-

---

*) Als Untersuchungsmaterial hat in den meisten Fällen das sog. Wittepepton, ein durch peptische Verdauung von Fibrin gewonnenes Präparat, gedient.

1) Kühne u. Chittenden, Z. f. B. **20**. 11. (1884.), Kühne, Verh. d. naturh. med. Vereins zu Heidelberg N. F. **3**. 286. (1885.), Neumeister, Z. f. B. **23**. 381. (1887.), **24**. 267. (1888.), **26**. 324. (1889.), Kühne, Z. f. B. **29**. 1. (1892.)

2) Pick, H.-S. **24**. 267. (1898.), **28**. 219. (1899.), B. Ph. P. **2**. 481. (1902.)

3) J. of Ph. **32**. 267. (1905.), **36**. 164. (1907/08.)

märe Albumosen*) (Protalbumose und Heteroalbumose) und Deuteroalbumosen*), deren Trennung durch Kochsalz bewirkt wurde. Der beim Sättigen der neutralen Lösung mit Kochsalz entstehende Niederschlag besteht aus primären Albumosen, im Filtrat ruft mit Kochsalz gesättigte Salzsäure einen zweiten Niederschlag hervor (Rest der primären Albumosen und Deuteroalbumosen). Das Filtrat dieses Niederschlags enthält nur Deuteroalbumosen. Die Trennung der primären Albumosen geschieht mit Hülfe der Diffusion: Die Heteroalbumose scheidet sich dabei als in reinem Wasser sehr wenig löslich ab, die Protalbumose bleibt in Lösung.

Darstellung nach Pick.

320. **Darstellung nach Pick**[1]). Hofmeister und seine Schüler benutzen zur Trennung die fractionierte Fällung mit Ammonsulfat und verfahren in folgender Weise:

Die Flüssigkeit, z. B. eine 5proc. Lösung von Pepton-Witte oder eine von coagulablen Eiweissstoffen und vom Neutralisationsniederschlage befreite peptische Verdauungsflüssigkeit wird mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung gefällt, die abgeschiedene Masse mit halbgesättigter Ammonsulfatlösung gewaschen, in heissem Wasser gelöst und in derselben Weise wieder gefällt. Lösung und Fällung werden wiederholt: Fraction I. (Primäre Albumosen.)

Das Filtrat wird durch Zusatz des halben Volumens gesättigter Ammonsulfatlösung auf $^2/_3$ Sättigung gebracht, die sich absetzende Masse mit einer $^2/_3$ gesättigten Ammonsulfatlösung gewaschen und durch Wiederholung von Lösung und Fällung gereinigt: Fraction II. (Deuteroalbumose A.)

Das Filtrat wird durch Eintragen von feingepulvertem Ammonsulfat gesättigt, die Abscheidung mit gesättigter Ammonsulfatlösung gewaschen, durch wiederholtes Lösen und Fällen gereinigt: Fraction III. (Deuteroalbumose B.)

Das Filtrat wird mit $^1/_{10}$ Vol. ammonsulfatgesättigter $^n/_{10}$ Schwefelsäure versetzt, die Abscheidung in entsprechender Weise behandelt: Fraction IV. (Deuteroalbumose C.)

Das Filtrat wird mit einer ammonsulfatgesättigten Jodjodkalilösung (2 Tl. Jodkali, 1 Tl. Jod) so lange versetzt, bis eine Probe der Flüssigkeit keine Fällung mehr gibt. Der in 96proc. Alkohol gebrachte Niederschlag löst sich zum Teil. Der unlösliche Teil wird in wenig warmem Wasser gelöst, die schwachsaure jodjodkaliumhaltige Flüssigkeit mit Ammonsulfat gesättigt und mit salzgesättigter Jodjodkalilösung gefällt. Der in warmem Wasser gelöste Niederschlag fällt auf Zusatz von überschüssigem 96proc. Alkohol wieder aus und wird nach dem Auswaschen mit Alkohol durch Schütteln mit Aether von den letzten Jodresten befreit. Fraction V. (Pepton A.)

Der in Alkohol lösliche Teil wird nach dem Verdunsten des Alkohols in Wasser gelöst, durch Schütteln mit Aether und Aether-Chloroform (ev. durch Kochen seiner wässerigen neutralen Lösung mit Bleioxyd) jodfrei gemacht und zur Trockne eingedampft. Es bleibt ein fester gelbgefärbter Körper zurück: Fraction VI. (Pepton B.)

Von diesen 6 Fractionen entsprechen die erste den primären Albumosen, die 2., 3. und 4. den Deuteroalbumosen, die 5. und 6. den Peptonen Kühne's.

Pick hat dann weiter, besonders mit Hülfe von Alkohol die Fraction I[2]) in Hetero- und Protalbumose zerlegt und auch die Fractionen II und III[3]) noch weiter geteilt.

---

*) Diese Namen, welche ursprünglich in der Annahme gewählt wurden, dass die Deuteroalbumosen erst secundär aus den Protalbumosen entstanden sind, sagen über die genetischen Beziehungen der einzelnen Albumosen zu einander nichts aus (Zunz[4]), Pick[1]).

1) H.-S. **24**. 267. (1898.)
2) H.-S. **28**. 219. (1899.)
3) B. Ph. P. **2**. 481. (1902.)
4) H.-S. **28**. 132. (1899.)

Darstellung nach Haslam.

321. **Darstellung nach Haslam.** Haslam[1]), wie schon andere vor ihm, z. B. Cerny[2]), zeigte, dass durch die übliche Methode der fractionierten Fällung keine Trennung erreicht wird, indem jede Fraction mehr oder weniger Beimengungen anderer Fractionen enthält und gab folgende Verfahren zur Prüfung einer Fraction auf Beimengung schwerer und leichter fällbarer Anteile und zur Entfernung solcher Beimengungen an.

Zur Prüfung einer Fraction auf Beimengung schwerer fällbarer Stoffe, welche also an und für sich erst bei reicherem Salz- oder Alkoholgehalt ausfallen, wird die Substanz in einer bestimmten Menge Wasser gelöst, das Fällungsmittel in der der Fraction entsprechenden Menge zugefügt, der Niederschlag nach längerem Stehen abfiltriert und in ganz derselben Weise nochmals behandelt. Ergeben nun Stickstoffbestimmungen in beiden Filtraten, dass das erste Filtrat mehr Stickstoff enthält als das zweite, so ist die Fraction noch mit schwerer fällbaren Anteilen verunreinigt. Um sie zu entfernen, wiederholt man das eben beschriebene Verfahren so lange, bis zwei aufeinanderfolgende Filtrate denselben Stickstoffgehalt zeigen.

Zur Prüfung einer Fraction auf Beimengung leichter fällbarer Stoffe, welche also an und für sich schon bei geringerem Salz- oder Alkoholgehalt ausfallen, wird die Substanz in einer bestimmten Menge Wasser gelöst und mit gemessener Menge des Fällungsmittels bis zum ersten Auftreten eines Niederschlags versetzt, dieser Niederschlag abfiltriert, seine wässerige Lösung gemessen und wieder mit gemessener Menge des Fällungsmittels versetzt. Erfolgt jetzt die Fällung früher, d. h. schon bei Zusatz von weniger Fällungsmittel, so enthält die Fraction leichter fällbare Anteile beigemengt. Auch die Beimengung einer an und für sich unlöslichen Substanz, welche nur durch die vorhandenen löslichen Stoffe in Lösung gehalten wird, lässt sich auf diese Weise feststellen, indem der auf Zusatz des Fällungsmittels zuerst ausfallende Anteil sich nun als in Wasser unlöslich erweist. Auch auf dieses Princip der Subfractionierung lässt sich eine, freilich sehr umständliche und mit grossem Materialverlust einhergehende Reinigung aufbauen.

Abscheidung der Albumosen aus einem Albumose-Peptongemisch. Die verdünnte etwa 2 proc. Lösung wird bei 37° mit Natriumsulfat*) gesättigt und nach dreistündigem Stehen bei dieser Temperatur der entstandene Niederschlag abfiltriert. Ein Waschen des Niederschlags mit gesättigter Natriumsulfatlösung hat keinen Zweck. Man zerreibt ihn mit kleinen Mengen gesättigter Natriumsulfatlösung etwa 20 Min. bei 50°, filtriert und wiederholt das Zerreiben und Filtrieren so oft, bis 2—3 ccm des Filtrats beim Erhitzen mit dem gleichen Vol. conc. Schwefelsäure nur eine leichte Färbung zeigen und zwei auf einanderfolgende Filtrate, in dieser Weise geprüft, keinen Unterschied in der Färbung erkennen lassen. Jetzt löst man in gemessener Menge Wasser, sättigt bei 37° mit Natriumsulfat, filtriert nach dreistündigem Stehen bei dieser Temperatur, wiederholt Lösung und Fällung nochmals in derselben Weise und bestimmt in den beiden Filtraten die Stickstoffmenge. Wenn sie gleich ist, oder wenigstens

*) Die Sättigung mit Na_2SO_4 bei 37° ist ebenso vollständig, wie die mit Ammonsulfat, dieser aber wegen der Stickstoffbestimmungen in diesem Fall vorzuziehen.

1) J. of Ph. **32**. 267. (1905.), **36**. 164. (1907/08.)

2) Pfl. A. **87**. 614. (1901.)

in der vorangehenden nicht höher als in der folgenden, so ist die Trennung beendet, andernfalls muss Lösung, Fällung und Stickstoffbestimmung (nach Kjeldahl) wiederholt werden. Zur Abscheidung der Albumosen kann man nach Entfernung des Salzes durch Dialyse und Einengen mit Alkohol fällen.

Abscheidung der primären Albumosen aus einem Albumose-Peptongemisch oder einem Albumosengemenge. Die verdünnte (etwa 1 proc.) Lösung wird mit dem gleichen Vol. gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt, der Niederschlag abfiltriert, in Wasser gelöst, die Lösung wieder mit dem gleichen Vol. gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt und dieses Verfahren fortgesetzt, bis zwei aufeinanderfolgende Filtrate den gleichen Stickstoffgehalt (nach Kjeldahl) zeigen. Die orientierende Probe mit conc. Schwefelsäure ist hier nicht anwendbar. Vor Ausführung der Stickstoffbestimmung ist das Ammoniak zu entfernen. Zu dem Zweck erwärmt man die Flüssigkeit in einer Schale auf dem Wasserbad mit Magnesia bis zum Verschwinden der Ammoniakreaction und setzt dann das Erwärmen noch eine Viertelstunde fort.

Abscheidung der Deuteroalbumosen aus einem Albumosengemenge. Die Lösung wird mit dem gleichen Vol. gesättigter Ammonsulfatlösung gefällt, das Filtrat mit Ammonsulfat gesättigt, der Niederschlag in Wasser gelöst usw., bis die Lösung bei Halbsättigung mit Ammonsulfat keinen oder nur einen ganz geringen Niederschlag gibt. Diese Lösung, welche ungefähr 2 proc. sein soll, wird mit einer gesättigten Ammonsulfatlösung versetzt, bis ein geringer Niederschlag erscheint. Er wird abfiltriert, in Wasser zu etwa 2 pCt. gelöst, die Lösung mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt, der dabei entstehende Niederschlag abfiltriert, das Filtrat der Hauptflüssigkeit zugefügt. In dieser Weise fährt man fort, entfernt so nach und nach immer mehr von den noch vorhandenen primären Albumosen, bis man schliesslich eine Fällung erhält, deren wässerige Lösung auf Zusatz des gleichen Volumens gesättigter Ammonsulfatlösung keinen Niederschlag gibt. Jetzt stellt die Lösung eine annähernd reine Deuteroalbumosenlösung dar, wenn auch kleine Quantitäten von primären Albumosen durch Subfractionierung der Fractionen immer noch nachgewiesen und entfernt werden können. Zur Abscheidung der Albumosen kann man die durch Dialyse von der Hauptmenge und durch Baryt von den Resten der Schwefelsäure befreite Lösung nach Einengen mit Alkohol fällen.

Weitere Aufteilung der primären und Deuteroalbumosen. Aus den primären Albumosen isolierte Haslam mit Hilfe von Alkohol als Fällungsmittel und unter Benutzung von prinzipiell gleichem Verfahren drei Albumosen (Heteroalbumose, α- und β-Protalbumose) und ebenso aus den Deuteroalbumosen zwei Albumosen (α- und β-Deuteroalbumose).

Eine Trennung der Deuteroalbumosen mit Hilfe von weiterer fractionierter

Ammonsulfatfällung, wie sie Pick ausgeführt hat (§ 320), gelingt nach Haslam nicht, ebenso existiert nach ihm die Deuteroalbumose C von Pick (§ 320) als besondere Fraction nicht.

Eigenschaften der Albumosen im Allgemeinen.

322. **Allgemeine Eigenschaften der Albumosen.** Es sind amorphe Substanzen, mit Ausnahme der Heteroalbumose in Wasser löslich, beim Erhitzen nicht coagulierbar, linksdrehend, etwas diffundierend. Durch Neutralsalze und durch Alkohol verschieden leicht fällbar, aber auch durch längere Einwirkung von Alkohol nicht coagulierbar, alle beim Sättigen ihrer Lösung mit Natriumsulfat bei 37° und mit Ammonsulfat fällbar.

Salpetersäure ruft bei Gegenwart von Salz einen Niederschlag hervor, der sich beim Erwärmen löst, um beim Erkalten wieder zu kommen und auch in überschüssiger Säure löslich ist (dieses Verhalten gilt als für die Albumosen besonders charakteristisch). Pikrinsäure, Gerbsäure, Quecksilberjodidjodkalium + Salzsäure, Phosphorwolframsäure rufen Niederschläge hervor. Ferrocyankalium + Essigsäure, Kupfersulfat, Kupferacetat rufen in manchen Albumoselösungen Trübungen oder Niederschläge hervor, in anderen nicht*). Manche der Fällungen lösen sich beim Erwärmen ganz oder teilweise und erscheinen beim Abkühlen wieder.

Biuret- und Xanthoproteinreaction positiv, die erstere zeigt einen mehr roten Farbenton, von den übrigen Farbenreactionen kann die eine bei dieser, die andere bei jener Albumose schwächer auftreten oder ganz fehlen.

Einzelne Albumosen und ihre Eigenschaften.

323. Was die einzelnen isolierten Albumosen betrifft, so sind die von Pick dargestellten Prot- und Heteroalbumose[1]), welche sich in Eigenschaften und Zusammensetzung von den Kühne'schen unterscheiden, und ebenso die von Pick isolierten Deuteroalbumosen[2]) eingehend beschrieben. Eine tabellarische Uebersicht über die Zusammensetzung und manche Eigenschaften dieser Albumosen, besonders auch über ihre Farbenreactionen, findet sich bei Pick[2]).

Ueber die von Haslam isolierten Albumosen, welche ihrer Darstellung nach als die reinsten angesehen werden müssen, liegen folgende allerdings nur spärliche Angaben vor:

α-Protalbumose. Leicht löslich in Wasser und aus dieser Lösung schon auf Zusatz von weniger als dem gleichen Volum Alkohol fast vollständig fällbar, auch bei 40°. Durch Halbsättigung mit Ammonsulfat fällbar, ebenso, wenn auch nicht ganz so vollständig, durch Sättigung mit Kochsalz. Adamkiewicz'sche Probe positiv, bei Millon's Reaction nur tiefgelbe Farbe.

β-Protalbumose. Leicht löslich in Wasser und ebenso in gleichen Teilen Alkohol

---

*) Mit Hülfe des verschiedenen Verhaltens zu Kupferacetat hat Folin (H.-S. **25**. 152. 1898.) eine Trennung der Albumosen vorgenommen. Siehe dazu Haslam, J. of Ph. **32**. 295. (1905.)

1) H.-S. **28**. 219. (1899.), siehe auch Friedmann, H.-S. **29**. 51. (1900.)
Haslam, H.-S. **32**. 54. (1901.)
Hart, H.-S. **33**. 347. (1901.)
Levene, J. B. Ch. **1**. 45. (1905.)
Zunz, Ann. de la Soc. roy. d. Sc. méd. et nat. de Bruxelles. 13. Heft. 3. Ref. B. C. **3**. 432. (1904/05.)

2) B. Ph. P. **2**. 481. (1902.)

und Wasser. Gegen Ammoniumsulfat und Kochsalz verhält sie sich ebenso wie die vorige. Adamkiewicz'sche Reaction positiv, ebenso Millon's Reaction.

Heteroalbumose. Sehr wenig löslich in Wasser, auch in heissem. Adamkiewicz'sche Reaction positiv, Molisch'sche Reaction stark, bei Millon's Reaction nur tiefgelbe Farbe.

α-Deuteroalbumose. Leicht löslich in Wasser, nicht fällbar durch Sättigung ihrer Lösung mit Kochsalz, wohl aber durch Sättigung mit Ammonsulfat und zwar in Form von Krusten, welche an der Oberfläche schwimmen. Adamkiewicz'sche Reaction positiv, die Reactionen von Molisch und Millon sind schwach ausgeprägt.

β-Deuteroalbumose. Leicht löslich in Wasser, verhält sich gegen Kochsalz und Ammonsulfat wie die vorige, fällt aber als klebrige, an Wandungen und Glasstab haftende Masse aus. Adamkiewicz'sche Reaction positiv, die Molisch'sche Reaction fällt noch schwächer und die Millon'sche Reaction stärker aus als bei der vorigen.

Atmidalbumin, Atmidalbumose.

324. Atmidalbumin und Atmidalbumose nennt Neumeister[1]) Stoffe, die beim einstündigen Erhitzen von Fibrin und anderen Eiweissstoffen mit Wasser auf 160° unter Schwefelwasserstoffentwicklung entstehen und von denen das Atmidalbumin zwischen den Eiweissstoffen und Albumosen steht, die Atmidalbumose eine Albumose darstellt. Gegen Verdauungsfermente sind sie sehr widerstandsfähig, durch Kochen mit Schwefelsäure entstehen Deuteroalbumosen und Peptone.

Alkalialbumose.

325. Als Alkalialbumose beschreibt Maas[2]) einen Körper, den er durch mehrstündige Einwirkung von Normalkalilauge auf Hühnereiweiss im kochenden Wasserbade erhielt und der in seinen Eigenschaften von den Verdauungsproducten weit abweicht.

Peptone.

Darstellung nach Siegfried.

326. **Darstellung nach Siegfried.** Zur Darstellung wird die nur noch wenig Albumosen enthaltende Verdauungsflüssigkeit in saurer, neutraler und ammoniakalischer Lösung mit Ammonsulfat gesättigt, von den sich ausscheidenden Albumosen befreit und nun nach Ansäuern mit Schwefelsäure mit mit Ammonsulfat gesättigter Eisenammoniakalaunlösung ausgefällt (Niederschlag 1). Im Filtrat ruft weiterer Zusatz derselben Eisenammoniakalaunlösung und Neutralisation mit conc. wässerigem Ammoniak eine neue Fällung (Zwischenfällung) hervor, welche verworfen wird. In das Filtrat rührt man nun feingepulverten Eisenammoniakalaun ein und stumpft die saure Reaction mit conc. wässerigem Ammoniak unter Vermeidung der Neutralisation ab. Das Einrühren des Eisenammoniakalauns und Abstumpfen mit Ammoniak wird abwechselnd solange wiederholt, bis nach Absitzen des Niederschlags (Niederschlag 2) eine Probe nur noch eine schwache Biuretreaction giebt. Niemals darf dabei die Reaction neutral werden.

Nachdem nun beide Eisenniederschläge mehrfach mit gesättigter Ammonsulfatlösung verrieben und abgenutscht sind, wird Niederschlag 1 in

---

1) Z. f. B. **26**. 57. (1889.), **36**. 420. (1898.)
Salkowski, Z. f. B. **34**. 190. (1896.), **37**. 404. (1899.)
Chittenden u. Maas, J. of Ph. **15**. 501. (1894.)

2) H.-S. **30**. 61. (1900.)

Wasser verrührt und mit Ammoniak zerlegt. Nach Entfernen des Eisenhydroxyds befreit man das Filtrat durch Sättigen mit Ammonsulfat in neutraler, saurer und ammoniakalischer Lösung von den letzten Albumoseresten, fällt auf's Neue mit mit Ammonsulfat gesättigter Eisenammoniakalaunlösung und wäscht den Niederschlag aus. Niederschlag 2 wird in gesättigter Ammonsulfatlösung verrührt, durch Zusatz von conc. Schwefelsäure in Lösung gebracht und durch Abstumpfen mit conc. Ammoniak wieder ausgefällt und gewaschen.

Beide Niederschläge werden nun mit Baryt unter Vermeidung eines grossen Ueberschusses zersetzt und die Filtrate mit Ammoncarbonat von Baryt befreit. Die so erhaltenen Peptonlösungen werden im Vacuum bei 40° eingedampft und die Syrupe nach Zufügen von 12 proc. Essigsäure mit soviel Alkohol versetzt, dass der Niederschlag sich eben wieder löst. Die Lösungen werden filtriert und in abs. Alkohol unter Rühren gegossen, die ausfallenden Peptone mit Alkohol und Aether gewaschen. Wegen weiterer Einzelheiten der umständlichen Darstellung siehe Siegfried[1]).

Allgemeine Eigenschaften.

Alle diese Peptone sind weisse amorphe Substanzen, in Alkohol schwer löslich, in Wasser leicht löslich, diffundierend, nicht coagulierbar. Es sind ausgesprochene Säuren, welche Kohlensäure austreiben und Salze (Barium-, Zinksalze) bilden. Die angegebenen Formeln sind Aequivalentformeln. Nach Neumann[2]) sind Pepsinfibrinpepton und Pepsinglutinpepton wahrscheinlich dreibasische Säuren und zweisäurige Basen, die Trypsinfibrinpeptone α und β wahrscheinlich zweibasische Säuren und einsäurige Basen.

Pepsinfibrinpeptone.

Pepsinfibrinpepton α[3]) (aus Niederschlag 1) $C_{21}H_{34}N_6O_9$ $[\alpha]_D^{20°} = -36{,}36°$.

Pepsinfibrinpepton β[3]) (aus Niederschlag 2) von der wahrscheinlichen Aequivalentformel $C_{21}H_{36}N_6O_{10}$ geht beim Erwärmen auf 100° in das Pepsinpepton α über.

Eigenschaften der Pepsinfibrinpeptone.

Die wässerigen Lösungen geben mit Ferrocyankalium + Essigsäure, Bleiessig, Metaphosphorsäure keine Trübung, mit Phosphorwolframsäure, Gerbsäure Fällung, mit Pikrinsäure Fällung, die in der Wärme verschwindet. Biuret-, Millon's-, Adamkiewicz's-, Xanthoproteinreaction positiv, Molisch's Reaction negativ. Bei der tryptischen Verdauung entstehen Trypsinfibrinpepton α und β (siehe weiter unten) unter Abspaltung von Tyrosin und Arginin, vielleicht auch noch anderer Amino- und Diaminosäuren.

Pepsinglutinpepton.

Pepsinglutinpepton[4]) (aus Niederschlag 1) $C_{23}H_{39}N_7O_{10}$.

Es zeigt dieselben Fällungsreactionen wie die Fibrinpeptone. Biuretreaction positiv (mit roter Farbe), Xanthoprotein- und Adamkiewicz'sche Reaction

1) H.-S. **38**. 259. (1903.) 2) H.-S. **45**. 216. (1905.)
3) Mühle, Diss. Leipzig 1901.
Siegfried, H.-S. **38**. 259. (1903.)
Borkel, H.-S. **38**. 289. (1903.)
4) Scheermesser, H.-S. **37**. 363. (1902/03.) u. **41**. 68. (1904.)

negativ. Unter den Producten der Säurespaltung wurden Arginin, Lysin, Glutaminsäure und Glykokoll nachgewiesen, Histidin entsteht nicht. Von dem Stickstoff kommen etwa 70 pCt. auf Monaminosäuren (davon c. 11 pCt. auf Glutaminsäure) und etwa 25 pCt. auf Diaminosäuren (davon etwa 15 pCt. auf Arginin und 10 pCt. auf Lysin). Amidstickstoff ist nicht vorhanden. Hydrolyse des Pepsinglutinpeptons.

Trypsinfibrinpepton α[1]) (Antipepton α) (aus Niederschlag 2) $C_{10}H_{17}N_3O_5$. Aus essigsaurer Lösung mit Alkohol gefällt $[\alpha]_D^{20^\circ} = -24{,}5^\circ$. Trypsinfibrinpeptone.

Trypsinfibrinpepton β[1]) (Antipepton β) (aus Niederschlag 1) $C_{11}H_{19}N_3O_5$. Aus essigsaurer Lösung mit Alkohol gefällt $[\alpha]_D^{20^\circ} = -32{,}4^\circ$.

Beide Trypsinpeptone geben in verdünnten Lösungen mit Ferrocyankalium + Essigsäure, Bleiessig, Pikrinsäure, Gerbsäure, Metaphosphorsäure, Sublimat, Phosphorwolframsäure keine oder schwache Trübungen. Biuret- und Xanthoproteinreaction positiv, Millon's und Molisch's Reaction negativ. Gegen weitere Trypsinverdauung sind beide sehr widerstandsfähig. Unter den Säurespaltungsproducten von Pepton α wurden Arginin, Lysin, Glutaminsäure (12 pCt.), unter den Säurespaltungsproducten von Pepton β Arginin nachgewiesen. Bei beiden beträgt der Basenstickstoff weniger als 25 pCt. des Gesamtstickstoffs. Bei der Zersetzung mit Schwefelsäure spaltet Pepton α 21,9 pCt. seines Stickstoffs als Ammoniak ab, Pepton β 16,1 pCt. Eigenschaften der Trypsinfibrinpeptone.

Trypsinpeptone von derselben Zusammensetzung und wesentlich denselben Eigenschaften wurden aus Wittepepton erhalten (Siegfried[2]).

Trypsinglutinpepton[3]) (aus Niederschlag 1). $C_{19}H_{30}N_6O_9$. $[\alpha]_D^{20^\circ} = -100{,}8^\circ$. Trypsinglutinpepton.

Die Reactionen sind dieselben wie bei den anderen Trypsinpeptonen. Gegen Trypsin ist es sehr widerstandsfähig. Unter den Producten der Säurespaltung wurden nachgewiesen Lysin, Arginin, Glutaminsäure und Glykokoll (Siegfried[4]). Eigenschaften des Trypsinglutinpeptons.

Für nahe verwandt oder identisch mit diesen Körpern (speciell mit dem Trypsinfibrinpepton α) hält Siegfried[5]) die Fleischsäure, welche er als Spaltungsproduct der von ihm aus Fleischextract und aus von Eiweiss befreiten Muskelauszügen als Eisenverbindung isolierten Phosphorfleischsäure erhielt. Er beschreibt sie als einbasische Säure von der Formel $C_{10}H_{17}N_3O_5$ oder $C_{10}H_{15}N_3O_5$. Siehe dazu die Arbeiten von Mays[6]), Folin[7]) und Kutscher[8]). Fleischsäure.

---

1) Siegfried, H.-S. **35**. 164. (1902.), **38**. 259. (1903.)
Müller, H.-S. **38**. 265. (1903.)
2) H.-S. **35**. 164. (1902.)
3) Krüger, H.-S. **38**. 320. (1903.)
4) H.-S. **35**. 187. (1902.)
5) A. f. A. u. Ph. Ph. A. 1894. S. 401, H.-S. **21**. 360. (1896.)
Balke, H.-S. **22**. 248. (1897.)
6) Z. f. B. **34**. 268. (1896.)
7) H.-S. **25**. 152. (1898.)
8) H.-S. **26**. 110. (1899.)

Darstellung nach Hofmeister.

327. **Darstellung nach Hofmeister.** Hofmeister und seine Schüler haben versucht, aus den Peptonfractionen, welche durch Fällung der nach Sättigung mit Ammonsulfat filtrierten (peptischen und tryptischen) Verdauungsflüssigkeiten mit Kupfersulfat, Eisenammoniakalaun und Quecksilberjodidjodkalium erhalten werden, durch Darstellung von Benzoyl-, Benzosulfo-, Naphthalinsulfo- und Phenylisocyanatverbindungen einheitliche Körper zu gewinnen. Die besten Isolierungsresultate wurden mit Phenylisocyanat erzielt. Siehe hierüber die Arbeiten von Stookey[1]), Raper[2]) und Rogozinski[3]).

Plasteine.

328. Plasteine nennt man die Niederschläge (flockige oder gallertige), welche in Albumoselösungen allmählich bei Körpertemperatur unter der Einwirkung von Fermenten entstehen. Danilewsky beobachtete sie zuerst auf Labzusatz[4]). Sie entstehen auch durch Magensaft[5]), Papajotin[6]), Extracte von frischen[7]) und autolysierten Organen[8]). Ueber die Frage nach der Muttersubstanz der Plasteine geben die Untersuchungen widersprechende Antwort, doch scheint es nach Sawjalow[9]), dass sie aus dem Albumosengemenge und nicht aus einer einzelnen Albumose hervorgehen. Der Niederschlag macht immer nur einen Teil der in Lösung befindlichen Albumosen aus.

Zur Reinigung wird der Niederschlag ausgewaschen, in Alkali gelöst, vorsichtig durch Säurezusatz gefällt, wieder in Wasser mit Hülfe von Säure gelöst und mit sehr wenig gesättigter Ammonsulfatlösung gefällt. Dieses Lösen in angesäuertem Wasser und Fällen mit Ammonsulfat wird mehrmals wiederholt, bis das Filtrat beim Sättigen mit Ammonsulfat völlig klar bleibt (Lukomnik[10]).

Sawjalow (von dem auch der Name Plasteine herrührt) beschreibt die durch Labferment erhaltenen gereinigten Plasteine als in Wasser unlöslich, in verdünnten Säuren und Alkalien leicht löslich, beim Neutralisieren dieser Lösungen wieder ausfallende Substanzen, deren Lösungen in Alkalilauge (unter Vermeidung eines Ueberschusses) beim Erwärmen zu einer durchsichtigen Masse erstarren. Schon die geringsten Mengen von Salzen rufen in den Lösungen gallertige Niederschläge hervor. Die Farbenreactionen der Eiweissstoffe fallen positiv aus, die Biuretreaction ist rotviolett.

Coagulosen.

Kurajeff hält die durch Papajotin hervorgerufenen Niederschläge für verschieden von den durch Lab bewirkten und nennt sie Coagulosen.

Reine Substanzen liegen in den Plasteinen selbstverständlich nicht vor. Eine Tabelle über die Zusammensetzung findet sich bei Sawjalow[9]).

Von Albumosen und Peptonen möglichst weitgehend befreite Verdauungsflüssigkeiten geben auch auf Zusatz von Labferment Abscheidungen. Diese zeigen aber andere

---

1) B. Ph. P. **7**. 590. (1906.)
2) B. Ph. P. **9**. 168. (1907.)
3) B. Ph. P. **11**. 229 u. 241. (1908.)
4) Okunew, Maly's Jbr. 1895. 291.
Sawjalow, Maly's Jbr. 1899. 58. u. Pfl. A. **85**. 171. (1901.)
Lawrow, H.-S. **51**. 1. (1907.)
5) Sawjalow, a. a. O.
Lawrow u. Salaskin, H.-S. **36**. 277. (1902.)
6) Kurajeff, B. Ph. P. **1**. 121. (1902.), **2**. 411. (1902.). **4**. 476. (1904.)
7) Okunew, a. a. O.
8) Nürnberg, B. Ph. P. **4**. 543. (1904.)
9) H.-S. **54**. 119. (1907/08).
10) B. Ph. P. **9**. 205. (1907.)

Eigenschaften als die Plasteine und geben die Farbenreactionen nicht oder nur ganz schwach (Bayer[1]), Lawrow[2]), Sawjalow[3]).

Protokyrine.

329. Mit diesem Namen bezeichnet Siegfried Peptone basischer Natur, welche durch Einwirkung von verdünnter Salzsäure bei Bruttemperatur aus Proteinen erhalten werden.

Darstellung. Zu ihrer Darstellung werden die Proteine mit der 10fachen Menge 12—16 proc. Salzsäure eine bis mehrere Wochen bei 38° behandelt. Die filtrierte Flüssigkeit wird mit Phosphorwolframsäure ausgefällt, der Niederschlag mit 5 proc. Schwefelsäure chlorfrei gewaschen, bei 40° in ammoniakalischem Wasser gelöst und mit Barytwasser unter Vermeidung eines Ueberschusses zerlegt, das Filtrat durch Ammoniumcarbonat von Barium befreit und zum Syrup eingedampft (Rohkyrin). Zur Reinigung führt man das Kyrin durch Zusatz von Schwefelsäure in das Sulfat über und giesst die filtrierte mit Alkohol vermischte Flüssigkeit in dünnem Strahl in eine grosse Menge absol. Alkohol unter beständigem Umrühren ein. Das ausfallende Sulfat wird in derselben Weise und so oft aus schwefelsaurer Lösung durch Alkohol gefällt, bis die Zusammensetzung eine constante ist.

Eigenschaften. Die Kyrine sind in Wasser leicht löslich, reagieren stark alkalisch, geben die Biuretreaction (rot mit einem Stich in's Bordeauxrote). Die Sulfate sind amorph, in Wasser leicht, in Alkohol fast unlöslich, sie reagieren auch gegen Congo sauer, sind optisch inactiv.

Die Phosphorwolframate (aus der Lösung der freien Base oder der mit Natronlauge alkalisch gemachten Lösung des Sulfats ausgefällt) sind in kaltem Wasser schwer löslich, aus der Lösung in heissem Wasser scheiden sie sich beim Erkalten wieder ab und zwar die des Caseino-, Fibrino- und Glutokyrins in mikroskopischen Krystallen (kugelförmige Aggregate feiner Nadeln oder zu Sternen und Büscheln gruppierte Nadeln), das des Hämoglobinokyrins amorph.

Bei der Spaltung liefern sie hauptsächlich Basen.

Glutokyrin. Glutokyrin[4]) (aus Trypsinglutinpepton und aus Gelatine dargestellt.) Aus den Analysen des Sulfats lässt sich die Formel $C_{21}H_{39}N_9O_8$ ableiten. Es gibt eine Verbindung mit α-Naphthylcyanat. Bei der Säurespaltung entstehen Arginin, Lysin, Glutaminsäure und Glykokoll, kein Ammoniak und Histidin. $^2/_3$ des Stickstoffs kommt auf die Basen und $^1/_3$ auf die Aminosäuren.

---

1) B. Ph. P. **4**. 554. (1904.)
2) H.-S. **51**. 1. (1907.), **53**. 1. (1907), **56**. 343. (1908.)
3) H.-S. **54**. 119. (1907/08.)
4) Siegfried, Ber. d. math.-phys. Klasse d. K. S. A. d. W. zu Leipzig. 2. März 1903 u. H.-S. **43**. 44. (1904/05.)
Loewy u. Neuberg, B. Z. **2**. 449. Fussnote 1. (1907.)

Caseinokyrin. Caseinokyrin[1]). Aus den Analysen des Sulfats lässt sich die Formel $C_{23}H_{47}N_9O_8$ ableiten. Bei der Säurespaltung entstehen Arginin, Lysin und Glutaminsäure, kein Histidin und Ammoniak. Von dem Stickstoff kommt etwa 84 bis 85 pCt. auf die Basen, 15 bis 16 pCt. auf die Aminosäuren.

Globinokyrin. Globinokyrin[2]) (aus Hämoglobin). Bei der Säurespaltung entstehen Arginin, Lysin, Histidin und Glutaminsäure, Ammoniak nur in Spuren. Von dem Stickstoff kommen 76—77 pCt. auf die Basen und 23—24 pCt. auf die Aminosäuren.

Fibrinokyrin. Fibrinokyrin[3]) (aus Fibrin).

Polypeptide.

330. Mit dem Namen Polypeptide bezeichnet E. Fischer[4]) die amidartigen Anhydride der Aminosäuren, deren Synthese er nach verschiedenen von ihm angegebenen Methoden ausgeführt hat. Nach der Anzahl der mit einander verbundenen Aminosäuren unterscheidet er Di-, Tri- u. s. w. Peptide. Die niederen Di-, Tri- und Tetrapeptide, zu denen die Mehrzahl der synthetischen gehört, umfassen fast alle aus Proteinen erhaltenen Aminosäuren.

Allgemeine Eigenschaften. Manche sind in Wasser leicht, andere schwer löslich, in absol. Alkohol sind die meisten fast ganz unlöslich. In Mineralsäuren und Alkalien sind sie leicht löslich, viele auch in etwas wässeriges Ammoniak enthaltendem Alkohol. Die meisten schmelzen erst über 200° unter Zersetzung. Sie schmecken schwach bitter oder schwach fade. Mit der Länge der Kette wächst das Fällungsvermögen durch Phosphorwolframsäure. Ihre wässerige Lösung färbt sich beim Kochen mit gefälltem Kupferoxyd blau. Die Biuretreaction fällt bei vielen positiv aus. Durch alkoholische Salzsäure werden sie leicht in die Ester übergeführt. Die Ester sind unlöslich in Petroläther und nur wenig löslich in Aether (Unterschied von den Estern der Aminosäuren). Die Ester der Dipeptide gehen ziemlich glatt durch alkoholisches Ammoniak in die Anhydride (Diketopiperazine) über. Durch 5stündiges Kochen mit conc. Salzsäure werden sie völlig gespalten, gegen Alkalien sind sie bei gewöhnlicher Temperatur sehr widerstandsfähig. Durch Magensaft werden die Polypeptide nicht gespalten, so weit die Erfahrung reicht. Durch Trypsin werden manche gespalten, andere nicht. Erepsin spaltet auch solche, welche Trypsin nicht zu zerlegen vermag. In der Regel werden aber durch Trypsin und durch Erepsin nur diejenigen Combinationen gespalten, welche aus den in der Natur vorkommenden optisch activen Aminosäuren gebildet sind.

---

1) Siegfried, H.-S. **43**. 46. (1904/05.), **48**. 54. (1906.), **50**. 163. (1906/07.)

2) Kirbach, H.-S. **50**. 129. (1906/07.)

3) Siegfried, H.-S. **48**. 67. (1906.), Geide, Diss. Leipzig 1907.

4) Siehe die zusammenfassende Darstellung B. **39**. 551. (1906) u. Sitzungsber. d. K. pr. A. d. W. 1907. IV. 35, sowie zahlreiche Arbeiten in den B. **39**, **40** u. **41**.

331. Solche Polypeptide sind unter den Producten der vorsichtigen Säurehydrolyse von Seidenfibroin, Elastin, Gliadin von E. Fischer und Abderhalden[1]) und unter den Producten der energischen Säurehydrolyse von Gliadin von Osborne und Clapp[2]) aufgefunden worden. Auftreten: bei Säurehydrolyse.

Das Anhydrid eines Dipeptids (Combination von Prolin und Glykokoll) wurde von Levene[3]) mit Sicherheit in der tryptischen Verdauungsflüssigkeit der Gelatine aufgefunden, während die Angabe von Salaskin[4]), ein anderes Anhydrid, das Leucinimid, bei der peptischen und tryptischen Verdauung des Hämoglobins gefunden zu haben, noch der Bestätigung bedarf. bei tryptischer Verdauung.

Dipeptidanhydride (Leucinimid, l-Phenylalanyl-d-alaninanhyd, vielleicht auch l-Leucyl-d-valinanhydrid) wurden auch unter den Producten der vollständigen Hydrolyse von Casein und anderen Proteinen nachgewiesen (Ritthausen, Cohn, Abderhalden und Funk[5]). Doch sind diese isolierten Anhydride wahrscheinlich nicht im Eiweiss vorgebildet, sondern erst secundär entstanden. Ueber ihre Darstellung siehe § 335. bei vollständiger Säurehydrolyse.

Darstellung aus der schwach hydrolisierten Proteinflüssigkeit nach E. Fischer und Abderhalden[6]): Darstellung:

Das Seidenfibroin wurde 4 Tage mit der dreifachen Menge conc. Salzsäure bei 16° gehalten, das Elastin 5—6 Tage mit der 3fachen Menge conc. Salzsäure bei 36° oder 2—3 Tage bei 37° und 1 Tag bei Zimmertemperatur mit der 5fachen Menge 70 proc. Schwefelsäure, das Gliadin 16 Stunden bei gewöhnlicher und 3 Tage bei Bruttemperatur mit der fünffachen Menge 70proc. Schwefelsäure.

332. als Diketopiperazine*). Die salzsaure Flüssigkeit wird mit Wasser sehr stark verdünnt und mit conc. Phosphorwolframsäurelösung ausgefällt, das Filtrat durch Baryt von Phosphorwolframsäure und durch Schwefelsäure vom Barium befreit und dann zur Entfernung des grössten Teils der Salzsäure mit Kupferoxydul geschüttelt. Aus dem Filtrat schafft man durch Schwefelwasserstoff das Kupfer und durch einen Luftstrom den Schwefelwasserstoff fort und engt es dann unter geringem Druck in einem Bade, dessen Temperatur nicht über 40° steigt, zum Syrup ein. Der Syrup wird mit absol. Alkohol übergossen und nun langsam mit Salzsäure gesättigt, so dass die Temperatur nicht über 50° geht. Nach 14stündigem Stehen wird die alkoholische Lösung bei 12 mm Druck und einer Badtemperatur nicht über 35° verdampft und die Veresterung und Verdunstung in derselben Weise wiederholt. Der Rückstand wird nun in absol. Alkohol gelöst, die Lösung mit etwas weniger Natriumäthylat versetzt, als zur Entfernung der Salzsäure nöthig ist und nach Entfernung des Kochsalzes als Diketopiperazine.

*) Die Dipeptide gehen nach erfolgter Esterificirung leicht in Diketopiperazine über.

1) B. **39.** 752 u. 2315. (1906.), **40.** 3544. (1907.)
2) A. J. of Ph. **18.** 123. (1907.)
3) Levene u. Beatty, B. **39.** 2060. (1906.)
Levene u. Wallace, H.-S. **47.** 145. (1906.)
4) H.-S. **32.** 592. (1901.), **38.** 573. (1903.)
5) H.-S. **53.** 19. (1907.) 6) B. **40.** 3544. (1907.)

durch Filtration bei geringem Druck und einer Temperatur des Wasserbades unter 65° destilliert, wobei Alkohol und Aminosäureester übergehen. Der Rückstand wird zunächst zur Entfernung noch vorhandener Aminosäureester wiederholt mit trockenem Aether ausgeschüttelt und dann in heissem absol. Alkohol gelöst. Beim Stehen (wochenlangem) scheiden sich allmählich die Anhydride der Dipeptide ab. Die so erhaltenen Diketopiperazine sind in den §§ 341—345 aufgeführt.

als β-Naphthalinsulfoverbindung.

333. des β-Naphthalinsulfoglycyl-d-alanin aus Seidenfibroin. Das Verfahren ist zunächst das oben beschriebene. Die unter geringem Druck in einem Bade, dessen Temperatur nicht über 40° beträgt, eingeengte Flüssigkeit wird durch Schütteln mit überschüssigem Silberoxyd von Salzsäure befreit, im Filtrat das gelöste Silber quantitativ mit Salzsäure gefällt und nun die Flüssigkeit wieder unter geringem Druck eingeengt. Der Rückstand, ein gelber dicker Syrup, welcher Biuret- und Millon'sche Reaction gab, aber aus conc. wässeriger Lösung mit Ammonsulfat nicht gefällt wurde, wurde in sehr verdünntem Alkali gelöst und mit einer ätherischen Lösung von β-Naphthalinsulfochlorid behandelt. Beim Ansäuern der alkalischen Lösung fiel ein Oel aus, das sich beim Abkühlen auf 0° langsam in eine zähe Masse verwandelte. Diese wurde in verdünntem Alkali gelöst, bei 0° durch Ansäuern wieder gefällt, zerrieben und nach Auslaugen mit ziemlich viel Aether in heissem Wasser gelöst und mit etwas Tierkohle gekocht. Beim Abkühlen schieden sich allmählich feine Nädelchen und glänzende Blättchen ab. Ueber die Verbindung siehe § 340.

als Polypeptide.

334. des d-Alanyl-l-leucin aus Elastin und der l-Leucyl-d-glutaminsäure aus Gliadin. Die schwefelsaure Flüssigkeit wird nach Verdünnen mit Wasser durch Baryt von dem grössten Teil der Schwefelsäure befreit und nach weiterer Verdünnung mit Wasser mit Phosphorwolframsäure ausgefällt; das Filtrat zur Entfernung der Phosphorwolframsäure mit Baryt behandelt und der überschüssige Baryt genau mit Schwefelsäure entfernt. Das Filtrat wurde nun bei 12 mm Druck und einer Temperatur unter 40° zum Syrup verdunstet. Ueber die weiteren Verfahren, welche zur Isolierung der krystallisierten Dipeptide führten, siehe die Originalarbeit. Ueber diese beiden Dipeptide siehe § 336 u. § 337.

335. Darstellung von Dipeptidanhydriden (§ 331 Absatz 3) aus stark hydrolysierter Caseinflüssigkeit nach Abderhalden und Funk[1]). Die mit 25 proc. Schwefelsäure 20 Std. gekochte Flüssigkeit wird von Schwefelsäure befreit, im Vacuum stark eingeengt, mit Kieselguhr vermengt und im Soxhlet'schen Apparat mit Essigäther erschöpft. Aus dem beim Verdunsten des Essigäthers zurückbleibenden Oel lassen sich durch Krystallisation aus Alkohol einzelne Fractionen gewinnen, welche durch Umkrystallisieren aus Wasser gereinigt werden. Ueber diese Substanzen siehe § 348—350.

1) H.-S. **53**. 19. (1907.)

336. **d-Alanyl-l-leucin** $C_9H_{18}N_2O_3$[1]) (aus Elastin siehe § 334). Es löst sich sehr leicht in Wasser und krystallisiert aus heissem Alkohol in zugespitzten Blättchen. Smp. gegen 256° (corr.). Eine wässerige Lösung zeigt $[\alpha]_D^{20°} = -16{,}6°$. Es stimmt ganz mit dem synthetischen[2]) ($[\alpha]_D^{20°} = -17{,}21°$) überein. Bei der Hydrolyse wurden d-Alanin und l-Leucin erhalten.

337. **l-Leucyl-d-glutaminsäure** $C_{11}H_{20}N_2O_5$[1]) (aus Gliadin siehe § 334). Es krystallisiert aus heissem Wasser besonders auf Zusatz von Alkohol in langen, häufig drusenartig verwachsenen Nadeln. In verdünnter Salzsäure ist es sehr leicht löslich, bildet ein in Wasser schwer lösliches Silbersalz, das zu seiner Isolierung diente. Es schmilzt nicht scharf gegen 232° (corr.). In Normalsalzsäure $[\alpha]_D^{20°} = +10{,}20°$ Es stimmt völlig überein mit dem synthetischen[3]). Bei der Hydrolyse wurden l-Leucin und d-Glutaminsäure erhalten.

338. **Eine Substanz** $C_{14}H_{18}N_2O_3$, welche vermutlich ein Dipeptid aus Phenylalanin und Tryptophan ist, wurde von Osborne und Clapp[4]) unter den Producten, die beim Erhitzen von Gliadin mit einem Gemisch von 5 Tl. Wasser und 1 Tl. conc. Schwefelsäure zunächst 6 Stunden auf 100°, dann 13 Stunden im Oelbad entstehen, nachgewiesen. Es krystallisiert z. Tl. aus der von Schwefelsäure befreiten eingeengten Flüssigkeit direct aus.

Sehr schwer löslich in kaltem Wasser, leicht löslich in verdünnten Säuren und Alkalien, krystallisiert aus heissem Wasser in langen flachen Prismen von Perlmutterglanz. Lufttrocken enthalten sie 1 Mol. Wasser, das bei 120° vollständig fortgeht. Schnell erhitzt, zersetzt sich die Substanz bei etwa 249° unter Gasentwicklung zu einem roten Oel. Das Kupfersalz krystallisiert im orthorhombischen System, es verliert an der Luft seine blaue Farbe und zerfällt zu einem grünen Pulver. Die Substanz gibt die Xanthoprotein- und die Tryptophanreaction und dreht links. $[\alpha]_D^{20°} = -40{,}93°$ und 41,55°. Bei der Hydrolyse entsteht Phenylalanin und Tryptophan.

Eine Sicherstellung durch Identificierung mit einem der beiden synthetischen Polypeptide ist noch nicht erfolgt.

339. **Tetrapeptid.** Eine Substanz, die recht wahrscheinlich ein Tetrapeptid (aus 2 Tl. Glykokoll, 1 Tl. d-Alanin und 1 Tl. l-Tyrosin) darstellt, wurde von E. Fischer u. Abderhalden[1]) aus hydrolysiertem Seidenfibroin und zwar aus dem Phosphorwolframsäureniederschlag (§ 332) erhalten.

Es krystallisiert nicht, ist in Wasser leicht löslich, in absol. Alkohol unlöslich. Moleculargewicht 335—355 (ber. 366,2). Aus der wässerigen Lösung fällt es auf Zusatz einer gesättigten Ammonsulfatlösung in dicken Flocken, ebenso auf Zusatz von Tannin

1) E. Fischer u. Abderhalden, B. **40**. 3544. (1907.)
2) E. Fischer, B. **40**. 1766. (1907.)
3) E. Fischer, B. **40**. 3711. (1907.) 4) A. J. of Ph. **18**. 123. (1907.)

als dicker, im Ueberschuss des Fällungsmittels löslicher Niederschlag. Starke Kochsalzlösung ruft nur bei Gegenwart von etwas Salpetersäure oder Essigsäure starke Trübung hervor. Ferrocyankali + Essigsäure oder Sublimat geben keine Fällungen, schwach salpetersaure Lösung von Mercuronitrat nur ganz unbedeutende Fällung. Biuret- und Millon's Reaction sehr stark. Pankreassaft spaltet Tyrosin ab, aber nicht vollständig. Bei der totalen Hydrolyse entstehen Glykokoll, d-Alanin und l-Tyrosin u. z. in Mengen, die von den berechneten nicht allzusehr abweichen; bei der partiellen liessen sich Glycyl-d-alaninanhydrid und Glycyl-l-tyrosinanhydrid isolieren. Eine Synthese dieses Körpers ist noch nicht gelungen (E. Fischer[1]).

340. **β-Naphthalinsulfoglycyl-d-alanin** $C_{15}H_{16}N_2SO_5$[2]) (aus Seidenfibroin siehe § 333). Es krystallisiert aus heissem Wasser in feinen Nädelchen und Blättchen und schmilzt bei 155° (corr.). Es zeigte sich identisch mit dem synthetischen Präparat[3]). Beim zweistündigen Erhitzen mit 10 proc. Salzsäure am Rückflusskühler zerfällt es in d-Alanin und β-Naphthalinsulfoglycin. Da beim Erhitzen der Naphthalinsulfoverbindungen der Polypeptide mit mässig verdünnter Salzsäure die Polypeptidkette gesprengt wird, während die beständigere Bindung der Naphthalinsulfogruppe mit der Aminosäure erhalten bleibt, so ist durch dieses Ergebnis der Beweis geliefert, dass bei der Hydrolyse des Seidenfibroins Glycyl-d-alanin entstanden ist.

341. **Glycyl-d-alaninanhydrid** $C_5H_8N_2O_2$[4]) (aus Seidenfibroin siehe § 332). Nadelförmige Krystalle, in Wasser leicht, in warmem Alkohol ziemlich leicht löslich. Im Kapillarrohr erhitzt, fängt es gegen 235° an braun zu werden und schmilzt zwischen 240 u. 242° (corr.) unter geringer Zersetzung und teilweiser Sublimation. Es schmeckt schwach bitter. Bei der Hydrolyse entstehen Glykokoll und d-Alanin. Es stimmt in allen Punkten mit dem synthetischen[5]) überein, zeigte nur etwas geringere Drehung $[\alpha]_D^{20°} = -3{,}9°$ gegenüber $[\alpha]_D^{20°} = -5{,}0°$, was wohl auf eine schwache Racemisierung zurückzuführen ist.

342. **Glycyl-l-tyrosinanhydrid** $C_{11}H_{12}N_2O_3$[6]) (aus Seidenfibroin siehe § 332). Es krystallisiert aus heissem Wasser in schönen farblosen, meist stern- oder kugelförmig vereinigten Nadeln, schmilzt bei raschem Erhitzen nicht ganz scharf unter Zersetzung zwischen 278 u. 283° (corr.) und gibt starke Millon'sche Reaction. Eine Lösung in wässerigem Ammoniak zeigte $[\alpha]_D^{20°} = +123{,}3°$. Bei der Hydrolyse entstehen Glykokoll und l-Tyrosin. Das synthetische Präparat[7]) zeigte völlige Uebereinstimmung, nur drehte es etwas stärker $[\alpha]_D^{20°} = +126{,}4°$.

1) B. **41**. 850. (1908.)
2) E. Fischer u. Abderhalden, B. **40**. 3544. (1907.)
3) E. Fischer u. Bergell, B. **36**. 2594. (1903.)
4) E. Fischer u. Abderhalden, B. **39**. 752. (1906.)
5) E. Fischer u. A. Schulze, B. **40**. 943. (1907.)
6) E. Fischer u. Abderhalden, B. **39**. 2315. (1906.)
7) E. Fischer u. Schrauth, A. **354**. 28. (1907.)

343. **Glycyl-l-leucinanhydrid** $C_8H_{14}N_2O_2$[1]) (aus Elastin siehe § 332). Es scheidet sich aus heissem Aceton oder Alkohol teils amorph, teils in filzartig zusammengelagerten Nädelchen ab. Es schmilzt gegen 253° (corr.) und zeigt in wässeriger Lösung $[\alpha]_D^{20°} = +29{,}2°$. Das synthetische schmolz bei 254—255° (corr.) und zeigte $[\alpha]_D^{20°} = +31{,}7°$. Bei der Hydrolyse entstehen Glykokoll und l-Leucin.

344. **l-Leucyl-d-alaninanhydrid** $C_9H_{16}N_2O_2$[2]) (aus Elastin siehe § 332). Es krystallisiert aus heissem Wasser nicht deutlich, zeigt aber unter dem Mikroskop die Structur einer fein verfilzten Masse, die wahrscheinlich aus dünnen Nädelchen besteht. Es schmilzt gegen 248° (corr.). Seine Lösung in Eisessig zeigte $[\alpha]_D^{20°} = -25{,}9°$. Bei der Hydrolyse entstehen l-Leucin und d-Alanin. Die angegebenen Merkmale stimmen im Wesentlichen mit den Eigenschaften des synthetischen Körpers[3]) überein, nur ist der letztere leicht krystallisiert zu erhalten und auch in Wasser schwerer löslich.

345. **Glycyl-d-valinanhydrid** $C_7H_{12}N_2O_2$[2]) (aus Elastin siehe § 332). Es scheidet sich gallertig aus seinen Lösungen ab. Es lässt sich destillieren und das Destillat erstarrt völlig krystallinisch (Smp. 248–252,5° corr.). Beim Umlösen der Krystallmasse aus Essigäther oder anderen Lösungsmitteln erfolgt die Abscheidung wieder in amorphen, gequollenen Massen. Bei der Hydrolyse entstehen Glykokoll und d-Valin. Das synthetische Product zeigt die gleichen Eigenschaften, nur liegt sein Schmelzpunkt 10° höher.

346. **Alanyl-prolinanhydrid**[2]). Sein Vorkommen im hydrolysierten Elastin (§ 332) ist wahrscheinlich gemacht.

347. **Glycyl-prolinanhydrid** $C_7H_{10}N_2O_2$ wurde aus einer 15 Monate alten tryptischen Verdauungsflüssigkeit der Gelatine von Levene[4]) isoliert. Ueber die Darstellung siehe Levene u. Wallace[4]). Prismatische Nadeln vom Smp. 182—183°, es schmeckt bitter und entwickelt bei der Sublimation Pyrrol. Bei der Hydrolyse entstehen Glykokoll und Prolin. Synthetisch ist das Dipeptid noch nicht dargestellt worden.

348. **l-Leucinanhydrid** (l-Leucinimid) (aus Casein siehe § 335). Nähere Angaben über diesen Körper siehe S. 237.

349. **l-Phenylalanyl-d-alaninanhydrid** $C_{12}H_{14}N_2O_2$[5]) (aus Casein siehe § 335). In Wasser schwer lösliche Krystalle, welche rasch erhitzt gegen 258° sintern und bei 265° völlig zersetzt sind. $[\alpha]_D^{20°} = -59{,}73°$. Das synthetische Präparat zeigte $[\alpha]_D^{20°} = +66{,}32°$.

---

1) E. Fischer u. Abderhalden, B. **39**. 2315. (1906.)
2) E. Fischer u. Abderhalden, B. **40**. 3544. (1907.)
3) E. Fischer, B. **39**. 2917. (1906.)
4) Levene u. Beatty, B. **39**. 2060. (1906.)
Levene u. Wallace, H.-S. **47**. 145. (1906.)
5) Abderhalden u. Funk, H.-S. **53**. 19. (1907.)

350. **l-Leucyl-d-valinanhydrid**[1]) (aus Casein siehe § 335). Das Vorhandensein dieses synthetisch noch nicht dargestellten Körpers ist höchst wahrscheinlich gemacht.

Oxydierte, nitro-, halogensubstituierte, desamidierte Eiweissstoffe.

Darstellung. 351. **Oxyprotsulfonsäure.** Aus Eiereiweiss wurde zuerst von Brücke, dann von Maly[2]) durch mehrtägige Einwirkung von Kaliumpermanganat (auf 300 g in Wasser gelöstes Eiweiss 170 g Permanganat) eine Säure, Oxyprotsulfonsäure, erhalten, die aus dem Filtrat des Manganschlammes mit Säure gefällt in Wasser fast unlöslich ist, amorph erscheint, in conc. Mineralsäuren leicht löslich, durch Wasser wieder ausfällbar ist, sich in Alkalien leicht löst und ebenso in den Lösungen neutraler Salze organischer Säuren z. B. Natriumacetat unter Zuhülfenahme eines Teils des Alkalis. Aus ihren Lösungen in Alkalien wird sie durch Zusatz gesättigter Ammonsulfatlösung gefällt.

Zusammensetzung. Analyse der Säure aus: C H N S

Hühnereiweiss . . . 51,21; 6,89; 14,59; 1,77 pCt. (Maly)

Krystall. Ovalbumin . 50,73; 7,02; 14,70; S nicht bestimmt (Bondzynski u. Zoja[3]).

Ausser der Oxyprotsulfonsäure entstehen noch Albumosen und Peptone, Fettsäuren, basische Körper, welche nach Ausscheidung der Oxyprotsulfonsäure im Filtrat nachgewiesen werden können, sowie Kohlensäure und Ammoniak (Bernert[4]). Die Oxyprotsulfonsäure sowie die Albumosen und Peptone geben die Biuret- und Molisch'sche Reaction, nicht aber die Xanthoproteinprobe und die Reactionen von Millon und Adamkiewicz. Die Schwefelbleiprobe fällt schwach oder negativ aus (Loening[5]).

Eigenschaften.

Zersetzungen. Beim Schmelzen mit Aetzkali entstehen schweflige Säure, Säuren der Fett- und Oxalsäurereihe und von aromatischen Körpern nur Benzol und Pyrrol; auch die Albumosen und Peptone liefern bei der gleichen Behandlung weder Indol noch Skatol. Bei der Oxydation mit Chromsäuregemisch entsteht Benzoesäure, bei der Spaltung mit conc. Salzsäure Leucin, Asparaginsäure, basische Producte, kein Tyrosin.

352. **Peroxyprotsäure.** Durch weitere mehrwöchige Einwirkung von Kaliumpermanganat erhielt Maly die Peroxyprotsäure, welche aber nach v. Fürth[6]) aus einem Gemenge von mindestens drei verschiedenen hochmolekularen Substanzen besteht, die durch fractionierte Fällung mit Silbernitrat, Bleiessig und Quecksilberacetat von einander getrennt werden können. Durch mehrstündiges Kochen mit Barytwasser entsteht aus ihnen durch Abspaltung von Oxalsäure, der basischen Complexe und eines erheblichen Teiles des Stickstoffs eine neue Art von Substanzen, welche die Biuretreaction noch geben, die Desaminoprotsäuren, welche durch neuerliche Oxydation mit Permanganat in die Kyroprotsäuren, die auch noch die Biuretreaction geben, übergeführt werden. Siehe darüber bei v. Fürth.

353. **Oxyprotein** nennt Schulz[7]) ein durch Wasserstoffhyperoxyd aus Eieralbumin erhaltenes Product, das schon früher von Chandelon und Wurster beobachtet worden ist. Bei der Einwirkung von Wasserstoffhyperoxyd bei Gegenwart von Platinmohr auf eine Lösung von krystallisiertem Ovalbumin bei Bluttemperatur scheidet es sich im Verlauf mehrerer Tage ab. Durch Lösen des abfiltrierten und gewaschenen Niederschlags in ganz schwacher Natronlauge, Wiederausfällen durch Neutralisieren mit Salzsäure und mehrfaches Wiederholen dieses Processes lässt es sich reinigen. C 50,85;

1) Abderhalden u. Funk, H.-S. **53**. 19. (1907.)
2) M. **6**. 107. (1885.) **9**. 255. (1888.)
3) H.-S. **19**. 225. (1894.)
4) H.-S. **26**. 272. (1899.)
5) Diss. Jena 1903.
6) B. Ph. P. **6**. 296. (1905.)
7) H.-S. **29**. 86. (1900.)

H 6,74; N 14,62; S 1,2 pCt. Löslich in äusserst verdünntem Alkali, durch Neutralsalze oder Neutralisation mit Säure fällbar, im Ueberschuss der Säure nicht löslich, ebenfalls nicht löslich in Natriumacetatlösung (Unterschied von Oxyprotsulfonsäure). Die Farbenreactionen fallen positiv aus. Bei der hydrolytischen Spaltung wurde kein Tyrosin gefunden.

Bei der Benutzung von reinem (säurefreiem) Wasserstoffsuperoxyd entsteht keine Albumose und kein Pepton, sondern nur Oxyprotein.

354. **Xanthoproteinsäure (Xanthoprotein).** Dieses Product, welches aus Eiweiss bei der Einwirkung von Salpetersäure unter Eintritt von Nitrogruppen und gleichzeitiger Oxydation entsteht, ist von v. Fürth[1]) untersucht worden, der auch feststellte, dass nebenbei eine reichliche Bildung von meist ebenfalls nitrierten Albumosen und Peptonen erfolgt. Man stellt die Substanz nach v. Fürth dar durch vorsichtiges Eintragen von fein gepulvertem Casein in das Doppelte seiner Gewichtsmenge reiner, etwas Harnstoff enthaltender, concentrierter Salpetersäure. Nach erfolgter Lösung bringt man die Flüssigkeit in das mehrfache Volumen Wasser, filtriert den entstandenen hellgelben Niederschlag ab, löst ihn in Natronlauge und fällt die rotbraune Lösung mit Essigsäure. Lösung und Fällung wird wiederholt, der Niederschlag schliesslich dialysiert. Er sieht gelb aus und löst sich in Alkalien mit rotbrauner Farbe. Millon's Probe und Schwefelbleiprobe negativ. Bei der Spaltung bildet sich kein Tyrosin, bei der Verdauung entstehen nitrierte Albumosen und Peptone.

355. **Desaminoproteine.** Ueber diese durch Einwirkung von salpetriger Säure auf die Proteine entstehenden Substanzen siehe die Arbeiten von Skraup[2]), Levites[3]), Treves u. Salomone[4]). Sie geben, so weit untersucht, bei der hydrolytischen Spaltung kein Lysin (Skraup).

356. **Halogensubstituierte Eiweissstoffe.** Ein natürlich vorkommender ist das Thyreoglobulin (§ 311). Auch die zu den Albuminoiden gehörigen natürlich vorkommenden Cornein (§ 401) und Spongin (§ 402) sind halogenhaltig. Durch Einwirkung von Halogen auf die verschiedensten Eiweissstoffe hat man auch künstlich Halogen in das Eiweiss eingeführt und Körper hergestellt, welche Halogen in fester Bindung enthalten. Es sind das braune oder graue, amorphe Substanzen, in Wasser unlöslich, löslich in Alkalien, durch Säuren wieder fällbar. Sie geben von den Farbenreactionen nur die Biuret-, die Xanthoprotein- und die Molisch'sche Probe. Der maximale Halogengehalt ist für die verschiedenen Eiweissstoffe verschieden, z. B. für Jodovalbumin 9 pCt., für Jodserumalbumin 12 pCt. Näheres über Jodeiweissstoffe und die Methode ihrer Darstellung siehe besonders in den Arbeiten von Hofmeister[5]), Kurajeff[6]), Blum[7]), Oswald[8]), über die übrigen Halogeneiweissstoffe bei Blum und Vaubel[9]), Hopkins[10]), Habermann und Ehrenfeld[11]), Panzer[12]).

---

1) Habilitationsschrift. Strassburg 1899; hier auch die ältere Literatur.
2) Skraup u. Hörnes, M. **27**. 631. (1906.), hier auch die ältere Literatur.
Skraup, M. **27**. 653. (1906.), **28**. 447. (1907.)
Lampel, M. **28**. 625. (1907.)
3) H.-S. **43**. 202. (1904/05.)
4) B. Z. **7**. 11. (1908.)
5) H.-S. **24**. 159. (1898.)
6) H.-S. **26**. 462. (1899.)
7) H.-S. **28**. 288. (1899.)
8) B. Ph. P. **3**. 391 u. 514. (1903.)
9) J. pr. Ch. N. F. **56**. 393. (1897.), **57**. 365. (1898.)
10) B. **30**. 1860. (1897.), **31**. 1311. (1898.)
11) H.-S. **32**. 467. (1901), **34**. 566. (1901/02.)
12) H.-S. **33**. 131 u. 595. (1901), **34**. 66. (1901/02.)

Oxyproteinsäure, Antoxyproteinsäure, Alloxyproteinsäure.

Vorkommen im Harn.

357. Diese hochmolekularen, stickstoff- und schwefelhaltigen, sauerstoffreichen Säuren, welche als Producte unvollständiger Zersetzung von Proteinstoffen aufzufassen sind, wurden von Bondzynski[1]) und seinen Mitarbeitern aus menschlichem Harn (die erstgenannte auch aus Hundeharn, und aus diesem besonders reichlich nach Phosphorvergiftung) in Form ihrer Baryt- und Silbersalze isoliert. Nach Browinski[2]) finden sie sich auch im Pferdeharn und Pferdeblut. Die Oxyproteinsäure soll im 24 stündigen Harn in einer Menge von 3—4 g, die Alloxyproteinsäure in einer Menge von 1—2 g vorhanden sein.

Darstellung.

Zur Darstellung wird der im Vacuum zum dünnen Syrup eingedampfte Harn bis zur schwachen Blaufärbung von Congopapier mit verdünnter Schwefelsäure und darauf mit $1^1/_2$ Vol. Alkohol versetzt und von ausgeschiedenen Alkalisulfaten abfiltriert. Aus dem Filtrat wird der Alkohol durch Verdunsten im Vacuum bei 35° entfernt, die Flüssigkeit nun mit Aether extrahiert und mit Barytwasser gefällt, der Barytüberschuss gleich mit Kohlensäure gefällt, die Flüssigkeit vom gesamten Barytniederschlag abfiltriert, im Vacuum zum Syrup eingedampft und nach Entfernung eines grossen Teils des Natriumchlorids durch Auskrystallisieren in der Kälte mit absolutem Alkohol gefällt. Der aus Bariumsalzen bestehende Niederschlag wird nach dem Trocknen im Exsiccator in Wasser gelöst und die Lösung mit Bleiessig gefällt. Aus dem Filtrat werden die Säuren der Oxyproteinsäuregruppe (Oxyproteinsäure und Antoxyproteinsäure) gewonnen, aus dem Bleiessigniederschlag die Säuren der Alloxyproteinsäuregruppe, speciell die Alloxyproteinsäure und Urochrom (S. 376). Ueber die Trennungsverfahren siehe H.-S. **46**. 83 (1905.), über die Darstellung des Urochrom auch S. 376.

Oxyproteinsäure.

358. Oxyproteinsäure. Die aus den für das Silbersalz gefundenen Mittelwerten berechnete Zusammensetzung: C 39,62; H 5,64; N 18,08; S 1,12; O 35,54 pCt.

Alkalisalze zerfliesslich und auch in Alkohol nicht schwer löslich. Bariumsalz, weisses, an der Luft zerfliessliches Pulver, schwer löslich in Alkohol, wenn auch leichter als antoxyproteinsaures Barium, optisch inactiv; Silbersalz in Alkohol und Wasser viel leichter löslich als antoxyproteinsaures Barium.

Die Säure ist durch Bleiessig und Phosphorwolframsäure nicht fällbar, aber durch Quecksilberacetat schon aus essigsaurer Lösung, reichlicher aus neutraler.

Biuret-, Xanthoprotein-, Diazoprobe negativ, Millon'sche ganz schwach positiv, Schwefelbleiprobe positiv. Auch beim mässigen Erwärmen mit verdünnter Salzsäure wird reichlich Schwefelwasserstoff abgespalten.

Antoxyproteinsäure.

359. Antoxyproteinsäure. Die aus den für das Silbersalz gefundenen Mittelwerten berechnete Zusammensetzung: C 43,21; H 4,91; N 24,40; S 0,61; O 26,33 pCt.

Alkalisalze in Wasser sehr leicht löslich. Bariumsalz, weisses, in Wasser sehr leicht, in absolutem Alkohol sehr schwer lösliches Pulver. Seine wässerige Lösung reagiert alkalisch. Silbersalz in Wasser löslich, in Alkohol noch schwerer als das Bariumsalz.

Die Säure ist durch Bleiessig nicht fällbar, aber aus concentrierter Lösung durch Phosphorwolframsäure. Ferner wird sie gefällt durch Quecksilbernitrat und durch Quecksilberacetat und durch letzteres Reagens schon aus stark essigsaurer Lösung.

---

1) Bondzynski u. Gottlieb, C. med. W. 1897. S. 577.
Bondzynski u. Panek, B. **35**. 2959. (1902.)
Bondzynski, Dombrowski u. Panek, H.-S. **46**. 83. (1905.); vergl. auch Cloetta, A. exp. P. u. Ph. **40**. 29. (1898.)

2) H.-S. **54**. 548. (1908.)

Biuret-, Xanthoprotein- und Millon's Probe negativ, Schwefelbleiprobe positiv. Die Diazoprobe gelingt schon mit einigen Milligrammen der Salze.

Sie ist ziemlich stark rechtsdrehend.

Auch beim mässigen Erwärmen mit verdünnter Salzsäure wird reichlich Schwefelwasserstoff abgespalten.

Alloxyproteinsäure.

360. Alloxyproteinsäure. Die aus den für das Silbersalz gefundenen Mittelwerten berechnete Zusammensetzung: C 41,33; H 5,70; N 13,55; S 2,19; O 37,23 pCt.

Alkalisalze in Wasser leicht löslich. Bariumsalz nicht an der Luft zerfliesslich, aber in Wasser sehr leicht mit alkalischer Reaction löslich und durch Alkohol flockig fällbar, inactiv. Silbersalz in Wasser schwer, in Alkohol noch schwerer löslich. Die Salze unterscheiden sich von den Salzen der Oxy- und Antoxyproteinsäure durch ihre geringere Löslichkeit in Alkohol.

Die Säure ist durch Bleiessig und durch Quecksilberacetat fällbar, nicht durch Phosphorwolframsäure und durch Eisenchlorid.

Die Biuret-, Xanthoprotein- und Millon'sche Reaction negativ, ebenso auch die Diazoprobe. Schwefelbleiprobe positiv. Auch bei mässigem Erwärmen mit verdünnter Salzsäure wird reichlich Schwefelwasserstoff abgespalten.

Urochrom.

361. Urochrom siehe S. 376.

Uroprotsäure.

362. Die Uroprotsäure von Cloetta[1]) und eine von Hari[2]) aus menschlichem Harn gewonnene stickstoff- und schwefelhaltige Säure stehen offenbar den beschriebenen nahe, können aber ihrer Darstellung nach nicht als einheitliche Substanzen angesehen werden.

Pregl's Substanz aus Harn.

In Beziehung zu den genannten Säuren steht vielleicht auch die von Pregl aus dem Harn isolierte schwer dialysierbare Substanz, welche bei der Säurespaltung Glykokoll, Alanin, Leucin, Glutaminsäure, Phenylalanin, wahrscheinlich auch Asparaginsäure lieferte (Abderhalden u. Pregl[3]).

Uroferrinsäure.

363. Uroferrinsäure wurde aus menschlichem Harn von Thiele[4]) nach einem Verfahren, welches auf ihrer Fällbarkeit aus ammonsulfatgesättigter Lösung mit ammonsulfatgesättigter Eisenammoniakalaunlösung beruht, gewonnen.

Die Zusammensetzung entspricht der Formel $C_{35}H_{56}N_8SO_{19}$ (C 45,45; H 6,08; N 12,12; S 3,46 pCt.) Lockeres, weisses, nur wenig hygroskopisches Pulver, sehr leicht in Wasser, gesättigter Ammonsulfatlösung und trockenem Methylalkohol löslich.

Das Zinksalz und das Bariumsalz sind in Wasser löslich und werden aus ihren Lösungen durch Alkohol in weissen Flocken gefällt.

Phosphorwolframsäure, Quecksilbersulfat und -nitrat rufen schon in verdünnten Lösungen, Eisenchlorid, Bleiacetat, Silbernitrat erst in concentrierten Lösungen Niederschläge hervor.

Biuret-, Adamkiewicz-, Xanthoprotein-, Millon's und Schwefelbleiprobe negativ.

Die Säure dreht links, annähernd $[\alpha]_D = -32{,}5^0$.

Beim längeren Kochen mit Salzsäure wird etwa die Hälfte des Schwefels als Schwefelsäure abgespalten, ferner liessen sich unter den Spaltungsprodukten Schwefelwasserstoff, Ammoniak, Melaninsubstanzen und Asparaginsäure nachweisen.

Nach Bondzynski[5]) ist die Uroferrinsäure nicht im Harn vorgebildet, sondern ein Zersetzungsproduct einer oder mehrerer Alloxyproteinsäuren. Siehe dazu die Einwände von Liebermann[6]).

1) A. exp. P. u. Ph. **40**. 29. (1898.)
2) H.-S. **46**. 1. (1905.)
3) H.-S. **46**. 19. (1905.)
4) H.-S. **37**. 251. (1902/03.)
5) H.-S. **46**. 114. (1905.)
6) H.-S. **52**. 129. (1907.)

Histone.

Vorkommen. 364. Die Histone finden sich im Körper in Verbindung mit sauren Atomcomplexen (Nucleinsäure, Nuclein). Die Aufstellung dieser Gruppe rührt von Kossel[1]) her, welcher das erste Histon aus den roten Blutkörperchen der Gans isolierte. Weitere Histone wurden aus Nucleohiston und verschiedenen Fischspermen gewonnen. Die Testikel aller Fische scheinen im unreifen Zustand ein Histon zu enthalten, dasselbe geht bei einigen beim Reifwerden in Protamin über, bei anderen bleibt es erhalten.

Darstellung. Ueber die Darstellung, welche auf der Löslichkeit der Histone in verdünnter Salzsäure beruht, siehe die einzelnen Histone.

Allgemeine Eigenschaften. Die Histone sind stickstoffreicher als die Eiweissstoffe (die am besten bekannten enthalten 18—18,6 pCt.) und zeigen basischen Charakter; sie nehmen eine Zwischenstellung zwischen den Eiweissstoffen und den stark basischen Protaminen ein. In ihren Reactionen stimmen sie zum Teil mit den Eiweissstoffen, zum Teil mit den Protaminen, zum Teil mit den Albumosen überein. Charakteristisch für die typischen Histone (d. h. die aus roten Blutkörperchen, Nucleohiston und Gadus) sind folgende Reactionen. Eine salzfreie neutrale Lösung wird gefällt:

1. Durch Zusatz von Ammoniak (Kossel).

2. Durch Zusatz von Alkalien und alkalischen Erden. Ueberschuss von Alkalien wirkt lösend (Kossel).

3. Durch Salpetersäure. Der Niederschlag verschwindet beim Erwärmen, um beim Erkalten wieder zu kommen (Kossel).

4. Durch Alkaloidreagentien (phosphorwolframsaures Natron, pikrinsaures Natron, Ferrocyankalium) ausser bei saurer auch bei neutraler Reaction (Bang).

5. Durch Eiweisslösungen (Bang) und Lösungen primärer Albumosen.

6. Sie wird beim Kochen nicht coaguliert, aber wohl nach Zusatz von etwas Salz. Der Niederschlag ist in Salzsäure leicht löslich (Kossel, Bang).

Spaltung durch Pepsin. Hydrolyse. Durch Pepsinsalzsäure entstehen aus ihnen peptonartige Körper, darunter das Histopepton (§ 371), bei der Säurespaltung liefern sie verhältnismässig viel Diaminosäuren (bis zu 40 pCt. basischen Stickstoff). Melanin tritt bei der Spaltung gar nicht oder in nur sehr geringer Menge auf.

Darstellung. 365. **Histon aus den roten Blutkörperchen der Vögel** wurde von Kossel erhalten durch Behandlung von Blutkörperchenbrei (Gans) mit Wasser unter Zusatz von Aether, Filtrieren und Behandlung des mit Wasser gewaschenen Rückstandes mit verdünnter Salzsäure. Aus der abfiltrierten salzsauren Lösung fällt man das Histon durch Eintragen von Kochsalz, schwemmt es in Wasser auf und dialysiert. Dabei geht das Histon in Lösung.

---

1) H.-S. **8**. 511. (1884.); Bang, H.-S. **27**. 463. (1899.)

Der durch Ammoniak hervorgerufene Niederschlag (C 52,31; H 7,09; N 18,46 pCt., S nicht bestimmt) ist nach Kossel ganz unlöslich und verhält sich wie ein coagulierter Eiweissstoff; nach Bang löst er sich in überschüssigem Ammoniak und wird aus der Lösung durch Ammoniaksalz wieder abgeschieden. Die Histonlösung wird ausserdem gefällt durch mehr weniger vollständige Sättigung mit Ammonsulfat, Magnesiumsulfat, Kochsalz, Natriumcarbonat, durch Alkohol (der Niederschlag C 50,67; H 6,99; N 17,93; S 0,5 pCt. ist in Wasser leicht löslich); nicht gefällt durch Chlorcalcium, Sublimat, neutrales und basisches Bleiacetat, Natriumphosphat. Sie gibt die Biuret-, die Xanthoproteinprobe, schwache Millon'sche Probe. Eigenschaften.

Bei der Spaltung mit Barytwasser wurde Leucin und Tyrosin erhalten. Hydrolyse.

366. **Histon aus Nucleohiston** wird als Niederschlag erhalten, wenn man Nucleohiston mit 0,8 proc. Salzsäure behandelt und das Filtrat mit Ammoniak versetzt (Lilienfeld[1]). Darstellung.

Die Zusammensetzung fand Fleroff[2]) zu C 52,37; H 7,70; N 18,35; S 0,62 pCt. Bang[3]) berechnet als Mittel der Analyse mehrerer Autoren C 52,35; H 7,50; N 18,10; S 0,62 pCt. Es stimmt in seinem Verhalten mit dem vorigen überein. Der durch Ammoniak in der salzfreien Lösung erhaltene Niederschlag löst sich im Ueberschuss, auf Zusatz von Ammoniaksalz tritt er wieder auf. Huiskamp[4]) fand indessen umgekehrt, dass die Gegenwart von Salmiak die Fällung durch Ammoniak hindert. Das saure Chlorid ist in Wasser und 70 proc. Alkohol leicht löslich und nur durch Alkoholäther fällbar. Das Sulfat ist in Wasser leicht löslich, in 70 proc. Alkohol unlöslich; das Phosphat ist in Wasser weniger leicht löslich (Bang). Biuret-, Xanthoprotein- und Millon's Reaction positiv, Adamkiewicz- und Schwefelbleiprobe negativ oder sehr schwach, Molisch's Probe negativ. Eigenschaften.

Ueber die hydrolytischen Spaltungsproducte siehe die Tabelle § 478. Vom Gesamtstickstoff kommen auf Histidin 1,8 pCt., auf Arginin 25,2 pCt., auf Lysin 8,0 pCt., auf Ammoniak 7,5 pCt. (Kossel u. Kutscher[5]). Durch Erepsin wird es langsam gespalten (Cohnheim[6]). Hydrolyse.

367. **Gadushiston** wurde von Kossel und Kutscher[5]) dargestellt durch Extrahieren der mit Alkohol und Aether behandelten und getrockneten, reifen Spermatozoen von Kabeljau mit verd. Salzsäure, Sättigen der filtrierten Flüssigkeit mit Kochsalz, Dialysieren des mit Wasser angeriebenen Niederschlags und Fällen der im Dialysierschlauch entstandenen Lösung durch Ammoniak. Darstellung.

---

1) H.-S. **18**. 473. (1894), Bang, H.-S. **27**. 463. (1899), B. Ph. P. **4**. 331. (1904.)
2) H.-S. **28**. 307. (1899.) 3) B. Ph. P. **4**. 331. (1904.)
4) H.-S. **32**. 149. (1901.); **34**. 32. (1901.); **39**. 55. (1903.)
5) H.-S. **31**. 165. (1901.) 6) H.-S. **35**. 140. (1902.)

Eigenschaften. Es enthält 18,65 pCt. N, zeigt im Allgemeinen die Histonreactionen (§ 364). Genauere Angaben liegen nicht vor.

Hydrolyse. Ueber die hydrolytischen Spaltungsproducte siehe die Tabelle § 478. Vom Gesamtstickstoff kommen 3,3 pCt. auf Ammoniak, 26,9 pCt. auf Arginin, 8,5 pCt. auf Lysin und 3,3 pCt. auf Histidin (Kossel u. Kutscher).

368. **Lotahiston,** von Ehrström[1]) aus dem reifen Sperma von Lota vulgaris dargestellt, enthält 16,46 pCt. N. Es zeigt die in § 364 unter 1, 2, 4 und 5 aufgeführten Reactionen; der durch Ammoniak hervorgerufene Niederschlag ist im Ueberschuss löslich und erscheint auf Zusatz von Salmiak wieder. Ammonsulfat und Kochsalz wirken fällend, ebenso basisches Bleiacetat; nicht fällend: Kupfersulfat, Quecksilbernitrat, Eisenchlorid und Bleizucker. Es unterscheidet sich darin von den anderen, dass der durch Kochen der neutralen, salzhaltigen Lösung entstehende Niederschlag in Säuren unlöslich ist und dass Salpetersäure keinen Niederschlag hervorruft. Seine mit Schwefelsäure hergestellte Lösung wird durch Alkohol gefällt, die mit Salzsäure hergestellte nicht. Biuret- und Xanthoproteinreaction positiv, Reactionen von Millon und Adamkiewicz schwach, Reaction von Molisch stark.

Eigenschaften.

Hydrolyse. Ueber die hydrolytischen Spaltungsproducte siehe die Tabelle § 478. Vom Gesamtstickstoff kommen 3,3 pCt. auf Ammoniak, 23,4 auf Arginin, 3,7 pCt. auf Lysin und 4,1 pCt. auf Histidin.

369. **Centrophorushiston** aus den Testikeln von Centrophorus von Kossel[2]) dargestellt.

Bei der hydrolytischen Spaltung fällt vom Gesamtstickstoff auf Histidin 4,5 pCt., Arginin 25,4 pCt., Lysin 7,1 pCt. und Ammoniak 1,7 pCt.

Darstellung. 370. **Scomberhiston** wurde von Bang[3]) durch Extraction von mit Alkohol ausgekochtem und getrocknetem, unreifem Makrelensperma mit 0,8 proc. Salzsäure, Fällen der salzsauren Lösung mit Natronlauge und Wiederholung des Lösung- und Fällungprocesses erhalten.

Eigenschaften. Die Zusammensetzung ist C 49,86; H 7,23; N 19,79; S 0,79 pCt. Es gibt die in § 364 unter 1, 3, 4, 5 und 6 aufgeführten Reactionen, unterscheidet sich aber darin, dass seine Lösungen etwas mehr Alkali zur Fällung und viel mehr zur Wiederlösung des Niederschlags brauchen, als es bei den anderen Histonen der Fall ist, und dass sie durch Sublimat gefällt werden. Ammonsulfat und Kochsalz geben Niederschläge. Biuret-, Xanthoproteïn- und Schwefelbleiprobe positiv, Millon'sche Probe sehr schwach.

Andere Histone. Dem Scomberhiston ähnlich verhalten sich aus unreifem Sperma von Hering und Quappe dargestellte Histone (Bang), sowie die von Miescher[4]) aus unreifer Lachsmilch isolierte „Albuminose".

1) H.-S. **32**. 350. (1901.)
2) H.-S. **49**. 307. (1906.)
3) H.-S. **27**. 463. (1899.)
4) A. exp. P. u. Ph. **37**. 151. (1896.)

Histopepton.

371. Bei der mehrtägigen Verdauung mit Pepsinsalzsäure oder auch durch verdünnte Mineralsäuren bei Wasserbadtemperatur entsteht aus Histonen (aus Thymus, Vogelblutkörperchen, Fischtestikeln gewonnen) neben anderen Producten ein pepton- oder albumoseartiger Körper, der von Kossel[1]) isoliert und als Histopepton bezeichnet wurde. Entstehung.

Zur Darstellung wird das Histon oder auch direct der Niederschlag, welchen Alkohol in dem mit 1—2 proc. Schwefelsäure hergestellten Auszug des zerkleinerten histonhaltigen Organs (Testikel des Kabeljau, Milz, Lymphdrüsen, Darmschleimhaut, Leber) hervorruft (Krasnosselsky[2]), etwa 10 Tage mit Pepsinsalzsäure digeriert, darauf die neutralisierte und filtrierte Flüssigkeit mit Natriumpikrat ausgefällt, der Niederschlag nach dem Auswaschen mit Natriumpikratlösung und Zusatz von Schwefelsäure durch Aether von der Pikrinsäure befreit und aus der schwefelsauren Lösung das Histopepton als Sulfat durch Alkohol gefällt. Zur weiteren Reinigung kann man das Silberbarytverfahren benutzen. Dasselbe lässt sich auch zur Isolierung verwenden. Darstellung.

Das Sulfat des Histopeptons ist ein weisses Pulver. Das aus Thymushiston erhaltene enthält 14,09 pCt. H_2SO_4 und 17,16 pCt. N, das aus Kabeljautestikeln erhaltene 14,06 pCt. H_2SO_4 und 16,78 pCt. N, das aus Milz erhaltene 13,97 pCt. H_2SO_4 und 16,87 pCt. N. Es ist in Wasser leicht löslich. Die wässerige Lösung gibt mit Ammoniak keinen Niederschlag, auch nicht mit Ferrocyankalium oder Kupfersulfat. Das Pikrat ist in heissem Wasser löslich und fällt beim Erkalten in öligen Tropfen aus. Eigenschaften.

Biuret- und Millon's Reaction positiv, Adamkiewicz's und Schwefelbleiprobe negativ.

Bei der hydrolytischen Spaltung fällt vom Gesamtstickstoff 4,0 pCt. auf Histidin, 25,8 pCt. auf Arginin, 17,3 pCt. auf Lysin, 1,2 pCt. auf Tyrosin. Ammoniak und Melaninsubstanzen treten nicht auf. Beim Schmelzen mit Kali entstehen nur Spuren von Indol. Hydrolyse.

Globin, Arbacin, Parahiston.

372. **Globin,** der im Hämoglobin (§ 404) neben der Farbstoffgruppe hauptsächlich vorkommende Proteinstoff wird nach Schulz[3]) in folgender Weise dargestellt: Eine salzfreie Hämoglobinlösung wird mit sehr wenig stark verdünnter Salzsäure*) versetzt, bis eine flockige, braune Fällung eben wieder gelöst ist, $^1/_5$ Vol. 80 proc. Alkohol hinzugefügt und mehrmals mit Darstellung.

*) Nach Gamgee u. Hill[4]) sind für eine Lösung, welche in 200 ccm 1,84 g Hämoglobin enthält, 20 ccm $^n/_{10}$ Salzsäure nötig, um eine vollständige Trennung des Globin vom Farbstoff zu erzielen.

1) H.-S. **49**. 301. (1906.) 2) H.-S. **49**. 322. (1906.)
3) H.-S. **24**. 449. (1898.), **25**. 33. (1898.); Bang, H.-S. **27**. 463. (1899.)
4) B. Ph. P. **4**. 6. (1904.)

dem halben Vol. Aether geschüttelt. Die klare wässerige Lösung scheidet beim Neutralisieren mit Ammoniak einen flockigen Niederschlag ab, der schnell abgesaugt, mit Wasser gewaschen, dann in Wasser unter Zusatz einiger Tropfen verdünnter Essigsäure gelöst und dialysiert wird. Aus der so erhaltenen klaren Lösung fällt das Globin auf Zusatz von Alkohol aus.

Eigenschaften. Seine Zusammensetzung ist C 54,97; H 7,20; N 16,89; S 0,42 pCt. Es ist auch basenreich, gibt die unter § 364 2—6 aufgeführten Histonreactionen und wurde deshalb von Schulz u. a. den Histonen zugerechnet, unterscheidet sich aber von diesen durch sein Verhalten zu Ammoniak. Der in der salzfreien neutralen Lösung durch Ammoniak entstehende Niederschlag löst sich ausserordentlich leicht im Ueberschuss, in dieser ammoniakalischen Lösung ruft Salmiak nur dann einen Niederschlag hervor, wenn die Lösung nicht zu viel Ammoniak enthält. Salzfreie neutrale Lösung wird schon durch sehr geringen Zusatz von Ammonsulfat und Kochsalz, ferner durch Alkohol gefällt, nicht gefällt durch Chlorcalcium, neutr. Bleiacetat, Kupfersulfat, Eisenchlorid, Natriumphosphat. Schöne Biuretreaction, Xanthoproteinprobe, Millon's und Adamkiewicz's Probe schwach, Molisch's so gut wie negativ, Schwefelbleiprobe nur bei Gegenwart von Zink positiv.

Optische Eigenschaften. Eine 0,98 proc. schwach saure wässerig alkoholische Lösung zeigt $[\alpha]_D = -65{,}5^0$ (Gamgee und Hill).

Hydrolyse. Ueber die hydrolytischen Spaltungsproducte siehe die Tabelle § 478, über das bei unvollständiger Hydrolyse entstehende Kyrin siehe § 329. Nach Hausmann[1]) ist von dem Gesamtstickstoff 4,62 pCt. Amidstickstoff, 67,08 pCt. Monamino- und 29,37 pCt. Diaminostickstoff.

373. **Arbacin** wurde von Mathews[2]) durch Extraction der reifen, mit heissem Alkohol und Aether erschöpften Spermatozoen von Arbacia (Seeigel) mit 1—2proc. Schwefelsäure und Fällen des Auszugs mit Alkohol als Sulfat erhalten. Das Sulfat enthält 15,9 pCt. N. Es gibt die in § 364 unter 4 und 5 aufgeführten Reactionen, wird aber nicht durch Ammoniak gefällt oder wenigstens nur in concentrierter Lösung teilweise. Es gibt die Millon'sche und Biuretreaction.

Vorkommen. 374. **Parahiston** nennt Fleroff[3]) einen neben dem Histon aus der Thymusdrüse darstellbaren, ebenfalls basischen Eiweissstoff, der nicht nur in seinem Verhalten, sondern vor Allem darin von den Histonen abweicht, dass er bei der Spaltung nur wenig basische Stoffe[4]) liefert.

Darstellung. Zu seiner Darstellung wird die zerkleinerte, mit Alkohol und Aether erschöpfte Drüse 48 Stunden mit 2proc. Schwefelsäure ausgezogen, der in dem Auszuge durch die dreifache Menge Alkohol hervorgerufene Niederschlag abfiltriert, in heissem Wasser gelöst und mit Natriumpikrat versetzt, das Pikrat mit 2proc. Schwefelsäure und Aether von der Pikrinsäure befreit und die Lösung mit Alkohol gefällt. Das durch wiederholtes Lösen und Fällen gereinigte Sulfat (ein weisses Pulver) wird in heissem Wasser gelöst, die

1) H.-S. **29**. 143. (1900.) 2) H.-S. **23**. 399. (1897.)
3) H.-S. **28**. 307. (1899.); Bang, H.-S. **30**. 518. (1900.); B. Ph. P. **4**. 336. (1904.)
4) Kossel u. Kutscher, H.-S. **31**. 212. Fussnote. (1901.)

heisse Lösung mit überschüssigem Ammoniak gefällt (der Niederschlag ist Lilienfeld's Histon, siehe § 366). Filtrat und Waschwasser werden mit überschüssigem Alkohol gefällt. Die Lösung des Niederschlags in heissem Wasser versetzt man zunächst mit wenig Alkohol, filtriert von der Trübung ab und schlägt aus dem Filtrat durch Alkohol und Aether das Parahiston nieder.

Die Zusammensetzung ist C 51,84; H 7,93: N 17,84; S 1,99 pCt. Die wässerige Lösung reagiert alkalisch. Ammoniak fällt weder bei An- noch bei Abwesenheit von Ammoniaksalzen. Salpetersäure fällt nicht, beim Kochen der wässerigen Lösung entsteht kein Niederschlag. Alkaloidreagentien fällen es, mit Serumeiweiss gibt es einen Niederschlag, nicht aber mit Ovalbumin und Pepton-Witte. Gesättigte Ammonsulfatlösung gibt Fällung, gesättigte Zinksulfat- oder Kochsalzlösung nicht, auch nicht Sättigen mit Kochsalz. Biuretreaction positiv, Millon's Reaction sehr schwach, Adamkiewicz's Reaction negativ. Eigenschaften.

Protamine.

375. Die Protamine sind bisher nur in Verbindung mit Nucleinsäure in den Spermatozoen der Fische aufgefunden worden. Miescher[1]) hat das erste Protamin aus Lachssperma dargestellt und genauer beschrieben. Die Aufstellung der Gruppe, die Feststellung ihrer Zugehörigkeit zu den Proteinen, ihre Charakterisierung als einfachste Eiweissstoffe usw. rühren von Kossel[2]) her. Genauer sind bis jetzt die Protamine aus den Spermatozoen von Salmo salar, Clupea harengus, Scomber scomber, Cyclopterus lumpus, Cyprinus carpio, Accipenser sturio untersucht worden. Ausserdem liegen noch Angaben über basische Stoffe aus den Spermatozoen von Silurus glanis[3]), Accipencer stellatus[3]), Salmo fario[4]), Coregonus oxyrhynchus[4]) vor, über deren Zugehörigkeit zu den Protaminen genauere Untersuchungen entscheiden müssen. Vorkommen.

Zur Darstellung*) der Protaminsulfate nach Kossel werden die reifen oder fast reifen Testikel zerhackt, mit Wasser anhaltend geschüttelt und durch ein Tuch geseiht. Die in der milchigen colierten Flüssigkeit suspendierten morphotischen Elemente ballen sich auf Zusatz einiger Tropfen Essigsäure zusammen, werden abfiltriert, mehrmals mit Alkohol ausgekocht, mit Aether extrahiert und bei Zimmertemperatur getrocknet. Die trockene Masse (etwa 100 g) schüttelt man $^1/_4$ Stunde mit dem 5fachen Vol. 1proc. Schwefelsäure, saugt ab, wiederholt das Ausschütteln noch mehrmals, fällt die vereinigten Filtrate mit der 3fachen Menge Alkohol, dekantiert nach 12 bis 24 Stunden, saugt den Niederschlag, welcher aus Protaminsulfat Darstellung.

*) Vergleiche die soeben erschienene Arbeit von Malenück H.-S. **57**. 99. (1908.), in welcher einige Verbesserungsvorschläge gemacht werden.

1) Miescher, Verh. d. naturf. Ges. in Basel. IV. 1. Heft. S. 153. (1874.) B. **7**. 376. (1874.), A. exp. P. u. Ph. **37**. 100. (1896.) Piccard, B. **7**. 1714. (1874.)

2) H.-S. **22**. 176. (1897.), **25**. 165. (1898.), **26**. 588. (1899.), **40**. 311 u. 565. (1903/04.), **41**. 407. (1904.), **44**. 342. (1905.), **49**. 301. (1906.) Zusammenfassende Darstellung B. C. **5**. 1 u. 33. (1906/07.)

3) Kurajeff, H.-S. **32**. 197. (1901.)

4) Kossel, H.-S. **22**. 181. (1897.)

besteht, ab, löst ihn in heissem Wasser und wiederholt die Alkoholfällung. Löst man nun den Niederschlag in etwa $1^1/_2$ Liter heissem Wasser und lässt die Lösung erkalten, so scheidet sich ein kleiner Teil des Sulfats als gelb oder bräunlich gefärbtes Oel ab. Dieser am schwersten lösliche Teil des Sulfats wird ausgeschieden, die über dem Oel befindliche Flüssigkeit abgetrennt, auf ein kleines Vol. eingedampft und zur Gewinnung der Hauptmenge des Oels im Scheidetrichter stehen gelassen. Um diese Fraction von den letzten Spuren von Nucleinsäure, die ihr hartnäckig anhaften, zu befreien, wird das in warmem Wasser gelöste Protaminsulfat mit Natriumpikrat ausgefällt, der gut ausgewaschene Niederschlag möglichst bald bei Gegenwart eines Ueberschusses von Schwefelsäure durch Ausschütteln mit Aether von Pikrinsäure befreit, das Protaminsulfat aus der schwefelsauren Lösung mit Alkohol gefällt und die Alkoholfällung noch einmal wiederholt. Das Sulfat soll als ein lockerer, weisser Niederschlag fallen; hat die Fällung klebrige Beschaffenheit, so muss die Lösung in Wasser und die Ausfällung durch Alkohol wiederholt werden. Die Darstellung verläuft bei Salmin und Clupein völlig gleich. Sturinsulfat ist in Wasser leichter löslich, man muss deswegen die Lösung weiter eindampfen, um die Abscheidung des Oels zu erzielen. Das Cyprininsulfat scheidet sich nicht als Oel ab.

Allgemeine Eigenschaften.

376. Die Protamine sind schwefelfreie, stickstoffreiche (25 bis 30 pCt. N) Substanzen stark basischer Natur von hohem Moleculargewicht. Die Elementaranalysen haben bisher nur bei dem Salmin zu übereinstimmenden Resultaten geführt. In den übrigen Protaminen liegen vermutlich Gemische vor, deren Trennung noch nicht gelungen ist (siehe Goto[1]).

Die freien Basen.

Die freien Basen, deren Eigenschaften bisher wenig untersucht sind, ziehen Kohlensäure an, bläuen Lakmus und lassen sich leicht mit Säuren titrieren. Sie sind in Wasser leicht löslich, in Alkohol und Aether unlöslich. Sie coagulieren nicht beim Kochen, diffundieren nicht, zeigen Linksdrehung und geben die Biuretreaction. Der positive Ausfall anderer Farbenreactionen ist bei den einzelnen Protaminen erwähnt.

Sulfate.

Die Sulfate, welche von den Salzen am Genauesten untersucht sind, bilden im trockenen Zustand weisse Pulver und scheiden sich beim Erkalten ihrer sauer reagierenden, heissen, wässerigen Lösungen besonders auf Zusatz von Aether als Oel ab. Dieses im Allgemeinen für die Protamine charakteristische Verhalten zeigen indessen die Cyprinine nicht.

Chloride, Carbonate, Nitrate.

Die Chloride sind leichter löslich als die Sulfate, auch die Carbonate und Nitrate sind, soweit untersucht, in Wasser leicht löslich. Die Platindoppelsalze, Silbersalze, Quecksilbersalze sind unlöslich oder schwer löslich. Die Platindoppelsalze erhält man am besten durch Ausfällen einer wasserfreien methylalkoholischen Lösung von Protaminchlorid mit frisch bereiteter,

Platindoppelsalze und andere Salze.

1) H.-S. **37**. 94. (1902/03.)

wasserfreier methylalkoholischer Platinchloridlösung. Die Silbersalze werden auch durch überschüssiges Barytwasser nicht zersetzt. Auch mit Basen geben Protamine Verbindungen. Kupferhydroxyd löst sich mit violetter Farbe in einer Protaminlösung. Silbersalze. Verbindungen mit Basen.

Die wässerigen Lösungen der Salze werden schon in neutraler, ja schwach alkalischer, leichter noch in saurer Lösung durch phosphorwolframsaures, wolframsaures, pikrinsaures, chromsaures, ferrocyanwasserstoffsaures Alkali gefällt. Auch durch Eintragen von Ammonsulfat oder Kochsalz werden sie aus ihren Lösungen ausgeschieden. Verhalten: zu Alkaloidreagentien. zu Ammonsulfat und Kochsalz.

Mit anderen Proteinen und primären Albumosen, nicht aber mit den meisten Deuteroalbumosen, Peptonen und Polypeptiden geben die Protamine in wässeriger oder schwach alkalischer Lösung Niederschläge. Eine Zusammenstellung der in dieser Beziehung geprüften Substanzen, sowie Beschreibung der dabei entstehenden Verbindungen siehe bei Hunter[1]). zu anderen Proteinen.

Aus einer Lösung von nucleinsaurem Natron wird durch die Lösung eines Protaminsalzes nucleinsaures Protamin gefällt. zu Nucleinsäure.

Durch Pepsinsalzsäure und durch Arginase werden die Protamine, soweit die Untersuchungen reichen, nicht gespalten. Durch Kochen mit Schwefelsäure, ebenso durch Trypsin[1]) und Erepsin[2]) werden sie gespalten u. zwar entstehen zunächst peptonartige Stoffe, Protone (§ 383) und weiterhin neben einer kleinen Menge von Monaminosäuren hauptsächlich Diaminosäuren. Mehrere enthalten über 80 pCt. Diaminosäuren und die meisten hauptsächlich Arginin. Als Spaltungsproducte hat man bisher isoliert Arginin, Lysin, Histidin, Alanin, Serin, Aminovaleriansäure, Aminocapronsäure, Prolin und Tyrosin, während Ammoniak, Glykokoll, Cystin, Glutaminsäure, Asparaginsäure, Oxyprolin, Phenylalanin nicht nachgewiesen werden konnten. Die erwähnten Spaltungsproducte sind aber niemals in einem Protamin vereinigt, vielmehr sind in jedem Protamin nur einige, in den einfachsten nur 4 oder 5 enthalten. Aus diesem Grunde werden sie von Kossel als einfachste Proteine bezeichnet. Verhalten zu Fermenten u. Hydrolyse.

377. **Salmin**, zuerst von Miescher aus Lachssperma gewonnen und als „Protamin“ bezeichnet, wurde von Kossel genauer untersucht und findet sich vielleicht neben Clupein auch im Heringssperma. Die Analysen des Platinsalzes ergaben im Mittel C 22,96; H 4,22; N 14,83; Pt 24,73; Cl 26,56 (Goto[4]). Es lässt sich daraus etwa die Formel $(C_{81}H_{155}N_{45}O_{18})_2 + 22\,HCl + 11\,PtCl_4$ für das Platinsalz und $C_{81}H_{155}N_{45}O_{18}$ für die freie Base berechnen, welche auch mit den Resultaten der quantitativen Spaltung in Uebereinstimmung stehen würde (Kossel u. Dakin[5]). Zusammensetzung.

1) H.-S. **53**. 526. (1907.)
2) Kossel u. Mathews, H.-S. **25**. 190. (1898.)
3) Cohnheim, H.-S. **35**. 140. (1902.)
Kossel u. Dakin, H.-S. **41**. 323. (1904.)
4) H.-S. **37**. 94. (1902/03.) 5) H.-S. **41**. 407. (1904.)

Eigenschaften. Das Sulfat löst sich zu 1,27 pCt. in Wasser bei Zimmertemperatur und zeigt $[\alpha]_D = -81^0$. Das sich beim Erkalten nicht zu verdünnter warmer Lösungen abscheidende, farblose Oel hat den Brechungscoefficienten 1,442. Eine 5 proc. saure Lösung des Sulfates wird durch das gleiche Volumen gesättigter Kochsalzlösung, eine 2 proc. durch $^3/_4$ Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung ausgefällt. Eine schwer lösliche Kupferoxydulverbindung entsteht, wenn man die Lösung des Sulfates mit Kupfersulfat und Natriumhyposulfit zusammenbringt. Versetzt man eine alkalische Salminlösung mit Benzoylchlorid, so fällt die schwer lösliche Benzoylverbindung aus.

Hydrolyse. Bei der hydrolytischen Spaltung entstehen von Diaminosäuren nur Arginin, ferner Aminovaleriansäure[1]), Serin[1]) und Prolin[2]), und zwar kommen vom Gesamtstickstoff 89,2 pCt. auf Arginin, 3,25 pCt. auf Serin, 1,65 pCt. auf Aminovaleriansäure und 4,3 pCt. auf Prolin (Kossel und Kutscher[3]), Kossel u. Dakin[4]). Siehe auch die Tabelle § 478.

Zusammensetzung. 378. **Clupein** wurde von Kossel aus Heringssperma gewonnen. Die Analysen der Salze verschiedener Präparate haben nicht übereinstimmende Resultate gehabt, so dass es sich wahrscheinlich um ein Gemisch einander nahe stehender Protamine handelt. Goto[5]) fand für das Platinsalz C 22,81, H 4,30, N 12,59, Pt 24,64, Cl 26,57 pCt.

Eigenschaften. Das Sulfat zeigt eine ähnliche Löslichkeit in Wasser und ähnliche specifische Drehung wie das Salminsulfat (Kurajeff[6]) und verhält sich auch im Uebrigen wie dieses. Das Chlorid diffundiert, das Sulfat nicht (Goto).

Hydrolyse. Bei der hydrolytischen Spaltung entstehen von Diaminosäuren nur Arginin, ferner Alanin[7]), Serin[8]), Aminovaleriansäure[9]) und Prolin[7]), und zwar kommen vom Gesamtstickstoff 88—89 pCt. auf Arginin (Pringle[10]). Bei der Spaltung mit Salzsäure entsteht Ammoniak, bei der Spaltung mit Schwefelsäure nicht (Goto[5]).

Zusammensetzung u. Eigenschaften. 379. **Scombrin** wurde aus Makrelensperma von Kurajeff[6]) dargestellt. Die Analysen der Salze verschiedener Präparate stimmen nicht miteinander überein. Goto[5]) fand für das Platinsalz C 23,49, H 4,75, N 13,57, Pt 24,09, Cl 25,99 pCt.. Das Sulfat verhält sich dem Clupeinsulfat sehr ähnlich. $[\alpha]_D = -71{,}81^0$ (Kurajeff), $[\alpha]_D = -72{,}2^0$ (Goto[5]).

Hydrolyse. Bei der hydrolytischen Spaltung entstehen von Diaminosäuren nur

---

1) Kossel u. Dakin, H.-S. **40**. 565. (1903/04.)
2) Kossel, H.-S. **40**. 311. (1903/04.)
3) H.-S. **31**. 181. (1900/01.)
4) H.-S. **41**. 413. (1904.)
5) H.-S. **37**. 94. (1902/03.)
6) H.-S. **26**. 524. (1899.)
7) Kossel u. Dakin, H.-S. **41**. 414. (1904.)
8) Kossel u. Dakin, H.-S. **40**. 567. (1903/04.)
9) Kossel, H.-S. **26**. 590. (1899.)
10) H.-S. **49**. 302. (1906.)

Arginin, ferner Alanin und Prolin[1]), und zwar kommen vom Gesamtstickstoff 88,8 pCt. auf Arginin und 3,8 pCt. auf Prolin (Kossel[2]).

380. **Cyprinin** wurde von Kossel und Dakin[3]) aus Karpfensperma isoliert. Bei verschiedenen Darstellungen wurden Protamine von verschiedenem Typus erhalten, welche zunächst als Cyprinin-α und -β unterschieden werden, womit aber nicht gesagt sein soll, dass in diesen Körpern chemische Individuen vorliegen.

Eigenschaften. Cyprinin-α-sulfat stellt ein weisses Pulver dar, welches sich in Wasser langsam zu einer schwer filtrierbaren Flüssigkeit löst. Eine Abscheidung als Oel konnte nicht beobachtet werden. Aus der mit Natriumacetat oder gewissen anderen Salzen gesättigten Lösung wird die Base durch Natronlauge abgeschieden. Cyprinin-β gibt die Millon'sche Reaction, Cyprinin-α nur ganz schwach.

Hydrolyse. Bei der hydrolytischen Spaltung entstehen:

aus Cyprinin-α von Diaminosäuren Arginin und Lysin, ferner Aminovaleriansäure und eine Spur Tyrosin und zwar kommen vom Gesamtstickstoff 8,7 pCt. auf Arginin, 30,3 pCt. auf Lysin. Siehe auch die Tabelle § 478.

aus Cyprinin-β von Diaminosäuren Arginin und Lysin, ferner Aminovaleriansäure und Tyrosin, und zwar kommen vom Gesamtstickstoff 28 pCt. auf Arginin, 6,6 pCt. auf Lysin und 1,5 pCt. auf Tyrosin.

Es ist wahrscheinlich, dass der geringe im Cyprinin-α gefundene Tyrosingehalt auf eine Verunreinigung mit Cyprinin-β zu schieben ist.

381. **Cyclopterin** wurde aus Seehasensperma von Morkowin[4]) dargestellt. Millon'sche Reaction positiv, ebenso Tryptophanreaction[5]).

Hydrolyse. Bei der hydrolytischen Spaltung entstehen von Diaminosäuren Arginin, ferner Tyrosin, und zwar kommen vom Gesamtstickstoff 67,7 pCt. auf Arginin und 2,2 pCt. auf Tyrosin (Kossel u. Kutscher[6]).

382. **Sturin** wurde aus Störsperma von Kossel dargestellt. Die Analysen der Salze verschiedener Präparate stimmen nicht ganz miteinander überein. Goto[7]) fand für das Platinsalz 24,32 pCt. C, 4,49 pCt. H, 14,20 pCt. N, 23,10 pCt. Pt und 25,42 pCt. Cl.

Eigenschaften. Das Sulfat ist löslicher als das Salminsulfat, so dass sich aus einer 10 proc. Lösung beim Erkalten noch kein Oel abscheidet. Ammoniak erzeugt in nicht zu verdünnter Lösung ölige Fällung und ebenso erfolgt auf Zusatz von Aether oder einigen Tropfen Alkohol oder Aceton sofort die Abscheidung einer öligen Masse. Auch durch Kochsalz werden seine Lösungen schwerer gefällt. Mit Benzoylchlorid gibt es ebenso wie Salmin eine unlösliche Verbindung. Für das Sulfat fand Goto[7]) in zwei Versuchen $[\alpha]_D = -60^0$ und $58{,}8^0$.

---

1) H.-S. **44**. 345. (1905.)
2) H.-S. **49**. 310. (1906.)
3) H.-S. **40**. 567. (1903/04.)
4) H.-S. **28**. 313. (1899.)
5) Kossel, Bl. s. ch. de Paris. 30. Mai 1903.
6) H.-S. **31**. 186. (1900/01.)
7) H.-S. **37**. 94. (1902/03).

Hydrolyse. Bei der hydrolytischen Spaltung entstehen von Diaminosäuren Arginin, Lysin und Histidin, ferner Alanin[1]) und eine Substanz von der Zusammensetzung des Leucins[1]) (während Serin, Aminovaleriansäure, Prolin, Tyrosin und Tryptophan nicht erhalten wurden), und zwar kommen vom Gesamtstickstoff 63,5 pCt. auf Arginin, 8,4 pCt. auf Lysin und 11,8 pCt. auf Histidin (Kossel u. Kutscher[2]). Siehe auch die Tabelle § 478.

Protone.

383. Protone[3]) (Clupeon, Sturon usw.) nennt Kossel die ersten Spaltungsproducte der Protamine, welche aus ihnen durch Kochen mit Säuren oder durch Fermente (Trypsin, Erepsin) entstehen, bevor es zu einer weiteren Zertrümmerung des Moleküls kommt.

Darstellung. Sie werden als Sulfate erhalten durch Kochen der Protamine mit 10 Vol. proc. Schwefelsäure, bis eine Probe der mit überschüssigem Ammoniak versetzten Flüssigkeit mit Eiweisslösungen keinen Niederschlag mehr gibt, Fällen der Flüssigkeit mit Alkohol und Reinigen des Niederschlags durch wiederholtes Lösen in Wasser und Fällen mit Alkohol.

Eigenschaften. Die Protone fällen kein Eiweiss, sie geben Niederschläge mit Natriumpikrat, Natriumwolframat, Ferrocyankalium, Jodjodkalium, Gold-, Platin- und Quecksilberchlorid. Auch Phosphorwolframsäure und Quecksilberjodidjodkalium rufen in salzsaurer Lösung Niederschläge hervor. Ebenso werden sie durch das Silberbarytverfahren gefällt. Gesättigte Kochsalzlösung fällt nicht. Protone lösen ebenso wie Protamine Kupferhydroxyd mit violetter Farbe (Goto). Biuretreaction positiv. Sie drehen links, die specifische Drehung ist geringer, wie die der Protamine. Es wurde gefunden für Clupeonsulfat $[\alpha]_D = -49{,}11^0$, für Scombronsulfat $[\alpha]_D = -41{,}25^0$, für Sturonsulfat $[\alpha]_D = -22{,}5^0$ (Goto), doch sind die untersuchten Protone wahrscheinlich Gemische.

Hydrolyse. Bei der Spaltung liefert das Clupeon ungefähr soviel Arginin, wie das Clupein.

Desaminoproton. Durch salpetrige Säure entsteht ein „Desaminoproton", welches bei der Hydrolyse durch Säuren (an Stelle von Arginin) Ornithin gibt (Kossel und Pringle).

Ein Clupeon (β-Clupeon), welches ebenfalls bei der Hydrolyse (neben Arginin, 69,7 pCt. des Gesamtstickstoffs) Ornithin lieferte, wurde erhalten

1) Kossel u. Dakin, H.-S. **44**. 343. (1905.)
2) H.-S. **31**. 184. 1900/01).
3) Kossel, H.-S. **25**. 174. (1878.)
Kossel u. Mathews, H.-S. **25**. 190. (1890.)
Cohnheim, H.-S. **35**. 140. (1902.)
Kossel u. Dakin, H.-S. **41**. 323. (1904.)
Goto, H.-S. **37**. 106. (1902/03.)
Kossel u. Pringle, H.-S. **49**. 301. (1906.)

bei der längeren Einwirkung von Darmextract auf Clupein. Es zeigte im Uebrigen im Wesentlichen die Eigenschaften der Protone (Kossel und Dakin[1]).

Albuminoide.

384. Die Albuminoide bilden eine Klasse von Stoffen, welche an der Bildung der Gewebe, der Formgebung und Festigkeit der Organe beteiligt sind und sich durch Reactionen, durch ihre Verdauungs- und Spaltungsproducte als nahe Verwandte der Eiweissstoffe erkennen lassen.

Von den Bestandteilen der Organe höherer Tiere gehören hierher die Gruppe der Keratine, die Substanzen der Eihäute, das Koilin, das Elastin, die Gruppe der Collagene, die Linsen-, Knorpel- und Knochen-Albumoide, die Membranine, von den Bestandteilen der Avertebraten die Seide (Fibroin und Sericin), die Spinnenseide, der Byssus, das Conchiolin, das Cornein, das Spongin.

385. **Keratine** bilden den Hauptbestandteil der Hornsubstanzen (Haare, Nägel, Epidermis, Horn, Schildpatt, Fischbein, Federn). Man erhält sie als unlösliche Rückstände, wenn man die fein zerkleinerten Substanzen mit Alkohol, Aether und Wasser auskocht und dann nach einander der peptischen und tryptischen Verdauung unterwirft. Vorkommen.

Ihre Zusammensetzung schwankt bedeutend: C 49,5—55,0; H 6,4—7,0; N 16,2—17,7; S 2,59—5,63 pCt., so dass man mehrere Keratine unterscheiden muss. Charakteristisch für die ganze Gruppe ist der hohe Schwefelgehalt. Ueber genaue Schwefelbestimmungen in verschiedenen Keratinen siehe bei Mohr[2]). K. A. H. Mörner[3]) fand in Menschenhaaren bei 5,63 pCt. Gesamtschwefel 4,07 pCt. bleischwärzenden, in Rinderhorn bei 3,39 pCt. Gesamtschwefel 2,48 pCt. bleischwärzenden. Zusammensetzung.

Die Keratine sind in Wasser, Alkohol, Aether unlöslich. In Wasser quellen sie wenig, sind aber trocken recht hygroskopisch. Beim Kochen mit Wasser ändern sie sich kaum. Mit Wasser auf 150° längere Zeit erhitzt, lösen sie sich auf, ebenso in kochenden Alkalien (langsam auch in der Kälte) und in conc. Schwefelsäure, aber in allen Fällen unter Zersetzung (siehe weiter unten). Der Magen- und Pankreasverdauung und ebenso der Fäulnis widerstehen sie hartnäckig. Die Farbenreactionen der Eiweissstoffe fallen positiv aus. Eigenschaften.

Beim 24stündigen Erhitzen mit Wasser auf 150° löst sich Keratin (Hornspäne) unter Entwicklung von Schwefelwasserstoff und einer lauchartig riechenden flüchtigen Substanz (wahrscheinlich Methylmercaptan) und Bildung von Stoffen, die als Atmidkeratin und Atmidkeratose bezeichnet werden und mit dem bei gleicher Behandlung aus Fibrin und anderen Eiweissstoffen entstehenden Atmidalbumin und Atmidalbumose (§ 324) die Hydrolyse. (Bildung von albumose- und peptonartigen Körpern.)

1) H.-S. **42**. 185. (1904.)
2) H.-S. **20**. 403. (1895.)
3) H.-S. **34**. 207. (1902.)

grösste Aehnlichkeit haben (Bauer[1]). Bei der Lösung in Alkalien entstehen neben Schwefelalkali, Albuminat und Albumosen.

Bei mehrstündigem schwachen Sieden (von Rinderhornkeratin) mit 1 bis 2 proc. Schwefelsäure entstehen neben unlöslichem Keratomelanin Albumosen und Peptone, von denen nach dem Verfahren von Pick (§ 320) Heterokeratinose, Protokeratinose und Deuterokeratinose A u. B isoliert wurden. Deuterokeratinose C wurde nicht gefunden. Sie enthalten alle denselben hohen Schwefelgehalt (3—3,5 pCt.) und geben alle starke Millon'sche Reaction, die Deuterokeratinose B im Gegensatz zu den anderen auch Molisch'sche Reaction (Strauss[2]).

Vollständige Hydrolyse.

Ueber die hydrolytischen Spaltungsproducte verschiedener Keratine siehe die Tabelle § 478. Aus den dort aufgeführten Werten ergibt sich ebenfalls, dass zu der Gruppe der Keratine Substanzen ganz verschiedener Zusammensetzung gerechnet werden. Starke Abweichungen zeigen sich auch im

Cystingehalt.

Cystingehalt. Buchtala[3]) fand in Uebereinstimmung mit Mörner den höchsten Cystingehalt 14—15 pCt. in Menschenhaaren, ferner in Rosshaaren 7,98 pCt. und in Rinderhaaren 7,27 pCt., in Schweineborsten 7,22 pCt., in Menschennägeln 5,15 pCt., in Pferdehufen 3,20 pCt., in Rinderklauen 5,37 pCt., in Schweineklauen 2,17 pCt.

Bei der hydrolytischen Spaltung (Rinderhorn, Menschenhaare) entsteht auch Brenztraubensäure aus unbekannter Muttersubstanz (Mörner[4]). Die von Friedmann[5]) aufgefundene α-Thiomilchsäure entsteht nach Mörner[6]) erst secundär entweder durch Einwirkung von Schwefelwasserstoff auf Brenztraubensäure oder durch Spaltung des Cystins.

Stickstoffverteilung.

Stickstoffverteilung (in Drehspänen): 1,17 pCt. Amid-, 11,81 pCt. Monaminosäuren-, 2,95 pCt. Diaminosäuren- und 0,42 pCt. Melaninstickstoff (Gümbel[7]).

Oxydation.

Unter den bei der Einwirkung von Wasserstoffsuperoxyd auf Menschenhaare entstehenden Producten liessen sich nachweisen Schwefel, Schwefelsäure, Kohlensäure, Essigsäure, Acetaldehyd, Oxalsäure, Bernsteinsäure, Salpetersäure, Ammoniak, Aminosäuren (Breinl und Baudisch[8]).

Neurokeratin.

386. Neurokeratin, Bestandteil der markhaltigen Nerven, wurde zuerst von Kühne und Chittenden[9]) dargestellt und untersucht. Zu seiner Gewinnung wird das durch Aceton von Wasser und der Hauptmenge des Cholesterin befreite und fein zerkleinerte Gehirn nacheinander mit Aether, 75proc. Alkohol bei 40° und kochender Mischung von gleichen Teilen Benzol und Alkohol erschöpft, darauf abwechselnd der Trypsinverdauung und der Behandlung mit heissem Benzol-Alkohol unterworfen. Es

1) H.-S. **35**. 343. (1902.)
2) Studien über die Albuminoide. Heidelberg 1904.
3) H.-S. **52**. 474. (1907.)
4) H.-S. **42**. 121. (1904.)
5) B. Ph. P. **3**. 184. (1903.)
6) H.-S. **42**. 365. (1904.)
7) B. Ph. P. **5**. 310. (1904.)
8) H.-S. **52**. 159. (1907.)
9) Z. f. B. **26**. 291. (1889.)

hinterbleibt schliesslich als Rückstand. Das Nähere siehe bei Argiris[1]). Die Zusammensetzung wurde gefunden auf aschefreie Substanz berechnet im Mittel C 56,20; H 7,30; N 14,18; S 1,75 pCt. (Kühne und Chittenden); C 56,61; H 7,45; N 14,16; S 2,27 (Argiris). Es löst sich schwer in heisser starker Kalilauge und gibt beim Neutralisieren mehr Niederschlag als Keratin bei gleicher Behandlung. Auch in ziemlich concentrierter Schwefelsäure ist das Neurokeratin nur langsam löslich. Ueber die hydrolytischen Spaltungsproducte siehe die Tabelle § 478.

387. **Substanz der Eihäute von Hühnereiern** (Lindwall[2]). Die Reinigung geschieht durch mehrtägiges Digerieren mit 0,1proc. Natronlauge und mit verdünnter Essigsäure, Extraction mit verdünnter Salzsäure, Waschen mit kaltem und kochendem Wasser, Behandeln mit Alkohol und Aether.

Aschefrei. C 49,78; H 6,64; N 16,43; S 4,25 pCt. In Wasser unlöslich, verhält sich gegen Alkalien und Säuren wie Keratin. Mit Millon's Reagens gibt es keine typische Reaction (Mörner[3]). Beim Sieden mit 0,5 proc. Schwefelsäure entstehen Albumosen und Peptone, aber kein Melanin. Isoliert wurden nach dem Verfahren von Pick (§ 320) Hetero-, Prot- und Deuteroalbumose A und B. Deuteroalbumose C tritt nicht auf. Die Deuteroalbumose B gibt im Gegensatz zu den andern starke Molisch'sche Reaction (Strauss[4]).

Ueber die hydrolytischen Spaltungsproducte siehe die Tabelle § 478. Stickstoffverteilung in einem lufttrockenen 13,6 pCt. N enthaltenden Präparat: 0,89 pCt. Amid-, 9,81 pCt. Monamino-, 2,77 pCt. Diamino- und 0,028 pCt. Melaninstickstoff (Hofmann und Pregl[5]).

Substanz der Eihäute **von Scyllium stellare** (Pregl[6]). Die Reinigung geschieht durch mehrtägiges Quellen in 1proc. Salzsäure und mechanische Entfernung der gallertigen Massen, Behandeln mit Alkohol-Aether.

C 53,92; H 7,33; N 15,08; S 1,44 pCt. In Wasser unlöslich, in 5proc. Natronlauge im Wasserbad allmählich löslich, ebenso beim Erwärmen in conc. Mineralsäure. Biuret-, Millon's, Xanthoprotein-, Ehrlich'sche Probe positiv, Molisch'sche negativ. Gegen Verdauungsfermente sehr widerstandsfähig.

Ueber die hydrolytischen Spaltungsproducte siehe die Tabelle § 478. Cystin liess sich nicht isolieren (Buchtala[7]). Stickstoffverteilung: 0,7 pCt. Amid-, 10,96 pCt. Monamin-, 2,17 pCt. Diamino-, 0,08 pCt. Melaninstickstoff (Buchtala).

Ueber Zusammensetzung der Eihäute einiger anderer Selachier und die Stickstoffverteilung in ihnen siehe Buchtala.

Substanz der Eihäute **von Testudo graeca** (Abderhalden und Strauss[8]). Die Reinigung geschieht durch Entfernung der harten Schalen auf mechanischem Wege und mit Hülfe von verdünnter Salzsäure, Aufkochen mit verdünnter Essigsäure, Auskochen mit Alkohol und Aether. Schwefelbleiprobe sehr stark, Millon'sche Probe negativ.

Ueber die hydrolytischen Spaltungsproducte siehe die Tabelle § 478.

388. **Koilin.** So bezeichnen Hofmann und Pregl[9]) die zuerst von Hedenius[10]) untersuchte und keratinoide Substanz benannte hornige Auskleidung des Vogelmagens. Durch sehr verdünntes Ammoniak, essigsäurehaltiges Wasser, Wasser, Alkohol und

---

1) H.-S. **54**. 86. (1907/08.)
2) Maly's Jbr. 1881. 38.
3) H.-S. **34**. 231. (1901/02.)
4) Studien über Albuminoide. Heidelberg. 1904.
5) H.-S. **52**. 468. (1907.)
6) H.-S. **56**. 1. (1908.)
7) H.-S. **56**. 10. (1908.)
8) H.-S. **48**. 535. (1906-)
9) H.-S. **52**. 448. (1907.)
10) Skand. A. Ph. **3**. 244. (1892.)

Aether gereinigt, hat es die Zusammensetzung C 53,21; H 7,17; N 15,78; S 1,13; Asche 0,47 pCt. (Hedenius). Hofmann und Pregl fanden ungefähr dieselben Werte. Ueber die Zusammensetzung des Koilin aus anderen Vögeln siehe bei Hofmann und Pregl.

Getrocknet zeigt es spröde Beschaffenheit, in Wasser ganz unlöslich, in 5—10proc. Kalilauge bei Zimmertemperatur löslich, ebenso in conc. Salzsäure. Die Farbenreactionen positiv, nur die Molisch'sche negativ. Gegen Verdauungsfermente sehr widerstandsfähig. Ueber die Producte, welche durch Einwirkung von Alkalien bei Zimmertemperatur und beim Erhitzen mit Wasser auf 130° entstehen, siehe bei Hofmann und Pregl.

Ueber die hydrolytischen Spaltungsproducte siehe die Tabelle § 478. Die Isolierung von Cystin ist nicht gelungen. Stickstoffverteilung: 1,26 pCt. Amid-, 9,39 pCt. Monamino-, 3,36 pCt. Diamino- und 0,186 pCt. Melaninstickstoff.

Vorkommen. 389. **Elastin** bildet die Substanz des elastischen Gewebes. Am reichlichsten findet es sich im Lig. nuchae. Nach Engel[1]) und Neumeister[2]) besteht die organische Grundsubstanz der Schalen mancher Reptilien- und Fischeier aus Elastin.

Darstellung. Zu seiner Darstellung wäscht man das fein zerkleinerte Nackenband des Rindes gründlich mit Wasser, extrahiert zur Entfernung von Eiweissstoffen und Proteiden einige Tage mit mehrfach gewechseltem, halbgesättigtem Kalkwasser, kocht nach Auswaschen des Kalkes mit Wasser völlig aus, behandelt einige Stunden mit 10 proc. kochender Essigsäure, darauf etwa ebenso lange mit kalter 5proc. Salzsäure, wiederholt die Behandlung mit Essig- und Salzsäure, wäscht mit Wasser säurefrei und kocht mit Alkohol und Aether aus.

Zusammensetzung. Das so gewonnene Elastin hatte die Zusammensetzung C 54,14; H 7,33; N 16,87; S 0,14; O 21,52 pCt. (Richards und Gies[3]), es muss seiner Darstellung nach reiner sein als die ohne Kalkwasser (Chittenden und Hart[4]) oder die mit heisser 1proc. Kalilauge anstatt des Kalkwassers gewonnenen Präparate. Die letzteren waren schwefelfrei (Horbaczewski[5]). Chittenden und Hart fanden: C 54,08; H 7,20; N 16,85; S 0,30; O 21,57 pCt. Ein aus dem elastischen Gewebe der Gefässe (ohne Anwendung von Kalkwasser oder Alkali) dargestelltes Elastin enthielt C 53,95; H 7,03: N 16,67; S 0,38 pCt. (Schwarz[6]). Die Analysen des Elastins aus der Aorta von Bergh[7]) weichen etwas ab. Die Substanz der Lig. flava und das Elastin der Ohrknorpel bedürfen noch weiterer Untersuchung.

Eigenschaften. Das wie oben angegeben gewonnene Elastin besitzt eine gelbliche Farbe und lässt sich leicht zu feinem Pulver zerreiben. Beim Kochen mit Wasser wird es nicht angegriffen; fein gepulvert löst es sich bei langem Stehen etwas in 0,2 proc. kalter Salzsäure, völlig in 1 proc. Kalilauge beim Erwärmen, ebenso in kalter conc. Kalilauge. Beim längeren Kochen mit

---

1) Z. f. B. **27**. 374. (1890.)
2) Z. f. B. **31**. 413. (1894.)
3) A. J. of Ph. **7**. 93. (1902.)
4) Z. f. B. **25**. 368. (1889.)
5) H.-S. **6**. 330. (1882.)
6) H.-S. **18**. 487. (1894.)
7) H.-S. **25**. 337. (1898.)

1proc. Kalilauge wird der Schwefel abgespalten. Millon's und Xanthoproteinreaction sind positiv, die Schwefelbleiprobe gab das Elastin von Richards und Gies nicht.

Bei der peptischen und tryptischen Verdauung geht Elastin in Lösung, wenn auch langsamer als Eiweissstoffe. Die hierbei sowie beim Kochen mit Wasser auf 130—140° entstehenden Stoffe gehören in die Gruppe der Prot- und Deuteroalbumosen und sind als Protelastose (Hemielastin) und als Deuteroelastose (Elastinpepton) bezeichnet worden. Näheres über diese Körper siehe in den Arbeiten von Horbaczewski und Chittenden und Hart. Bei sehr lange fortgesetzter peptischer Verdauung entsteht auch Pepton (Richards und Gies). Verdauung.

Ueber die hydrolytischen Zersetzungsproducte siehe die Tabelle § 478, über aus Elastin gewonnene Polypeptide siehe §336 u. §343 ff. Beim Schmelzen mit Kali auf 200° entstehen Indol, Skatol, Benzol, Phenol (Schwarz), bei der Zersetzung durch Mikroorganismen: Mercaptan, Ammoniak, Buttersäure, Valeriansäure, Glykocoll, Leucin, kein Phenol, kein Indol und Skatol (Wälchli[1]), Zoja[2]). Vollständige Hydrolyse.

Ichthylepidin bildet zusammen mit Collagen die organische Grundsubstanz der Schuppen vieler Fische (C. Th. Mörner[3]) und bleibt als unlösliche Masse von der ursprünglichen Gestalt und Structur der Schuppen zurück, wenn man diese zunächst nach einander in der Kälte tagelang mit 0,5 proc. Salzsäure, 0,05 proc. Kalilauge, 0,01 proc. Essigsäure und destilliertem Wasser zur Entfernung der Eiweissspuren, des Guanins und der Mineralbestandteile, darauf mehrere Tage mit mehrmals gewechselter 0,1 proc. Salzsäure bei 40° zur Entfernung des Collagens und schliesslich mit Wasser behandelt. Ichthylepidin.

Mörner fand im Mittel 15,98 pCt. N und 1,09 pCt. S, wenig Asche. Abderhalden und Voitinovici[4]) fanden 50,87 pCt. C, 6,56 pCt. H, 15,69 pCt. N, 1,02 pCt. S, 0,06 pCt. Asche. Weder in kaltem noch in kochendem Wasser löslich, in verdünnten Säuren und Alkalien erst bei Siedehitze löslich, durch Pepsin- und Trypsinverdauung in Lösung gehend. Millon'sche, Xanthoprotein-, Biuret- und Schwefelbleireaction positiv, Adamkiewicz'sche Reaction negativ. Ueber hydrolytische Spaltungsproducte siehe § 478.

390. **Collagen** und **Glutin (Leim)**. Das Collagen stellt die Hauptmenge der die Bindegewebszellen umgebenden Grundsubstanz im lockeren Bindegewebe, in Sehnen, Bändern, Fascien dar, ebenso im Knochen die Hauptmenge der organischen Grundsubstanz, welche die Knochenkörperchen umgibt; es beteiligt sich an dem Aufbau der organischen Grundsubstanz des Knorpels[5]), der Cornea[6]), der Fischschuppen[7]). Collagen. Vorkommen.

---

1) J. f. pr. Ch. N. F. **17**. 71. (1878.) 2) H.-S. **23**. 236. (1897.)
3) H.-S. **24**. 125. (1898.) **37**. 88. (1902/03.)
Green u. Tower, H.-S. **35**. 196. (1902.)
4) H.-S. **52**, 368. (1907.)
5) Morochowetz, Verh. d. naturh. medic. Vereins zu Heidelberg. **I**. 480. (1877.)
C. Th. Mörner, Skand. A. Ph. **I**. 210. (1889.)
6) Morochowetz, a. a. O. C. Th. Mörner, H.-S. **18**. 213. (1894.)
7) Weiske, H.-S. **7**. 466. (1883.) C. Th. Mörner, H.-S. **24**. 125. (1898.)

Darstellung. Zur Darstellung des Collagens befreit man Knochen durch Extraction mit Salzsäure von anorganischen Stoffen und durch Behandlung mit verdünnten Alkalien von organischen Beimengungen, oder fein zerkleinerte Sehnen am besten durch tagelang fortgesetzte Trypsinverdauung von Mucin, Elastin und anderen Proteinen und wäscht das zurückbleibende Gewebe gründlich mit Wasser aus.

Eigenschaften. Collagen ist farblos, quillt in kaltem Wasser, noch mehr in verdünnten Säuren oder sehr schwachen Alkalilaugen, ist unlöslich in Alkohol, Aether, Chloroform, quillt auch in starken Alkalien und löst sich in ihnen beim Erhitzen, nicht in Sodalösung. Durch Magensaft wird Collagen gelöst, durch Pankreasverdauung nur dann, wenn es vorher mit Wasser über 70° erhitzt oder durch verdünnte Säure gequollen war. Durch Gerbsäure wird es zum Schrumpfen gebracht und in Leder verwandelt (Lohgerberei). In siedendem Wasser löst sich Collagen nach zuerst eingetretener Quellung und Abnahme seiner Cohärenz und der Schärfe der Contouren der Fasern, indem es unter Ammoniakentwickelung (Emmett und Gies[1]) in

Glutin. Glutin übergeht. Die Leichtigkeit, mit welcher diese Umwandlung des Collagens zu Glutin (Leim) geschieht, ist am grössten bei Fischen*)

Bildung aus Collagen. und nackten Amphibien, schwieriger und langwieriger geschieht die Lösung bei Säugern und Vögeln, besonders langsam bei alten Tieren. Auch das Collagen verschiedener Gewebe desselben Tieres verhält sich verschieden. Durch die Anwesenheit schon ganz geringer Säuremengen wird die Umwandlung in Glutin ausserordentlich beschleunigt. Bei wochenlangem Stehen unter Alkohol oder Aether verliert Collagen allmählich seine Fähigkeit, in Glutin umgewandelt zu werden (Tebb[2]).

Gelatinierung. Die Leimlösung erstarrt bei nicht zu grosser Verdünnung (schon bei einem Gehalt von 0,5—1 pCt.) beim Erkalten bald zu einer Gallerte und wird beim Erwärmen wieder flüssig. Die Gelatinierung erleidet durch die Anwesenheit von Chloriden und besonders von Kaliumjodid eine Verzögerung (C. Th. Mörner[3]). Sulfate, Citrate, Tartrate, Acetate, Glycerin, Traubenzucker erhöhen, Chloride, Chlorate, Nitrate, Bromide, Jodide, Alkohol, Harnstoff erniedrigen den Erstarrungspunkt (Pauli und Rona[4]).

Reinigung von käuflichem Leim. Um käuflichen Leim (Gelatine) zu reinigen, wäscht man ihn tage lang mit ätherhaltigem Wasser, behandelt ihn einige Wochen mit häufig

---

*) Das Collagen der Hausenblase geht schon bei Zimmertemperatur in gelatinierenden Leim über und unterscheidet sich auch sonst von dem Collagen der höheren Wirbeltiere. Hofmeister, H.-S. **2**. 299. (1878/79). Auch das Collagen der Cephalopoden weicht nach Krukenberg in seinem Verhalten von letzterem ab (vergl. physiol. Studien. Heidelberg. 1881. 5. Abt. S. 24).

1) Proc. of the Amer. Soc. of Biol. Chem. **1**. 42. (1907.)

2) J. of Ph. **27**. 463. (1902).

3) H.-S. **28**. 471. (1899.)

4) B. Ph. P. **2**. 1. (1902.)

gewechselter schwacher (bis 1 proc.) Kalilauge, dann mit Wasser, sehr verdünnter Essigsäure und wieder mit Wasser. Schliesslich wird er durch Alkohol gehärtet, in heissem Wasser gelöst und mit Alkohol ausgefällt (Mörner).

Ein anderes Verfahren der Reinigung käuflichen Leims, sowie auch ein Verfahren zur Darstellung von Leim aus leimgebendem Gewebe, z. B. Knochen, ist von Sadikoff[1]) angegeben worden.

Zusammensetzung.

Zusammensetzung:	C	H	N	S	Asche	
Glutin aus Sehnen a. aschefr. S. berech.	50,06	6,56	17,86	0,277	0,346 pCt.	(van Name[2])
„ „ „ „ „ „ „	50,87	6,85	18,25	0,480	0,21 „	(Sadikoff[3])
Gerein. käufl. Gelatine	49,09	6,76	17,68	0,48	0,42 „	(Faust[4])
„ „ „	50,09	6,68	18,12	0,57	0,07 „	(Paal[5])
„ „ „ a. aschefr. S. ber.	—	—	—	0,2	— „	(Mörner[6])
„ „ „ „ „ „ „	51,45	7,88	18,18	0,435	1,54 „	(Sadikoff[3])
Glutin a. Nasenknorpel „ „ „ „	50,33	6,98	17,76	0,59	1,3 „	(Sadikoff[7])
„ „ Cornea	—	—	17,02	0,31	0,62 „	(Mörner[8])
„ „ Fischschuppen	—	—	17,51	0,52	0,1—0,2 pCt.	(Mörner[9])

Die verschiedene Zusammensetzung und andere Momente sprechen dafür, dass es verschiedene Glutine und Collagene gibt. Vielleicht handelt es sich auch um Gemenge. Glutin ist in kaltem Wasser nur quellbar, geht aber unter Umständen leicht, z. B. schon durch längere Einwirkung von Wasser, in eine in Wasser lösliche Modification über (Sadikoff). Es löst sich in Alkalien, aber in ganz schwachen Alkalilaugen (bis 0,5 pCt.) so wenig, dass sie zur Reinigung des Glutins benutzt werden können (Mörner[10]). Ueber die Löslichkeit des Glutins in Salzlösungen vergl. auch Sadikoff[11]). Durch Sättigung seiner Lösungen mit Ammonsulfat, ebenso durch Zusatz von Essigsäure nach Sättigung mit Kochsalz wird es abgeschieden. In Alkohol ist es unlöslich, beim Eingiessen einer conc. heissen wässerigen Lösung in Alkohol scheidet es sich ab. Bei Gegenwart von Säure löst es sich in 70 proc. Alkohol und fällt bei der Neutralisation wieder aus (Sadikoff). Seine Lösungen werden durch Säuren und im Allgemeinen auch durch Metallsalze nicht gefällt. Ferrocyankalium + Essigsäure ruft Niederschlag hervor, doch nur dann, wenn die Leimlösung nicht zu concentriert, nicht warm, nicht salzreich, die Essigsäuremenge nicht zu gering und die Ferrocyankaliummenge nicht zu gross ist (Mörner). Niederschläge entstehen ferner durch Pikrinsäure, Gerbsäure bei Gegenwart von Salz, Phosphorwolfram- oder Phosphormolybdänsäure + Salzsäure, Kaliumquecksilberjodid, durch Quecksilberchlorid bei Gegenwart von Kochsalz und Salzsäure. Eigenschaften.

1) H.-S. **48**. 130. (1906.)
2) J. exp. Med. **2**. 117. (1897.)
3) H.-S. **39**. 396. (1903.)
4) A. exp. P. Ph. **41**. 309. (1898.)
5) B. **25**. 1202. (1892.)
6) H.-S. **28**. 471. (1899.)
7) H.-S. **39**. 411. (1903.)
8) H.-S. **18**. 225. (1894.)
9) H.-S. **24**. 135. (1898.)
10) H.-S. **28**. 471. (1899.)
11) H.-S. **41**. 15. (1904.), **46**. 387. (1905.)

Biuretreaction und Probe von Molisch positiv, Millon'sche (man verwende nur einige Tropfen Reagens) und Xanthoproteinreaction positiv aber schwach, Schwefelbleiprobe und die Proben von Adamkiewicz, Reichl und Ehrlich-Neubauer negativ.

Glutinlösungen zeigen starke linksseitige Polarisation[1]). Die Aenderungen der Drehung mit Concentration, Temperatur u. s. w. bedürfen noch eingehender Untersuchung. Bei der Umwandlung in Glutose u. s. w. (siehe nächsten Absatz) nimmt die Drehung ab.

Gluteine. Die Glutine aus Knorpel zeigen im Gegensatz zu den übrigen nach dem Kochen mit Mineralsäuren ein ganz schwaches Reductionsvermögen, geben eine Farbenreaction mit Phloroglucinsalzsäure und werden deshalb als Gluteine bezeichnet (Sadikoff).

Angebliche Rückverwandlung in Collagen. Wird Leim bei 130° längere Zeit getrocknet, so geht er nach Hofmeister[2]) in einen dem Collagen ähnlichen Körper über, der durch Erhitzen mit Wasser wieder in gelatinierenden Leim übergeführt werden kann. Das Collagen wurde hiernach als Anhydrid des Glutins aufgefasst, wie es auch den Gewichtsverhältnissen entspricht. Nach Emmett und Gies entsteht indessen beim Erhitzen von Leim auf 130° kein Collagen, denn die Substanz wird in neutraler Trypsinlösung bei 40° schnell verdaut. Die Umwandlung des Collagens in Glutin, welche mit einer Ammoniakentwicklung einhergeht, ist nach ihnen nicht als einfache Hydratbildung anzusehen.

Hydrolyse. (Bildung von albumose- und peptonartigen Körpern.) Durch anhaltendes Kochen mit viel Wasser wird der Leim nach Hofmeister unter geringer Wasseraufnahme gespalten in die beiden Körper Semiglutin und Hemicollin, ersteres fällbar durch Alkohol, bei gewöhnlicher Temperatur fällbar durch Platinchlorid, dieser Niederschlag löst sich, wenn frisch gefällt, beim Erhitzen und fällt beim Erkalten wieder aus. Das Hemicollin wird weder durch Alkohol noch durch Platinchlorid gefällt.

Verdauung. Ueber Protokyrine aus Leim siehe § 329. Bei der Pepsin- und Trypsinverdauung auftretende Körper sind von Klug[3]) sowie von Chittenden und Mitarbeitern[4]) als Glutose (Gelatose) und Glutin- (Gelatin-) pepton beschrieben worden. Ueber salzsaure Peptonsalze und Peptone, erhalten aus Glutin durch Einwirkung von verdünnter Salzsäure in der Wärme oder durch Pepsinsalzsäure, siehe Paal. Ueber Pepsin- und Trypsinglutinpepton siehe S. 420 u. 421. Ueber ein Dipeptid aus Leim siehe § 347. Krystallinische Spaltungsproducte treten auch bei langandauernder Trypsinverdauung nur in geringer Menge auf, reichlicher nur Glykokoll und Ammoniak (Reich[5]), Levene[6]).

---

1) de Bary, Med. chem. Unters. v. Hoppe-Seyler, Heft 1. S. 73. (1866.) Framm, Pfl. A. **68**. 144. (1897.)
2) H.-S. **2**. 299. (1879.)
3) Pfl. A. **48**. 100. (1891.)
4) J. of Ph. **12**. 23. (1891.), A. J. of Ph. **2**. 176. (1899.)
5) H.-S. **34**. 119. (1902.) 6) H.-S. **41**. 8 u. 99. (1904.)

Ueber die hydrolytischen Zersetzungsproducte siehe die Tabelle § 478. Von den in dieser Tabelle aufgeführten abweichende Werte wurden von Levene und Beatty[1]) erhalten. Die von Skraup[2]) bei der Hydrolyse aufgefundene Leimsäure bedarf weiterer Untersuchung. Weder beim Kochen mit Säuren oder Alkalien, noch durch die Fäulnis entstehen Phenol, Indol oder Skatol, dagegen bildet sich bei der Fäulnis neben andern Körpern Phenyläthylamin (S. 282). Selitrenny[3]) erhielt bei der Zersetzung des Leims durch Bac. liquef. magnus Methylmercaptan, flüchtige Fettsäuren, Glykokoll, Leucin, Phenylpropionsäure, durch die Bacillen des Rauschbrandes Methylmercaptan, flüchtige Fettsäuren, Phenylpropionsäure und Phenylessigsäure. Vollständige Hydrolyse. Bacterielle Zersetzung.

Bei der Oxydation mit Permanganat wird zunächst ebenso wie aus den Eiweissstoffen eine der Oxyprotsulfonsäure (§ 351) entsprechende Substanz gebildet, die mit Aetzbaryt bis 190° längere Zeit erhitzt, Ammoniak, Pyrrol, fette Säuren, Leucin, Glutaminsäure neben Benzoesäure liefert (Maly[4]). Bei weiterer Oxydation mit Permanganat in der Wärme entstehen Guanidin (aus Arginin) (Kutscher u. Zickgraf[5]), flüchtige Fettsäuren, Benzoesäure, Benzaldehyd, Oxalsäure, Bernsteinsäure, Oxaluramid (Seemann[6]), Oxaminsäure (aus Glykokoll), Oxamid (Kutscher u. Schenk[7]). Bei der Oxydation mit säurehaltigem Wasserstoffhyperoxyd und Eisensalz wurden erhalten Aceton und Isovaleraldehyd (Neuberg u. Blumenthal[8]). Ueber die Einwirkung der salpetrigen Säure siehe Skraup[9]) u. Seemann[10]). Oxydation.

Reticulin nennt Siegfried[11]) eine von ihm isolierte Substanz, welche zusammen mit Collagen die Grundsubstanz des reticulären (adenoiden) Bindegewebes in Lymphdrüsen, Darmmucosa und andern Organen (Leber, Niere, Milz) ausmacht. Zu seiner Darstellung wird Darmschleimhaut mit Wasser, verdünnten Säuren und Natronlauge behandelt, mit Trypsin verdaut, ausgewaschen, mit Alkohol und mehrere Tage mit Aether extrahiert. Nach Wiederholung der Behandlung mit Trypsin, Alkohol und Aether bleibt das Gewebe in Form von quellbaren, hellgrauen Strähnen zurück. Kocht man jetzt mit Wasser $^1/_2$ Stunde, so geht ein Teil der Substanz als Leim in Lösung, während der als unlösliches Pulver zurückbleibende Rest Reticulin darstellt. C 52,88; H 6,97; N 15,63; S 1,88; P 0,34; Asche 2,27 pCt. Es ist unlöslich in verdünnten Mineralsäuren; in verdünnter Natronlauge löst es sich langsam, widersteht der Magen- und Pancreasverdauung und gibt die Xanthoprotein-, Biuret- und Adamkiewicz'sche Probe, nicht die Millon'sche. Bei andauerndem Kochen mit viel Wasser löst es sich ein wenig, rascher beim Kochen mit 10 proc. Natronlauge. Bei der hydrolytischen Spaltung Reticulin.

1) H.-S. **49**. 252. (1906.)
2) M. **26**. 243. (1905.)
3) M. **10**. 908. (1889.)
4) M. **10**. 26. (1889.)
5) Sitzungsbr. d. pr. Acad. d. W. **28**. 624. (1903), Zickgraf, H.-S. **41**. 259. (1904.)
6) H.-S. **44**. 229. (1905.)
7) B. **37**. 2928. (1904.) u. **38**. 455. (1905.)
8) B. Ph. P. **2**. 238. (1902.)
9) M. **27**. 653. (1906.), **28**. 447. (1907.)
10) Z. f. B. **49**. 494. (1907.)
11) Habilitationsschrift. Leipzig 1892.

entstehen Ammoniak, Schwefelwasserstoff, Aminovaleriansäure, Lysin, kein Tyrosin. Die Einwände von Tebb[1]), welche das Reticulin im Wesentlichen für Collagen, welches durch die Behandlung, besonders durch Alkohol und Aether eine Umwandlung erlitten hat, und sich infolgedessen schwerer in Glutin überführen lässt, hält, hält Siegfried[2]) nicht für begründet.

Chondrin. 391. Chondrin. Die beim Erkalten gelatinierende Substanz der beim Kochen des Knorpels mit Wasser entstehenden Knorpelleimlösung ist kein einheitlicher Körper, sondern ein Gemenge von Glutin und Verbindungen der Chondroitinschwefelsäure mit Eiweiss und Leim. Die Reactionen, welche eine Chondrinlösung von einer Glutinlösung unterscheiden (Fällbarkeit der ersteren durch Säuren und Metallsalze, Reduction nach Kochen mit Säuren) sind bedingt durch die Anwesenheit der Chondroitinschwefelsäure (§ 257). Ein durch Behandeln mit Alkalien von der Chondroitinschwefelsäure befreiter Knorpel gibt, wie zuerst Morochowetz[3]) fand, beim Kochen eine typische Glutinlösung.

392. **Albumoid der Linse** nennt C. Th. Mörner[4]) die organische Grundsubstanz der Linsenfasern, die nach völliger Entfernung der Eiweissstoffe durch verdünnte Kochsalzlösung in der unveränderten Form der Fasern zurückbleibt. In Wasser und Salzlösungen ganz unlöslich, in verdünntem Ammoniak und Essigsäure sehr schwer löslich, sehr leicht löslich in verdünnten Mineralsäuren und verdünnten Laugen und aus diesen Lösungen durch Neutralisation wieder vollkommen fällbar. Durch die Behandlung mit verdünntem Alkali geht es in einen albuminatähnlichen Körper über, der nun zwar in Wasser und Salzlösung unlöslich, aber in verdünnter Essigsäure und Ammoniak sehr leicht löslich ist. Er hat die Zusammensetzung C 53,12; H 6,80; N 16,62; 0,79 pCt. Dieselbe Zusammensetzung zeigt das Albumoid. Millon's-, Adamkiewicz's-, Xanthoprotein- und Schwefelbleiprobe positiv.

393. **Albumoid des Knorpels** nennt C. Th. Mörner[5]) einen im Balkennetz der Grundsubstanz abgelagerten Körper, der bei wiederholtem Auskochen des Knorpels mit Wasser bei 110—120° zusammen mit den Knorpelzellen als schwammige Masse zurückbleibt. Hawk u. Gies[6]) fanden für Präparate, bei deren Darstellung der Knorpel vor dem Auskochen mit Wasser noch mit verdünnter Salzsäure und verdünntem Alkali behandelt worden war, die Zusammensetzung C 50,46; H 7,05; N 14,95; S 1,86 pCt. Es löst sich in Säuren und Alkalien bei Zimmertemperatur nur wenig, leicht beim Kochen, dabei in Acid- bezw. Alkalialbuminat übergehend. Magensaft löst langsam. Millon's-, Adamkiewicz's-, Xanthoprotein- und Schwefelbleiprobe positiv.

394. **Albumoid des Knochens** (Osseoalbumoid) bleibt als Rückstand, wenn fein zerkleinerten Knochen die anorganischen Salze durch verdünnte Salzsäure, Mukoid und Nucleoproteid durch verdünnte Alkalien, und das Collagen durch Auskochen mit Wasser entzogen werden. C 50,16; H 7,03; N 16,17, S 1,18 pCt. Dem vorigen sehr ähnlich (Hawk u. Gies[5]).

395. **Tierische Membranine**[7]) bilden die Grundlage der Linsenkapselmembran und der Descemet'schen Haut und werden bei der Behandlung dieser Gebilde mit verdünntem Alkali und Wasser als Rückstand erhalten. Das Membranin der Linsenkapselmembran enthält N 14,10; S 0,83 pCt., das Membranin der Descemet'schen Haut N 14,77; S 0,90 pCt. Sie sind bei gewöhnlicher Temperatur in Wasser, Salzlösungen, verdünnten Säuren und Alkalien unlöslich, bei höheren Temperaturen (100—130°) lösen

1) J. of Ph. **27**. 463. (1902.) 2) J. of Ph. **28**. 319. (1902.)
3) Verh. d. naturh. med. Ver. zu Heidelberg 1. 480. (1877.)
4) H.-S. **18**. 61. (1894.)
5) Skand. A. Ph. **1**. 234. (1889.) 6) A. J. of Ph. **7**. 340. (1902.)
7) C. Th. Mörner, H.-S. **18**. 233. (1894.)

sie sich zu nicht gelatinierender Flüssigkeit. Concentrierte Säuren und Alkalien lösen schon bei Zimmertemperatur. Es bilden sich dabei keine Albuminate. Durch Trypsin- und Pepsinverdauung werden sie gelöst. Biuret-, Xanthoprotein- und Millon's Reaction positiv. Nach dem Kochen mit Säuren reduciert die Flüssigkeit. Gegen alle Lösungsmittel ist das Membranin der Descemet'schen Haut sehr viel widerstandsfähiger als das andere.

396. **Fibroin,** einer der beiden Hauptbestandteile der Seide, wird nach Cramer[1]) erhalten durch zwei- bis dreimal wiederholtes, je 3stündiges Kochen von Seide mit der 25fachen Menge Wasser bei 117—120° in einem Porzellangefäss. Dabei geht das Sericin (§ 399) in Lösung, während das Fibroin als eine Substanz von der Festigkeit, aber nicht mehr von dem Glanze und der Weichheit der Seide zurückbleibt. Nach Engel[2]) besteht die organische Grundsubstanz der Brutzellendeckel der Wespen aus Fibroin. Vorkommen und Darstellung.

C 48,22; H 6,26; N 18,30 pCt. (Cramer). C 48,30; H 6,50; N 19,20 pCt. (Vignon[3]). Es löst sich in conc. Säuren und Alkalien und fällt beim Neutralisieren, allerdings verändert, wieder aus. Biuret-, Millon's, und Adamkiewicz's Reactionen sind positiv, letztere schwach. Beim Eingiessen der Lösung von Fibroin in conc. Salzsäure in Alkohol fällt ein amorphes, in Wasser fast unlösliches Product aus, welches etwas weniger Stickstoff enthält als Fibroin und Sericoin genannt worden ist (Weyl[4]). Eigenschaften.

Ueber die bei der Hydrolyse entstehenden Polypeptide siehe § 339 bis § 342. Ueber die hydrolytischen Zersetzungsproducte siehe die Tabelle § 478. Hydrolyse

397. **Spinnenseide** (von Nephila madagascariensis) unterscheidet sich von der gewöhnlichen Seide durch das Fehlen von wasserlöslicher Substanz (Seidenleim) und zeigt grosse Aehnlichkeit mit dem Fibroin (E. Fischer[5]). Beim gelinden Erwärmen mit Normalalkali geht die natürliche gelbe bis orange Farbe der Seide in ein leuchtendes Gelbrot über und beim Kochen erfolgt Lösung unter Entwicklung von Ammoniak und Abnahme der Farbe. In starker Salzsäure löst es sich unter Entfärbung und gibt beim Fällen mit Alkohol ein Product von ähnlichen Eigenschaften wie das Sericoin (§ 396). Auch in Bezug auf die hydrolytischen Spaltungsproducte kommt die Verwandtschaft mit dem Fibroin zum Ausdruck. Siehe die Tabelle § 478.

398. **Byssus** ist das an der Luft zu seidenartigen Fäden erstarrende Secret der Fussdrüse mancher Muscheln. Ueber die hydrolytischen Spaltungsproducte des braun gefärbten und seidenartig glänzenden Byssus von Pinna nobilis siehe die Tabelle § 478.

399. **Sericin** (Seidenleim), der zweite Hauptbestandteil der Seide, geht beim Auskochen von Seide mit Wasser in Lösung (siehe § 396). Näheres über die Darstellung siehe bei Bondi[6]). Farbloses Pulver von der Zusammensetzung C 44,32; H 6,18; N 18,30 pCt. (Cramer); C 45,0; H 6,32; N 17,13 pCt. (Bondi). In heissem Wasser löslich, aber leicht in unlösliche Modification übergehend. Die Lösung gelatiniert beim Erkalten. Essigsäure und Mineralsäuren rufen in bestimmten Mengenverhältnissen Niederschläge hervor, ebenso wirken viele Schwermetallsalze, sowie Gerbsäure, Pikrinsäure, Phosphor-

1) J. f. pr. Ch. **96**. 76. (1865.)
2) Z. f. B. **27**. 374. (1890.)
3) C. r. **115**. 613. (1892.)
4) B. **21**. 1407. (1888.)
5) H.-S. **53**. 126. (1907.)
6) H.-S. **34**. 481. (1901/02.)

wolframsäure + Salzsäure fällend. Biuret-, Millon's, Xanthoprotein-, Molisch's Reaction positiv, die anderen Farbenreactionen negativ (Bondi).

Vorkommen und Darstellung.

400. **Conchiolin**, die organische Grundsubstanz der Schalen von Muscheln und Schnecken, wird dargestellt durch Entkalkung mit verdünnter Salzsäure und Behandlung mit 1 proc. Natronlauge, peptischer und tryptischer Verdauungsflüssigkeit, Wasser, Alkohol und Aether. Nach Krukenberg[1]) enthalten auch die Eierschalen von Murex Conchiolin. Es ist unlöslich in Wasser, Alkohol und Aether, nicht angreifbar durch Pepsin- und Trypsinverdauung, sehr widerstandsfähig gegen Natronlauge (besonders das Conchiolin aus älteren Schalen), wird aber schliesslich darin aufgelöst; in der Kälte ist es in conc. anorganischen Säuren nicht löslich, in der Wärme auch in verdünnteren. Conchiolin aus roter Steckmuschel (Pinna nobilis) hat die Zusammensetzung: C 52,87; H 6,54; N 16,6; S 0,85 pCt. (Wetzel[2]). Biuret-, Xanthoprotein- und Millon'sche Probe positiv, Adamkiewicz'sche und Schwefelbleiprobe negativ. Conchiolin aus Miesmuscheln (Mytilus edulis) lieferte bei der hydrolytischen Spaltung: Ammoniak, Glykocoll, wenig Leucin, Tyrosin, durch Phosphorwolframsäure fällbare Stoffe (Wetzel).

Eigenschaften.

Hydrolyse.

Vorkommen und Darstellung.

401. **Cornein (Gorgonin)** ist von Valenciennes die hornige Substanz des Achsenskeletts von Gorgoniden (Hornkorallen) und Antipathiden genannt worden. Sie wird in derselben Weise wie das Conchiolin gewonnen und verhält sich diesem sehr ähnlich.

Zusammensetzung und Eigenschaften.

Die mehr oder weniger dunkel gefärbte Substanz hat nach Krukenberg[3]) die Zusammensetzung C 48,78; H 5,95; N 17,07 pCt. und enthält ausserdem Halogene (C. Th. Mörner[4]), u. z. ist Jod in allen Fällen von Spuren bis gegen 7 pCt., Brom in allen Fällen (ausgenommen bei 2 Antipathiden) von 0,25—4 pCt., Chlor in allen Fällen (in der Regel nur ein oder einige Zehntel Procent, bei den Antipathiden 0,5—0,75 pCt.) gefunden worden. Ferner enthält Cornein Schwefel (0,5—1,5 pCt.). Schwache Millon'sche Reaction. Es ist vollkommen widerstandsfähig gegen Pepsinsalzsäure.

Hydrolyse.

Kocht man Gorgonin mit verdünnter Schwefelsäure mehrere Stunden, engt die Lösung dann auf dem Wasserbad stark ein, so scheiden sich Krystalle ab, welche von Krukenberg als Cornikrystallin beschrieben, von C. Th. Mörner[5]) als Jod erkannt wurden. Untersuchungen über die Spaltungsproducte des Gorgonin aus Gorgonia Cavolini sind von Drechsel[6]) und besonders von Henze[7]) ausgeführt worden. Bei der Spaltung mit Schwefelsäure entstehen in reichlicher Menge Tyrosin, Arginin und Lysin, in sehr geringer Menge Leucin, Histidin, ferner Schwefelwasserstoff und Ammoniak und viel Jod, wahrscheinlich auch Phenylalanin und Jodgorgosäure (S. 290). Glykocoll, Cystin, Asparagin- und Glutaminsäure scheinen nicht gebildet zu werden. Bei der Spaltung mit Barytwasser entstehen in reichlicher Menge Glykocoll und Tyrosin, ferner Ammoniak und Jodgorgosäure und wahrscheinlich eine chlorhaltige krystallisierende Substanz von saurem Charakter. Leucin, Asparagin- und Glutaminsäure wurden nicht erhalten.

Pennatulin.

Pennatulin, die organische Grundsubstanz des Achsenskeletts der Pennatulaceen (C. Th. Mörner[8]). Es enthält wenig Jod (bis zu 0,2 pCt.) und Chlor (bis zu 0,13 pCt.), etwas mehr Brom (bis zu 1,89 pCt.) und Schwefel (bis zu 1,4 pCt), ist stets fast ungefärbt (schwach gelblich) und löst sich zum Teil schon bei der Digestion mit verdünnter

---

1) B. **18**. 989. (1885.), Z. f. B. **22**. 241. (1886.)
Vergl. auch Engel, Z. f. B. **27**. 374. (1890.) u. **28**. 345. (1891.)
2) H.-S. **29**. 386. (1900.)
3) B. **17**. 1843. (1884.)
Vergl. physiol. Stud. Heidelberg 1881. 5. Abtlg. S. 1.
4) H.-S. **51**. 33. (1907.), **55**. 77. (1908.)
5) H.-S. **55**. 223. (1908.)
6) Z. f. B. **33**. 90. (1890.)
7) H.-S. **38**. 60. (1903.)
8) H.-S. **55**. 77. (1908.)

Salz- oder Essigsäure, fast vollständig bei der Digestion mit Pepsinsalzsäure auf (Unterschied von Gorgonin).

402. **Spongin.** Die Substanz der Bade- und anderer Schwämme wird durch Extraction der fein zerkleinerten Schwämme mit verdünnter Salzsäure und Auswaschen mit Wasser gewonnen. Ein von Harnack[1]) aus Badeschwamm dargestelltes Spongin hatte die Zusammensetzung C 48,51; H 6,30; N 14,79; S 0,73; J 1,5; Asche 0,35 pCt. Hundeshagen[2]) fand in der Trockensubstanz tropischer Hornschwämme 8—14 pCt. Jod. Es wird in Alkalien viel leichter zerklüftet und gelöst als Conchiolin und Cornein; auch kaltes Barytwasser löst es bei längerer Einwirkung. Ebenso wird es beim Erhitzen mit Wasser im zugeschmolzenen Glasrohr auf 160° gelöst. Conc. Mineralsäuren lösen es in der Kälte nur sehr langsam. In Kupferoxydammoniaklösung schrumpft es zu zerreiblicher Masse. Biuret-, Schwefelbleiprobe, Xanthoprotein- und Molisch'sche Probe positiv, Proben von Millon und Adamkiewicz negativ. Bei mehrstündiger Einwirkung 0,5 proc. siedender Schwefelsäure entstehen Albumosen und Peptone, von denen (nach dem Verfahren von Pick, § 320) Heterosponginose, Protosponginose und eine Deuterosponginose (es scheint nur eine einzige aufzutreten) isoliert und untersucht wurden (Strauss[3]). Die Heterosponginose ist durch ihren hohen Jod- und Schwefelgehalt ausgezeichnet, die Deuterosponginose durch ihre starke Molisch'sche Reaction. Die bei der Spaltung mit Säuren auftretende unlösliche Substanz ist zuerst von Harnack untersucht worden. Er nennt sie

Jodospongin.

Jodospongin und erhielt sie durch achttägiges Behandeln von Spongin mit 38 proc. Schwefelsäure bei mässig warmer Temperatur, Abfiltrieren der abgeschiedenen, fein verteilten pulverigen Masse, Lösen derselben in verdünnter Natronlauge, Wiederausfällen durch Mineralsäure und Wiederholung von Lösung und Fällung. Der feinflockige Niederschlag wird in Ammoniak gelöst, durch Eintragen von Ammonsulfat ausgesalzen und der Dialyse unterworfen. Es ist braunschwarz und hat die mittlere Zusammensetzung: C 45,01; H 5,95; N 9,62; S 6,29*); J 8,20 pCt. Es ist unlöslich in Wasser, leicht löslich in Alkalien. Biuret-, Molisch'sche und Adamkiewicz'sche Reaction negativ, Schwefelbleiprobe positiv, Millon'sche Probe unsicher. Das Jod ist sehr fest gebunden, bei mehrstündigem Kochen mit verdünnter Schwefelsäure wird es sehr allmählich als Jodwasserstoff abgespalten, nicht aber durch Kochen oder Schmelzen mit Alkalien.

In ihren Eigenschaften ähnliche Substanzen, aber von anderer Zusammensetzung, besonders geringerem Schwefel- und Jodgehalt, erhielten auch Rosenfeld[4]) und Strauss. Ueber weitere Versuche zur Isolierung des jodhaltigen Atomcomplexes siehe Scott[5]).

Vollständige Hydrolyse des Spongin.

Ueber die hydrolytischen Spaltungsproducte des Spongin siehe die Tabelle § 478. Es treten bei der Spaltung auch Jod und Jodwasserstoff in erheblicher Menge auf. Tyrosin wurde nicht erhalten. Nach Zalocostas[6]) soll es in geringer Menge bei der Barytspaltung auftreten.

Proteide.

403. Proteide sind Verbindungen, welche durch einfache Spaltung mittelst Wasser, Säuren, Alkalien in Eiweissstoffe und andere, soweit be-

*) Ein Teil des Schwefels ist erst während der Behandlung mit Schwefelsäure eingetreten, denn ein in derselben Weise mit Salzsäure hergestelltes Präparat enthielt nur 4,7 pCt. S.

1) H.-S. **24**. 412. (1898.)
2) Z. f. angew. Ch. 1895. S. 473.
3) Ueber die Albuminoide. Heidelberg 1904.
4) A. exp. P. Ph. **45**. 51. (1901.)
5) B. Z. **1**. 367. (1906.)
6) C. r. **107**. 252. (1888.)

kannt, stets stickstoffhaltige Körper zerlegt werden. Man rechnet zu ihnen die Blutfarbstoffe, Nucleoproteide, Paranucleoproteide (Nucleoalbumine) und Glukoproteide.

Blutfarbstoffe und ihre nächsten Derivate.

Vorkommen. 404. Die Blutfarbstoffe Hämoglobin und Oxyhämoglobin sind Verbindungen von Eiweissstoff mit den Farbstoffgruppen Hämochromogen (§ 263) bzw. Hämatin (§ 264). Oxyhämoglobin ist eine molekulare Verbindung von Hämoglobin und Sauerstoff. Sie finden sich im Protoplasma der roten Blutkörperchen der Wirbeltiere (vermutlich in Verbindung mit einem anderen Stoff) und können mehr oder weniger leicht krystallisiert erhalten werden. Im arteriellen Blut überwiegt bei Weitem das Oxyhämoglobin, im Erstickungsblut findet sich fast ausschliesslich Hämoglobin, im venösen ein Gemenge beider. Auch aus dem Blut verschiedener Avertebraten (vieler Würmer und Crustaceen, einiger Mollusken und Insecten) sind Farbstoffe erhalten worden, welche im optischen Verhalten, in Reactionen und Zer-
Muskelfarbstoff. setzungen mit dem Oxyhämoglobin übereinstimmen. Der Muskelfarbstoff steht dem Blutfarbstoff sehr nahe, wenn er auch bisher nicht krystallisiert erhalten werden konnte und im spectroskopischen Verhalten eine geringe Abweichung zeigt (K. Mörner[1]).

Darstellung. 405. **Oxyhämoglobin.** Zur Darstellung möglichst reinen Oxyhämoglobins mischt man das defibrinierte Blut mit dem zehnfachen Volumen einer Chlornatriumlösung, welche auf 1 Vol. gesättigter Salzlösung 9 Vol. Wasser enthält. (Natriumsulfatlösung kann recht wohl an Stelle der Chlornatriumlösung auch bei Säugetierblut verwendet werden, bietet aber hier keine Vorteile, ist dagegen unbedingt vorzuziehen bei Vogel-, Amphibien- oder Fischblut.) Man lässt die Mischung 1 bis 2 Tage in flachen Glasschalen an einem kühlen Orte stehen oder beschleunigt den Absatz der roten Blutkörperchen durch zwei bis dreistündiges Centrifugieren, giesst die Flüssigkeit vom dicken Blutkörperchenbrei ab, bringt letzteren mit nicht zu viel Wasser in einen Scheidetrichter, giesst fast ebenso viel Aether hinzu, schüttelt gut um, jedoch nicht zu heftig, filtriert die abgelassene dunkelrote, wässerige Lösung schnell, lässt auf 0° abkühlen, mischt sie genau mit $^1/_4$ ihres Volumens Alkohol, der gleichfalls auf 0° erkaltet ist, und lässt die Mischung bei 0° (event. bei —2° bis —10°) einen bis mehrere Tage stehen. Meerschweinchen-, Ratten-, Eichhörnchen- und Hunde-Oxyhämoglobinkrystalle bilden sich in der Regel nach dem Schütteln der Blutkörperchen mit Aether so schnell, dass beim nachherigen Filtrieren ein meist nicht geringer Teil auf dem Filter sich ausscheidet. Zeigt die mikroskopische Untersuchung, dass dies der Fall ist, so löst man sie mit nicht

1) Nordiskt med. Ark. Festband No. 2. (1897.)

zuviel Wasser im Wasserbade bei 30—40°, filtriert schnell, lässt auf 0° erkalten, fügt $^1/_4$ Vol. stark abgekühlten Alkohol hinzu und lässt unter 0° stehen. Auf diese Weise können auch die gebildeten, in der Kälte abfiltrierten und abgepressten Krystalle mehrmals umkrystallisiert werden. Zur vollständigen Reinigung (Entfernung anderer Eiweissstoffe) ist mehrmaliges Umkrystallisieren nötig. Die Oxyhämoglobine der eben genannten Tierarten sind in Wasser schwer löslich und krystallisieren deshalb leicht. Dasselbe gilt vom Pferdeoxyhämoglobin. Die Oxyhämoglobine vom Menschen, Rind, Schwein, von der Katze sind leicht löslich und deshalb schwieriger krystallinisch zu erhalten.

Für die Darstellung grosser Mengen Oxyhämoglobinkrystalle (allerdings methämoglobin- und salzhaltig) eignet sich eine von Hofmeister und seinen Schülern[1]) angegebene Methode: Blutkörperchenbrei (gewonnen durch Absetzenlassen von Pferdeblut, das durch Zufügen von Oxalat ungerinnbar gemacht ist) wird mit dem doppelten Volumen Wasser verdünnt, abgekühlt, mit Aether (auf 1 Liter 50—70 ccm) gut durchgerührt und mit ebenfalls gekühlter, gesättigter Ammonsulfatlösung unter fortwährendem Umrühren nach und nach vermischt (auf 1 Liter 700 ccm). Der entstandene Niederschlag hebt sich allmählich, event. erst nachdem noch wenig Aether zugefügt ist. Nach einigen Stunden filtriert man die untenstehende, dunkelrote Flüssigkeit durch abgekühlte Papierfilter in der Kälte und lässt dann das Filtrat in Porzellanschalen bei Zimmertemperatur unter gelegentlichem Umrühren stehen. Nach 3 Tagen ist die Krystallisation beendet, die Krystalle werden abgesaugt, zur Reinigung in möglichst wenig Wasser gelöst und wieder mit gesättigter Ammonsulfatlösung (80 auf 100 ccm) versetzt.

406. Die Krystalle*) der Oxyhämoglobine sind oft nur mikroskopisch nachweisbar, meist mit der Lupe gut erkennbar, selten über 5 mm lang. Die Krystalle des Meerschweinchen- und des Rattenbluts sind Tetraeder und Octaeder, die des Eichhörnchenbluts sechsseitige Tafeln, die des Hunde- und des Pferdeblutes meist lange vierseitige Prismen, die des Gänseblutes dünne rhombische Tafeln. Sie enthalten alle Krystallwasser in verschiedener Menge, dessen Bestimmung Schwierigkeiten bietet. Unter 0° im Vacuum völlig getrocknete Krystalle können auf 100° und höher ohne Zersetzung erhitzt werden; sehr geringe Menge von Wasser dagegen bedingt allmähliche Zersetzung schon bei gewöhnlicher, schneller bei höherer Temperatur. So lange die Krystalle die schöne hellarterielle Farbe besitzen, sind sie unzersetzt (Hoppe-Seyler). Nach Aron und Müller[2]) verlieren im Vacuum bei gewöhnlicher Temperatur bis zur Constanz getrocknete Krystalle bei 116° noch 14,35 pCt. Krystalle.

Die Analysen haben z. Tl. gut übereinstimmende, z. Tl. sehr abweichende Resultate ergeben, aus denen ersichtlich ist, dass verschieden behandelte Stoffe analysiert sind. Zusammensetzung.

*) Abbildungen von Blutfarbstoffkrystallen von Menschen und verschiedenen Tieren siehe bei Friboes, Pfl. A. **98**. 434. (1903.)

1) H.-S. **28**. 182. (1899.)

2) A. f. A. u. Ph. Ph. A. 1906. Suppl. S. 121.

	C	H	N	S	O	Fe		
Hundeblutkrystalle . . .	53,85	7,32	16,17	0,39	21,44	0,43	pCt.	Hoppe-Seyler[1])
„ . . .	54,57	7,22	16,38	0,57	20,93	0,34	„	Jaquet[2])
Pferdeblutkrystalle. . .	54,87	6,97	17,31	0,65	19,73	0,47	„	Hoppe-Seyler u. Kossel[3])
„ . . .				0,44		0,39	„	Hoppe-Seyler
„ . . .	54,56	7,15	17,33	0,43			„	Schulz[4])
„ . . .	54,76	7,03	17,28	0,67	19,81	0,45	„	Otto[5])
„ . . .	54,40	7,20	17,61	0,65	19,67	0,47	„	Bücheler[6])
„ . . .	54,75	6,98	17,35	0,42	20,12	0,38	„	Abderhalden[7])
Rinderblutkrystalle . .	54,66	7,25	17,70	0,45	19,54	0,40	„	Hüfner[6])
Katzenblutkrystalle . .	54,60	7,25	16,52	0,62	20,66	0,35	„	Abderhalden[8])
Meerschweinchenblutkryst.	54,12	7,36	16,78	0,58	20,68	0,48	„	Hoppe-Seyler[1])
Eichhörnchenblutkrystalle	54,09	7,39	16,09	0,40	21,44	0,59	„	Hoppe-Seyler[1])
Schweineblutkrystalle . .	54,17	7,38	16,23	0,66	21,36	0,43	„	Otto[5])
„ . .	54,71	7,38	17,43	0,48	19,60	0,40	„	Hüfner[6])
Gänseblutkrystalle*) . .	54,26	7,10	16,21	0,54	20,69	0,43	„	Hoppe-Seyler[1])
Hühnerblutkrystalle*) .	52,47	7,19	16,45	0,86	22,50	0,335	„	Jaquet[2])
Seeschildkrötenblutkryst.	54,77	6,99	17,07	0,38	20,38	0,41	„	Bardachzi[9])

Osborne[10]) fand in Hundeblutkrystallen 0,583 pCt. Gesamtschwefel und 0,335 pCt. locker gebundenen Schwefel. Aus den besten Analysen des Pferde- und Rinderblutoxyhämoglobins ergibt sich, dass auf 1 At. Eisen 2 At. Schwefel kommen, beim Hunde- und Katzenoxyhämoglobin auf 1 At. Eisen 3 At. Schwefel. Nach den letzten Untersuchungen von Hüfner[11]) erhält das Rinderoxyhämoglobin 0,336 pCt. Fe. 1 g Hämoglobin vermag nach Hüfner 1,34 ccm Sauerstoff (bei 0° und 760 mm Druck) zu binden. Diese Bindung des Sauerstoffs im Oxyhämoglobin ist eine lockere, dissociable. In Wasser gelöstes Oxyhämoglobin gibt im Vacuum, beim Durchleiten indifferenter Gase z. B. Wasserstoff, bei Einwirkung von reducierenden Substanzen z. B. Schwefelammonium oder Stokes'scher Lösung (Anh.) den Sauerstoff ab und geht in Hämoglobin (§ 407) über.

Bohr[12]) nimmt verschiedene Modificationen des Oxyhämoglobin (α-, β-, γ-O.) mit verschiedenem Sauerstoffbindungsvermögen an.

Eigenschaften. Die Oxyhämoglobinkrystalle sind in Wasser mit feurig blutroter Farbe löslich, aber die Krystalle verschiedener Tierarten verschieden leicht (siehe oben); in Alkohol, Aether, Benzol, Chloroform sind sie unlöslich, in sehr verdünntem Alkohol etwas löslich und diese Lösung ist bei niedriger

---

*) In Gänseblutkrystallen wurden 0,335 pCt., in Hühnerblutkrystallen 0,197 pCt. P gefunden. Derselbe rührt von einem Gehalt an Nucleinsäure her. Inoko, H.-S. **18**. 57. (1894.)

1) Hoppe-Seyler, Med. chem. Unters. Heft 3. S. 370. (1868.)
2) H.-S. **14**. 289. (1890.)
3) H.-S. **2**. 149. (1879.)
4) H.-S. **24**. 469. (1898.)
5) H.-S. **7**. 61. (1883.)
6) Hüfner, Gratulationsschrift an C. Ludwig 1886.
7) H.-S. **37**. 494. (1902/03.)
8) Lehrb. d. physiol. Ch. S. 596.
9) H.-S. **49**. 465. (1906.)
10) Stud. f. the Res. Lab. Connecticut Agr. Exp, Stat. Rep. f. 1900. p. 460.
11) A. f. A. u. Ph. Ph. A. 1894. S. 130.
12) Skand. A. Ph. **3**. 76. (1891), C. f. Ph. **4**. 249. (1890.)

Temperatur auch ziemlich beständig. Eine verdünnte wässerige Lösung von Oxyhämoglobin ist haltbarer als eine concentrierte und eine mit ein wenig Alkalicarbonat versetzte bei gewöhnlicher Temperatur haltbarer als eine neutrale. Neutrales und basisches Bleiacetat fällen eine wässerige Lösung nicht, auch nicht auf Zusatz von Ammoniak, auch salpetersaures Silber fällt nicht, aber beim Stehen finden bald Zersetzungen statt und die Zersetzungsproducte veranlassen dann Fällungen. Eintragen von pulverigem Kaliumcarbonat in conc. wässerige Lösungen fällt Oxyhämoglobin u. z. bei niedriger Temperatur zunächst ohne Veränderungen, desgleichen Eintragen von Ammonsulfat bis zur Sättigung. Auch Alkohol fällt Oxyhämoglobin aus seinen Lösungen. Der zuerst entstehende rote Niederschlag ist in Wasser z. Tl. sofort wieder löslich; allmählich (schneller beim Erhitzen) geht die Farbe des Niederschlags in braun über und jetzt ist die Spaltung in Eiweissstoff und Hämatin geschehen. Auch durch Chloroform wird Oxyhämoglobin aus seinen wässerigen Lösungen ausgefällt. Der Niederschlag ist in Wasser unlöslich (Krüger[1]). Ueber weitere Fällungsmittel, die aber gleichzeitig eine Zersetzung des Blutfarbstoffes bewirken, siehe weiter unten. Oxyhämoglobin dreht rechts u. z. wurde für 1,2proc. Lösungen $[\alpha]_C = + 10{,}0^0$ gefunden (Gamgee und Hill[2]). Ueber das spectroskopische Verhalten der Oxyhämoglobine siehe § 408.

Umwandlungen u. Spaltungen.

Wird eine Oxyhämoglobinlösung einige Zeit über 80° erhitzt, so entsteht zunächst Methämoglobin, dann erfolgt Spaltung unter Wasseraufnahme in Hämatin und sich abscheidenden Eiweissstoff. Die gleiche Spaltung bewirken Alkalien und besonders schnell Säuren u. z. erfolgt dieselbe um so schneller 1. je concentrierter die Säure oder die Alkalilösung ist, 2. je mehr davon zugesetzt ist, 3. je concentrierter die Oxyhämoglobinlösung und 4. je höher die Temperatur ist. Dabei bildet sich nur dann ein Niederschlag, wenn der entstehende Eiweissstoff in der Flüssigkeit unlöslich ist. So tritt diese Zersetzung ohne Niederschlag ein bei Einwirkung von Essigsäure, Weinsäure, Kalilauge usw., dagegen mit Bildung von Niederschlag, wenn hinreichend Salpetersäure oder Schwefelsäure zugesetzt wurde. Löst man Oxyhämoglobin unter Zusatz einer Spur Kochsalz in Eisessig und erhitzt, so fällt allein Hämin (§ 265) in meist mikroskopischen Krystallen aus. Schon die schwächsten Säuren, auch Kohlensäure, zeigen baldige Einwirkung, indem sie zunächst zur Bildung von Acidhämoglobin (§ 414) führen, dann weiter zersetzen. Durch Ammoniak wird Oxyhämoglobinlösung nur sehr langsam gespalten. Bei allen diesen Spaltungen entstehen neben Hämatin und Eiweissstoff (hauptsächlich Globin § 372) noch geringe Mengen von Ameisensäure, Buttersäure und vielleicht auch anderen Säuren. Phosphorwolframsäure, Gerbsäure, Kaliumquecksilberjodid, Ferrocyankalium fällen Blutfarbstoffe in saurer Lösung unter gleichzeitiger Zersetzung, des-

1) B. Ph. P. **3**. 67. (1903.) 2) B. Ph. P. **4**. 1. (1904.)

gleichen alle diejenigen Salze, besonders schwerer Metalle, welche unter Bildung basischer Verbindungen leicht Säure abgeben. Durch Pepsin- und Trypsinverdauung entstehen aus Oxyhämoglobin Hämatin und weitere Spaltungsproducte der Eiweisstoffe, durch Fäulnis Methämoglobin und weiter Hämoglobin. Ueber die hydrolytischen Spaltungsproducte siehe § 478. Ueber die Umwandlung in Methämoglobin siehe § 412. Ueber Verbindungen, welche durch Einwirkung von Kohlenoxyd, Blausäure, Schwefelwasserstoff usw. auf Oxyhämoglobin entstehen, siehe die §§ 409 ff.

Darstellung.

407. **Hämoglobin** unterscheidet sich von dem Oxyhämoglobin durch das Fehlen des locker gebundenen Sauerstoffs. Es entsteht, wie S. 460 erwähnt, wenn man durch eine Oxyhämoglobinlösung (oder Blut) indifferente Gase leitet, wenn man sie in das Vacuum bringt, reducierende Stoffe z. B. Schwefelammonium oder Stokes'sche Lösung auf sie einwirken oder sie faulen lässt. (Beim Schütteln einer so hergestellten Hämoglobinlösung mit Luft findet alsbald eine Rückverwandlung in Oxyhämoglobin statt.) Ueberlässt man Blut oder eine genügend concentrierte Oxyhämoglobinlösung, in Glasröhren eingeschmolzen, der Fäulnis, so scheidet sich allmählich Hämoglobin in Krystallen ab (Hüfner[1]). Ueber die Gewinnung von Hämoglobinkrystallen siehe auch Nencki und Sieber[2]).

Eigenschaften.

Die Krystalle sind prachtvoll dunkelrot, im Allgemeinen den Oxyhämoglobinkrystallen isomorph, aber leichter löslich in Wasser. An die Luft gebracht, wandeln sie sich unter Sauerstoffaufnahme alsbald in kleine Oxyhämoglobinkrystalle von arterieller Färbung um. Eine Lösung von Hämoglobin ist dunkler rot als eine gleich concentrierte Oxyhämoglobinlösung. Sie wird ebenso wie eine Oxyhämoglobinlösung weder durch neutrales noch durch basisches Bleiacetat, auch nicht nach Zufügen von Ammoniak gefällt, wenn die Reagentien vorsichtig und unter Vermeidung eines Ueberschusses zugefügt werden.

Hämoglobin vermag auch Kohlensäure zu binden und zwar gibt es nach Bohr verschiedene Carbohämoglobine, in denen die Menge der locker gebundenen Kohlensäure wechselt.

Spaltungen.

Von locker gebundenem Sauerstoff vollständig befreites Hämoglobin wird in wässeriger Lösung bei völliger Abwesenheit von Sauerstoff durch alkoholische oder wässerige Lösungen von Säuren oder Alkalien unter Auftreten purpurroter Farbe gespalten in Eiweissstoff und Hämochromogen (§ 263), welches in sauren Lösungen leicht seinen Eisengehalt verliert und in Hämatoporphyrin (§ 266) übergeht. Das Hämoglobin widersteht im Gegensatz zu Oxyhämoglobin der Fäulnis und Pankreasverdauung, auch bei jahrelanger Einwirkung.

408. **Spectroskopisches Verhalten von Oxyhämoglobin und Hämoglobin.** Die Oxyhämoglobinlösungen absorbieren am wenigsten das Licht

1) H.-S. **4**. 382. (1880.) 2) B. **19**. 128 u. 410. (1886.)

vom Anfang des Spectrums im Rot bis nahe zur Linie D; das letzte Viertel des Zwischenraumes zwischen C und D, welches an D angrenzt, wird schon stärker absorbiert. Wandelt man eine Oxyhämoglobinlösung in eine Hämoglobinlösung um (siehe oben), so wird das Licht zwischen C und D viel stärker absorbiert und hiermit die Lösung sehr viel dunkler im durchfallenden Licht.

Verdünnt man eine concentrierte Oxyhämoglobinlösung in einem Gefäss mit planparellen Glasseitenwandungen, so zeigt dieselbe, immer in gleicher Dicke der Schicht untersucht, schnelle Aufhellung bis zur Linie D, bald tritt bei weiterer Verdünnung Licht zwischen den Linien E und F im Grün auf; dann breitet sich in der noch mehr verdünnten Flüssigkeit das Spectrum über die Linie F ins Blau hinein aus, während zugleich, etwa in der Mitte zwischen D und E ein hellgrüner Lichtstreif erscheint, eingeschlossen von zwei sehr starken und beständigen Absorptionsstreifen. Bei noch weiter fortgesetztem Verdünnen entwickelt sich das Spectrum vollständig bis zum Violett, nur die beiden in der Spectraltafel dargestellten Absorptionsstreifen (Oxyhämoglobinstreifen) bleiben noch, langsam schwächer werdend, beim Verdünnen bis zum Gehalte von 1 g Oxyhämoglobin in 10 Liter Lösung deutlich sichtbar, wenn man diese Lösung in einer Flüssigkeitsschicht von 1 ccm Dicke im Spectralapparate mit zerstreutem Tageslichte beobachtet. Der näher an der Linie D liegende Streifen ist schmäler, dunkler und schärfer begrenzt als der andere bei E gelegene und verschwindet schliesslich bei fortgesetzter Verdünnung ein wenig später als der andere. Die Mitte des ersten Streifens entspricht einer Wellenlänge von 578,1, die des zweiten einer solchen von 541,7 (Formánek[1]). Ausserdem findet sich im ultravioletten Teil ein Streifen, dessen dunkelster Teil λ 414 entspricht (Gamgee[2]). Lewin, Miethe und Stenger[3]) geben den dunkelsten Teil der Streifen entsprechend den Wellenlängen 579, 542, 415 an.

Spectrum des Oxyhämoglobins.

Lässt man eine passend verdünnte Blut- oder Oxyhämoglobinlösung verschlossen einige Zeit stehen oder fügt man einige Tropfen Schwefelammonium oder Stokes'sche Flüssigkeit hinzu, so geht alsbald die helle arterielle Färbung in eine dunkle und venöse über. Bei der Spectralprüfung ist der helle Zwischenraum zwischen den beschriebenen zwei Absorptionsstreifen verschwunden, die Streifen selbst werden blasser und an der Stelle des früheren hellen Zwischenraums zwischen beiden, zwischen D und E und etwas über D hinüberreichend bleibt ein dunkler Absorptionsstreifen (Hämoglobinstreifen), dessen dunkelste Stelle nach Formánek einer Wellenlänge von 555, nach Lewin, Miethe und Stenger von 558

Spectrum des Hämoglobins.

1) Z. anal. Ch. **40**. 505. (1901.)
2) Z. f. B. **34**. 505. (1896.)
3) Pfl. A. **118**. 80. (1907.)

entspricht (Spectraltafel). Er hat weniger scharf begrenzte Ränder und verschwindet beim Verdünnen der Lösung früher, als bei gleicher Verdünnung der Oxyhämoglobinlösung die beiden Absorptionsstreifen derselben unerkennbar werden. Schüttelt man eine Hämoglobinlösung nur ein paar Secunden mit etwas Luft, so sind sogleich die beiden Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobins zu sehen und die Lösung ist wieder heller rot; das Hämoglobinspectrum tritt unter Verdunkelung bald wieder ein, wenn noch reducierende Stoffe sich in der Lösung befinden oder Fäulnis einwirkt. Ein zweiter Streifen liegt nach Gamgee im violetten Teil des Spectrums, mit der maximalen Absorption bei G, nach Lewin, Miethe und Stenger entspricht sie der Wellenlänge 429.

Trennung und Nachweis.

Zur Trennung des Oxyhämoglobins und Hämoglobins von Methämoglobin, Hämatin, Hämatoporphyrin kann das Verhalten gegen neutrales und basisches Bleiacetat benutzt werden, durch welche die drei zuletzt genannten Stoffe und zahlreiche andere gefärbte Substanzen gefällt werden. Zum Nachweis selbst kleiner Mengen eignen sich vor allem die eigentümlichen Absorptionserscheinungen ihrer Lösungen und die charakteristischen Veränderungen, welche dieselben unter der Einwirkung bestimmter Reagentien erleiden. In letzterer Beziehung kommen besonders in Betracht die Umwandlung des Oxyhämoglobins durch Reductionsmittel in Hämoglobin und Rückbildung des letzteren in Oxyhämoglobin durch Luft, die Ueberführung in Kohlenoxydhämoglobin (§ 409), welches durch Schwefelammonium nicht verändert wird, sowie die Umwandlung in Hämochromogen durch Erhitzen mit Natronlauge und Versetzen der alkalischen Lösung mit Schwefelammonium oder einem anderen geeigneten Reductionsmittel.

Bildung.

409. **Kohlenoxydhämoglobin** ist eine von Hoppe-Seyler[1]) zuerst beschriebene, molekulare Verbindung von Hämoglobin und Kohlenoxyd, welche beim Durchleiten dieses Gases durch Blut oder eine wässerige Lösung von Hämoglobin oder Oxyhämoglobin entsteht und sich im Blut mit Kohlenoxyd vergifteter Personen (Leuchtgas-, Kohlendunstvergiftung) findet.

Darstellung.

Zur Darstellung in Krystallen leitet man durch eine genügend concentrierte Oxyhämoglobinlösung Kohlenoxyd und behandelt diese Lösung ebenso, wie es im § 405 für die Gewinnung der Oxyhämoglobinkrystalle angegeben ist. Die sich ausscheidenden Krystalle sind den entsprechenden Oxyhämoglobinkrystallen isomorph. Im Kohlenoxydhämoglobin kommt nach Hüfner[2]) auf 1 g Hämoglobin 1,34 ccm CO (bei 0° und 760 mm). Seine wässerigen Lösungen, ebenso mit Kohlenoxyd behandeltes Blut, haben keine scharlachrote, sondern eine mehr dem Carmin entsprechende Farbe.

---

1) Virch. A. **II.** 288. (1857.), C. f. med. W. 1864/65.
Med. chem. Untersuchungen. Heft 2. (1867.) Heft 3. (1868.)
H.-S. **I.** 131. (1878.) u. **13.** 477. (1889.)

2) A. f. A. u. Ph. Ph. A. 1894. S. 130. 1903. S. 217.

Eigenschaften.

Die Verbindung widersteht (im Gegensatz zum Oxyhämoglobin) reducierenden Stoffen. Durch das Vacuum, ebenso durch längeres Einleiten von Wasserstoff- oder Stickstoffgas, noch schneller durch Einleiten von Sauerstoff- und Stickoxydgas wird das Kohlenoxyd ausgetrieben und entweder Hämoglobin oder Oxy- oder Stickoxydhämoglobin gebildet. Auch beim Stehen von Kohlenoxydhämoglobinlösungen an der Luft geht allmählich eine Umwandlung in Oxyhämoglobin und weiter in Methämoglobin vor sich. Durch Ferricyankalium entsteht unter Austreibung von Kohlenoxyd Methämoglobin (ebenso wie aus Oxyhämoglobin unter Austreibung von Sauerstoff siehe S. 466 unten) (Haldane[1]). Es dreht rechts und zwar ebenso stark wie Oxyhämoglobin $[\alpha]_D = + 10{,}0^0$ (Gamgee[2]).

Optische Eigenschaften.

Spectrum.

Die wässerigen Lösungen absorbieren das blaue Licht weniger als die Oxyhämoglobinlösungen und zeigen bei genügender Verdünnung spectroskopisch untersucht 2 Absorptionsstreifen (Spectraltafel) zwischen den Linien D und E wie Oxyhämoglobinlösungen, jedoch ein wenig von D nach E hin verschoben, so dass der helle Raum, welcher die Linie D vom ersten Streifen trennt, etwas breiter ist, als bei den Oxyhämoglobinlösungen. Die Mitte des ersten Streifens entspricht einer Wellenlänge von 572, die des zweiten einer solchen von 536 (Hoppe-Seyler). Nach Lewin, Miethe und Stenger entsprechen die dunkelsten Stellen der beiden Streifen den Wellenlängen 570 und 542. . Ausserdem findet sich ein Streifen im violetten Teil, dessen Mitte einer Wellenlänge von 420,5 (Gamgee), dessen dunkelste Stelle einer Wellenlänge von 416 (Lewin, Miethe und Stenger) entspricht.

Spaltungen.

Erhitzt man eine wässerige neutrale Lösung zum Sieden, so entsteht ein hellrotes (Unterschied von Oxyhämoglobin) Coagulum, das aus Eiweissstoff und Kohlenoxydhämochromogen (S. 353) besteht und sich an der Luft erst allmählich unter Abspaltung des Kohlenoxyds und Bildung von Hämatin dunkler färbt. Durch starke Natronlauge wird eine wässerige Lösung oder mit Kohlenoxyd gesättigtes Blut (im Gegensatz zu normalem Blut) hellrot gefällt (Hoppe-Seyler's Probe). Der Niederschlag, welcher aus Kohlenoxydhämoglobin besteht, zersetzt sich zu Kohlenoxydhämochromogen und Eiweissstoff und wird an der Luft allmählich braun unter Bildung von Hämatin.

Verhalten gegen Fäulnis.

Gegen Fäulnis bei Abwesenheit von freiem Sauerstoff und ebenso gegen Pancreasverdauung ist die Verbindung völlig widerstandsfähig. Wässerige Lösungen oder Kohlenoxydblut aus Leichen von mit Kohlenoxyd vergifteten Personen, in Glasröhren eingeschmolzen, zeigen noch nach vielen Jahren trotz eingetretener Fäulnis das unveränderte Spectrum und liefern beim Evacuieren Kohlenoxyd.

---

1) J. of Ph. **22**. 298. (1898.) 2) B. Ph. P. **4**. 1. (1904.)

Nachweis. Zur Unterscheidung einer Kohlenoxydhämoglobinlösung von einer Oxyhämoglobinlösung dienen besonders die Unveränderlichkeit des Spectrums auf Zusatz von Reductionsmitteln, ferner der hellrote Niederschlag, welcher beim Kochen und auf Zusatz von starker Natronlauge entsteht.

410. **Stickoxydhämoglobin**, eine molekulare Verbindung von Hämoglobin und Stickoxyd, entsteht beim Einleiten von diesem Gase in eine Lösung von Kohlenoxydhämoglobinkrystallen und ebenso beim Schütteln einer Methämoglobinlösung mit Stickoxyd (§ 412) und lässt sich in der beim Oxyhämoglobin beschriebenen Weise (§ 405) krystallinisch erhalten. Die Krystalle sind denen des Oxyhämoglobins isomorph und zeigen auch genau die gleiche Färbung. Bei der spectroskopischen Prüfung ihrer Lösungen erkennt man 2 Streifen, die in Lage und Aussehen mit den Oxyhämoglobinstreifen völlig übereinstimmen. Auch im violetten Teil findet sich ein Streifen, dessen Mitte einer Wellenlänge von 420,5 entspricht (Gamgee). Die Verbindung wird durch Reductionsmittel nicht zerlegt.

411. Acetylenhämoglobin, von Bistrow und Liebreich durch Einwirkung von Acetylen auf Hämoglobinlösung erhalten, ist wenig beständig.

Bildung und Vorkommen. 412. **Methämoglobin** wurde von Hoppe-Seyler[1]) entdeckt. Es entsteht aus Oxyhämoglobin durch Einwirkung verschiedener Stoffe*) (oxydierender, reducierender und auch indifferenter z. B. neutraler Salze) auf Oxyhämoglobinlösungen oder Blut. Methämoglobinbildend wirken besonders Ferricyankalium, Nitrite, Permanganat, Chlorate, Ozon, Wasserstoff im Entstehungszustande bei Gegenwart von freiem Sauerstoff, Wasserstoffhyperoxyd. Ferner entsteht es durch Einwirkung von Wärme allein auf Oxyhämoglobinlösungen sowie beim Eintrocknen dieser Lösungen oder von Blut an der Luft. Im Organismus findet es sich normalerweise nicht (nach Aron[2]) kommt indessen höchstwahrscheinlich im kreisenden Blut sehr häufig etwas Methämoglobin vor), wohl aber in Extravasaten, in Struma- und anderen Cysten, ferner im Blut, in den Nieren und im Harne nach Einbringung von Amylnitrit, Pyrogallol, gallensauren Salzen und vielen anderen Stoffen in den Blutstrom, nach Zerstörungen von Blutkörperchen bei Hautverbrennungen usw.

Wie Haldane[3]), Hüfner[4]) und v. Zeynek[5]) fanden, wird beim Versetzen einer Oxyhämoglobinlösung mit Ferricyankalium die ganze Menge des locker gebundenen Sauerstoffs abgespalten und Ferricyankalium zu Ferrocyankalium reduciert. Die gleichzeitig vor sich gehende Umwandlung von Oxyhämoglobin in Methämoglobin kommt nun nach ihrer Ansicht wahrscheinlich so zu Stande, dass an Stelle des locker gebundenen Sauerstoffs Sauerstoff oder Hydroxylgruppen, welche bei der Reduction des Ferricyankaliums frei werden, in das Hämoglobinmolekül eintreten und hier eine festere Bindung

---

*) Eine Zusammenstellung zahlreicher methämoglobinbildender Stoffe siehe bei Dittrich, A. exp. P. u. Ph. **29**. 247. (1892.)

1) H.-S. **2**. 150. (1878/79.) u. **6**. 166. (1882.)
Araki, H.-S. **14**. 405. (1890.)
Jaederholm, Z. f. B. **16**. 1. (1880.) u. **20**. 419. (1884.)

2) B. Z. **3**. 1. (1907.)

3) J. of Ph. **22**. 298 (1898.)

4) A. f. A. u. Ph. Ph. A. 1899. S. 491.

5) A. f. A. u. Ph. Ph. A. 1899. S. 460.

erfahren. Die Umwandlung des Oxyhämoglobins in Methämoglobin durch Kaliumpermanganat erfolgt gleichfalls unter Sauerstoffentwicklung.

Darstellung. Um es krystallinisch zu erhalten, versetzt man eine möglichst concentrierte Oxyhämoglobinlösung (aus Schweine-, Pferde- oder Hundeblut) mit 10proc. Ferricyankaliumlösung bis zur tiefen Braunfärbung, kühlt auf 0° ab und versetzt mit dem 4. Teil ebenso weit abgekühlten Alkohols. Beim Stehen in einer Kältemischung scheiden sich innerhalb einiger Tage rehbraune Krystalle, meist feine Nadeln, ab (Hüfner u. Otto[1]). Aus Rinderblut wurde es bisher nicht krystallinisch erhalten.

Zusammensetzung. Das Methämoglobin hat dieselbe Zusammensetzung wie das Oxyhämoglobin (Hüfner und Otto, Otto[2]). Der Sauerstoff des letzteren ist aber im Methämoglobin fester gebunden und weder durch das Vacuum noch beim Durchleiten von indifferenten Gasen oder Kohlenoxyd durch eine wässerige Lösung austreibbar, wohl aber durch Stickoxyd, indem beim Schütteln einer Methämoglobinlösung mit Stickoxyd bei Gegenwart von Harnstoff Stickoxydhämoglobin (§ 410) entsteht (Hüfner und Külz[3]). 1 g Methämoglobin nimmt 2,685 ccm Stickoxyd (bei 0° und 760 mm) auf (Hüfner und Reinbold[4]).

Eigenschaften. Die Krystalle sind in Wasser leicht löslich. Die sauren und neutralen Lösungen sind braun, die alkalischen rot. Durch vorsichtigen Zusatz von Bleiacetat und Bleiessig und Ammoniak werden Methämoglobinlösungen gefällt (Unterschied von Oxyhämoglobin- und Hämoglobinlösungen).

Spectrum. Lösungen, welche nicht stark alkalisch, sondern neutral oder schwach sauer sind oder wenig Alkalicarbonat enthalten, ebenso mit Wasser verdünntes Blut, dem einige Tropfen einer frisch hergestellten conc. Ferricyankaliumlösung zugefügt sind, zeigen bei der spectroskopischen Untersuchung einen Absorptionsstreifen im Rot, welcher zwischen den Linien C und D (Spectraltafel) näher an C liegt. Nach Ziemke und Müller[5]) entspricht seine Lage den Wellenlängen 630—620, das Maximum der Absorption nach Lewin, Miethe und Stenger der Wellenlänge 626. Neben diesem charakteristischen Streifen beobachtet man noch drei andere Streifen, von denen zwei mit den Oxyhämoglobinstreifen übereinstimmen, während der vierte zwischen b und F liegt. Bei genügend zugesetztem Ferricyankalium verblassen sie nach einiger Zeit fast ganz, während der Streifen im Rot unverändert bleibt. Bei etwas stärkerem Zusatz von Alkali aber verschwindet der Streifen im Rot sofort und die Absorptionsstreifen im Grünen treten wieder deutlich hervor, wenn sie in der sauren oder alkalischen Lösung nicht bereits allzu sehr verblasst waren. Nach Ziemke und Müller zeigt der rotwärts gelegene Streifen in der alkalischen Lösung

1) H.-S. **7**. 65. (1882/83.)
2) Pfl. A. **31**. 245. (1883.)
3) H.-S. **7**. 366. (1882/83.)
4) A. f. A. u. Ph. Ph. A. 1904. Suppl. S. 391.
5) A. f. A. u. Ph. Ph. A. 1901. Suppl. S. 178.

eine schattenhafte Verlängerung über D hinaus. Im ultravioletten Teil des Spectrums findet sich auch ein Absorptionsstreifen (Gamgee, Lewin, Miethe und Stenger).

Umwandlung in Hämoglobin.

Durch Einwirkung reducierender Substanzen in schwach-alkalischer Lösung, ebenso durch Fäulnis bei Abwesenheit von freiem Sauerstoff wird Methämoglobin in Hämoglobin und durch Schütteln mit Luft dieses in Oxyhämoglobin übergeführt. Diese Umwandlungen, welche sich sehr leicht mit Hülfe des Spectroskops verfolgen lassen, unterscheiden das Methämoglobin von Hämatin, dessen saure Lösungen einen ähnlichen Absorptionsstreifen zeigen (S. 355); letzteres wird durch dieselben reducierenden Substanzen (z. B. Schwefelammonium), welche aus dem Methämoglobin Hämoglobin bilden, in Hämochromogen übergeführt. Schwache Säuren und Alkalien spalten Methämoglobin in Hämatin und Eiweisstoff.

Nachweis.

Zum Nachweis dient das spectroskopische Verhalten, sowie das Verhalten zu Reductionsmitteln.

Bildung.

413. **Cyanhämoglobin.** Dieser schon seit längerer Zeit (Preyer, Hoppe-Seyler) bekannte, aber erst von Kobert[1]) genauer beschriebene und als Cyanmethämoglobin bezeichnete Farbstoff ist von v. Zeynek[2]) krystallisiert erhalten und eingehend untersucht worden. Bei seiner Bildung findet eine Aufnahme von einer Cyangruppe bezw. eines Mol. Blausäure in ein Mol. Blutfarbstoff statt. Das Cyanhämoglobin ist, wie zuerst Haldane[3]) fand, identisch mit dem Photomethämoglobin von Bock.

Darstellung.

Es entsteht sofort beim Zusammenbringen einer Methämoglobinlösung (aus Pferdeblut) mit 0,5 proc. Blausäurelösung unter Umschlagen der rehbraunen in eine rote Farbe und scheidet sich aus einer stark abgekühlten etwa 25—30 pCt. Farbstoff enthaltenden Lösung auf Zusatz von $^1/_4$ Vol. auf 0° abgekühlten Alkohols bei —10° in 1—2 Tagen krystallinisch ab. Bequemer erhält man es durch mehrstündige Einwirkung von 0,5 proc. Blausäurelösung auf Oxyhämoglobinlösung bei Körpertemperatur (nicht in der Kälte). Mit Hämoglobin reagiert Blausäure nicht, beim Einleiten von Cyangas in eine Hämoglobinlösung entsteht allmählich Cyanhämoglobin, aber nicht durch Einwirkung von Cyangas auf Kohlenoxyd- oder Stickoxydhämoglobinlösung.

Eigenschaften.

Das aus Methämoglobin dargestellte Cyanhämoglobin krystallisierte in manchen Fällen in langen, hygroskopischen Prismen mit ungefähr 5,7 pCt. Krystallwasser, in anderen Fällen in weniger hygroskopischen Rhomben mit ungefähr 10,4 pCt. Krystallwasser. Sie enthalten 0,158 pCt. Cyan. Die Krystalle sind in Wasser leicht löslich mit roter, einen Stich in's Gelbliche zeigender Farbe.

---

1) Ueber Cyanmethämoglobin u. den Nachweis der Blausäure. Stuttgart, Enke 1891. Pfl. A. **82**. 603. (1900.)

2) H.-S. **33**. 426. (1901.)

3) J. of Ph. **25**. 230. (1900.)

Neutrale und ebenso schwach alkalische Lösungen zeigen übereinstimmend einen breiten Streifen im Grün, ähnlich dem Hämoglobinspectrum, aber etwas nach Violett verschoben. Schütteln mit Luft ändert das Spectrum nicht. Spectrum.

Beim Erwärmen im Vacuum auf 40°, ebenso beim Durchleiten indifferenter Gase wird keine Blausäure abgegeben, wohl aber beim Kochen unter gewöhnlichem Druck. Beim Einleiten von Schwefelwasserstoff in eine vollkommen sauerstofffreie Lösung von Cyanhämoglobin findet eine Umwandlung in Hämoglobin statt. Schwefelammonium bewirkt Umwandlung in Hämoglobin (Ziemke und Müller). Mineralsäuren bewirken Zersetzung unter Braunfärbung. Umwandlungen.

414. **Acidhämoglobin.** Dieser aus Blutfarbstoff durch Einwirkung ganz schwacher Säuren, auch durch Kohlensäure, entstehende Körper wurde früher für identisch mit Methämoglobin gehalten, ist aber nach Harnack[1]) von diesem zu unterscheiden. Seine Lösungen zeigen dieselbe braune Farbe, wie die Methämoglobinlösungen und auch einen Streifen im Rot, der aber mehr rotwärts verschoben ist. Durch weitere Säurewirkung wird es leicht in Hämatin und Eiweiss gespalten. Isolierung und nähere Untersuchung stehen noch aus.

415. **Kathämoglobin** nennt van Klaveren[2]) einen Körper, der aus Hämoglobin und Methämoglobin durch Abspaltung eines organischen, wasserlöslichen, diffusionsfähigen, eisenhaltigen Complexes entsteht, sich aber von jenen Körpern, abgesehen von einem geringeren Eisengehalt, in der Zusammensetzung kaum unterscheidet. Man erhält ihn durch Versetzen von 100 ccm einer möglichst concentrierten Blutfarbstofflösung mit 200 ccm 96 proc. Alkohols und 1—2 ccm gesättigter Kalilauge, Erhitzen auf 60°, sofortiges Neutralisieren mit Salzsäure, Abkühlen und starkes Verdünnen mit destilliertem Wasser als Niederschlag, der durch Waschen mit Wasser, Lösen in 60proc. Alkohol unter Zusatz von Kochsalz bei 60° und Wiederfällen mit Wasser gereinigt werden kann. Man erhält ihn ferner durch Schütteln einer Methämoglobinlösung mit dem gleichen Volum Alkohol als Niederschlag, der in der angegebenen Weise gereinigt wird. Darstellung.

Es ist in Wasser und Alkohol unlöslich, löslich in kochsalzhaltigem Alkohol, besonders beim Erwärmen, mit schön roter Farbe. Diese Lösung zeigt 2 Streifen zwischen D und b, einen schmäleren und schwächeren nach D zu und einen breiteren stärkeren, der bis zur Linie b reicht. Beim Erhitzen wird die Farbe braun und das Spectrum des alkalischen Hämatins tritt auf, beim Abkühlen kehrt die rote Farbe und das ursprüngliche Spectrum zurück. Auf Zusatz von Alkali erscheint der Streifen des Hämatins und fügt man nun Stokes'sche Lösung(Anh.) hinzu, so sieht man die beiden Streifen des Hämochromogens. Eigenschaften.

Arnold[3]), der diesen Körper zuerst beschrieben hat, hielt ihn für Hämatin und nannte ihn neutrales Hämatin; er enthält aber Eiweiss, ist also noch ein Proteid, aus dem erst durch stärkeres oder längeres Erwärmen mit alkoholischer Kalilauge Hämatin abgespalten wird.

416. **Sulfhämoglobin, Schwefelmethämoglobin.** Sulfhämoglobin entsteht nach Harnack[1]) beim Durchleiten von Schwefelwasserstoff durch Lösungen von Blutfarbstoff oder Kohlenoxydhämoglobin, nicht aber nachdem die Lösung vorher etwas stärker alkalisch gemacht oder angesäuert oder nachdem ein Kohlensäurestrom durch sie Sulfhämoglobin.

---

1) H.-S. **26.** 558. (1899.)
2) H.-S. **33.** 293. (1901.)
3) H.-S. **29.** 78. (1900.)

Spectrum. gegangen ist. Die Lösungen sind dunkelrot und zeigen einen Streifen im Rot zwischen C und D. Clark und Hurtley[1]) fanden, dass Sulfhämoglobin und Kohlenoxydsulfhämoglobin, welch' letzteres sowohl durch Einleiten von Kohlenoxyd in eine Sulfhämoglobinlösung als auch durch Einleiten von Schwefelwasserstoff in eine Kohlenoxydhämoglobinlösung erhalten wird, sich durch die Lage der Streifen unterscheiden. Der Streifen des Sulfhämoglobins liegt von λ 610—625, der des Kohlenoxydsulfhämoglobins etwas mehr nach D zu von λ 605—620. Der Bildung des Sulfhämoglobins geht die Reduction des Blutfarbstoffs zu Hämoglobin voraus (Clark und Hurtley). Durch verdünnte Säuren findet Spaltung in Schwefelwasserstoff und Acidhämoglobin statt. Ein Isolierung der Substanz ist noch nicht ausgeführt worden.

Schwefelmethämoglobin. Beim gleichzeitigen Durchleiten von Schwefelwasserstoff und Sauerstoff (oder Luft) durch Blut oder beim Durchleiten von Schwefelwasserstoff allein durch neutrale Oxyhämoglobinlösungen tritt eine starke Aenderung der Färbung (grün in dünneren, rot in dickeren Schichten) ein (Hoppe-Seyler und Araki[2]). (Nach Harnack entsteht hierbei zunächst auch Sulfhämoglobin, dann alsbald tiefgreifende Zersetzung). Hoppe-Seyler nennt den hierbei sich bildenden Farbstoff Schwefelmethämoglobin. Derselbe bedingt die grüne oberflächliche Färbung faulender blutiger Organe (Bauchdecken der Leichen usw.)

Spectrum. Es ist ausgezeichnet durch 2 Absorptionsstreifen im Rot, die bei der spectroskopischen Prüfung ins Auge fallen. Der eine beginnt noch ein wenig vor der Linie C, fasst dieselbe in seinen Rand ein, der andere nimmt ungefähr die Mitte zwischen C und D ein; zwischen beiden Streifen ist aber kein helles Licht zu sehen, sondern eine Beschattung, welche beide dunklere Streifen mit einander verbindet. Zwischen D und E sind auch nach sehr anhaltender Behandlung mit Schwefelwasserstoff und Luft noch die beiden Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobins (§ 408) zu sehen. Lässt man starke Natronlauge auf Schwefelmethämoglobin bei gewöhnlicher Temperatur einwirken, so verschwindet der Streifen an der Linie C nicht, wohl aber der Streifen mitten zwischen C und D. Erhitzt man die Lösung dann unter Zusatz von etwas Schwefelammonium, so verschwinden alle Absorptionsstreifen im Rot und es sind allein die schönen Absorptionsstreifen des Hämochromogens zu sehen. Diese Spectralumwandlungen beweisen, dass durch Erwärmen in stark alkalischer Lösung der Schwefel aus der Verbindung herausgelöst und Hämochromogen gebildet wird.

Rote Farbstoffe der Vanessen. 417. Die roten Farbstoffe der Vanessen sind von v. Linden[3]) eingehend untersucht worden und gehören nach ihr in die Gruppe der Proteide. Krystallisationsfähig, löslich in kaltem und heissem Wasser, Glycerin, conc. Mineralsäuren, weniger in Chloroform, unlöslich in absol. Alkohol, Aether, Schwefelkohlenstoff. Sie geben viele der Fällungsreactionen der Eiweissstoffe, die Millon'sche und Xanthoproteinreaction, ferner die Gmelin'sche Reaction. Das Absorptionsspectrum ist dem des Urobilin ähnlich; mit dem Urobilin stimmen sie auch darin überein, dass auf Zusatz von Ammoniak und Chlorzink grüne Fluorescenz eintritt.

Salzsaurer Alkohol bewirkt eine Spaltung in eine gefärbte alkohollösliche und eine ungefärbte wasserlösliche Componente.

Nucleoproteide (und Nucleinsäuren).

Vorkommen. 418. Unter Nucleoproteiden, welche in den Organismen sehr verbreitet sind und sich hauptsächlich in den Zellkernen finden, versteht man

---

1) J. of Ph. **36**. 62. (1907.)
2) H.-S. **14**. 412. (1890.)
3) Pfl. A. **98**. 1. (1903.)

lockere und festere Verbindungen von Nucleinsäuren (§ 436) und Eiweiss. Aus jedem Organ sind Nucleoproteide in mehr oder weniger reinem Zustand dargestellt worden. Genauer untersucht sind bis jetzt nur wenige. Da die einzelnen Nucleoproteide verschiedene Eiweissstoffe und Nucleinsäuren und beide auch in verschiedenen Mengenverhältnissen enthalten, so zeigen sie in Zusammensetzung und Eigenschaften nicht unerhebliche Unterschiede. Sie enthalten alle Phosphor, viele auch Eisen und stellen amorphe Substanzen saurer Natur dar, deren in Wasser lösliche Alkaliverbindungen durch Essigsäure gefällt werden. Gegen Neutralsalze (Aussalzen) verhalten sie sich verschieden, ebenso gegen die Farbenreactionen. Alle geben die Biuretreaction, viele auch die Phloroglucin- und Orcinreaction (§ 108) (siehe Blumenthal[1]). Sie sind so weit untersucht rechtsdrehend (Gamgee und Jones[2]). Allgemeine Eigenschaften.

Die genuinen eiweissreichen Nucleoproteide werden beim Erhitzen ihrer Alkalisalzlösungen unter Abscheidung von coaguliertem Eiweiss in eiweissärmere, phosphorreichere umgewandelt. Diese letzteren (ebenso auch die genuinen) werden durch Pepsinsalzsäure weiter zerlegt in Eiweiss, das in Albumosen und Peptone übergeführt wird, und sich abscheidendes Nuclein (siehe unten). Indessen fanden Milroy[3]) und Umber[4]), dass das Nucleoproteid aus Pancreas allmählich fast völlig in Lösung geht u. z., wie besonders aus den Untersuchungen von Umber hervorgeht, unter Abspaltung einer Säure von den Eigenschaften der Nucleinsäuren (Guanylsäure) und Bildung phosphorfreier Albumosen und Peptone. Durch Trypsinverdauung ging diese Spaltung noch viel schneller vor sich. Auch in den Geweben finden sich Fermente, welche die Nucleoproteide weitgehend bis zur Bildung von Purinbasen spalten können. Manche erfahren die Spaltung in Eiweiss und Nuclein auch schon durch ganz verdünnte Salzsäure allein und manche werden durch Salzsäure (ganz verdünnte) direct in Eiweiss und Nucleinsäure zerlegt. Durch die Einwirkung von Alkalien erfolgt die Spaltung in Eiweiss und Nucleinsäure und beim Kochen mit Säuren entstehen die Spaltungsproducte der Eiweissstoffe und der Nucleinsäuren. Unter den letzteren sind vielfach auch Pentosen gefunden worden. Spaltungen.

Die Nucleine, im Körper nicht vorkommende, in Wasser und verdünnten Säuren unlösliche oder nur wenig lösliche, in Alkalien lösliche, in Barytwasser ganz unlösliche (Giertz[5]), amorphe Substanzen sind ebenfalls Nucleoproteide, denn sie stellen auch noch Verbindungen von Eiweiss und Nucleinsäuren dar, unterscheiden sich aber von ihren Muttersubstanzen durch ihren stärker sauren Charakter, ihren höheren Phosphorgehalt und durch ihre Widerstandsfähigkeit gegen Pepsinsalzsäure, welche allerdings keineswegs eine absolute ist (Milroy). Durch Trypsinverdauung werden sie gespalten. Nucleine.

Zur Charakterisierung einer Substanz als Nucleoproteid (besonders zur Nachweis.

1) B. k. W. 1897. S. 245., Z. f. k. M. **34**. 166. (1898.)
2) B. Ph. P. **4**. 10. (1904.)
3) H.-S. **22**. 307. (1897.)
4) Z. f. k. M. **43**. 282. (1901.)
5) H.-S. **28**. 115. (1899.)

Unterscheidung von anderen den Nucleoproteiden in mancher Beziehung ähnlich sich verhaltenden Proteiden) dient der Phosphorgehalt und der Nachweis von Nucleinbasen unter den hydrolytischen Zersetzungsproducten.

Nucleoproteide aus Thymus wurden von Lilienfeld[1]) zuerst untersucht. Ihre genauere Kenntnis verdanken wir Huiskamp[2]), Malengreau[3]) und besonders Bang[4]).

Darstellung. 419. Nucleohiston (von Bang nucleinsaures Histon genannt) fällt zusammen mit anderen Stoffen aus dem centrifugierten und filtrierten 1 bis 2tägigen Wasserauszug auf Zusatz von soviel Calciumchlorid, dass die Flüssigkeit 0,2 pCt. enthält (Huiskamp). Zur Reinigung nach Bang wird der Niederschlag centrifugiert, mit Alkohol vermischt, centrifugiert, der Niederschlag nach Abgiessen des Alkohols mit Wasser angerührt und nach einigen Stunden filtriert. Der Filterrückstand wird mit 2 proc. Kochsalzlösung verrieben und nach 24 Stunden filtriert. Aus dem wasserklaren, schwach bläulich fluorescierenden Filtrat fällt das Nucleohiston als Alkaliverbindung auf Zusatz von soviel Wasser, dass der Kochsalzgehalt 1 pCt. beträgt, aus. Es wird abfiltriert, in Wasser gelöst und auf's Neue durch Zusatz von Calciumchlorid (bis zum Betrage von 0,2 pCt.) gefällt. Lösung und Fällung mit Calciumchlorid wird nochmals wiederholt. C 43,69; H 5,60; N 16,87; S 0,47; P 5,23; Ca 1,71; Asche 8,57 pCt.

Eigenschaften. Nucleohiston ist in Wasser ganz unlöslich, die Alkali- und Ammoniakverbindungen sind leicht löslich. Zusatz von Kochsalz ruft Niederschlag hervor, der aus Nucleohistonnatrium besteht; die Lösung ist aber wieder ganz wasserklar, wenn der Kochsalzgehalt 2 pCt. beträgt. Mehr Kochsalz ruft wieder Niederschlag hervor, welcher aber aus Histon besteht (siehe weiter unten). Zusatz von Ammonsulfat bewirkt ebenfalls Niederschlag, welcher im Ueberschuss verschwindet, um von 70 pCt. Sättigung an wieder aufzutreten. Es handelt sich immer um unveränderte Substanz. Zusatz von Magnesiumsulfat ruft auch Niederschlag hervor, der im Ueberschuss (2 pCt.) wieder verschwindet und auch bei Sättigung nicht wiederkehrt. Ammoniak, Kalk- und Barytwasser rufen Niederschlag hervor unter gleichzeitiger Spaltung. Der durch Ammoniak bewirkte ist Histon. Vorsichtiger Zusatz von Essigsäure und Mineralsäuren scheiden das Nucleohiston unverändert ab, aber schon ein Gehalt von 0,3 pCt. Salzsäure spaltet die Verbindung ziemlich vollständig unter Abscheidung von Nucleinsäure. Biuret- und Millon'sche Reaction positiv, Adamkiewicz'sche negativ.

Spaltung. Durch Salzsäure, Barytwasser, Sättigung der Lösung mit Kochsalz

---

1) H.-S. **18**. 473. (1895.)

2) H.-S. **32**. 145. (1901.), **34**. 32. (1901/02.), **39**. 55. (1903.)

3) La Cellule. **17**. 339, **19**. 283, **21**. 121. Ref. Maly's Jbr. 1900 S. 38, 1901 S. 43, 1903 S. 45.

4) H.-S. **30**. 508. (1900.) B. Ph. P. **4**. 115 u. 331. (1904.), **5**. 317. (1904.)

(Bang) wird das Nucleohiston gespalten in Nucleinsäure, Histon und Parahiston (Bang).

Optische Eigenschaften.

Ein nicht weiter gereinigtes, durch Extraction des nach dem alten Verfahren von Lilienfeld gewonnenen Präparates mit 5proc. Ammonacetatlösung erhaltenes Nucleoproteid drehte rechts. $[\alpha]_D = +37{,}5^0$ (Gamgee und Jones[1]).

Darstellung.

420. Ein zweites Nucleoproteid fällt aus dem Filtrat der Chlorcalciumfällung (siehe §419) auf Zusatz von Essigsäure oder Salzsäure, löslich im Ueberschuss, besonders der Salzsäure (Huiskamp). Man kann es auch den zerkleinerten Drüsen durch 0,9proc. Kochsalzlösung entziehen (wobei das Nucleohiston nicht in Lösung geht) und durch Fällung des Auszugs mit Essigsäure erhalten (Bang). C 50,08; H 7,18; N 16,11; P 0,97; S 1,145; Asche 3,11 pCt. (Huiskamp). Aehnliche Zusammensetzung fand auch Bang.

Eigenschaften.

Durch Calciumchlorid ist es nur sehr unvollkommen fällbar, durch Alkalisalz gar nicht. Durch Sättigung seiner Lösung mit Kochsalz oder Magnesiumsulfat und durch Halbsättigung (beginnend bei 25—30proc. Sättigung) mit Ammonsulfat wird es gefällt. Dieser durch Ammonsulfat hervorgerufene Niederschlag löst sich nicht wieder völlig in Wasser. (Es wird also durch Ammonsulfat leichter ausgefällt als das Nucleohiston und auf dieses verschiedene Verhalten gründete Malengreau sein Trennungsverfahren). Reactionen von Millon und Adamkiewicz positiv.

Spaltung.

Während die Substanz nach Huiskamp durch Salzsäure nicht gespalten wird, findet nach Malengreau und Bang Spaltung statt u. z. in einen dabei in Lösung gehenden, phosphorfreien Teil, welcher bei vorsichtigem Zusatz von Ammoniak schon bei schwach saurer Reaction ausfällt (Acidalbuminat nach Bang) und einen ungelöst bleibenden Teil, Nuclein. Auch bei Behandlung des Nucleoproteids mit Magensaft entsteht Nuclein, in dem sich von Nucleinbasen hauptsächlich Adenin findet (Huiskamp). Nach Bang wird das Nucleoproteid schon durch Behandlung mit verdünnter Essigsäure in zwei Componenten gespalten, wovon die eine sehr leicht, die andere ziemlich schwer in verdünntem Alkali löslich ist, so dass Essigsäure kein indifferentes Mittel zur Ausfällung dieses Nucleoproteids ist.

Dieses Proteid ist in der Drüse in geringerer Menge vorhanden als das Nucleohiston.

421. **Nucleoproteide aus anderen lymphatischen Organen**[2]). Nach demselben Verfahren wurde von Bang aus Lymphdrüsen, Milz und einem lymphatischen Rundzellensarkom ein Proteid gewonnen, welches abgesehen von einigen reactionellen Unterschieden (die Alkaliverbindung und auch der Chlorcalciumniederschlag sind in 1 proc. Kochsalzlösung löslich) mit dem Nucleohiston (§ 419) übereinstimmt. Im roten Knochenmark scheint es nicht vorzukommen. Ein Proteid von den Eigenschaften des zweiten Nucleoproteids aus Thymus (§ 420) (0,83 pCt. P) liess sich aus den Lymphdrüsen gewinnen. Auch im Rundzellensarkom war eines vorhanden.

Ein aus Milz durch Fällung des Natriumbicarbonatauszuges sowie des durch

1) B. Ph. P. **4**. 10. (1904.)
2) Bang, B. Ph. P. **4**. 362. (1904.)

Kochen mit Wasser erhaltenen Auszuges mit Essigsäure gewonnenes Nucleoproteid wurde von Levene und Mandel[1]) auf seine Spaltungsproducte untersucht.

422. **Nucleoproteid aus Gänseblutkörperchen**[2]). Die abcentrifugierten mit 0,8 proc. Kochsalzlösung und mit Wasser gewaschenen Blutkörperchen werden in einer höchstverdünnten Natronlauge (unter 0,1 prom. NaOH) gelöst. In dieser Lösung ruft Calciumchlorid einen Niederschlag hervor, der mit 5 proc. Kochsalzlösung behandelt wird. Aus dem Filtrat fällt auf Zusatz von mehreren Volumen Wasser ein Niederschlag, welcher sich dem Nucleohiston (§ 419) ähnlich verhält. Seine wässerige Lösung beginnt aber schon bei einem Gehalt von 0,075 pCt. NaCl sich zu trüben, bei einem Gehalt von 1,7 pCt. fängt die Klärung wieder an; bei der Spaltung durch Sättigung mit Kochsalz wurde Nucleinsäure und Histon erhalten, aber kein Parahiston. Ein Proteid von den Eigenschaften des zweiten Nucleoproteids aus Thymus (§ 420) war nicht vorhanden.

423. **Nucleoproteid aus Knochenmark**[3]) fällt beim schwachen Ansäuern des wässerigen Auszuges des Knochenmarks mit Essigsäure aus und wird durch Lösen in Natriumcarbonat und abermaliges Fällen mit Essigsäure gereinigt. Schneeweisses Pulver. C 45,01; H 5,91; N 14,21; P 1,78; S 0,315 pCt. Orcinsalzsäurereaction (§ 108) positiv.

Darstellung. 424. **Nucleoproteide aus Nebennieren**[4]). Die von Fett befreite und zerkleinerte Drüse (von Schafen und Rindern) wird nach einer aufeinander folgenden Behandlung mit 70 proc., 95 proc. und absol. Alkohol und Aether fein zerrieben, mit wenig 2 proc. Ammoniak und darauf mit Wasser behandelt. Die beiden durch Leinen gepressten vereinigten, unfiltrierbaren Extracte werden in der Kälte mit Essigsäure angesäuert und von einer dabei sich abscheidenden schleimigen Substanz abfiltriert. Das klare rotbraune Filtrat scheidet beim Eingiessen in das vierfache Volumen Alkohol das Nucleoproteid als Ammoniumsalz in völlig weissen Flocken ab. Aus seiner wässerigen Lösung fällt auf Zusatz von Essigsäure das Nucleoproteid aus.

Eigenschaften. C 46,22; H 6,10; N 17,92; P 4,70 pCt. (Schaf); C 46,81; H 6,38; N 17,85; P 4,72 pCt. (Rind). Wenig löslich in Wasser, leicht in Alkalien und Ammoniak, durch Essigsäure fällbar und erst in grossem Ueberschuss der Essigsäure wieder löslich. Calciumchlorid ruft in der mit wenig Ammoniak hergestellten Lösung keinen Niederschlag hervor. Biuret- und Xanthoproteinreaction positiv, Millon's Reaction sehr schwach. $[\alpha]_D = +48{,}1^{05}$).

Spaltung. Bei der Spaltung entstehen von Nucleinbasen nur Guanin und Adenin, und zwar in dem Verhältniss 4 : 1, ferner Thymin.

425. **Nucleoproteid aus Thyreoidea** wurde von Oswald[6]) aus dem Auszug der Schilddrüse mit physiologischer Kochsalzlösung nach Entfernung des Thyreoglobulins (durch Versetzen des Auszugs mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung) durch Sättigen mit Ammonsulfat abgeschieden. Jodfrei, 0,16 pCt. P enthaltend. In salzhaltigem Wasser und Alkali löslich, durch verdünnte Säure fällbar, in 10 proc. Magnesiumsulfatlösung bei 73° gerinnend.

---

1) H.-S. **47**. 151. (1906.), B. Z. **5**. 33. (1907.)
2) Bang, B. Ph. P. **5**. 317. (1904.)
3) Wohlgemuth, Arb. aus dem path. Inst. zu Berlin. 1906. S. 627.
4) Jones u. Whipple, A. J. of Ph. **7**. 423. (1902.)
5) Gamgee u. Jones, B. Ph. P. **4**. 10. (1904.)
6) H.-S. **27**. 35. (1899.)

426. **Nucleoproteid aus Leber**[1]). In der Leber sind eisenhaltige Nucleoproteide enthalten, welche durch Fällung des Wasserauszugs mit Essigsäure gewonnen werden können und beim Kochen Abspaltung von Eiweiss erfahren, so dass phosphorreichere Nucleoproteide entstehen. Ein solches durch Zerfall eines grösseren Moleküls entstandenes Nucleoproteid ist von Wohlgemuth genauer untersucht worden. Es wurde in folgender Weise erhalten: Frische fein zerhackte Lebern werden wiederholt, jedesmal 10 Minuten lang, mit Wasser ausgekocht, die Extracte vereinigt und mit Essigsäure ausgefällt. Der Niederschlag wird durch längeres Stehen unter häufig gewechseltem Alkohol und Aether von Fett befreit und dann durch Lösen in Natriumcarbonat und Ausfällen mit Essigsäure gereinigt. Lösen und Fällen wurde mehrmals wiederholt. Darstellung.

C 45,22; H 5,72; N 16,67; P 3,06; S 0,64 pCt. (auf aschefreie Substanz berechnet*). Die Substanz liefert bei der Spaltung Glykokoll, Alanin, Leucin, Glutaminsäure, Asparaginsäure, Arginin, Lysin, Histidin (?), Phenylalanin, Tyrosin, α-Prolin, Oxyaminokorksäure, Oxydiaminosebazinsäure, Xanthin, Hypoxanthin, Guanin, Adenin, l-Xylose. Ueber die Mengen der einzelnen isolierten Substanzen siehe die Originalarbeit. Spaltung.

427. **Nucleoproteide aus Pancreas:**

1. Nucleoproteide α und β. Nucleoproteid α, von Hammarsten[2]) zuerst aufgefunden, lässt sich nach Umber[3]) durch Extrahieren der frisch zerkleinerten Drüsen mit physiologischer Kochsalzlösung, Fällen des klaren Filtrats mit Essigsäure, Decantieren des Niederschlags mit essigsäurehaltigem Wasser, Lösen in Wasser unter Zusatz von möglichst wenig Soda, schnelles Filtrieren, Wiederholung der Fällung und Behandlung des Niederschlags mit Alkohol und Aether erhalten, aber nur dann, wenn zur Vermeidung der Selbstverdauung des Organs alle Operationen bei niederer Temperatur ausgeführt werden. Mittlere Zusammensetzung C 51,35; H 6,81; N 17,12; P 1,67; S 1,29; Fe 0,13 pCt. Es ist in Wasser unlöslich, in Laugen löslich, beim Ansäuern sich wieder abscheidend, in schwacher Essigsäure unlöslich, in starker zum Teil löslich. Nucleoproteid α.

Beim Kochen mit Wasser wird es gespalten und es lässt sich aus dem klaren Filtrat durch Essigsäure ein viel phosphorreicheres Nucleoproteid abscheiden. Ein solches phosphorreiches, eisenhaltiges Nucleoproteid-β mit 4,48 pCt. P erhielt Hammarsten[2]) durch Kochen der Pankreasdrüse Nucleoproteid β.

---

*) Vermutlich war dieser Körper auch eisenhaltig. Das von Schmiedeberg nach demselben Verfahren aus Schweineleber erhaltene Ferratin enthält 6 pCt. Fe. Dieses muss seiner Darstellung nach auch ein Nucleoproteid sein. A. exp. P. u. Ph. **33**. 106. (1894.)

1) Wohlgemuth, H.-S. **37**. 475. (1902/03.), **42**. 519. (1904.), **44**. 530. (1905.) B. **37**. 4362. (1904.)

2) H.-S. **19**. 19. (1894.)

3) Z. f. kl. M. **40**. 464. (1900.)

mit Wasser und Fällen des Filtrats mit verdünnter Salzsäure oder Essigsäure. (Andere nach dem gleichen Verfahren dargestellte Präparate enthielten geringeren Phosphorgehalt[1]). $[\alpha]_D = + 97{,}9^0$ (Gamgee und Jones). Das durch Pepsin-Salzsäure abgespaltene Nuclein enthält 5,2 pCt. P. Beim Erhitzen mit Alkali im Wasserbade bildet sich u. a. Alkalialbuminat, Eisenoxydhydrat und guanylsaures Alkali (§ 441); beim Kochen mit Säuren entsteht u. a. Guanin (keine andere Nucleinbase) und l-Xylose (Neuberg[2]). Ueber die Einwirkung von Verdauungsenzymen siehe § 418.

2. Ein zweites Nucleoproteid wurde von Jones und Whipple[3]) nach dem in § 424 angegebenen Verfahren aus Schweinepancreas dargestellt. C 45,23; H 6,26; N 17,42; P 5,05 pCt. $[\alpha]_D = + 37{,}5^0$ (Gamgee und Jones). Bei der Spaltung lieferte es von Nucleinbasen Guanin und Adenin und zwar ebenso wie die Nebennierennucleoproteide im Verhältnis 4 : 1, ausserdem wahrscheinlich auch Thymin.

Ueber das Vorkommen von Pyrimidinbasen in einem Pancreasnucleoproteid siehe auch Levene und Stookey[4]).

428. **Nucleoproteid aus Hepatopancreas von Octopus**[5]). Die zerschnittenen und mit Alkohol und Aether, darauf mehrmals mit Wasser behandelten Organe wurden wiederholt mit 0,5 prom. Sodalösung extrahiert. Aus der klar filtrierten Lösung fiel auf Zusatz von Essigsäure das Nucleoproteid. Lösung und Fällung wurde mehrmals wiederholt, der Niederschlag dann mit Wasser, Alkohol und Aether gewaschen. Fast weisses Pulver. N 14,23; P 0,92; Cu 0,96 pCt. Eiweiss- und Pentosereactionen positiv. Bei der Hydrolyse werden Nucleinbasen abgespalten.

429. **Nucleoproteid aus Submaxillardrüse.** Die fein zerschnittenen und ausgewaschenen, dann in gefrorenem Zustande mit Sand fein zerriebenen Drüsen werden mit Wasser, das durch Centrifugieren abgetrennt wird, ausgewaschen, bis es mit Essigsäure keine Trübung mehr gibt, dann mit 0,05 proc. Ammoniak 24 Stunden lang behandelt (Holmgren[6]). Aus der durch Centrifugieren getrennten Flüssigkeit fällt durch Essigsäure das in überschüssiger Essigsäure lösliche Proteid (15 pCt. N). Das durch Pepsin-Salzsäure abgespaltene Nuclein enthält 2,9 pCt. P. Unter den Nucleinbasen wurden Xanthin und Guanin nachgewiesen. Nach dem Kochen mit Säuren reduciert die Flüssigkeit Fehling'sche Lösung.

430. **Nucleoproteid aus Milchdrüse** erhielt Odenius[7]) durch Aufkochen der fein zerhackten Kuheuter mit Wasser und Fällen des klaren erkalteten Filtrats mit verdünnter Essigsäure. Durch wiederholtes Auflösen in Wasser mit Hülfe von möglichst wenig Alkali und Fällen mit Säure sowie durch Extraction mit Alkohol und Aether wurde es gereinigt. Mittlere Zusammensetzung C 47,02; H 6,10; N 17,27; S 0,889; P 0,277; Asche 0,942 pCt. Ziemlich leicht zersetzlich. Beim Kochen mit verdünnter Säure wird Pentose und reichlich Guanin abgespalten; andere Nucleinbasen wurden nicht gefunden.

431. **Nucleoproteid aus Placenta**[8]). Das fein zerhackte und mit Wasser gewaschene Gewebe wird mit 0,5, 5 und 10 proc. Kochsalzlösung extrahiert. Der aus den Extracten durch Essigsäure gefällte Niederschlag wird in ammoniakhaltigem Wasser

1) H.-S. **35**. 111. (1902.)
2) B. **35**. 1467. (1902.)
3) A. J. of Ph. **7**. 423. (1902.)
4) H.-S. **41**. 404. (1904.)
5) Henze, H.-S. **55**. 433. (1908.)
6) Maly's Jbr. 1897. S. 36.
7) Maly's Jbr. 1900. S. 39.
8) Savarè, B. Ph. P. **II**. 73. (1908.)

gelöst, wieder gefällt und Lösung und Fällung wiederholt, der Niederschlag schliesslich mit Alkohol, Aether und Chloroform extrahiert. C 50; H 7,3; N 15; S 1; P 0,45 pCt. Biuret-, Xanthoprotein-, Millon's und Adamkiewicz's Reaction positiv. Nach der Hydrolyse sind Pentose und Nucleinbasen nachweisbar.

432. **Nucleoproteid aus Muskeln.** Durch Extraction der vorher mit Wasser behandelten quergestreiften Muskeln mit 0,15 proc. Sodalösung und Fällung des Auszugs mit Essigsäure von Pekelharing[1]) in geringer Menge erhalten, in Wasser unlöslich. Unter den Nucleinbasen hauptsächlich Xanthin, wenig Guanin.

433. **Nucleoproteid aus Gehirn**[2]). Die Gehirnmasse wird mit 4 proc. Ammoniumchloridlösung und darauf wiederholt mit Wasser extrahiert. Die durch Decantation getrennten Flüssigkeiten wurden durch wiederholte Filtration vollständig geklärt und durch Essigsäure gefällt. Der Niederschlag wird mit angesäuertem Wasser und dann mit Wasser ausgewaschen, bis das Waschwasser keine Biuret- und Chlorreaction mehr zeigt. C 42,36; H 5,90; N 15,46; S 1,28; P 0,56 pCt.

Das Nucleoproteid ist frisch gefällt löslich in schwachen Alkalien, verliert aber diese Löslichkeit durch längere Einwirkung von angesäuertem Wasser. Bei der Hydrolyse entstehen von Nucleinbasen nur Guanin und Adenin. Durch Pepsinsalzsäure wird Nuclein (1,42 pCt. P) erhalten.

434. **Nucleoproteid aus elastischem Gewebe**[3]). Das rein präparierte und in Streifen geschnittene Ligament. nuchae vom Rind wurde mit fliessendem Wasser behandelt, dann nach feiner Zerkleinerung mit Wasser extrahiert. Aus dem Filtrat fiel auf Zusatz von Essigsäure (0,5 ccm 36 proc. Säure auf 100 ccm) ein flockiger Niederschlag, welcher in 0,3 proc. Sodalösung gelöst wird. Lösung und Fällung wurde mehrmals wiederholt, der Niederschlag dann gewaschen und mit Alkohol und Aether behandelt. Phosphorgehalt 0,47 pCt. Bei der Hydrolyse entstehen Nucleinbasen.

435. **Nucleoproteid aus Blutserum.** Dieser von Pekelharing[4]) aufgefundene Körper wurde von Huiskamp[5]), Freund u. Joachim[6]) und zuletzt von Liebermeister[7]) untersucht.

Darstellung. Zu seiner Darstellung wurde in mit dem 20 fachen Volumen Wasser verdünntes Pferdeblutserum Kohlensäure eingeleitet, die Trübung (Nucleoproteid und Globulin) nach Absitzen und Entfernen der überstehenden Flüssigkeit durch Centrifugieren abgeschieden und mit etwa der 5 fachen Menge 1 proc. Kochsalzlösung vorsichtig übergossen. Nach 6 Stunden wird die Salzlösung, welche das Globulin gelöst hat, abgegossen, der schleimige fadenziehende Bodensatz in 1 proc. Kochsalzlösung unter Zusatz einer Spur Natriumcarbonat gelöst und die Lösung mit wenig verdünnter Essigsäure ausgefällt. Der Niederschlag wird filtriert, mit Alkohol, Aether, Choroform gereinigt.

Eigenschaften. C 51,85; H 7,24; N 14,03; P 0,083; Asche 0,34 pCt. In Wasser unlöslich, ebenso in 1 proc. Kochsalzlösung, in Sodalösung und Natronlauge

1) H.-S. **22**. 245. (1897.)
2) Levene, Arch. of Neurol. u. Psychopath. **2**. 1. (1899) abgedruckt bei W. J. Gies: Biochem. Researches, **1**. No. 12. (1903.)
3) Richards u. Gies, A. J. of Ph. **7**. 125. (1902.)
4) Untersuchungen über das Fibrinferment. Amsterdam 1892. S. 7.
5) H.-S. **32**. 190. (1901.)
6) H.-S. **36**. 422. (1902.)
7) B. Ph. P. **8**. 439. (1906.)

löslich. Durch Behandlung mit Alkohol verliert es diese Löslichkeit. Aus seiner schwach alkalischen Lösung wird es durch Ammonsulfat bei 38—44 pCt. Sättigung und durch Sättigung mit Magnesiumsulfat ausgefällt, ebenso durch Essigsäure. In überschüssiger Essigsäure löst es sich, aber viel schwerer als Globulin. Pekelharing trennt es auf diese Weise vom Globulin. Es wird auch durch Calciumchlorid gefällt, im Ueberschuss löst es sich wieder auf. Durch Calciumchlorid kann es auch aus Blutserum ausgefällt werden, am besten bei einem Gehalt von 0,1 pCt. $CaCl_2$ (Huiskamp). Biuret-, Millon's-, Xanthoprotein-, Molisch's-Probe positiv, Adamkiewicz's-Probe negativ.

Spaltung. Beim Kochen mit Salzsäure werden Nucleinbasen abgespalten.

436. **Nucleinsäuren**[1]) finden sich in lockerer oder festerer Verbindung mit Proteinen (speciell auch mit Histonen und Protaminen) in weiter Verbreitung in tierischen und pflanzlichen Geweben. Sie enthalten alle Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff, Sauerstoff und Phosphor.

Charakteristisch für sie ist ihr Gehalt an organisch gebundener Phosphorsäure und an Purinbasen. Der Nachweis der Phosphorsäure geschieht nach § 56, der Nachweis der Purinbasen (nach vorausgegangener Spaltung durch Kochen mit Salzsäure) durch Zusatz von überschüssigem Ammoniak und von Silbernitrat: es entsteht ein flockig gelatinöser Niederschlag (§ 133). Vor Verwechselung mit Nucleoproteiden, welche ihres Gehalts an Nucleinsäure wegen die Reactionen ebenfalls geben, schützt der negative Ausfall der Biuretreaction.

Man kennt heute von Nucleinsäuren tierischen Ursprungs die Thymonucleinsäure (oder die Gruppe der Thymonucleinsäuren) (§ 437), die Guanylsäure (oder die Gruppe der Guanylsäuren) (§ 441) und die Inosinsäure (§ 442). Erstere enthält Phosphorsäure, Purinbasen, Pyrimidinbasen und einen zu den Hexosen gehörigen Atomcomplex, letztere beiden enthalten Phosphorsäure, nur eine Purinbase, keine Pyrimidinbasen, keine Hexose, aber Pentose.

437. **Thymonucleinsäuren**. Zu ihrer Darstellung sind verschiedene Verfahren angegeben.

Darstellung nach Schmiedeberg. Nach Schmiedeberg[2]). Schmiedeberg gibt für die Darstellung

1) Miescher, Med. chem. Unters. von Hoppe-Seyler. Heft 4. S. 441. (1871.) Verh. d. naturf. Ges. zu Basel. **6**. 138. (1874.) A. exp. P. u. Ph. **37**. 100. (1896.)
Altmann, A. f. A. u. Ph. Ph. A. 1889. S. 524.
Kossel, Liebreich's Encykl. Bd. III. A. f. A. u. Ph. Ph. A. 1891. S. 181 u. 1893. S. 157.

2) A. exp. P. u. Ph. **57**. 309. (1907.), ferner A. exp. P. u. Ph. **37**. 100. (1896.) **43**. 57. (1900.), **57**. 309. (1907.)
Herlant, A. exp. P. u. Ph. **44**. 148. (1900.)
Alsberg, A. exp. P. u. Ph. **51**. 239. (1904.)

des Kupfersalzes der sogen. hydratischen*) Nucleinsäure folgende Vorschrift:

a) aus Lachsmilch. Die von den Schwänzen getrennten Köpfe (siehe Untersuchung des Sperma) werden zur Entfernung des Protamin mit einer Lösung von Kupferchlorid behandelt, durch Decantation mit warmem Wasser ausgewaschen und dieser Behandlung mit Kupferchlorid und Auswaschen solange unterzogen bis die Waschflüssigkeit keine Biuretreaction mehr gibt. Die von Gewebsresten durch Aufrühren in Wasser und Abschlemmen befreiten verkupferten Köpfe verteilt man in Wasser und fügt zur Entfernung eines Teils des Kupfers unter Umrühren ganz allmählich soviel ganz verdünnte Salzsäure hinzu, dass die Masse sich mit dem Glasstabe gerade noch pulverförmig zerreiben und zerteilen lässt, aber keine teigartige Beschaffenheit annimmt. Die auf diese Weise kupferarm gemachten Köpfe lässt man nun in einer grossen Menge 10 proc. Kochsalzlösung aufquellen und erhitzt dann zunächst auf dem Wasserbad, dann zum Sieden (siehe Fussnote*). Das Sieden ist solange, meist $^1/_2$—$^3/_4$ Stunde, fortzusetzen, bis die Flüssigkeit unter Abscheidung einer flockigen oder an der Wand haftenden Masse völlig klar geworden ist. Dazu ist in der Regel Zusatz von Kochsalz nötig. (Zur Prüfung, ob die Umwandlung eine annähernd vollständige ist, filtriert man eine kleine Menge ab und lässt erkalten. Die dabei in der Regel entstehende Trübung muss nach Zusatz von Wasser und Erwärmen verschwinden und darf beim Erkalten nicht wiederkehren. Ist letzteres der Fall, so muss das Erhitzen fortgesetzt werden, bis die Probe befriedigend ausfällt.) Man filtriert dann heiss. Ist das Filtrat nicht völlig klar, so muss es nach Verdünnen mit Wasser und nach Erkalten nochmals durch doppeltes Filter gehen. Die schwach blaugrüne krystallklare Flüssigkeit fällt man nun mit Kupferchlorid aus, neutralisiert mit Kali (um durch Ueberführung in ein unlösliches basisches Kupfersalz die Ausfällung vollständig zu machen), wäscht durch Decantation aus, entfernt durch Behandlung mit verd. Salzsäure und Auswaschen in der oben angegebenen Weise einen Teil des Kupfers, löst in alkaliacetathaltigem Wasser und fällt mit Kupferchlorid aus. Der Niederschlag wird durch Decantieren und dann auf gehärtetem Filter mit Wasser gewaschen, bis kein Chlor**) im Waschwasser nachzuweisen ist. (Wird die Filtration sehr langsam, so bringt man den Filterrückstand in ein Becherglas, rührt ihn mit etwas Wasser an, fügt das doppelte Vol. Alkohol hinzu und wäscht nun auf dem

aus Lachsmilch.

*) Nach Schmiedeberg findet sich die Nucleinsäure in der Lachsmilch, ebenso auch in der Thymus als „anhydrische“ in Alkaliacetaten unlösliche Form, welche durch Erhitzen mit Kochsalzlösung unter Wasseraufnahme in die „hydratische“, in Alkaliacetaten lösliche übergeht.

**) Um eine Täuschung durch ausfallendes nucleinsaures Silber zu vermeiden, erwärmt man nach Zusatz von etwas verdünnter Schwefelsäure, wobei die durch nucleinsaures Silber bedingte Trübung verschwindet.

Filter mit verdünntem Alkohol aus, bis weder in diesem noch im Niederschlag Chlor nachweisbar ist.) Das so hergestellte nucleinsaure Kupfer, welches völlig frei von Biuretreaction*) gebender Substanz ist, wird an der Luft unter häufigem Zerreiben getrocknet und dann mit Wasser in einer Reibschale zerrieben. Man schlemmt die feinsten Teilchen ab und fährt mit Verreiben und Abschlemmen fort, bis die ganze Masse in die feine Verteilung gebracht ist. Dann trocknet man das hellgrüne Pulver im Vacuum über Schwefelsäure.

aus Thymus. b) aus Thymus. Die möglichst von Blut und Bindegewebe befreite und feingehackte Drüsenmasse wird mit dem mehrfachen Volum Wasser verrührt, in einem Glaskolben stark geschüttelt, bis die Masse eine gleichmässig schleimige Beschaffenheit angenommen hat, mit soviel Essigsäure versetzt, dass auch beim Erhitzen schwachsaure Reaction besteht und nun gekocht, bis das Eiweiss coaguliert und die Flüssigkeit klar geworden ist. Die abfiltrierte und mit heissem Wasser ausgewaschene Drüsenmasse wird mit Kupferchlorid behandelt, nach Entfernung des Ueberschusses des letzteren durch Auswaschen in reichlicher Menge 20proc. Kochsalzlösung suspendiert und solange gekocht, bis die Flüssigkeit ganz klar geworden ist, was zuweilen erst nach weiterem Zusatz von Kochsalz in Substanz bis zur Sättigung der Fall ist. Aus dem klaren Filtrat wird die Nucleinsäure mit Kupferchlorid gefällt. Die weitere Behandlung geschieht wie unter a) angegeben.

Ein bedeutender Anteil Nucleinsäure bleibt in den Drüsenmassen zurück. Ueber seine Gewinnung siehe die Originalarbeit.

Ueber die Darstellung aus Pancreas**) und Thyreoida, über die Gewinnung der anhydrischen Säure aus Lachssperma, über die Darstellung von nucleinsaurem Natron aus Lachssperma und Thymus siehe die Originalarbeit.

nach A. Neumann. Nach A. Neumann[1]). 1 kg rein präparierte Thymus oder anderes Gewebe wird in schwach essigsäurehaltigem Wasser gekocht, fein zerhackt, in 2 Liter siedendes Wasser, dem vorher 100 ccm 33 proc. Natronlauge und 200 g Natriumacetat zugefügt waren, gebracht und auf dem Wasserbade am Rückflusskühler $^1/_2$ oder 2 Stunden gekocht, je nachdem man die Säure a oder b (s. unten) erhalten will. Nach der Neutralisation mit etwa 150 ccm 50 proc. Essigsäure wird (bei a durch Heisswassertrichter) filtriert, das Filtrat auf etwa $^1/_2$ bis 1 Liter eingedampft und nach dem Abkühlen auf etwa 40° durch das gleiche Volumen Alkohol gefällt. Das abgeschiedene Natronsalz löst man in 500 ccm Wasser, erhitzt auf

---

*) Schmiedeberg gibt eine genaue Vorschrift für die Ausführung dieser Reaction A. exp. P. u. Ph. **57**. 334. (1907.)

**) Im Pancreas scheint nach Schmiedeberg die hydratische Form vorgebildet zu sein.

1) Neumann, A. f. A. u. Ph. Ph. A. 1898. S. 374 u. 1899. Suppl. S. 552. Kossel u. Neumann, Ebendas. 1894. S. 194, B. **26**. 2753. (1893.) **27**. 2215. (1894.), Sitzungsb. d. k. pr. Akad. d. Wiss. 1894. S. 321., H.-S. **22**. 74. (1897.)

dem Wasserbade, bis die trübe Flüssigkeit einen Niederschlag abgeschieden hat und wieder klar geworden ist, filtriert und fällt mit Alkohol. Lösung und Fällung wird so lange wiederholt, bis Alkohol erst auf Zusatz von wenig Natriumacetat eine Fällung erzeugt, und nun die Lösung in die dreifache Menge salzsäurehaltigen Alkohols (2 ccm conc. Salzsäure auf 100 ccm Alkohol) eingegossen. Der Niederschlag (bei a voluminöser, als bei b) wird abfiltriert und bis zum Verschwinden der sauren Reaction mit Alkohol und zuletzt mit Aether gewaschen.

Die Säuren a und b unterscheiden sich nur dadurch, dass a noch schwerer in Wasser löslich ist als b, und dass a in einer mindestens 5 proc. mit Hülfe von Natriumacetat hergestellten Lösung gelatiniert, b nicht. Die a-Säure enthält noch Beimengungen der b-Säure und umgekehrt. Zur weiteren Reinigung hat Kostytschew[1]) ein Verfahren angegeben, welches auf der Steigerung der Gelatinierfähigkeit der Salze der a-Säure durch Zusatz mancher Salze beruht.

Nach Schmiedeberg ist die a-Säure mit der anhydrischen, die b-Säure mit der hydratischen identisch.

Zusammensetzung.

438. Die Thymonucleinsäuren enthalten Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff, Sauerstoff und Phosphor. Schmiedeberg hat für die nach seinem Verfahren aus Lachs- und Lota vulgaris-Spermatozoen, sowie aus Thymus dargestellten Nucleinsäuren die Formel $C_{40}H_{56}N_{14}O_{16} \cdot 2\,P_2O_5$ aufgestellt. Dieselbe Zusammensetzung zeigten die nach Neumann aus Darmschleimhaut[2]), aus Hamospermatozoen[3]), aus menschlicher Placenta[4]) gewonnenen, annähernd dieselbe die nach Bang[5]) aus Nucleohiston dargestellte, während die nach Kostytschew gereinigte Nucleinsäure a (aus Thymus) der Formel $C_{41}H_{74}N_{14}O_{26}P_4$ entsprach. Grössere Abweichungen in der Zusammensetzung von der obigen Formel zeigen die nach Neumann aus Milchdrüse[6]) und die von Levene[7]) nach einem besonderen Verfahren aus Milz, Milchdrüse, Maifischspermatozoen gewonnenen Nucleinsäuren, welche aber auch unter einander nicht übereinstimmen. Nach Schmiedeberg sind diese von den seinen abweichenden Analysenergebnisse auf die Methode der Darstellung zu beziehen[8]). Neuerdings ist von Steudel[9]) auf Grund quantitativer Spaltungs- und Oxydationsversuche für die Nucleinsäure a die Formel $C_{43}H_{57}N_{15}O_{30}P_4$ aufgestellt worden.

---

1) H.-S. **39**. 545. (1903.)
2) Inouye u. Kotake, H.-S. **46**. 201. (1905.)
3) Inouye, H.-S. **48**. 181. (1906.)
4) Kikkoji, H.-S. **53**. 411. (1907.) 5) B. Ph. P. **4**. 337. (1904.)
6) Loebisch, B. Ph. P. **8**. 191. (1906.)
7) H.-S. **45**. 370. (1905), **46**. 155. (1905), **50**. 1. (1906/07.)
8) A. exp. P. u. Ph. **57**. 332. (1907.)
9) H.-S. **53**. 14. (1907.), **56**. 212. (1908.)

Eigenschaften.

439. Die Thymonucleinsäuren*) sind pulverige Substanzen (die a-Säure weiss, die b-Säure noch der Reinigung rötlich), in Alkohol und Aether unlöslich, in kaltem Wasser unlöslich oder wenigstens sehr schwer löslich, sich mit Wasser in schleimige Massen verwandelnd, leicht löslich in Alkalien, Ammoniak, Alkalicarbonaten und -acetaten, durch Essigsäure nicht fällbar, aber durch Mineralsäuren. Sie bilden lösliche Salze mit Alkalien und lösliche neutrale Salze mit alkalischen Erden; die Salze auch der b-Säure sind weiss, ihre Lösungen farblos. Die basischen Salze der alkalischen Erden, sowie die Schwermetallsalze sind unlöslich in Wasser. Die Lösungen der b-sauren Salze gelatinieren nicht, die der a-sauren gelatinieren, wenn genügend concentriert. Verdünntere Lösungen der a-sauren Salze, welche an und für sich keine Neigung zum Erstarren zeigen, werden durch Zusatz von Salzen zum Gelatinieren gebracht und zwar entsteht eine gelatinöse Fällung, wenn Chloride oder Acetate alkalischer Erden zugefügt werden oder sich durch Umsetzung bilden können, während in den anderen Fällen die Flüssigkeit zu einer Gallerte erstarrt (Kostytschew). In neutraler und nicht zu stark alkalischer Lösung sind sie selbst beim Erhitzen auf dem Wasserbad beständig, beim Kochen mit stärkeren Alkalien färben sie sich gelb bis braun unter Entwickelung von Caramelgeruch. Die freien Säuren zersetzen sich beim Kochen.

In essigsaurer Lösung geben sie mit Eiweiss Niederschläge (künstliche Nucleine), die in Salzsäure schwer löslich oder unlöslich sind.

Biuretreaction negativ. Phloroglucinsalzsäurereaction**), soweit geprüft, positiv, während die Orcinsalzsäurereaction häufig versagt.

Diese Reaction ist aber wohl nicht auf einen Gehalt an Pentose zu beziehen. Dafür spricht unter anderem auch die ausserordentlich geringe Menge an Furfurol, welche bei Destillation mit Salzsäure erhalten wird. Siehe darüber die Ausführungen bei Steudel[1]) wo auch die Literatur angegeben.

Optische Eigenschaften.

Die Nucleinsäure (aus Thymus) zeigt Rechtsdrehung, und zwar beträgt in neutraler Lösung (unabhängig von der Concentration) $[\alpha]_D = +154{,}2^0$ bis $156{,}9^0$. Bei Zusatz von Säure nimmt die Drehung zu, bei weiterem Zusatz wieder ab. Steigender Zusatz von Ammoniak lässt die Drehung bis auf 0^0 sinken. Die neutralisierte Lösung zeigt wieder die ursprüngliche Drehung (Gamgee und Jones[2]). Für die aus Dünndarmschleimhaut und Hamospermatozoen dargestellte Säure ist ebenfalls Rechtsdrehung angegeben worden.

Umwandlung durch Erhitzen mit Wasser.

440. Beim Lösen in Wasser von 60^0 geht die Thymonucleinsäure nach A. Neumann in die Nucleothyminsäure über, welche in kaltem Wasser leicht löslich ist, im Uebrigen aber die Eigenschaften der Nucleinsäuren

*) Die Angaben beziehen sich auf die nach A. Neumann dargestellte Säure.

**) Man stellt sie nach A. Neumann so an, dass man mit Salzsäure bis zum Sieden erhitzt, Phloroglucin hinzufügt, durchschüttelt und dann sofort abkühlt.

1) H.-S. **56**. 212. (1908.)

2) Proc. of the Roy. Soc. **72**. 100. (1904.)

zeigt. Beim Erhitzen der freien Säure in Wasser bei Wasserbadtemperatur entsteht nach Kossel und Neumann unter Abspaltung der Nucleinbasen die Thyminsäure, welche in kaltem Wasser leicht löslich ist, durch Mineralsäuren nicht gefällt wird und in essigsaurer Lösung mit Eiweissstoffen und Albumosen in Salzsäure leicht lösliche Niederschläge gibt. Schmiedeberg nennt den nucleinbasenfreien Atomcomplex Nucleotinphosphorsäure; eine völlige Abspaltung der Basen ist ihm nicht gelungen, dagegen meint er, das basen- und phosphorfreie Spaltungsproduct, das Nucleotin, isoliert zu haben (Alsberg).

Umwandlungen durch Fermente.

Pepsin-Grübler[1]), ebenso Hundemagensaft[2]), auch Rindermuskeln und Rinderblut[1]) haben keine nennenswerte Einwirkung auf a-Nucleinsäure (aus Thymus). Eine Verflüssigung und Verlust des Gelatinierungsvermögens ohne Abspaltung von Nucleinbasen erleidet sie durch Hundepancreassaft[2]). Die käuflichen Trypsinpräparate verhalten sich verschieden. So sah Araki[3]) Verflüssigung eintreten, Sachs[1]) nicht. Weitgehende Spaltung der a-Säure unter Freiwerden von Nucleinbasen und Phosphorsäure wird hervorgerufen durch Erepsin, sowie durch wässerige Auszüge von Darmschleimhaut[4]) von Rindern und Kaninchen, von Pancreas[1,2]), Milz und Leber[5]), Thymus[6]), durch Bakterien[7,8]), Schimmelpilze[9]). Das diese Spaltung bewirkende Ferment wird Nuclease genannt. Durch das Thymusextract wird auch ein Fehling'sche Lösung reducierender, rechtsdrehender Körper abgespalten (Steudel[6]).

Hydrolyse.

Bei der völligen Hydrolyse der Nucleinsäure (aus Thymus) durch 2 stündiges Erhitzen mit 20 proc. Schwefelsäure auf 150° erhielten Kossel und Neumann Guanin und Adenin, Thymin, Cytosin, Lävulinsäure und Ameisensäure (Spaltungsproducte der Hexosen), Ammoniak und Phosphorsäure. Dazu kommt, wie Kossel und Steudel[10]) fanden, noch Uracil. Dieselben Spaltungsproducte wurden auch aus der Nucleinsäure aus anderen Organen*) erhalten.

Secundäre Spaltungsproducte.

In einigen Fällen wird angegeben, dass ausser Guanin und Adenin auch noch Xanthin und Hypoxanthin isoliert wurden. Diese Basen sind wohl ebenso wie das Uracil als secundäre Producte, entstanden während des Spaltungsprocesses durch Oxydation aus Guanin, Adenin und Cytosin,

*) Die Nucleinsäure aus Nucleohiston von Bang gab kein Ammoniak.

1) Sachs, H.-S. **44**. 337. (1905.)
2) Abderhalden u. Schittenhelm, H.-S. **47**. 452. (1906.)
3) H.-S. **38**. 84. (1903.)
4) Nakayama, H.-S. **41**. 348. (1904.)
5) Schittenhelm, H.-S. **42**. 251. (1904.)
6) Steudel, H.-S. **55**. 407. (1908.)
7) Plenge, H.-S. **39**. 190. (1903.)
8) Schittenhelm u. Schröter, H.-S. **39**. 203. (1903), **40**. 62. (1903/04.), **41**. 284. (1904.)
9) Iwanoff, H.-S. **39**. 31. (1903.)
10) H.-S. **37**. 245. (1902/03.)

aufzufassen. Dafür sprechen besonders die Untersuchungen von Steudel[1]), welcher auch geneigt ist, die Bildung des bei der Spaltung auftretenden Ammoniaks aus dieser secundären Oxydation abzuleiten.

Oxydation mit Salpetersäure.

Bei der Einwirkung starker Salpetersäure auf Nucleinsäure (aus Thymus und aus Heringssperma) erhielt Steudel[2]) Guanin, Adenin, Thymin, ausserdem (aus diesen und aus Cytosin durch Oxydation entstanden) Xanthin, Hypoxanthin und Uracil, ferner Epizuckersäure (siehe unten) und Oxalsäure (aus dem Kohlehydratcomplex entstanden). Die bei der Oxydation in der Kälte zunächst entstehende Flüssigkeit reduciert nach Entfernung der Purinbasen als Nitrate und Neutralisation kräftig Fehling'sche Lösung, enthält zunächst fast die ganze Menge des Phosphors an das Kohlehydrat gebunden und zeigt Rechtsdrehung (Steudel[3]).

Oxydation mit Permanganat.

Bei der Oxydation mit Calciumpermanganat erhielten Kutscher und Seemann[4]) und Kutscher und Schenck[5]) Adenin, Guanidin (aus Guanin), Harnstoff, eine biuretgebende Substanz, Martamsäure (siehe unten), Oxalsäure, Essigsäure und eine Säure unbekannter Formel.

Auf Grund quantitativer Oxydations- und Spaltungsversuche und Ueberlegungen kommt Steudel[1]) zum Schluss, dass die Nucleinsäure bei der Hydrolyse in je 1 Molekül Guanin, Adenin, Thymin und Cytosin, 4 Moleküle Hexose und Tetrametaphosphorsäure zerfällt und der Formel $C_{43}H_{57}N_{15}O_{30}P_4$ entspricht.

Nachweis.

Zur Erkennung der Thymonucleinsäuren kann ausser den § 436 genannten Reactionen noch eine von Steudel[6]) angegebene mikroskopische dienen: Bringt man ein Körnchen von Nucleinsäure mit einem Tropfen starker Salpetersäure oder conc. Salzsäure auf einem Objectträger zusammen, so kann man nach einigen Augenblicken reichliche Abscheidung von doppeltbrechenden Krystallen beobachten. Eine Unterscheidung von anderen Nucleinsäuren gestattet diese Reaction nicht.

Epizuckersäure.

Epizuckersäure $C_6H_{10}O_8$ (siehe auf dieser Seite oben) wurde als amorphes, in Wasser leicht lösliches, in Alkohol unlösliches Bariumsalz erhalten. Sie bildet auch ein in langen Nadeln krystallisierendes, in Wasser relativ schwer lösliches saures Chininsalz und reduciert ammoniakalische Silberlösung (Steudel[2]).

Martamsäure.

Martamsäure $C_5H_8N_6O_5$ oder $C_5H_{10}N_6O_5$ (siehe auf dieser Seite oben) krystallisiert in dünnen mikroskopischen Nadeln, in Wasser und in Alkohol in der Kälte ziemlich schwer, in der Wärme leicht löslich, in Aether schwer löslich. Sie sublimiert ohne Rückstand und ohne Zersetzung. Versetzt man ihre Lösung mit Silbernitrat und dann vorsichtig mit Ammoniak, so fällt ein amorphes, allmählich krystallinisch werdendes Silbersalz aus, das in Wasser und Alkohol unlöslich, in überschüssigem Ammoniak und in Salpetersäure leicht löslich ist. Murexid- und Weidel'sche Reaction negativ (Kutscher und Schenck[5]).

---

1) H.-S. **42**. 165. (1904.), **43**. 402. (1904/05.), **46**. 332. (1905.), **48**. 425. (1906.), **49**. 406. (1906.), **53**. 14. (1907.), **56**. 212. (1908.)

2) H.-S. **48**. 425. (1906.), **50**. 538. (1906/07.), **52**. 62. (1907.)

3) H.-S. **55**. 407. (1908.)

4) B. **36**. 3023. (1903.)

5) H.-S. **44**. 309. (1905.)

6) H.-S. **48**. 425. (1906.)

441. **Guanylsäure** wurde von Bang[1]) aus Pancreasnucleoproteid β (§ 427) dargestellt. Man erhitzt 12 g Nucleoproteid mit 400 ccm 2 proc. Kalilauge ½ Stunde in kochendem Wasserbade, neutralisiert und filtriert kochend heiss. Der bis zum nächsten Tage entstandene Bodensatz wird mit destilliertem Wasser aufgeschlemmt, zum Kochen erhitzt, heiss filtriert, der entstehende Niederschlag nach 24 Stunden nochmals derselben Behandlung unterworfen und dann in ca. 1 proc. Kalilauge gelöst. Das Filtrat säuert man unter Umrühren mit 5 proc. Essigsäure an, filtriert die sich abscheidende Guanylsäure ab und wäscht mit Alkohol und Aether aus. Darstellung.

Die Guanylsäure (C 34,17; H 4,39; N 18,21; P 7,67 pCt.), ein weisses, nicht hygroskopisches Pulver, ist in warmem Wasser leicht löslich, scheidet sich beim Erkalten teilweise wieder ab, in Alkalien und Ammoniak ziemlich leicht löslich, durch Essigsäure und vorsichtigen Zusatz von Salzsäure fällbar, in Mineralsäuren, selbst 1 proc. Salzsäure, leicht löslich, ebenso in conc. Essigsäure, in alkalischer Lösung durch Alkohol fällbar, in salzsaurer nicht. Mit den meisten Schwermetallen bildet sie unlösliche Salze, wird durch Phosphorwolframsäure in saurer Lösung gefällt, ebenso durch Gerbsäure, Pikrinsäure, gibt die Xanthoproteinreaction. Gegen Kochen mit Wasser ist sie widerstandsfähig, durch längeres Kochen wird sie zersetzt. Eigenschaften.

Bei der hydrolytischen Spaltung entstehen Guanin (als einziges stickstoffhaltiges Product), Pentose (27 pCt.), welche nach Neuberg[2]) l-Xylose ist, und Phosphorsäure. Die Angabe von Bang, dass auch Glycerin auftritt, hat von anderen nicht bestätigt werden können und scheint auch von ihm selbst nicht mehr bestimmt aufrecht erhalten zu werden[3]). Im Uebrigen haben die Angaben von Bang eine volle Bestätigung durch Steudel[4]) gefunden. Hydrolyse.

Der Guanylsäure entsprechende Säuren sind von Levene und Mandel[5]) in der Leber und von Jones und Rowntree[6]) in der Schweinemilz gefunden worden. Guanylsäuren aus Leber und Milz.

Die Untersuchungen von Bang und Raaschou[7]) über die sogen. α-Guanylsäure sind noch nicht abgeschlossen. α-Guanylsäure.

442. **Inosinsäure** $C_{10}H_{13}N_4PO_8$ wurde von Liebig im Fleisch entdeckt, aber erst die Untersuchungen von Haiser[8]), Neuberg und Brahn[9]) und Bauer[10]) klärten ihre Zusammensetzung auf.

---

1) H.-S. **26**. 133. (1899.) u. **31**. 411. (1901.)
2) B. **35**. 1467. (1902.)
3) B. Ph. P. **11**. 76. (1908.)
4) H.-S. **53**. 539. (1907.)
5) B. Z. **10**. 221. (1908.)
6) J. B. Ch. **4**. 289. (1908.)
7) B. Ph. P. **4**. 175. (1904.)
v. Fürth u. Jerusalem, B. Ph. P. **10**. 174. (1907.) u. **11**. 146. (1908.)
Bang, B. Ph. P. **11**. 76. (1908.)
8) M. **16**. 190. (1895.)
9) B. Z. **5**. 438. (1907), B. **41**. 3376. (1908.)
10) B. Ph. P. **10**. 345. (1907.)

Darstellung. Zur Darstellung wird 1 kg Fleischextract am Rückflusskühler mit mehrfach gewechseltem Alkohol ausgekocht, bis der Rückstand eine zerreibliche oder sandige Masse geworden ist. Diese wird in mässig warmem Wasser (2—3 Liter) gelöst, die Lösung filtriert und vorsichtig mit Barytwasser ausgefällt, das alkalische Filtrat mit Salpetersäure genau neutralisiert und mit conc. Silbernitratlösung gefällt. Nach Zerlegung des schnell abfiltrierten und mit Wasser gewaschenen Niederschlags mit Schwefelwasserstoff wird das von Schwefelwasserstoff befreite Filtrat nach Zusatz von Bariumcarbonat gekocht, filtriert und auf etwa 250 ccm eingedampft. Beim Erkalten scheidet sich das inosinsaure Barium in perlmutter-glänzenden Blättchen aus (Haiser). Neuberg u. Brahn empfehlen zur Fällung statt des Silbernitrats das billige Kupferacetat, welches dieselbe Ausbeute liefert.

Eigenschaften. Die freie Säure ist amorph, bildet aber ausser dem krystallisierenden Barytsalz $C_{10}H_{11}N_4PO_8Ba + 1^1/_2 H_2O$ ein ebenfalls krystallisierendes Kalksalz. Sie reduciert nicht Fehling'sche Lösung, gibt intensiv Molisch'sche und Pentosereactionen mit Orcin und Phloroglucin. Das Bariumsalz ist optisch activ. Für 3proc. Lösung in 2,5 proc. Salzsäure $[\alpha]_D = -18{,}5^0$.

Hydrolyse. Bei der Hydrolyse zerfällt sie in 1 Mol. Hypoxanthin, 1 Mol. Pentose (nach Neuberg u. Brahn l-Xylose) und 1 Mol. Phosphorsäure.

Isolierung der Nuclein- und Pyrimidinbasen aus der Thymonucleinsäure nach Steudel.

443. 1[1]). 100g Thymonucleinsäure werden mit 300 ccm conc. Schwefelsäure und 600 ccm Wasser 14 Stunden am Rückflusskühler gekocht. Nach Entfernung von Schwefelsäure und Phosphorsäure mit Baryt wird die auf 5 pCt. Schwefelsäure gebrachte Flüssigkeit mit Phosphorwolframsäure ausgefällt und der Niederschlag mit 5 proc. Schwefelsäure gut ausgewaschen.

Niederschlag. Er wird mit Baryt zersetzt, der abfiltrierte phosphorwolframsaure Baryt mehrmals ausgekocht, Filtrat und Waschwasser nach schwachem Ansäuern mit Schwefelsäure mit neutralem Silbernitrat ausgefällt (Kutscher[2]), der Niederschlag abfiltriert.

Niederschlag. Er enthält die Nucleinbasen*) und wird nach einem später bei Untersuchung der Organe zu besprechenden Verfahren untersucht.

Filtrat. Es wird so lange mit Silbernitrat versetzt, bis sämtliche Basen in die Silberverbindungen übergeführt sind, d. h. bis eine Probe in gesättigtem Barytwasser sofort neben weissen Silberverbindungen braunes Silberoxyd ausfallen lässt. Nun fällt man mit Barytwasser aus und filtriert. Der Niederschlag wird mit Salzsäure zersetzt, das Filtrat bei niederer Temperatur zur Trockne gebracht. Man löst, entfärbt mit Tierkohle und

*) Man findet alle 4 Nucleinbasen. Xanthin- und Hypoxanthin sind aber als secundär, erst während der Hydrolyse aus Guanin und Adenin entstanden, anzusehen.

1) Steudel, H.-S. **42**. 165. (1904.) 2) H.-S. **38**. 124. Fussnote. (1903.)

fällt mit Natriumpikrat aus. Der abfiltrierte Niederschlag wird zur Entfernung der Pikrinsäure mit Benzol und Salzsäure geschüttelt, die wässerige Lösung eingeengt. Cytosin scheidet sich als Chlorid ab.

Filtrat. Man entfernt die Säuren mit Baryt, den überschüssigen Baryt mit Schwefelsäure (bis die Reaction gegen Lacmus neutral wird) und dampft ein: Es scheidet sich ein Gemenge von Thymin und Uracil*) aus. Aus der Mutterlauge lässt sich der Rest dieser beiden Substanzen als schwerlösliches Silbersalz mit Silbersulfat und Barytwasser gewinnen. Für die Trennung dieser Basen hat T. B. Johnson[1]) soeben ein Verfahren angegeben, welches auf ihrer Umwandlung in Oxynitrohydrothymin und 5-Nitrouracil durch rauchende Salpetersäure und der leichten Löslichkeit des ersteren in absolutem Alkohol beruht.

2[2]). Die bei der unter 1. beschriebenen Spaltung auftretenden Xanthin, Hypoxanthin und Uracil entstehen während der langen Hydrolyse secundär aus Guanin, Adenin und Cytosin.

Eine nahezu quantitative Gewinnung von Adenin und Guanin in Form ihrer Nitrate erzielt man, wenn man Nucleinsäure (oder nucleinsaures Kupfer) mit der doppelten Menge einer Salpetersäure von specifischem Gewicht 1,2 bei niedriger Temperatur zusammenbringt. Die Nucleinsäure fällt zunächst als zähe Masse zu Boden und es beginnt allmählich eine langsame Gasentwicklung, wobei die Nucleinsäure nach und nach in Lösung geht. Nach 24 Stunden ist sie fast vollständig verschwunden und statt dessen findet sich ein reichlicher krystallinischer Bodensatz (Adenin- und Guaninnitrat), zu dessen vollständiger Bildung man 2—3 Wochen stehen lässt. Er wird abgesaugt, kurz mit verdünnter Salpetersäure, dann mit Alkohol und Aether gewaschen und gewogen. Um aus dem Gemenge Adenin und Guanin zu isolieren, löst man es vorsichtig in heissem Wasser, übersättigt mit Ammoniak und filtriert nach 24 stündigem Stehen ab. Der Niederschlag wird in Natronlauge gelöst und mit Essigsäure gefällt: Guanin. Das Filtrat wird zur Trockne verdunstet, um das Ammoniak zu vertreiben, der Rückstand in Wasser gelöst und die Lösung mit Natriumpikrat gefällt: Adeninpikrat.

Paranucleoproteide (Nucleoalbumine).

444. Die Paranucleoproteide (Nucleoalbumine) sind Verbindungen von Eiweiss mit einem noch nicht näher bekannten phosphorhaltigen Atomcomplex. Sie finden sich besonders als Bestandteile der Nahrung wachsender Organismen (Milch, Eidotter, Pflanzensamen) (Kossel), aber auch in Secreten und vielleicht überhaupt in weiter Ver- Vorkommen.

*) Uracil ist als secundäres Product, während der Hydrolyse aus Cytosin entstanden, anzusehen.

1) J. B. Ch. **4**. 407. (1908.)

2) Steudel, H.-S. **48**. 425. (1906), **49**. 406. (1906.)

breitung in den Zellen. Eine Beziehung dieser Körper zum Zellkern scheint nicht zu bestehen und deswegen der Name nicht glücklich gewählt. Sie sind in vieler Beziehung den Nucleoproteiden ähnlich und wurden früher mit ihnen zusammengeworfen, unterscheiden sich aber von ihnen dadurch, dass sie bei der Spaltung keine Nucleinbasen liefern (Kossel).

Allgemeine Eigenschaften.

Sie sind Säuren, in Wasser fast unlöslich, aber mit Hülfe von etwas Alkali leicht löslich. Diese neutralen Lösungen coagulieren nicht. Zum

Verhalten zu Pepsin-Salzsäure.

Teil enthalten sie Eisen. Bei der Magenverdauung kommt es zur Abscheidung einer phosphorreicheren Substanz, der Para-(Pseudo-)nucleine. Dieselben sind ebenso wie die unter der gleichen Bedingung aus den Nucleoproteiden entstehenden Nucleine (S. 471) in Alkalien löslich und durch Säuren wieder fällbar, unterscheiden sich aber von ihnen ausser durch das Fehlen von Nucleinbasen unter ihren Spaltungsproducten auch durch ihre leichte Löslichkeit und Zersetzbarkeit in Barytwasser (Giertz[1]). Energische und anhaltende Pepsinsalzsäurewirkung wird die Paranucleine vermutlich völlig lösen, wie das für das Casein von Salkowski und Reh nachgewiesen ist. Aus mehreren Paranucleoproteiden sind auch phosphorhaltige Säuren, die von den Nucleinsäuren sehr verschieden sind, auch noch Biuret- und andere Farbenreactionen geben, Paranucleinsäuren, erhalten worden.

Zu den Paranucleoproteiden gehören das Casein, Vitellin, die Ichthuline.

Vorkommen.

445. **Casein** wurde bisher nur in der Milch nachgewiesen; die caseinähnlichen Stoffe im Hauttalg (Hoppe-Seyler), in der Bürzeldrüse der Vögel (de Jonge[2]), im Kropf der Tauben nach Auskriechen der Jungen aus den Eiern (Cl. Bernard[3]) bedürfen weiterer Untersuchung.

Darstellung: aus Kuhmilch.

Zur Darstellung aus Kuh- oder Ziegenmilch versetzt man die mit dem vier- bis zehnfachen Volumen Wasser verdünnte, abgerahmte Milch vorsichtig mit verdünnter Essigsäure bis zur möglichst guten Ausfällung, reinigt den durch Leinwand filtrierten, käsigen Niederschlag durch wiederholtes Lösen in Wasser mit Hülfe einiger Tropfen Natronlauge und Ausfällen mit Essigsäure, wäscht mit Wasser, mit Alkohol und Aether, extrahiert im Soxhlet'schen Apparat und trocknet (Hoppe-Seyler).

aus Frauenmilch.

Für die Darstellung aus Frauenmilch eignet sich diese Methode nicht, weil das Frauencasein durch Essigsäure und Kohlensäure nur unvollkommen gefällt wird. Nach J. Schmidt[4]) gelingt aber die Abscheidung, wenn die Milch-Wassermischung während des Ansäuerns mit Essigsäure und während des halbstündigen Einleitens von Kohlensäure auf 40° gehalten wird. Die begünstigende Wirkung der erhöhten Temperatur ist auch von anderen angegeben worden. Nach Kobrak[5]) erfolgt die Ab-

---

1) H.-S. **28**. 115. (1899.) 2) H.-S. **3**. 225. (1879.)
3) Leçons sur les propriétés physiol. des liquid. ct. **2**. 232. (1859.)
4) Maly's Jbr. 1884. 175. 5) Pfl. A. **80**. 69. (1900.)

scheidung auch beim mehrtägigen Dialysieren der mit $^1/_5$ Vol. $^n/_{10}$ Essigsäure versetzten Frauenmilch gegen täglich gewechseltes Chloroformwasser.

Zusammensetzung.

Das Casein der Kuhmilch hat nach Hammarsten[1]), dessen Arbeiten die Kenntnis des Caseins besonders gefördert haben, die Zusammensetzung C 53,00; H 7,00; N 15,70; S 0,80; P 0,85; O 22,65 pCt. Nach K. A. H. Mörner[2]) enthält es 0,064 pCt. bleischwärzenden Schwefel. Für das Casein der Frauenmilch fand Makris[3]) C 52,35; H 7,27; N 14,65; S + O 25,73 pCt. (Phosphor wurde nicht bestimmt), Wroblewski[4]) C 52,24; H 7,32; N 14,97; P 0,68; S 1,12; Asche 1 pCt. Analysen der Caseine verschiedener Tiere finden sich bei Tangl[5]).

Eigenschaften.

Casein stellt ein weisses, nicht hygroskopisches Pulver dar von den Eigenschaften einer schwachen Säure und schliesst sich in seinen Eigenschaften den Alkalialbuminaten an. In Wasser ist es unlöslich, in Alkalien, Alkalicarbonaten, Baryt- und Kalkwasser löst es sich leicht zu den entsprechenden Salzen. Die Lösung in Kalkwasser wird durch vorsichtigen Zusatz verdünnter Phosphorsäure bis zur neutralen Reaction nicht gefällt. Ebenso löst es sich in essigsauren und oxalsauren Alkalien und auch in Wasser bei Gegenwart von Calciumcarbonat unter Austreibung von Kohlensäure. Die Lösungen, welche klar (Caseinalkalisalze) oder mehr weniger opalescierend (Caseinerdalkalisalze) sind, gerinnen beim Erhitzen nicht. Die Caseinkalklösungen überziehen sich beim Kochen mit einer Haut. Durch vorsichtigen Zusatz von Essigsäure oder Salzsäure wird Casein ausgefällt und zwar das Kuhcasein in Flocken, das Frauencasein mehr gallertartig; Ueberschuss, besonders der Salzsäure, wirkt wieder lösend. Bei Gegenwart von Chloralkalien bedarf es mehr Essigsäure zur Hervorrufung des Niederschlags. Seine mit Natronlauge hergestellten neutralen Lösungen werden gefällt durch Schwermetallsalze. Durch Sättigen mit reinem Kochsalz werden sie nicht gefällt, wohl aber durch käufliches Kochsalz (wegen der in diesem enthaltenen Calcium und Magnesiumsalze) (Schmidt-Nielsen[6]). Durch Sättigung mit Magnesiumsulfat und durch Halbsättigung mit Ammonsulfat werden die Lösungen ausgefällt. Die Farbenreactionen der Eiweissstoffe sind positiv. Millon'sche Reaction sehr stark, Molisch'sche und Schwefelbleireaction äusserst schwach, aber deutlich. Nach Röhmann gibt das Frauencasein die Molisch'sche Probe stark.

Optische Eigenschaften.

Hoppe-Seyler fand für Kuhcasein $[\alpha]_D$ in neutraler Lösung $= -80^0$, in schwach alkalischer $= -75^0$, in stark alkalischer $= -91^0$. Für sorgfältig gereinigtes Casein fand Long[7]) in 5 proc. Lösung, welche gerade

1) Maly's Jbr. 1872. S. 118. 1874. S. 135. 1877. S. 158. H.-S. **7**. 227. (1883.), **9**. 273. (1885.), **22**. 103. (1897.)
2) H.-S. **34**. 285. (1902.)
3) Diss. Strassburg. 1876.
4) Maly's Jbr. 1894. S. 211.
5) Pfl. A. **121**. 534. (1908.)
6) B. Ph. P. **9**. 311. (1907.)
7) J. A. Ch. S. **27**. 363. (1905.)

soviel Natron enthielt, als zur Lösung nötig war, $[\alpha]_D = -95{,}2°$. Mit zunehmendem Alkaligehalt stieg die specifische Drehung.

Umwandlung beim Erhitzen auf 100°.

Beim Erhitzen auf 100° erleidet das Casein (auch Ziegen- und Frauencasein) eine Veränderung, infolgederen ein Teil in verdünnten Alkalien unlöslich wird (Laqueur u. Sackur[1]).

Umwandlung durch Labferment.

Caseinlösungen (ebenso Milch) gerinnen bei neutraler oder schwach saurer Reaction auf Zusatz von Lab. Diese Gerinnung findet aber nur statt bei Gegenwart löslicher Kalkverbindungen, wie sie in der Milch vorhanden sind. Das Labferment bewirkt wahrscheinlich eine Spaltung des Caseins in das in Wasser schwer lösliche Paracasein (Käse) und eine in geringer Menge auftretende, leicht lösliche albumoseähnliche Substanz, das Molkeneiweiss (Hammarsten, siehe auch Schmidt-Nielsen[2]), Fuld[3]). Diese Spaltung erfolgt auch, wenn kein Kalksalz in Lösung ist, aber die Gerinnung tritt erst auf Zusatz eines löslichen Kalksalzes ein (Hammarsten). Das Paracasein verhält sich dem Casein sehr ähnlich, löst aber weniger Calciumphosphat wie dieses und wird durch alle Fällungsmittel leichter gefällt (Loevenhart[4]), Laqueur[5]), Schmidt-Nielsen). Frauencasein gerinnt durch Lab nur unvollkommen schleimig oder gar nicht. Ist das Casein mit starker Säure oder viel Alkali behandelt oder hat es einige Zeit gefällt unter Wasser gestanden, so ist es verändert und gibt mit Lab keine Gerinnung mehr.

Umwandlung durch Pepsinsalzsäure.

Bei der Pepsinsalzsäureverdauung wird das Casein gespalten in sich abscheidendes Paranuclein und in Lösung gehende Albumosen und Peptone*). Der Phosphor befindet sich zum Teil im Paranuclein (es enthält über 2 pCt. organisch gebundenen Phosphor), zum Teil in Lösung in Form einer organischen Säure mit 4,05 pCt. P, der Paranucleinsäure (§ 446). Unter sehr günstigen Verdauungsbedingungen (1 Tl. Casein auf 500 Tl. Verdauungsflüssigkeit) bleibt gar kein Paranuclein zurück und aller Phosphor findet sich in Lösung (Salkowski[6]). Eine Abspaltung von Orthophosphorsäure findet dabei nicht statt. Reh[7]) sah bei Benutzung von Pepsin. anglicum von Parke, Davis & Co. im ganzen Verlauf der Verdauung überhaupt keine Trübung auftreten. Aus der Verdauungsflüssigkeit isolierte er mit Hülfe von Uranacetat eine als Polypeptidphosphorsäure (§ 447) bezeichnete Verbindung mit 6,9 pCt. P. Das Frauencasein verhält sich wohl ebenso. Nach Kobrak spaltet es Paranuclein ab, nach andern z. B. Zaitschek[8]) nicht.

Umwandlung durch Trypsin.

Bei der Trypsinverdauung geht in 24 Stunden der gesamte Phosphor

*) Zuletzt von Alexander untersucht. H.-S. **25**. 411. (1898.)

1) B. Ph. P. **3**. 193. (1903.)
2) B. Ph. P. **9**. 322. (1907.)
3) B. Z. **4**. 488. (1907.)
4) H.-S. **41**. 177. (1904.)
5) B. Ph. P. **7**. 273. (1906.)
6) Pfl. A. **59**. 225. (1895.), **63**. 401. (1896.)
7) B. Ph. P. **11**. 1. (1908.)
8) Pfl. A. **104**. 550. (1904.)

in Lösung und zwar zu 35 pCt. als Phosphorsäure, zu 65 pCt. in organischer Verbindung. Durch 1 proc. Natronlauge geht er in 24 Stunden vollständig als Phosphorsäure in Lösung (Plimmer und Bayliss[1]). Durch activen Pancreassaft wird Tyrosin rasch unvollständig abgeschieden, die Glutaminsäure ganz allmählich (Abderhalden u. Voegtlin[2]).

Hydrolyse.

Ueber die hydrolytischen Spaltungsproducte siehe die Tabelle § 478. Ueber weitere noch ungenügend untersuchte Spaltungsproducte siehe Skraup[3]). Ueber die aus der hydrolysierten Flüssigkeit gewonnenen Diketopiperazine siehe § 348—350. Ueber das bei mässiger Hydrolyse entstehende Kyrin siehe § 329. Als sekundäre Zersetzungsproducte scheinen bei der Hydrolyse auch Brenztraubensäure und Propionylameisensäure aufzutreten (Mörner[4]), ferner Guanidin (Otori[5]). Stickstoffverteilung im Casein: 1,61 pCt. Amid-, 10,31 pCt. Monamino-, 3,49 pCt. Diamino-, 0,21 pCt. Melaninstickstoff (Osborne u. Harris[6]).

Oxydation.

Bei der Oxydation mit Kaliumpermanganat wurde Guanidin erhalten (Otori[5]). Ueber die Einwirkung von Ozon siehe Harries u. Langheld[7]), von Bromlauge siehe Skraup u. Witt[8]), von salpetriger Säure siehe Skraup u. Hoernes[9]).

Paranucleinsäure

446. Paranucleinsäure (Salkowski[10]). Zur Isolierung (die genauen Angaben siehe in der Originalarbeit) versetzt man die vom Paranuclein abfiltrierte Verdauungsflüssigkeit (S. 490) mit Ferriammonsulfat, erhitzt, filtriert den Niederschlag (Eisenverbindung der Säure) ab, zerlegt ihn in der Wärme mit verdünnter Natronlauge, fällt aus dem mit Essigsäure versetzten Filtrate die Säure mit Kupferacetat, zerlegt diesen Niederschlag mit Schwefelwasserstoff und fällt die eingeengte Flüssigkeit mit Alkohol. Die so gewonnene Säure, deren Einheitlichkeit indes noch nicht sicher festgestellt ist, stellt ein weisses Pulver dar von der Zusammensetzung C 42,96; H 7,09; N 13,55; P 4,05 pCt., in Wasser löslich, in Alkohol unlöslich. Die wässerige Lösung löst Calciumcarbonat unter Kohlensäureentwickelung. In 1 proc. Lösungen rufen Kupferacetat, Bleiessig, Gerbsäure, Phosphorwolframsäure starke, Sublimat, Trichloressigsäure erst bei reichlichem Zusatz geringe Niederschläge hervor; Silbernitrat, Metaphosphorsäure, Essigsäure + Ferrocyankalium bewirken keine Fällung. Eiereiweiss und Pepton-Witte rufen Trübungen hervor. $[\alpha]_D = -46^0$ (ungefähr). Biuretprobe positiv, Xanthoprotein- und Millon'sche Probe schwach positiv, Proben von Molisch und Adamkiewicz negativ. Beim Kochen einer 10 proc. Lösung mit dem gleichen Volum gesättigten Barytwassers scheidet sich ein reichlicher, flockiger Niederschlag ab, welcher nicht aus phosphorsaurem Barium besteht; kocht man längere Zeit mit Barytwasser oder kocht man mit starker Natronlauge mehrere Minuten lang, so wird Phosphorsäure abgespalten.

Polypeptidphosphorsäure.

447. Polypeptidphosphorsäure (Reh). Zur Isolierung wird die neutralisierte, concentrierte, filtrierte und mit Essigsäure stark angesäuerte Verdauungsflüssigkeit des Caseins (S. 490) mit Uranylacetat ausgefällt und der Niederschlag, welcher den gesamten Phosphor enthält, durch wiederholtes Umfällen (Lösen in 10proc. Salzsäure, Fällen mit

1) J. of Ph. **33**. 439. (1906.)
2) H.-S. **53**. 315. (1907.)
3) H.-S. **42**. 274. (1904.)
4) H.-S. **42**. 121. (1904.)
5) H.-S. **43**. 74. (1904/05.)
6) J. A. Ch. S. **25**. 323. (1903.)
7) H.-S. **51**. 342. (1907.)
8) M. **28**. 605. (1907.)
9) M. **27**. 631. (1906.)
10) H.-S. **32**. 245. (1901.)

Uranylacetat, Natronlauge und Natriumacetat), bis das Filtrat keine Biuretreaction mehr gibt, gereinigt. Getrocknet lässt sich die Verbindung zu einem leicht gelben Pulver zerreiben. Mittlere Zusammensetzung: C 24,02; H 4,00; N 7,59; P 4,27; U 33,33 pCt. P : U = 1 : 1. Sie löst sich leicht in Salzsäure, ist fällbar durch Phosphorwolframsäure. Biuret-, Xanthoprotein-, Millon's Reaction positiv, Molisch's- und Tryptophanreaction negativ.

Beim halbstündigen Kochen mit Barytwasser entsteht ein voluminöser Niederschlag, welcher den gesamten Phosphor enthält. Stickstoffverteilung: 23,8 pCt. Amid-, 56,7 pCt. Monamino-, 18,7 pCt. Diaminostickstoff. Bei der Hydrolyse wurden Alanin, Aminovaleriansäure, Leucin, Isoleucin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Arginin, Lysin, Histidin, Prolin, Phenylalanin und Tyrosin erhalten, aber nicht in denselben Verhältnissen, wie aus dem Casein.

448. **Opalisin** nennt Wróblewski[1]) einen Stoff, der nach ihm präformiert in der Milch vorhanden ist und aus dem Filtrat der Essigsäurefällung des Caseins durch Aussalzen erhalten werden kann. In Frauenmilch soll es in reichlicher, in Stutenmilch in kleinerer, in Kuhmilch in sehr kleiner Menge vorkommen. Es enthält C 45,0; H 7,3; N 15,1; S 4,7; P 0,8 pCt. und ist in Wasser sehr wenig löslich, in Alkalien löslich. Die Lösungen opalescieren und werden weder beim Kochen noch bei der Dialyse gefällt. Essigsäure fällt es aus, der Niederschlag ist im Ueberschuss nicht völlig löslich, die Flüssigkeit opalesciert stark und bildet beim Schütteln kleine, klebrige, faserige Flöckchen. Es gibt die Farbenreactionen der Eiweissstoffe, die Schwefelbleiprobe sehr schwach, reduciert nicht nach dem Kochen mit Säuren und spaltet bei der peptischen Verdauung kein Paranuclein ab. Weitere Untersuchung ist notwendig.

Darstellung und Zusammensetzung.

449. **Vitellin***). Es findet sich im Hühnereigelb in Verbindung mit Lecithin (§ 450) und lässt sich durch wiederholtes Ausschütteln des mit etwa 10proc. Kochsalzlösung vermischten Eigelbs mit Aether, Dialysieren der wässerigen Lösung oder Eingiessen derselben in das 10 bis 20fache Volumen Wasser, Lösen des entstandenen Niederschlags in Salzsäure, mehrfache Wiederholung dieses Verfahrens und schliessliches Behandeln des Niederschlags mit Alkohol (event. heissem) erhalten (Osborne und Campbell[2]). Die Zusammensetzung (aschefrei berechnet) ist: C 51,24; H 7,16; N 16,38; S 1,03 (bleischwärzenden S 0,36); P 0,94 pCt., ausserdem enthält es Eisen in organischer Bindung.

Umwandlung: durch Pepsinsalzsäure.

Bei der Behandlung mit Pepsinsalzsäure entsteht Paranuclein mit höherem, aber inconstantem Phosphorgehalt. Levene und Alsberg[3]) erhielten aus dem Paranucleoproteid durch Spaltung mit Ammoniak eine in Wasser unlösliche, in Ammoniak, essigsauren Salzen lösliche Paranucleinsäure (Vitellinsäure), die nicht durch Essigsäure, aber durch Salzsäure gefällt wird, in essigsaurer Lösung mit Albumosen Niederschläge gibt und in Wasser lösliche Alkalisalze, unlösliche Barium-, Kupfer- und Eisensalze bildet. Sie

durch Ammoniak.

---

*) Früher wurde dieser Name für die Lecithinverbindung (siehe § 450) angewendet.

1) H.-S. **26**. 308. (1899.)

2) J. A. Ch. S. **22**. 413. (1900) oder Stud. fr. the Res. Lab. Connecticut Rep. f. 1900. p. 443.

3) H.-S. **31**. 543. (1901.)

enthält Eisen und 9—10 pCt. P, gibt die Biuret- und Millon'sche Reaction und liefert bei der Spaltung Hexonbasen. Säuren mit im Ganzen denselben Eigenschaften, aber nur 7—8 pCt. P sind schon früher von Altmann[1]) u. Milroy[2]) aus Hämatogen (§ 451) dargestellt worden.

Bei der hydrolytischen Spaltung des Vitellin*) wurden erhalten Glykocoll 1,1, Alanin +, Valin 2,4, Leucin 11,0, Asparaginsäure 0,5, Glutaminsäure 12,2, Serin 0, Prolin 3,3, Phenylalanin 2,8, Tyrosin 1,6 pCt. (Abderhalden u. Hunter[3]). Hugounenq[4]) und Levene und Alsberg[5]) fanden fast durchgehend niedrigere Werte. Von ihnen wurden auch Arginin, Lysin und Histidin bestimmt. Hydrolyse.

450. Vitellin-Lecithinverbindung. Zur Darstellung dieser Substanz[6]), die früher als Vitellin bezeichnet wurde, wird das mit Aether erschöpfte Eigelb in 10 proc. Kochsalzlösung gelöst und die Lösung durch Wasserzusatz gefällt. Die sich abscheidende Verbindung ist eine lockere, welche bei dem Versuch sie durch Lösen in Salzlösung und Fällen mit Wasser zu reinigen leicht Spaltung erleidet. Sie ist in ihren Eigenschaften dem Globulin ähnlich, löst sich nicht in Wasser, aber mehr oder weniger vollständig in verd. Salzlösungen, ganz schwachen Säuren und in Alkalien, beim Stehen unter Wasser verliert sie ihre Löslichkeit in Salzlösungen allmählich. Ihre möglichst conc. Lösung in 10proc. Kochsalzlösung coaguliert bei 70—80°. Durch Sättigung mit Kochsalz wird sie nicht gefällt. Ueber die Einwirkung von Pepsin und Trypsin siehe Plimmer und Bayliss[7]). Durch Alkohol wird das Lecithin abgetrennt und gelöst und es bleibt Vitellin (§ 449) zurück. Diese Verbindung bedarf sehr der weiteren Untersuchung. Vitellin-Lecithin-verbindung.

451. **Hämatogen.** Dieses Paranuclein wurde von Bunge[8]) bei der Einwirkung von Pepsin auf das mit Aether extrahierte und in verd. Salzsäure gelöste Eigelb als Abscheidung erhalten. Es stellte nach Auswaschen mit 1 prom. Salzsäure und Wasser, Auskochen mit Alkohol, Behandlung mit Aether, Fällen seiner ammoniakalischen Lösung mit Alkohol usw. eine gelbbraune, leicht pulverisierbare Masse dar von der Zusammensetzung: C 42,11; H 6,08; N 14,73; P 5,19; S 0,55; Fe 0,29 pCt. Eine andere Zusammensetzung fanden Hugounenq und Morel[9]). Die ammoniakalische Lösung zeigt auf Zusatz von etwas Schwefelammonium zunächst keine Färbung, nach einiger Zeit färbt sie sich grün, am folgenden Tag schwarz von Schwefeleisen. Durch Salzsäure wird es langsam, aber um so schneller, je concentrierter die Säure, gespalten. Biuret- und Millon'sche Reaction positiv.

452. **Ichthulin aus Barscheiern**[10]). Aus seiner Verbindung mit Lecithin, die im folgenden Absatz beschrieben wird, gewann Hammarsten das Ichthulin durch Behandlung mit warmem Alkohol und Aether. Es ist

---

*) Ueber die Darstellung dieses Präparates liegen keine Angaben vor. Doch handelt es sich vermutlich um ein durch Alkohol von Lecithin befreites Vitellin.

1) A. f. A. u. Ph. Ph. A. 1889. S. 524.
2) H.-S. **22**. 325. (1897.)
3) H.-S. **48**. 505. (1906.)
4) J. d. phys. et de path. gén. **8**. 209. (1906.)
5) J. B. Ch. **2**. 127. (1906/07.)
6) Hoppe-Seyler, Med. chem. Unters. Heft 2. S. 215. (1867.) Th. Weyl, H.-S. **1**. 74. (1877/78.)
7) J. of Ph. **33**. 451. (1906.)
8) H.-S. **9**. 49. (1882.)
9) J. d. phys. et d. path. gén. **8**. 391. (1906.)
10) Hammarsten, Skand. A. Ph. **17**. 113. (1905/06.)

in verdünnter Salzsäure unlöslich, hat die Zusammensetzung: C 51,73; H 6,93; N 14,78; S 1,15; P 0,74 pCt. (auf aschefreie Substanz bezogen) und enthält auch Eisen. Fortgesetzte Alkoholextraction erhöht den Kohlenstoff- und erniedrigt den Phosphorgehalt. Ueber das aus ihm bei Pepsinverdauung entstehende Paranuclein siehe § 453.

Ichthulin-Lecithinverbindung.

453. Ichthulin-Lecithinverbindung aus Barscheiern. Zu ihrer Darstellung werden die reifen oder unreifen Eier nach Entfernung von Zwischenflüssigkeit und Blut mit der 20fachen Menge Wasser*) verrührt und mit soviel Salzsäure versetzt, dass der Gehalt 0,05—0,1 pCt. beträgt. Die Flüssigkeit wird von dem aus Mucin und Eiresten bestehenden Niederschlage durch Decantieren und Filtrieren getrennt und mit Natronlauge bis zur ganz schwach sauren Reaction versetzt, der reichlich entstehende Niederschlag durch Waschen mit Wasser, Lösen in möglichst wenig Alkali oder Säure und Fällen durch Säure oder Alkali und Wiederholung dieses Verfahrens gereinigt.

Sie löst sich nicht in verd. Neutralsalzlösung**), leicht in überschüssiger Salzsäure und, wenn auch nicht ganz so leicht, in überschüssiger Essigsäure. Durch Sättigung mit Kochsalz und durch 55proc. Sättigung mit Ammonsulfat wird sie völlig ausgefällt. Alle Farbenreactionen der Eiweissstoffe positiv. Beim Kochen mit Säuren tritt keine reducierende Substanz auf. Aus der salzsauren Lösung scheidet sich nach Zusatz von Pepsin eine reichliche Menge Paranuclein ab, dem das zugleich abgeschiedene Lecithin durch warmen Alkohol und Aether entzogen werden kann.

454. **Ichthulin aus Lachseiern** wurde nach einem dem von Walter (§ 456) benutzten ähnlichen Verfahren von Noël Paton[1]) isoliert. Es enthielt 0,74 pCt. P und Eisen, lieferte beim Kochen mit Säure keine reducierende Substanz, aber bei der Pepsinverdauung ein Paranuclein.

455. **Ichthulin aus Kabeljaueiern** wurde von Levene[2]) dargestellt durch Schütteln der mit Sand zerriebenen Eier mit 5proc. Salmiaklösung und Aether, Versetzen der filtrierten wässerigen Flüssigkeit mit der 20fachen Menge Wasser, Abfiltrieren des entstandenen Niederschlags, Wiederholung der Operation (Lösen des Niederschlags in 5proc. Salmiak, Schütteln mit Aether, Fällen mit Wasser), bis das Wasser keine Biuretreaction mehr zeigt, Behandeln des Niederschlags mit Alkohol und Aether. C 52,44; H 7,45; N 15,96; S 0,92; P 0,65; Fe + O 22,58 pCt. Die Substanz kann aus ihrer Lösung auch durch Kohlensäure und sehr verdünnte Essigsäure gefällt werden. Sie unterscheidet sich von dem Ichthulin aus Karpfeneiern (§ 456) dadurch, dass sie bei der hydrolytischen Spaltung kein reducierendes Kohlehydrat abspaltet und dass sie bei der Behandlung

---

*) Durch 5—10proc. Kochsalzlösung wird die Verbindung auch extrahiert, aus dieser Lösung aber weder durch Dialyse noch durch Verdünnen mit Wasser abgeschieden.

**) Diese Unlöslichkeit ist die Folge einer Denaturierung durch die Salzsäure. Ein unter Vermeidung der Lösung in Salzsäure dargestelltes Präparat zeigt diese Unlöslichkeit nicht, stimmt aber im Uebrigen ganz mit dem denaturierten überein. Das beschriebene Verfahren empfiehlt sich aber, weil auf diese Weise am besten die Abtrennung des Mucins gelingt.

1) Report of investig. on the Life-History of the Salmon. Glasgow 1898. Nach Hammarsten, Skand. A. Ph. **17**. 113. (1905/06.)

2) H.-S. **32**. 281. (1901.)

mit Ammoniak eine Paranucleinsäure (Ichthulinsäure) mit 10,34 pCt. P liefert, welche in Zusammensetzung und Verhalten der Vitellinsäure (§ 449) sehr ähnlich ist.

456. **Ichthulin aus Karpfeneiern** zuerst von Valenciennes und Frémy[1]), dann in reinem Zustande von Walter[2]) durch Ausfällen des (mit wenig Wasser hergestellten und mit Aether von Fett befreiten) Rogenextractes mit viel Wasser und Kohlensäure, Abfiltrieren des Niederschlags, Behandeln des Rückstandes mit Alkohol und Aether gewonnen, stellt ein Paranucleoproteid dar von der Zusammensetzung C 53,52; H 7,71; N 15,64; S 0,41; P 0,43; Fe 0,10 pCt. Es ist vermutlich in den Eiern als Lecithinverbindung enthalten, welche durch die Behandlung mit Alkohol zerlegt wird. Frisch gefällt löst es sich in verdünntem Ammoniak oder Natronlauge, in verdünnter Salzsäure oder Essigsäure leicht zu klaren Flüssigkeiten. Verdünnte Salzlösungen bewirken vollständige, aber schwach opalescierende Lösungen, aus welchen das Ichthulin beim Sättigen mit dem betreffenden Salz mehr oder weniger vollständig abgeschieden wird; auch durch starkes Verdünnen mit Wasser und Einleiten von Kohlensäure wird es aus diesen Lösungen ausgeschieden. Beim längeren Liegen unter Wasser verliert es seine Löslichkeit in Salzlösungen. Bei der Verdauung mit Pepsinsalzsäure zerfällt es in Eiweissstoff, einen noch nicht näher bekannten phosphorhaltigen Körper und Paranuclein. Nach dem Kochen mit Säuren reduciert die Flüssigkeit Fehling'sche Lösung.

457. **Ichthulin aus Eiern von Torpedo marmorata**[3]). Die in den Eiern enthaltenen Eiweisskrystalle, welche bereits ihre Löslichkeit in Neutralsalzlösungen verloren hatten, wurden durch Behandeln mit Wasser von allen geformten Bestandteilen befreit und durch Behandlung mit Alkohol und Aether von einem gelblichen Oel (offenbar Lecithin, mit dem das Ichthulin in Verbindung gewesen war).

Es enthielt Phosphor und Eisen in der Asche. Alle Farbenreactionen der Eiweissstoffe positiv. Beim Kochen mit Säuren entstand reducierende Substanz. Angaben über Stickstoffverteilung siehe in der Originalarbeit.

Von Hugounenq[4]) aus den Eiern gesalzener Heringe und von Galimard[5]) aus Froscheiern isolierte und als Clupeovin und Ranovin beschriebene Substanzen gehören nicht hierher, sofern sich die Angabe, dass sie weder Phosphor noch Eisen enthalten, bestätigen sollte. Clupeovin, Ranovin.

Von einer Reihe anderer mehr oder weniger gut untersuchter phosphorhaltiger und bei der Einwirkung von Pepsinsalzsäure eine Abscheidung gebender Stoffe lässt sich nicht sagen, ob sie zu den Nucleo- oder den

---

1) C. r. **38**. 471 ff. (1854.)
Gobley, J. d. pharm. et de chim. [34.] **17**. 01. (1850.)
2) H.-S. **15**. 477. (1891.)
3) Rothera, B. Ph. P. **5**. 447. (1904.)
4) C. r. **138**. 1062. (1904.), **143**. 693. (1906.)
5) C. r. **138**. 1354. (1904.)

Paranucleoproteiden gehören, da Angaben darüber fehlen, ob bei der Spaltung Nucleinbasen entstehen oder nicht. Dazu gehören von Halliburton aus Niere, Leber, Gehirn, Knochenmark usw. durch Fällung der Wasserauszüge mit Essigsäure isolierte Körper, ferner eine von Hammarsten[1]) aus pathologischer Synovia erhaltene mucinähnliche Substanz und ferner Stoffe, welche Lönnberg[2]) aus Nierengewebe und Blasenschleimhaut dargestellt und analysiert hat, sowie von Paijkull[3]) in entzündlichen Transsudaten gefundene Verbindungen. Hierher gehört auch das

Darstellung. 458. **Nucleoalbumin aus Rindergalle.** Es wird durch Fällen der filtrierten Rindergalle mit dem fünffachen Vol. absoluten Alkohols, schnelles Centrifugieren, Lösen des Bodensatzes in Wasser und mehrfache Wiederholung dieses Verfahrens als Alkaliverbindung erhalten. Durch Fällen seiner wässerigen Lösung mit Essigsäure gewinnt man das Nucleoalbumin (Paijkull[4]). Aus der Gallenblasenschleimhaut lässt sich derselbe Körper darstellen.

Eigenschaften. Es hat die Zusammensetzung C 50,89; H 6,7; N 16,14; S 1,66 pCt. Phosphor war vorhanden, wurde aber nicht bestimmt. Es löst sich mit Hülfe von möglichst wenig Alkali zu einer schleimigen, fadenziehenden Flüssigkeit, die beim Kochen nicht coaguliert, wohl aber nach Zusatz einer Spur Essigsäure. Essigsäure ruft einen im Ueberschuss löslichen Niederschlag hervor, desgleichen Salzsäure. Die saure Flüssigkeit wird durch Ferrocyankalium und Sublimat gefällt. Schwermetallsalze rufen in neutralen Lösungen Niederschläge hervor. Pepsinsalzsäure scheidet ein Paranuclein ab. Beim Kochen mit Säure tritt keine reducierende Substanz auf.

Ein solches Nucleoalbumin ist auch im Secret der menschlichen Gallenblasenschleimhaut nachgewiesen worden (Wahlgren[5]). Ferner findet sich ein Körper von denselben Eigenschaften, welcher höchstens mit Spuren von Mucin verunreinigt war, in der Blasengalle des Moschusochsen (Hammarsten[6]). Auch die Schleimsubstanz der Blasengalle von Hund, Schaf, Eisbär, Walross, Nilpferd, Fischen dürfte in der Hauptsache Nucleoalbumin sein. Sie liefert jedenfalls so kleine Mengen reducierender Stoffe, dass ihre Hauptmasse nicht aus echtem Mucin bestehen kann (Hammarsten[7]).

Nucleone nennt Siegfried[8]) phosphorhaltige Substanzen, die er aus Fleisch und Milch in Form ihrer Eisenverbindungen isolierte.

Der enteiweisste Muskelauszug bezw. Fleischextractlösung oder von Eiweiss befreite Milch wird durch Chlorcalcium und Ammoniak von Phosphaten befreit und dann in der Hitze mit Eisenchlorid (unter Abstumpfen der sauren Reaction bis zur schwach sauren

---

1) Maly's Jbr. 1882. S. 480.
2) Maly's Jbr. 1890. S. 11.
3) Maly's Jbr. 1892. S. 558.
4) H.-S. **12**. 196. (1888.)
5) Maly's Jbr. 1902. S. 508.
6) H.-S. **43**. 109. (1904/05.)
7) Ergebnisse der Physiol. **4**. 6. (1903.)
8) A. f. A. u. Ph. Ph. A. 1894. S. 401.
H.-S. **21**. 360. (1896) u. **28**. 524. (1899.)
Krüger, H.-S. **22**. 95. (1897.) Balke, H.-S. **22**. 248. (1897.)

mit Ammoniak) so lange versetzt, bis eine filtrierte Probe nach stärkerem Ansäuern eine schwache Eisenreaction gibt.

Carniferrin.

Der abgesaugte, mit Wasser, Alkohol und Aether gewaschene Niederschlag, Carniferrin, enthält gegen 30 pCt. Fe und 2 pCt. P. Es stellt die Eisenverbindung des Nucleons dar, ist in Alkalien löslich und gibt keine Eisenreaction. Eine Darstellung des Nucleons ist nicht gelungen, da die Entfernung des Eisens ohne gleichzeitige Phosphorsäureabspaltung sich nicht ausführen liess.

Phosphorfleischsäure.

Bei der Spaltung des Nucleons aus Fleisch, das von Siegfried Phosphorfleischsäure genannt wird, entstehen nach Siegfried Fleischsäure (S. 421), Kohlensäure, Phosphorsäure, Bernsteinsäure, Milchsäure und eine Kohlehydratgruppe.

Glukoproteide.

Zusammensetzung.

459. Die Glukoproteide stellen Verbindungen von Eiweissstoffen mit einem Kohlehydrat oder einem Kohlehydratderivat dar. Sie enthalten weniger Stickstoff und Kohlenstoff, dagegen mehr Sauerstoff als die Eiweissstoffe, reducieren nach dem Kochen mit Säuren beim Erhitzen Kupferoxyd in alkalischer Lösung, liefern bei der Spaltung keine Nucleinbasen und sind phosphorfrei.

Allgemeine Eigenschaften.

Sie reagieren sauer und bilden mit Alkalien in Wasser leicht lösliche Verbindungen. Die Farbenreactionen der Eiweissstoffe fallen, soweit bekannt, positiv aus. Der mit dem Eiweiss verbundene Paarling ist bei einigen z. B. Chondro-, Tendo-, Osseo-, Ligamentomukoid, Chondroitinschwefelsäure oder eine ähnliche Säure; bei den übrigen, bei denen eine Isolierung noch nicht gelungen ist, scheint es sich in vielen Fällen um ein stickstoffhaltiges Polysaccharid von dem Charakter des Chitins zu handeln. Jedenfalls ist durch hydrolytische Spaltung aus verschiedenen Glukoproteiden Glukosamin, aus manchen ausserdem auch Essigsäure erhalten worden (Fr. Müller und seine Schüler[1]). Sie geben (soweit geprüft) nach vorausgegangenem Erwärmen mit ein wenig Alkalilauge oder Barytwasser auf Zusatz einer salzsauren Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd bis zur deutlich sauren Reaction Rotfärbung, namentlich beim Erhitzen (Ehrlich, Müller[2]).

Mucine.

Zu den Glukoproteiden gehören die Gruppe der Mucine, welche durch die fadenziehende Beschaffenheit ihrer natürlichen oder mit etwas Alkali hergestellten Lösungen, ihre Fällbarkeit durch Essigsäure und die Unlöslichkeit des durch Essigsäure hervorgerufenen Niederschlags in überschüssiger Essigsäure charakterisiert sind, ferner eine ganze Reihe von Stoffen, die in ihrem physikalischen Verhalten oder in Reactionen von den Mucinen, denen sie sonst ähnlich sind, abweichen und die als Mukoide zusammengefasst werden. Eine scharfe Trennung zwischen Mucinen und Mukoiden ist nicht zu machen.

Mukoide.

---

1) Z. f. B. **42**. 468. (1901.) 2) Z. f. B. **42**. 562. (1901.)

Darstellung. 460. **Mucin der Submaxillardrüse** (Hammarsten[1]). Zu seiner Darstellung extrahiert man die fein zerhackte Drüse mit Wasser und versetzt das Filtrat vorsichtig mit soviel starker Salzsäure, dass die Mischung 1,5 pM. Salzsäure enthält. Das hierbei zunächst gefällte Mucin löst sich beim Umrühren wieder auf, wird dann aber auf baldigen Zusatz von 2—3 Vol. Wasser gefällt. Es wird durch Abgiessen oder Filtration abgetrennt, wieder in 1,5 prom. Salzsäure gelöst und durch Wasserzusatz gefällt, mit Wasser gut gewaschen, mit Alkohol und Aether behandelt und getrocknet.

Zusammensetzung u. Eigenschaften. Weissliches Pulver von saurer Reaction und der Zusammensetzung: C 48,84; H 6,80; N 12,32; S 0,84 pCt. Es löst sich nicht in Wasser, aber wohl auf Zusatz einer Spur Alkali unter Bildung von Salz zu schleimiger Flüssigkeit. Diese Lösungen coagulieren nicht beim Kochen, geben auf Zusatz von Essigsäure einen in überschüsssiger Essigsäure unlöslichen, zähen, gallertig schleimigen Niederschlag und werden auch durch Salze der Schwermetalle, bei Anwesenheit von Neutralsalzen auch durch Alkohol gefällt. Enthalten die Lösungen Kochsalz oder andere Neutralsalze, so ruft wenig Essigsäure keinen Niederschlag hervor. Solche sauren Lösungen werden durch Ferrocyankalium nicht, aber durch Gerbsäure gefällt. Die Farbenreactionen der Eiweissstoffe fallen positiv aus, ebenso die § 459 erwähnte Reaction von Ehrlich.

Verhalten: zu Pepsin und Trypsin. Durch Magen- und Pancreassaft wird es schnell und fast vollständig gelöst und verdaut. Bei der peptischen Verdauung reduciert die Flüssigkeit gar nicht, bei der tryptischen wenig (Fr. Müller).

zu Alkalien. Durch verdünnte Alkalien (auch durch Kalkwasser) wird es leicht verändert. Es entstehen Substanzen von den Eigenschaften des tierischen

beim Erhitzen mit Wasser. Gummi (§ 113). Beim mehrstündigen Erhitzen der neutralen Lösung auf 110—150° entsteht eine Mucinalbumose neben Spuren einer reducierenden Substanz (Folin[2]).

Hydrolyse. Bei der hydrolytischen Spaltung (3 stündiges Kochen mit 3 proc. Salzsäure) werden über 20 pCt. reducierende Substanz (als Traubenzucker berechnet) und Essigsäure gebildet; Furfurol und Lävulinsäure liessen sich nicht nachweisen (Fr. Müller). Aus der Reactionsflüssigkeit wurde mit Hülfe des Benzoylverfahrens und Spaltung der Benzoylester mit Säure Glukosamin erhalten (Fr. Müller). Mit Hülfe des Phenylisocyanatverfahrens gelang die Isolierung nicht (Steudel[3]). Ueber Versuche aus dem Submaxillarmucin Chondroitinschwefelsäure darzustellen, siehe bei Levene[4]).

Darstellung. 461. **Mucin der Schleimhaut der Luftwege.** Zur Darstellung wird nach Fr. Müller glasiges, rein schleimiges und von Eiter und Speiseresten freies Sputum in Alkohol eingetragen und geschüttelt. Das Mucin wird dabei feinfaserig und bleibt beim Colieren durch ein grobes Tuch auf diesem,

1) H.-S. **12**. 163. (1888.)
2) H.-S. **23**. 347. (1897.)
3) H.-S. **34**. 375. (1901/02.)
4) H.-S. **31**. 395. (1901.)

während zellige Elemente und fein krümeliges Eiweiss hindurchgehen. Durch Schütteln mit 0,5 proc. Salzsäure, sehr verdünnter Sodalösung und wiederum 0,5 proc. Salzsäure lässt es sich von Eiweiss und Nucleinsubstanzen befreien. Es wird dann in möglichst dünner Natronlauge gelöst, die Lösung filtriert, centrifugiert, mit Essigsäure angesäuert und mit Alkohol gefällt.

Zusammensetzung C 48,26; H 6,91; N 10,7; S ungefähr 1,4 pCt. Die wässerige Lösung ist opalescierend, reagiert sauer und wird auf Zusatz von etwas Alkali klar. In 0,1 proc. Salzsäure ist es nur sehr wenig löslich. Die Ausfällung durch Säure wird erst nach Zusatz von Alkohol vollständig. Sättigen mit Magnesiumsulfat ruft nur Trübung, Sättigung mit Ammonsulfat flockigen Niederschlag hervor, Bleiacetat bewirkt nur schwache Opalescenz. Die § 459 erwähnte Reaction von Ehrlich positiv. Zusammensetzung u. Eigenschaften.

Gegen sehr verdünnte Alkalien ist es nicht sehr empfindlich. Bei der hydrolytischen Spaltung (3 stündiges Kochen mit 3 proc. Salzsäure) entsteht 30—35 pCt. reducierende Substanz (als Traubenzucker berechnet), ferner Essigsäure. Aus der Lösung liess sich Glukosamin darstellen (Fr. Müller). Hydrolyse.

Echtes Mucin findet sich auch in der Menschengalle (neben Nucleoalbumin) wahrscheinlich als Secret der Schleimhaut der Gallenwege, ist aber noch nicht rein dargestellt worden (Hammarsten[1]), Brauer[2]). Gallenmucin.

462. **Mucin des Nabelstrangs** (Jernström[3]) wurde durch Fällen des Kaltwasserauszugs zerkleinerter menschlicher Nabelstränge mit Essigsäure, Lösen des Niederschlags in Kalkwasser, Fällung mit Essigsäure und Behandeln mit Wasser, Alkohol und Aether dargestellt. In 1—2 prom. Salzsäure löslich.

463. **Serosamucin** findet sich normaler Weise in der Synoviaflüssigkeit (von Holst[4]) und gelegentlich in Ascitesflüssigkeiten, welche durch seine Anwesenheit eine fadenziehende Beschaffenheit zeigen. Aus diesen wurde es von Umber[5]), dann in reinerem Zustande von von Holst isoliert. Vorkommen.

Offenbar dieselbe oder eine sehr nahestehende Substanz ist schon früher von Hammarsten[6]) aus Ascitesflüssigkeiten und von Paijkull[7]) aus pleuritischen Exsudaten und Hydroceleflüssigkeiten dargestellt worden. Die durch Kochen nach Essigsäurezusatz enteiweissten Flüssigkeiten wurden neutralisiert, eingeengt, mit Alkohol gefällt, die Niederschläge in Wasser gelöst, die Lösungen dialysiert und mit Essigsäure gefällt. Der Niederschlag besteht aus Mukoid. Aus dem Filtrat scheidet sich nach Neutralisation auf Zusatz von Alkohol die Mucinalbumose ab, welche sich stets in viel reichlicherer Menge findet als das Mukoid. Das Mukoid C 51,40; H 6,80; N 13,01 pCt. (S nicht bestimmt) ist in Wasser unlöslich, löst sich auf Zusatz von sehr wenig Alkali zu einer nicht schleimigen Flüssigkeit; Essigsäure fällt es und löst es erst wieder in grossem Ueberschuss. Die Mucinalbumose C 49,79; H 6,96; N 11,42 pCt. (S nicht bestimmt) verhält sich wie eine Albumose.

---

1) Maly's Jbr. 1893. S. 331.
2) H.-S. **40**. 201. (1903/04.)
3) Maly's Jbr. 1880. S. 34.
4) H.-S. **43**. 145. (1904/05).
5) Z. f. k. M. **48**. 364. (1904.)
6) H.-S. **15**. 202. (1891.)
7) Maly's Jbr. 1892. S. 558.

Darstellung. Man fällt es aus den, wenn nötig mit Wasser verdünnten Flüssigkeiten durch Zusatz von Essigsäure bis zu 1 pCt. und reinigt die abfiltrierte Substanz durch Lösen in Wasser mit Hülfe von etwas Alkali und Fällen mit Essigsäure, Wiederholung dieses Verfahrens und Behandlung mit Alkohol und Aether. Schwachgelblich weisses Pulver.

Aus Synovia: C 51,05; H 6,53; N 13,01; S 1,34 pCt.
Aus Ascitesflüssigkeit: C 51,42; H 6,66; N 13,27; S 1,27 pCt. } aschefrei berechnet.

Siehe dazu die Analyse von Hammarsten oben.

Eigenschaften. Es löst sich in Wasser mit Hülfe von etwas Alkali zu einer neutralen, beim Kochen nicht gerinnenden Flüssigkeit von schleimiger, fadenziehender Beschaffenheit. Durch Essigsäure fällbar und in überschüssiger Essigsäure nicht löslich, aber schon in sehr verdünnter Salzsäure. Durch Halbsättigung mit Ammonsulfat wird es gefällt. Die Farbenreactionen der Eiweissstoffe positiv. Die Orcinprobe wurde von Umber positiv, von von Holst negativ gefunden. Beim Kochen mit Säuren wird reducierende Substanz abgespalten, aus der Substanz von Umber nur wenig.

Synovin. Die von Salkowski[1]) aus krankhaft veränderter Synovia durch Essigsäurefällung erhaltene, in überschüssiger Essigsäure unlösliche phosphorfreie Substanz (Synovin) liefert beim Kochen mit Säure entweder gar keine reducierende Substanz oder nur äusserst wenig, verhält sich also wie der von Umber dargestellte Körper.

464. **Mucine der Schnecken** (Hammarsten[2]). a) Mantelmucin. Zu seiner Darstellung trägt man die beim Reizen der Manteloberfläche abgeschiedene, rahmähnliche (durch Calciumcarbonat bewirkt), zähe Masse in 0,01 proc. Kalilauge ein, fällt mit Essigsäure und reinigt das abgeschiedene Mucin durch Lösen in verdünnter Kalilauge und Fällen mit Essigsäure. Fällt man das Secret direct mit Essigsäure, so scheidet sich ein Mucinogen ab, welches in verdünntem Alkali zunächst unlöslich, erst allmählich durch Behandeln mit 0,1 proc. Kalilauge unter Umwandlung in Mucin in dieser löslich wird.

Zusammensetzung des Mucinogens: C 50,30; H 6,84; N 13,62; S 1,71 pCt.; des Mucins: C 50,34; H 6,84; N 13,67; S 1,79 pCt.

Das Mantelmucin stimmt in seinem Verhalten gegen Reagentien und in seiner Empfindlichkeit gegen Alkalien mit dem Submaxillarmucin (§ 460) überein. Es löst sich nicht in 1—2 prom. Salzsäure.

b) Fussmucin wird erhalten durch Fällen des mit höchstens 0,1 proc. Kalilauge hergestellten Auszugs des Schneckenfusses mit Salzsäure. C 50,45; H 6,79; N 13,66; S 1,60 pCt. Es unterscheidet sich dadurch, dass seine kochsalzhaltigen Lösungen durch Essigsäure getrübt werden (vergl. § 460).

465. **Mucin der Barscheier**[3]). Verdünnt man den wässerigen Auszug der unreifen Barscheier mit der 10—20 fachen Menge Wasser, so fällt auf Zusatz von Salzsäure bis zu einem Gehalt von 0,3 pCt. das Mucin

1) Virch. A. **131**. 304. (1893.) 2) Pfl. A. **36**. 373. (1885.)
3) Hammarsten, Skand. A. Ph. **17**. 130. (1905.)

aus, während das Ichthulin in Lösung bleibt. Durch Auswaschen, Lösen in Wasser mit Hülfe von etwas Alkali, Fällen mit Salzsäure und Wiederholung dieses Verfahrens wird es gereinigt. C 49,09; H 6,69; N 13,04; S 1,54 pCt. Es verhält sich ganz wie typisches in verdünnter Salzsäure (wenigstens bis zu 1 pCt.) unlösliches Mucin. In den reifen Eiern findet sich hauptsächtlich Mucinogen, welches durch mehrtägige Einwirkung von 0,1—0,2 proc. Natronlauge in Mucin umgewandelt wird.

466. Pseudomucin (Metalbumin*) findet sich in den Ovarialcysten und lässt sich nach Hammarsten[1]) aus solchen Ovarialflüssigkeiten, die weisslich, sehr zähe und schleimig sind, durch Fällen mit Alkohol als faseriges, sich um den Glasstab windendes Gerinnsel ausfällen. Das Gerinnsel wird unter Alkohol fein zerrieben, durch Aether von Alkohol befreit und in Wasser gelöst. Die Lösung wird wieder mit Alkohol gefällt. Darstellung.

Leichtes, weisses Pulver. C 49,44—50,05; H 6,84—7,11; N 10,26 bis 10,30; S 1,25 pCt. (auf aschefreie Substanz berechnet); Asche 1,1—1,4 pCt. Es löst sich in Wasser zu opalisierender, schleimiger Flüssigkeit, in der Essigsäure Trübung, aber keine gute Fällung hervorruft. Mit Gerbsäure, Ferrocyankalium + Essigsäure, Salpetersäure entstehen dickflüssige Fällungen, mit bas. Bleiacetat entsteht flockiger, im Ueberschuss des Fällungsmittels löslicher Niederschlag. Die § 459 erwähnte Reaction von Ehrlich positiv. Zusammensetzung u. Eigenschaften.

Beim längeren Kochen mit Fehling'scher Lösung oder bei Anwendung von concentrierter Lauge erfolgt Reduction von Kupferoxyd (Hammarsten[2]). Diese ist aber nach vorausgegangenem Kochen mit Säure viel stärker. Reductionsvermögen.

Nach 3stündigem Kochen mit 3proc. Salzsäure wurde von Zängerle[3]) ungefähr 30 pCt. reducierendes Kohlehydrat (auf Traubenzucker bezogen) erhalten. Verschiedene Präparate lieferten sehr wechselnde Mengen. Aus dieser Flüssigkeit wurde mittelst des Benzoylverfahrens Glukosamin erhalten (Zängerle[3]). Nach Neuberg u. Heymann[4]) ist Glukosamin das einzige Kohlehydrat, welches bei der Spaltung entsteht.

Unter den Producten der Hydrolyse mit Schwefelsäure wurde ausser Aminosäuren und Diaminosäuren, Ammoniak, Melaninsubstanzen auch Laevulinsäure nachgewiesen. Ueber die Mengen und über die Verschiedenheiten im Auftreten der Spaltungsproducte bei Benutzung von Schwefel- und Salzsäure siehe Otori[5]). Hydrolyse.

---

*) Das Metalbumin von Scherer ist mit dem Pseudomucin identisch, sein Paralbumin dagegen ein Gemenge von Pseudomucin und Eiweissstoffen. Verh. d. phys. med. Ges. in Würzburg. **2.** 214. (1852.) Sitzungsber. dieser Ges. 1864/65.

1) H.-S. **6.** 194. (1882.)

2) Lehrbuch der physiol. Chem. 6. Aufl. 1907. S. 501.

3) M. m. W. 1900. 414. 4) B. Ph. P. **2.** 201. (1902.)

5) H.-S. **42.** 453. (1904.), **43.** 74. (1904/05.)

Oxydation. Bei der Oxydation mit Permanganat treten Guanidin und andere nicht identificierte Substanzen auf (Otori[1]).

467. **Paramucin** wurde von Mitjukoff[2]) eine Substanz genannt, die sich in manchen Ovarialcysten als feste, zitternde, hellgelbe und in Wasser
Darstellung. unlösliche Gallerte findet. Die durch Behandeln mit salzsäurehaltigem Wasser zum Schrumpfen gebrachte, mit salzsäurehaltigem Alkohol, Alkohol und Aether behandelte Masse kann als weisses Pulver erhalten werden.

Zusammensetzung u. Eigenschaften. Zusammensetzung: C 51,76; H 7,76; N 10,70; S 1,09 pCt. Es ist in Wasser unlöslich, quillt in Alkali zunächst gallertig und löst sich im Ueberschuss. Die Lösungen verhalten sich ähnlich wie Mucinlösungen. Der durch Essigsäure hervorgerufene Niederschlag löst sich aber im Ueberschuss, ferner reduciert eine alkalische Lösung beim Erwärmen Kupferoxyd. Durch Einwirkung von Alkohol und Salzsäure, desgleichen durch die Verdauung verliert die Substanz diese letztere Eigenschaft, gewinnt sie aber nach dem Kochen mit Säure wieder (Leathes[3]). Farbenreactionen der Eiweissstoffe positiv.

Durch 1—2stündiges Kochen mit 3proc. Salzsäure oder Schwefelsäure wurden ungefähr 10 pCt. reducierendes Kohlehydrat (auf Traubenzucker berechnet) erhalten. In dieser Lösung liess sich mit Hülfe des Phenylisocyanatverfahrens kein Glukosamin nachweisen, wohl aber nachdem die in der Lösung enthaltene reducierende Substanz mit conc. Salzsäure 3 Stunden
Hydrolyse. auf 110° erhitzt worden war (Steudel[4]). Bei der Hydrolyse mit Säure entsteht keine Lävulinsäure (Panzer[2]).

Ueber das Paramucosin, welches Leathes aus dem Paramucin darstellte, siehe S. 138.

Darstellung. 468. **Ovomukoid.** Entfernt man aus einer Hühnereiweisslösung die Eiweisskörper durch Kochen unter Essigsäurezusatz, so lässt sich aus dem eiweissfreien Filtrate durch Sättigen mit Ammonsulfat oder nach mässiger Concentration durch Fällen mit Alkohol das Ovomukoid (Neumeister's Pseudopepton) abscheiden (Neumeister[5]), C. Th. Mörner[6]), Salkowski[7]).

Zusammensetzung u. Eigenschaften. Die aschefreie Substanz enthält nach Mörner N 12,65; S 2,20 pCt., nach Zanetti[8]) C 48,85; H 6,92; N 12,46; S 2,22 pCt. Dieselben Werte erhielten Osborne und Campbell[9]) sowie Langstein[10]). Es ist in Wasser löslich. Beim Eindampfen der Lösung in der Wärme scheiden sich durchsichtige Häute ab und beim weiteren Eindampfen erstarrt die Masse zu

1) H.-S. **43**. 86. (1904/05.)
2) A. f. Gynäk. **49**. 278. (1895.), Panzer, H.-S. **28**. 363. (1899.)
3) A. f. exp. P. u. Ph. **43**. 245. (1900.)
4) H.-S. **34**. 383. (1901/02.)
5) Z. f. B. **27**. 369. (1890.)
6) H.-S. **18**. 525. (1894.)
7) C. f. med. W. 1893. S. 513.
8) Maly's Jbr. 1897. S. 31.
9) J. A. Ch. S. **22**. 422. (1900.)
10) B. Ph. P. **3**. 510. (1903.)

einer durchsichtigen und beim Eintrocknen durchsichtige, gelbe Lamellen bildenden Gallerte. Häute, Gallerte und Lamellen haben ihre Löslichkeit in kaltem Wasser verloren, lösen sich aber in kochendem Wasser und die so erhaltene Lösung unterscheidet sich durch nichts von der ursprünglichen. Die wässerige Lösung wird weder durch Essigsäure noch durch die gewöhnlichen Eiweissfällungsmittel gefällt, nur Phosphorwolframsäure, Gerbsäure, Bleiessig und Ammoniak, Sättigen mit Ammonsulfat rufen Fällungen hervor. Von den Farbenreactionen fällt die Adamkiewicz'sche negativ aus. Langstein[1]) fand indessen positiven Ausfall und Willanen[2]) schwach positiven. Die § 459 angeführte Reaction von Ehrlich positiv. $[\alpha]_D = -61$ bis $61{,}4^0$.

Verhalten zu Fermenten.

Bei der Digestion mit Pepsinsalzsäure (in geringerem Grade auch schon bei der Digestion mit Salzsäure allein) wird reducierende Substanz abgespalten, bei der Digestion mit Trypsin nicht (Willanen).

Bei der hydrolytischen Spaltung entsteht Glukosamin (Zanetti). Bei einstündigem Kochen mit 3 proc. Salzsäure wird das Maximum des Reductionsvermögens erhalten (Seemann[3]). Seemann erhielt ungefähr 35 pCt. (auf Traubenzucker berechnet), Willanen (auch bei längerem Kochen) nur ungefähr 22 pCt. Aus der Lösung konnte Seemann mit Hülfe des Benzoylverfahrens (Verseifung der Benzoylverbindung mit Salzsäure) Glukosamin isolieren, Steudel[4]) mit Hülfe der Phenylcyanatmethode nicht.

Hydrolyse.

Von Aminosäuren wurden aus der hydrolytischen Spaltungsflüssigkeit isoliert: Leucin 4 pCt., Asparaginsäure 1,8 pCt., Glutaminsäure 2 pCt., Prolin 2,4 pCt., Phenylalanin 4 pCt. (Abderhalden[5]).

Harnmukoid ist in der Nubecula des Harns enthalten (K. A. H. Mörner[6]). Mittlere Zusammensetzung: C 49,40; N 12,74; S 2,30 pCt. Es löst sich in schwachem Ammoniak und wird durch Essigsäure gefällt. Gegenwart von Salzen verhindert oder verzögert die Fällung; im Ueberschuss der Essigsäure oder einer andern Säure löst sich der Niederschlag. Es stimmt in vieler Beziehung mit dem Ovomukoid des Hühnereies überein. $[\alpha]_D = -62$ bis $67{,}1^0$. Beim Erwärmen mit alkalischer Kupferlösung reduciert es schwach, nach dem Kochen mit Säure reduciert es langsam, aber stark. Schwefelsäure wird dabei nicht abgespalten.

Mukoid aus Blutserum wurde von Zanetti[7]) aus Serum nach Entfernung der coagulablen Eiweissstoffe durch Alkoholfällung erhalten. C 47,60; H 7,10; N 12,93; S 2,38 pCt. Gegen Fällungsmittel verhält es sich dem Ovomukoid sehr ähnlich. Beim Kochen mit Säure wird Schwefelsäure und Glukosamin abgespalten. Siehe dazu die Bemerkungen von K. Mörner[8]).

---

1) B. Ph. P. **3**. 510. (1903.)
2) B. Z. **1**. 108. (1906.)
3) Diss. Marburg. 1898.
4) H.-S. **34**. 380. (1901/02.)
5) H.-S. **44**. 44. (1905.)
6) Skand. A. Ph. **6**. 332. (1895.)
7) Maly's Jbr. 1897. S. 31, 1903. S. 10.
8) H.-S. **34**. 254. (1901/02.)

469. **Corneamukoid** (C. Th. Mörner[1]). Extrahiert man die von Descemet'scher Haut und Epithel befreite, fein zerhackte Cornea mit Wasser oder ganz schwachem Alkali und versetzt das (nicht fadenziehende) Filtrat mit Essigsäure, so fällt Corneamukoid aus. C 50,16; H 6,97; N 12,79; S 2,07 pCt. In Wasser unlöslich, auf Zusatz von wenig Alkali sich lösend. Die Lösungen verhalten sich im Allgemeinen wie echte Mucinlösungen, sind aber nicht fadenziehend.

Hyalomukoid (C. Th. Mörner[2]) wird erhalten, wenn man den zerschnittenen Glaskörper filtriert und das Filtrat nach Verdünnen mit dem 2—3 fachen Vol. Wasser mit soviel Essigsäure versetzt, dass es ungefähr 1 pC. enthält. N 12,27; S 1,19 pCt. Es verhält sich ebenso wie Corneamukoid.

Darstellung. 470. **Chondromukoid** (C. Th. Mörner[3]). Extrahiert man fein zerkleinerten Knorpel bei 40° mit Wasser, fügt zu dem Filtrate Salzsäure bis zu 0,2—0,4 pCt. und erwärmt im Wasserbade, so scheidet es sich allmählich als weisser, flockiger Niederschlag aus und kann durch wiederholtes Auflösen in Wasser mit Hülfe einer Spur Alkali und Ausfällen mit einer Säure gereinigt werden. Die § 459 erwähnte Reaction von Ehrlich positiv.

Zusammensetzung u. Eigenschaften. Zusammensetzung C 47,30; H 6,42; N 12,58; S 2,42 pCt. Weisses Pulver von saurer Reaction, in Wasser unlöslich. Die mit Hülfe von Alkali hergestellte, neutrale Lösung wird durch Essigsäure und Mineralsäuren gefällt, ebenso durch Kupfersulfat, Bleiacetat, Eisenchlorid; nicht gefällt durch Gerbsäure, Sublimat, Silbernitrat.

Ueber das Verhalten zu Verdauungssäften siehe S. 505 unten.

Durch Alkalien wird es in Alkalialbuminat und Chondroitinschwefelsäure (§ 257) zersetzt.

Darstellung. **Tendomukoid.** Die zerkleinerten Sehnen (Achillessehne vom Rind) werden mit Kochsalzlösung extrahiert, mit Wasser gewaschen und mit Kalkwasser ausgezogen. Das Filtrat wird mit Salz- oder Essigsäure gefällt, der Niederschlag wieder in Kalkwasser gelöst, mit Essigsäure gefällt und mit Wasser, Alkohol und Aether behandelt (Loebisch[4]).

Zusammensetzung.

Mittlere Zusammensetzung nach:	C	H	N	S	
Loebisch	48,30	6,44	11,75	0,81 pCt.	(0,45 pCt. Asche)
Chittenden u. Gies[5])	48,76	6,53	11,75	2,33 „	für aschefreie Substanz.
Cutter u. Gies[6]) . .	48,04	6,67	12,47	2,20 „	

Geringe Abweichungen in der Darstellung haben auf die Zusammensetzung der Präparate Einfluss, so dass man die Anwesenheit mehrerer Glukoproteide in der Sehne annehmen muss. Auch können sich bei der Darstellung, wie Posner u. Gies[7]) gezeigt haben, eiweissreichere Gluko-

1) H.-S. **18.** 213. (1894.)
2) H.-S. **18.** 244. (1894.)
3) Skand. A. Ph. **1.** 210. (1889.)
4) H.-S. **10.** 40. (1886.)
5) J. exp. Med. **1.** 186. (1896.)
6) A. J. of Ph. **6.** 155. (1902.)
7) A. J. of Ph. **11.** 404. (1904.)

proteide bilden. Der von Loebisch gefundene Schwefelwert scheint zu niedrig zu sein, denn er wurde in keinem andern Präparat wieder gefunden.

Es ist in 1—2 prom. Salzsäure unlöslich und wird durch Kalkwasser nicht leicht verändert. In neutraler oder alkalischer Lösung, welche gleichzeitig Tendomukoid und ein anderes Protein (z. B. Gelatine, Witte-Pepton, Albuminat, wässerige Auszüge von Muskeln, von Sehnen, Blutserum) enthalten, entstehen auf Zusatz einer Säure Niederschläge, welche Verbindungen von Tendomukoid und Protein darstellen u. z. fallen diese Verbindungen auf Zusatz von Säure leichter aus als das Mukoid allein. Die Verbindungen haben im Allgemeinen die Eigenschaften des Mukoids (Posner u. Gies). Eigenschaften.

Ueber das Verhalten zu Verdauungssäften siehe diese Seite unten.

Durch Kochen mit Säure wird Schwefelsäure und ein osazonbildendes Kohlehydrat abgespalten.

Levene[1]) erhielt aus ihm durch Einwirkung von Alkali Glukothionsäure (§ 258).

Ligamentomukoid wurde von Richards u. Gies[2]) aus Ligamentum nuchae isoliert. N 13,44, S 1,61 pCt. Ueber das Verhalten zu Verdauungssäften siehe diese Seite unten. Beim Kochen mit Säure wird Schwefelsäure und osazonbildendes Kohlehydrat abgespalten.

Osseomukoid (Hawk u. Gies[3]). Zu seiner Darstellung extrahiert man die gereinigten und mit 0,2—0,4 proc. Salzsäure entkalkten Knochen (die Einzelheiten siehe im Original) mit halbgesättigtem Kalkwasser, fällt das Filtrat mit 0,2 proc. Salzsäure und reinigt den Niederschlag durch Decantation mit schwach salzsaurem und reinem Wasser sowie durch Wiederholung von Lösung und Fällung und durch Behandeln mit Alkohol und Aether. Darstellung.

Leichtes, weisses oder schwach cremefarbenes Pulver von saurer Reaction und der mittleren Zusammensetzung C 47,07; H 6,69; N 11,98; S 2,41 pCt. (aschefreie Substanz). Es löst sich leicht in verdünnten Alkalien, auch in 0,05 proc. Sodalösung und 5 proc. Kochsalzlösung. Durch Säuren wird es gefällt. Biuret-, Millon's- und Xanthoproteinprobe sehr scharf, Schwefelbleiprobe schwach. Zusammensetzung u. Eigenschaften.

Durch Kochen mit Säure wird Schwefelsäure und ein osazonbildendes Kohlehydrat abgespalten.

Diese vier Mukoide (Chondro-, Tendo-, Ligamento- und Osseomukoid) werden durch Pepsinsalzsäure langsam und unter Hinterlassung eines Rückstandes verdaut, indem Albuminat, Albumosen und Peptone in Lösung Verhalten zu Verdauungssäften.

1) H.-S. **31**. 395. (1900/01.), **39**. 1. (1903.)
2) A. J. of Ph. **7**. 116. (1902.)
3) A. J. of Ph. **5**. 387. (1901.)
Seifert u. Gies, A. J. of Ph. **10**. 146. (1903/04.)

gehen. Aus dem unlöslichen Rückstand und meist auch aus den Albumosen lässt sich eine der Chondroitinschwefelsäure ähnliche Säure mit 2—3 pCt. N und 6—7 pCt. S isolieren, aus den Peptonen nicht (Posner u. Gies[1]). Durch Trypsin werden sie leicht verdaut unter reichlicher Bildung von Leucin, Tyrosin, Tryptophan (Posner u. Gies).

Vorkommen.

471. **Amyloid.** Mit dem Namen amyloide Substanz hat Virchow einen Körper bezeichnet, der nur pathologisch in feinen concentrisch-schaligen Körnchen häufig an dem serösen Ueberzuge der Hirnteile und Nervenanfänge oder als glasglänzende Infiltration in den verschiedensten Organen, Leber, Milz, Nieren usw. Ablagerungen bildet, sich oft dabei als Infiltration der Blutgefässwandungen zeigt und meist einen wesentlichen Teil der Prostatasteinchen ausmacht. Nach Krawkow[2]) findet sich auch normaler Weise Amyloid oder eine ihm sehr nahestehende Substanz in der Arterienwand (Aorta) und an anderen Orten. Bei Anwesenheit von Amyloid tritt auf Zusatz von Jod rötlich braune bis violette, von Jod und Schwefelsäure violette bis blaue, von Methylviolett, besonders auf Zusatz von Essigsäure, schöne rote oder rötliche Färbung ein.

Darstellung.

Das Amyloid wurde von Hanssen[3]) mittels eines mechanischen Verfahrens in Form ganz homogener, ausschliesslich runder oder elliptischer Körner isoliert, welche sich nach dem Trocknen zu einem gelblichen oder bräunlichen Pulver zerreiben liessen.

Zusammensetzung u. Eigenschaften.

C 48,5—52,8; H 7,24—7,58; N 14,23—15,62; S 1,26 pCt. (drei verschiedene Präparate), doch war das Kohlenstoffstickstoffverhältnis constant (3,38—3,42). Es ist in Wasser, schwachen Säuren und Alkalien und in Ammoniak unlöslich. Alle Farbenreactionen der Eiweissstoffe positiv, ebenso die Jodschwefelsäurereaction (siehe oben). Die Methylviolettreaction (siehe oben) ist wegen der pulverigen Beschaffenheit weniger prägnant.

Veränderung durch Alkalien u. Pepsinsalzsäure.

Durch Einwirkung von Alkalien und von Ammoniak (schon in schwachen Concentrationen) erfährt es eine Veränderung, die sich in einem negativen Ausfall der Jodschwefelsäurereaction zeigt. Dieselbe Einwirkung hat Pepsinsalzsäure (durch sie wird das Amyloid auch löslich in Ammoniak), aber nicht die Verdauung mit Trypsin oder Erepsin.

Es enthält keinen Schwefel in Form von Schwefelsäure, also auch keine Chondroitinschwefelsäure (Hanssen).

Darstellung mit Hülfe von Pepsinsalzsäure.

Krawkow gewann Amyloid in folgender Weise: Das von der Kapsel und grösseren Gefässen möglichst befreite und zerkleinerte Organ wird nach der Extraction mit kaltem Wasser und schwacher Ammoniakflüssigkeit durch ein feines Drahtnetz zerrieben und die zerriebene Masse so lange mit schwachem Ammoniak (zur Entfernung von locker gebundener oder freier Chondroitinschwefelsäure, Glykogen, Nucleinsubstanzen usw.)

1) A. J. of Ph. **11**. 330. (1904.)
2) A. exp. P. u. Ph. **40**. 195. (1898.)
3) B. Z. **13**. 185. (1908.)

ausgewaschen, bis die Waschflüssigkeit keine Reaction auf Chondroitinschwefelsäure (§ 257) mehr gibt, dann mit Wasser gewaschen und mehrere Tage mit Magensaft verdaut. Der unverdaute Rückstand wird mit schwacher Salzsäure und Wasser gewaschen und nun mit sehr schwachem Ammoniak behandelt, worin sich jetzt, nach der Verdauung, das Amyloid löst. In der filtrierten Flüssigkeit ruft verdünnte Salzsäure eine flockige oder gallertige Fällung hervor, die durch Decantation mit Wasser gewaschen und dann mit Barytwasser im Ueberschuss behandelt wird. Die Barytlösung wird abfiltriert, mit Salzsäure gefällt und der Niederschlag mit Wasser, Alkohol und Aether gewaschen.

Dieses Verdauungsamyloid (C 48,9—50,4; H 6,6—7,0; N 13,8—14,1; S 2,65 bis 2,9 pCt.), welches regelmässig die Methylviolettreaction, aber durchaus nicht immer die Jodschwefelsäurereaction zeigt und in schwachen Alkalien und Ammoniak löslich ist, enthält Chondroitinschwefelsäure. Es ist als eine erst während der Darstellung entstandene Verbindung von Amyloid mit Chondroitinschwefelsäure oder als ein Gemenge von Amyloid und Verbindungen von Eiweiss mit Chondroitinschwefelsäure anzusehen.

Die Untersuchungen von Neuberg[1]) über Stickstoffverteilung und über die hydrolytischen Spaltungsproducte sind an einem solchen Verdauungsamyloid ausgeführt worden.

Helicoproteid wurde von Hammarsten[2]) aus dem Wasserauszug der Eiweissdrüse von Helix pomatia durch Versetzen mit Essigsäure als ein in überschüssiger Essigsäure unlöslicher Niederschlag erhalten. C 46,99; H 6,78; N 6,08; S 0,62; P 0,47; Asche 10 pCt. Es ist ein Phosphorglukoproteid, welches bei der Pepsinverdauung ein Paranuclein abspaltet und bei der Behandlung mit Alkali in Alkalialbuminat und Sinistrin (§ 106) gespalten wird.

Isolierung von Monaminosäuren*) und Diaminosäuren aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteine.

472. Um Proteine völlig zu spalten, löst man sie (wenn nötig auf dem Wasserbad unter Schütteln) in rauchender Salzsäure (1,19 spec. Gew.) oder 25 proc. Schwefelsäure und kocht die salzsaure Lösung 6 Stunden, die schwefelsaure 16 Stunden auf dem Baboblech am Rückflusskühler. Erfolgt auch bei dem vorausgehenden Erwärmen auf dem Wasserbad keine völlige Lösung, so muss die Kochdauer etwas verlängert werden. Als ein Zeichen für Vollendung der Hydrolyse betrachtet man den negativen Ausfall der Biuretprobe; ein ganz einwandfreies ist es nicht, denn man kennt aus Aminosäuren bestehende Verbindungen, welche diese Reaction nicht geben.

---

*) Die Beschreibung des Verfahrens zur Isolierung der Monaminosäuren, besonders auch der Estermethode von E. Fischer ist der von E. Abderhalden gegebenen Darstellung[3]) mit Erlaubnis des Verfassers z. Tl. wörtlich entnommen worden.

1) Verh. der pathol. Ges. Mai 1904. S. 19.

2) Pfl. A. **36**. 428. (1885.)

3) Handbuch der Biochemie. Herausgeg. von C. Oppenheimer, **I**. S. 356ff.

Isolierung von Glykokoll, d-Alanin, d-Valin, l-Leucin, l-Prolin, l-Asparaginsäure, d-Glutaminsäure, l-Serin, l-Phenylalanin und l-Oxyprolin mit Hülfe der Estermethode von E. Fischer*[1].

473. **1) Abtrennung des Melanin, Herstellung der Esterchlorhydrate, Abscheidung des Glykokoll als Esterchlorhydrat.** Die in oben angegebener Weise hydrolysierte Flüssigkeit (500 g Eiweiss, 1500 ccm rauchende Salzsäure), welche dunkelviolett oder dunkelbraun gefärbt ist, wird, falls sie ungelöste Massen enthält, durch ein Coliertuch abgenutscht und der Rückstand (Melaninsubstanz) mit Wasser gewaschen, bis das Waschwasser ungefärbt abläuft.

Steht nicht viel Material zur Verfügung, so ist es zweckmässig, die Abscheidung der Glutaminsäure als salzsaures Salz in der in §474 beschriebenen Weise vorzunehmen und das Filtrat weiter wie folgt zu behandeln. Ist viel Material da, so bestimmt man die Glutaminsäure am besten in einer besonderen Portion für sich, berücksichtigt sie also in diesem Zusammenhange nicht und verfährt direct wie folgt.

Das Filtrat samt dem Waschwasser wird im Destillierkolben bei 40° des Wasserbades und einem Druck von etwa 15 mm stark eingeengt und der Syrup mit 1500 ccm absolutem Alkohol übergossen. Man leitet nun gasförmige trockene Salzsäure ein (wobei Erwärmung stattfindet), bis Salzsäuredämpfe entweichen, lässt den gut verschlossenen Kolben einige Zeit stehen, sättigt die abgekühlte Flüssigkeit nochmals mit gasförmiger Salzsäure und lässt wieder etwas stehen. Die Flüssigkeit wird jetzt bei 40° des Wasserbades und möglichst niedrigem Druck (10—15 mm) auf etwa $^2/_3$ des ursprünglichen Volumens eingeengt, in Eis abgekühlt und mit einem kleinen Krystall von Glykokollesterchlorhydrat geimpft. Bei Anwesenheit von viel Glykokoll beginnt bald eine krystallinische Abscheidung. Nach 12 Stunden saugt man ab, wäscht mit kaltem Alkohol aus, engt Filtrat + Waschalkohol unter denselben Bedingungen bis auf die Hälfte des ursprünglichen Volumens ein, sättigt wieder mit gasförmiger Salzsäure, kühlt ab und impft abermals. Nach Absaugen etwa auskrystallisierten Glykokollesterchlorhydrats und Auswaschen engt man das Filtrat unter vermindertem Druck bis zum zähen Syrup ein, wiederholt unter Anwendung der gleichen Menge absoluten Alkohols die Veresterung und versucht nach Einengen auf $^1/_3$ des Volumens nochmals eine Abscheidung zu erhalten. Es ist vorteilhaft, nach Einengen zum Syrup die Veresterung noch ein drittes Mal zu wiederholen.

*) Das Princip dieser Methode ist folgendes: Die Aminosäuren werden mit Salzsäure und Alkohol verestert, die Ester aus den Chlorhydraten abgeschieden und unter sehr niedrigem Druck fractioniert destilliert. Innerhalb der einzelnen Fractionen geschieht die Trennung der aus ihren Estern durch Verseifung erhaltenen Aminosäuren mit Hülfe fractionierter Krystallisation, mit Hülfe ihres verschiedenen Verhaltens zu Alkohol, ihrer Kupfersalze usw.

1) H.-S. **33**. 151 u. 412 (1901.) Siehe auch E. Fischer, Untersuchungen über Aminosäuren, Polypeptide und Proteine (1899—1906.), Berlin, Springer 1906.

Scheidet sich von Anfang an kein Glykokollesterchlorhydrat ab, so engt man sofort zum Syrup ein und wiederholt die Veresterung in gleicher Weise ein bis zweimal.

Dieses mehrmalige Behandeln mit Alkohol und Salzsäure (nach zwischengeschaltetem Einengen zum Syrup) ist für eine möglichst weitgehende Esterificierung notwendig, da sich bei der Veresterung Wasser bildet, welches der Reaction entgegenwirkt.

2) Darstellung der Ester aus den Esterchlorhydraten. Sie kann nach a oder b geschehen.

a) Mit Hülfe von Natronlauge, Kaliumcarbonat und Aether. Es ist zweckmässig, diese Operation mit kleinen Mengen Syrup vorzunehmen und deshalb schon vor dem letzten Einengen die Flüssigkeit auf 4 Kolben zu verteilen und jede Portion für sich zu verarbeiten. Ferner ist es erforderlich, beständig unter guter Kühlung zu arbeiten, den abgegossenen Aether jedesmal rasch zu erneuern und die Aussalzung so vorzunehmen, dass keine grossen Klumpen entstehen und zuletzt ein homogenes körniges, gut durchschüttelbares Gemisch übrig bleibt. Im Einzelnen verfährt man so: der Syrup wird in möglichst wenig Wasser ($^1/_3$ der Menge des Syrups) gelöst, die Lösung mit Aether überschichtet und in einer Kältemischung mit abgekühlter 33 proc. Natronlauge langsam unter stetigem energischen Schütteln des Kolbens versetzt, bis die freie Salzsäure neutralisiert ist*). Dann fügt man festes Kaliumcarbonat zu, schüttelt kräftig, giesst den Aether ab und erneuert ihn sofort, fügt wieder Alkali und Kaliumcarbonat hinzu, schüttelt, wechselt den Aether und fährt in derselben Weise fort, bis das Gemisch eine einheitliche bröckelige Masse darstellt und der Aether, der anfangs tief gelb bis braun gefärbt war, farblos bleibt und bei der Verdunstung einer Probe keinen Rückstand hinterlässt. Die Menge des zugefügten Alkalis muss natürlich so gross sein, dass die gesamte Salzsäure gebunden wird.

Aus dieser bröckeligen oder dickbreiigen Masse sind durch Wiederholung des ganzen Veresterungsprocesses noch weitere erhebliche Mengen von Aminosäuren zu gewinnen[1]). Man löst sie zu dem Zweck in Wasser, leitet gasförmige Salzsäure ein, filtriert von ausgeschiedenem Chlorkalium ab, dampft ein, bis Krystallisation erfolgt, filtriert und fährt so fort, so lange die sich abscheidende Krystallmasse rein anorganisch ist. Beginnt auch organische Substanz mit auszufallen, so übergiesst man die ganze Masse mit Alkohol, leitet gasförmige Salzsäure ein, filtriert von ungelöst bleibenden anorganischen Salzen ab, dampft das Filtrat bei 40° des Wasserbades unter vermindertem Druck zur Trockne ein, wiederholt die Veresterung, filtriert von anorganischen Salzen ab und verfährt nun genau so, wie unter 1 und weiter unter 2 angegeben. Die dabei erhaltene ätherische Lösung der Ester wird verdunstet, der Rückstand nach 3 fractioniert

*) Dieser anfänglich vorsichtige Zusatz von Alkali hat den Zweck, die gegen Alkali besonders empfindlichen schwach basischen Ester der Asparagin- und Glutaminsäure vor der Zersetzung zu schützen.

1) E. Fischer, B. **35**. 2660. (1902), Abderhalden, H.-S. **37**. 484 u. 499. (1902/03.)

destilliert und die beim Ausschütteln mit Aether hinterbleibende bröckelige oder dickbreiige Masse nochmals in der eben beschriebenen Weise dem Veresterungsprocess unterworfen.

Die einzelnen Aetherportionen giesst man zunächst auf Kaliumcarbonat und filtriert sie nach etwa 15 Minuten langem Stehen in eine Sammelflasche. Nach etwa 12 stündigem Trocknen mit geglühtem Natriumsulfat destilliert man den Aether unter gewöhnlichem Druck ab, aber nicht ganz vollständig, um zu verhindern, dass die einfachen Monaminosäureester, wie Glykokoll- und Alaninester mit der letzten Menge Aether übergehen*). Die letzten Reste des Aethers entfernt man unter vermindertem Druck bei gewöhnlicher Temperatur oder bei 20°.

b) Mit Hülfe von Natriumalkoholat[1]): Der Syrup wird in wenig Alkohol gelöst und die Lösung auf ein bestimmtes Volum gebracht. Nachdem dann in einem aliquoten Teil der Chlorgehalt durch Titration ermittelt ist, fügt man zu der mit Aether überschichteten und in Eis gestellten Hauptmenge das dem vorhandenen Chlor entsprechende Natrium in alkoholischer Lösung hinzu, befördert durch weiteren Zusatz von Aether die Abscheidung des Kochsalzes, filtriert oder centrifugiert und trocknet die alkoholisch-ätherische Lösung der freien Ester durch Schütteln mit geglühtem Natriumsulfat. Nach Abdestillieren des Aethers wird fractioniert destilliert.

3. Fractionierte Destillation der Ester und Untersuchung der Fractionen. Es genügt für eine genügende Trennung der Ester folgende Fractionierung, die unter Umständen auch wiederholt werden kann, vorzunehmen.

Fraction	Temperatur des Wasser- oder Oelbades	Druck in mm
1	bis 60°	12
2	„ 100°	12
3	„ 100°	0,1—0,5
4	„ 175°	0,1—0,5

a) Fraction 1. Sie enthält hauptsächlich Alaninester und Glykokollester, soweit dieser nicht schon vorher entfernt ist. Von Valin-, Leucin- und Prolinestern finden sich höchstens geringe Mengen.

Die Verseifung geschieht durch (6—8 stündiges) Kochen am Rückflusskühler mit der etwa 6 fachen Menge Wasser bis zum Verschwinden der alkalischen Reaction. Man dampft nun unter vermindertem Druck zur

*) Geringe Mengen gehen fast stets mit in das Destillat. Um sie zu gewinnen, schüttelt man das Destillat mit verdünnter wässeriger Salzsäure durch und dampft die salzsaure Lösung (nach Entfernung des Aethers) auf dem Wasserbad zur Trockne ein. Durch Kochen mit Bleioxyd lassen sich aus den salzsauren Salzen die freien Aminosäuren gewinnen, auch kann man den Rückstand gleich mit Alkohol übergiessen und gasförmige trockene Salzsäure einleiten, um Glykokoll als Esterchlorhydrat, wie oben beschrieben, abzuscheiden.

1) Abderhalden u. Rostoski, H.-S. **46**. 132. (1905.)

Trockne ein und kocht den Rückstand mit absolutem Alkohol aus. Ueber die Untersuchung der alkoholischen Lösung, welche das Prolin enthält, siehe weiter unten bei d). Von der in Alkohol unlöslichen Masse verestert man einen Teil (durch Uebergiessen mit der 5 fachen Menge absoluten Alkohols und Einleiten gasförmiger trockener Salzsäure), kühlt die Lösung auf 0° ab und impft mit einem kleinen Krystall von Glykokollesterchlorhydrat. Erfolgt eine Krystallisation, so wird die Hauptmenge in derselben Weise behandelt, die Mutterlauge des Glykokollesterchlorhydrats im Vacuum zur Trockne verdampft, die Umwandlung der Chlorhydrate in die freien Ester nach 2., die Verseifung in der eben beschriebenen Weise vorgenommen und die Lösung dann eingeengt. Es bleibt meist reines Alanin zurück, das von etwa beigemengtem Valin und Leucin durch fractionierte Krystallisation befreit werden kann. Zur Trennung von Glykokoll und Alanin kann auch die Schwerlöslichkeit des Glykokollpikrats benutzt werden. Ergab sich die Abwesenheit von Glykokoll, so sucht man direct aus dem in heissem Alkohol unlöslichen Teil durch Krystallisation Alanin zu erhalten.

b) Fraction 2. Sie kann Leucin-, Isoleucin-, Alanin-, Valin-, Glykokoll-, Prolinester enthalten.

Die Verseifung erfolgt wie bei Fraction 1. Aus der Lösung scheidet sich (wenn es reichlicher vorhanden) Leucin in Form blättriger Krystalle ab. Man saugt ab, dampft im Vacuum zur Trockne ein und kocht den Rückstand mit absolutem Alkohol aus. Ueber die Untersuchung der alkoholischen Lösung, welche Prolin enthält, siehe weiter unten bei d). Der in Alkohol unlösliche Teil wird in heissem Wasser gelöst und die Lösung mit Tierkohle gekocht. Beim Abkühlen fällt Leucin aus, von dem man durch Einengen der Mutterlauge noch mehr gewinnt. Der Gang der weiteren Untersuchung besteht in der Darstellung möglichst zahlreicher Krystallisationen, welche getrocknet und in Bezug auf ihren Schmelzpunkt untersucht werden. Die ersten Fractionen bestehen meist aus reinem Leucin + Isoleucin. Dann folgen Gemische von Leucin und Valin und dann solche von Valin, Alanin und Glykokoll. Letzteres wird aus den am niedrigsten schmelzenden Fractionen am besten als Esterchlorhydrat abgeschieden. Leucin, Isoleucin, Valin, Alanin trennt man am besten durch Darstellung ihrer Kupfersalze. Das schwerlösliche blassblaue Kupfersalz des Leucin lässt sich verhältnismässig leicht von den übrigen Kupfersalzen abtrennen. Die schnell ausführbare Bestimmung des Kupfergehaltes gibt einen Ueberblick über das etwa vorhandene Gemisch. Isoleucinkupfer lässt sich vermöge seiner Löslichkeit in Methylalkohol isolieren. Schwer trennbar ist das Gemisch von Valin und Alanin. Eine Kontrolle über die Reinheit liefert hier vor Allem die Bestimmung des Drehungsvermögens der freien Aminosäure in Salzsäure. Eine absolut scharfe Trennung von Leucin, Isoleucin, Valin und Alanin gibt es zur Zeit nicht. Man wird stets Zwischenfractionen erhalten, welche zwar ganz überwiegend aus einer Fraction bestehen, aber noch nicht ganz

rein sind. Ueber die Trennung der genannten Aminosäuren von einander siehe auch die Angaben auf S. 232, 235, 239.

c) Fraction 3. Sie enthält bei den meisten Proteinen reichliche Mengen von Leucin- und Isoleucin-, ferner Glykokoll-, Alanin-, Valin-, Prolinester.

Die Verseifung erfolgt wie bei Fraction 1. Aus der Lösung scheidet sich (bei den meisten Proteinen) viel Leucin und Isoleucin ab. Man saugt ab, dampft im Vacuum zur Trockne ein und kocht den Rückstand mit absolutem Alkohol aus. Ueber die Untersuchung der alkoholischen Lösung, welche das Prolin enthält, siehe weiter unten bei d). Der in Alkohol unlösliche Teil besteht bei guter Fractionierung im Wesentlichen nur aus Leucin, Isoleucin und Valin, deren Trennung wie bei der Fraction 2 durch fractionierte Krystallisation der Aminosäuren selbst oder ihrer Kupfersalze erfolgt.

Meist genügt zur Identificierung die Feststellung des Schmelzpunktes, der specifischen Drehung und die Analyse. Unter Umständen empfiehlt es sich, für diesen Zweck oder auch zur völligen Reinigung eines der für die einzelnen Aminosäuren charakteristischen Derivate darzustellen.

d) Die alkohollöslichen Auszüge der Fractionen 1—3. Sie werden vereinigt und im Vacuum zur Trockne gebracht. Der Rückstand wird mit absolutem Alkohol behandelt. Dabei bleibt ein Teil ungelöst, den man abfiltriert. Das Filtrat wird im Vacuum eingeengt, der Rückstand wieder mit absolutem Alkohol behandelt und das so lange fortgesetzt, bis eine glatte Lösung des Rückstandes in absolutem Alkohol erfolgt.

Die in Alkohol unlöslichen Teile, welche meist neben wenig Leucin, Valin, Alanin auch Glykokoll enthalten, werden in Wasser gelöst; die Lösung wird der fractionierten Krystallisation unterworfen und in der bei den Fractionen 1—3 angegebenen Weise untersucht.

Die alkoholische Lösung enthält ziemlich reines Prolin und zwar sowohl das optisch active als auch das racemische, deren Trennung auf dem verschiedenen Verhalten ihrer Kupfersalze zu absolutem Alkohol beruht. Man dampft im Vacuum zur Trockne, kocht die Lösung des Rückstandes mit überschüssigem, frisch gefälltem Kupferoxyd, filtriert, dampft die blaue Lösung im Vacuum wieder zur Trockne ein, kocht den meist etwas syrupösen Rückstand mit absolutem Alkohol und filtriert. Aus dem concentrierten alkoholischen Filtrat scheidet sich beim Stehen l-Prolinkupfer krystallinisch aus (ein Teil des Kupfersalzes bleibt syrupös und besteht entweder aus Zersetzungsproducten des Prolins oder noch unbekannten Stoffen). Das in Alkohol unlösliche Kupfersalz des d-l-Prolin wird aus Wasser umkrystallisiert.

e) Fraction 4. Sie enthält die Ester des Serin, Phenylalanin, der Asparaginsäure und der Glutaminsäure, falls letztere nicht schon als salzsaures Salz abgeschieden ist.

Zur Entfernung des Phenylalaninesters versetzt man das Gemisch mit der etwa 5 fachen Menge Wasser (bei reichlicher Anwesenheit des Esters nimmt das Wasser durch den in Tropfen ausfallenden Ester milchige Beschaffenheit an) und schüttelt mit Aether. Der Aether, welcher den Ester enthält, wird abgetrennt, mehrmals mit dem gleichen Volumen Wasser gewaschen und abdestilliert, der Rückstand durch wiederholtes Abdampfen mit rauchender Salzsäure verseift. Das zurückbleibende salzsaure Phenylalanin wird durch Umkrystallisieren aus Salzsäure gereinigt.

Die durch Aether von Phenylalaninester befreite wässerige Lösung zusammen mit dem zum Waschen des Aethers benutzten Wasser wird mit etwa der doppelten Gewichtsmenge reinem umkrystallisierten Baryt versetzt und durch zweistündiges Erwärmen auf dem Wasserbad verseift. Man lässt nun die Lösung am besten mehrere Tage bei gewöhnlicher Temperatur stehen. Allmählich krystallisiert neben Baryt das Bariumsalz der racemischen Asparaginsäure in feinen Krystalldrusen aus. Es wird abfiltriert, durch Kochen mit Schwefelsäure zersetzt und die überschüssige Schwefelsäure aus verdünnter Lösung quantitativ mit Barytwasser entfernt. Beim Eindampfen des Filtrats erhält man direct reine Asparaginsäure. Aus der Mutterlauge von asparaginsaurem Baryt fällt man den Baryt quantitativ mit Schwefelsäure, engt dann das Filtrat vom Bariumsulfat am besten unter vermindertem Druck stark ein, leitet gasförmige Salzsäure bis zur Sättigung ein und lässt bei 0° 48 Stunden stehen: Es scheidet sich die Glutaminsäure als salzsaures Salz ab. Aus der eingeengten Mutterlauge sucht man weitere Krystallisationen zu erhalten. Sie werden mit der ersten Ausscheidung vereinigt, aus heisser Salzsäure umkrystallisiert und schliesslich über Kalk und Schwefelsäure getrocknet.

Die Mutterlaugen der Glutaminsäure (die des Rohproducts und die beim Umkrystallisieren gewonnene) werden unter vermindertem Druck völlig zur Trockne verdampft. Der Rückstand wird durch wiederholtes Aufnehmen in Wasser und Eindampfen von möglichst viel Salzsäure befreit, dann in Wasser gelöst und die Lösung so lange mit gelbem Bleioxyd gekocht, bis keine Chlorreaction mehr auftritt, darauf filtriert und mit Schwefelwasserstoff behandelt. Aus dem Filtrat vom Schwefelblei, welches Asparaginsäure und Serin enthält, lässt sich erstere durch Einengen abscheiden. Das Serin rein zu erhalten, ist schwierig. Am besten gelingt seine Abscheidung, wenn man, nach Entfernung der Hauptmenge der Asparaginsäure durch Krystallisation, die saure Lösung mit n-Natronlauge genau neutralisiert und einengt. Es krystallisiert oft Serin aus. Wiederholt wurde mit Vorteil die β-Naphthalinsulfomethode (S. 226) zur Isolierung des Serins benutzt.

f) Destillationsrückstand. Er erstarrt meist nach dem Abkühlen zu einer zähen, hell- bis dunkelrotbraunen Masse und enthält neben unbekannten Zersetzungsproducten kleine Mengen Anhydride, z. B. Leucinimid,

welche secundär aus den Estern entstanden sein dürften, sowie Glutaminsäureester in oft reichlichen Mengen. Auch geringe Mengen von Leucin- und Phenylalaninester sind in ihm gefunden worden.

Zur Isolierung der Glutaminsäure, deren Menge oft beträchtlicher ist als in den Destillaten, löst man den Rückstand in Wasser und kocht mit überschüssigem Baryt mehrere Stunden (bis zu 16 Stunden) am Rückflusskühler. Nach Entfernung des Bariums als Bariumsulfat wird das Filtrat stark eingeengt, mit Salzsäure gesättigt und abgekühlt. Die sich jetzt und weiter aus der eingeengten Mutterlauge abscheidende salzsaure Glutaminsäure wird aus Salzsäure umkrystallisiert.

4. **Der von den Aminosäureestern durch Ausäthern möglichst befreite Rückstand** (siehe S. 509, 2a). In ihm finden sich Hexonbasen und etwa vorhandenes Oxyprolin[1]). Er wird in der unter 2a beschriebenen Weise (Einengen seiner wässerigen Lösung und Einleiten von Salzsäuregas) möglichst von Salzen und durch Einengen unter vermindertem Druck möglichst von Salzsäure befreit. Darauf löst man in soviel Wasser, dass die Lösung etwa 1 pCt. an organischer Substanz enthält, fügt Schwefelsäure bis zu etwa 5 pCt. hinzu, fällt mit etwa 10proc. Phosphorwolframsäure, saugt den Niederschlag ab und presst ihn stark aus. Aus dem Niederschlag lassen sich nach Zerlegung mit Baryt die Hexonbasen gewinnen (§ 477). Das Filtrat wird von der Phosphorwolframsäure durch Baryt und vom überschüssigen Barium durch Schwefelsäure befreit, im Vakuum stark eingeengt und zur Entfernung von Salzsäure mit überschüssigem Silbersulfat geschüttelt. Man filtriert, fällt das gelöste Silber genau mit Salzsäure und die Schwefelsäure mit Baryt und engt dann im Vakuum bis zum Syrup ein. Oxyprolin krystallisiert nach längerem Stehen aus. Es kann auch als β-Naphthalinsulfoverbindung (S. 226) nachgewiesen werden.

Isolierung von Glutaminsäure.

474. Die wie oben angegeben (§ 472) mit Salzsäure hydrolysierte Flüssigkeit (500 g Eiweiss, 1500 ccm rauchende Salzsäure) wird mit viel Tierkohle aufgekocht, filtriert und unter vermindertem Druck stark eingeengt. Man sättigt mit gasförmiger Salzsäure, impft die salzsaure Lösung mit einem Kryställchen von salzsaurer Glutaminsäure und lässt bei 0° stehen. War die Lösung nicht zu stark eingeengt und nicht zu sehr verunreinigt, so krystallisiert das Chlorhydrat der Glutaminsäure in grossen reinen Krystallen aus. Ist das nicht der Fall, scheiden sich nur feine Kryställchen ab, welche sich schlecht absaugen lassen, oder erfolgt die Krystallisation unvollkommen, so liegt der Grund oft in der starken Dunkelfärbung. Man erreicht dann oft eine gute Entfärbung, wenn man zunächst durch völliges Einengen der mit Wasser verdünnten Lösung unter

1) E. Fischer, B. **35**. 2660. (1902.)

vermindertem Druck, Aufnehmen des Rückstandes in Wasser und abermaliges Verdampfen möglichst viel Salzsäure entfernt und dann mit Tierkohle kocht. Gelingt das nicht, dann entfernt man die Hauptmenge der Salzsäure durch Schütteln mit überschüssigem Kupferoxydul, filtriert, leitet Schwefelwasserstoff ein und filtriert wieder. Aus der nun nur leicht gelb gefärbten Flüssigkeit lässt sich nach Einengen und Sättigen mit Salzsäure die salzsaure Glutaminsäure in mehreren Krystallfractionen leicht und vollständig gewinnen.

Isolierung von Tyrosin und Diaminotrioxydodekansäure.

475. Die mit Schwefelsäure (§ 472) hydrolysierte Lösung wird durch Baryt von Schwefelsäure befreit und filtriert oder besser centrifugiert, der Niederschlag mit Wasser ausgekocht u. z. so oft, bis eine Probe des Filtrats mit Millon's Reagens keine Reaction mehr gibt. Filtrat und Waschflüssigkeiten werden eingeengt, bis Krystallisation erfolgt. Die abfiltrierte Mutterlauge dampft man bis zu neuer Krystallisation ein und fährt fort, bis die Mutterlauge keine Millon'sche Reaction mehr zeigt. Die vereinigten Ausscheidungen des Rohtyrosins werden unter Benutzung von Tierkohle aus Wasser umkrystallisiert. Aus der Mutterlauge, welche man beim Umkrystallisieren des aus Casein gewonnenen Rohtyrosins aus Wasser erhält, ist durch Fällung mit Phosphorwolframsäure die Diaminotrioxydodekansäure[1]) gewonnen worden.

Wegen der präparativen Darstellung des Tyrosins aus Seide siehe S. 285.

Isolierung von Cystin.

476. Die mit rauchender Salzsäure (§ 472) hydrolysierte Flüssigkeit wird durch Kochen mit Tierkohle möglichst entfärbt, filtriert und mit 33 proc. Natronlauge bis zur schwach sauren Reaction versetzt. Nach mehrtägigem Stehen filtriert man die Krystallisation, welche im wesentlichen aus Tyrosin und Cystin besteht, ab, löst in heissem 10 proc. Ammoniak[2]), kühlt ab und fügt Eisessig bis zur schwach alkalischen oder neutralen Reaction hinzu. Es fällt zunächst Tyrosin aus. Aus der Mutterlauge scheidet sich nach Uebersättigen mit Eisessig Cystin ab. Gibt das Cystin eine Reaction mit Millon's Reagens, enthält es also noch Tyrosin, so muss die Trennung in derselben Weise nochmals wiederholt werden.

Siehe auch die Angaben S. 247.

Isolierung von Tryptophan.

Siehe S. 299.

---

1) E. Fischer u. Abderhalden, H.-S. **42**. 540. (1904.)
2) Friedmann, B. Ph. P. **3**. 15. (1903.)

Isolierung von Hexonbasen*) (Arginin, Lysin und Histidin) nach Kossel u. Kutscher[1].

477. 2 bis 5 g Protamin oder 25 bis 50 g anderer Proteinkörper**) (je nach dem Basenreichtum des benutzten Materials) werden mit einer Mischung von dem dreifachen Gewicht conc. Schwefelsäure und dem sechsfachen Gewicht Wasser 14 Stunden am Rückflusskühler gekocht. Die Flüssigkeit wird mit einer heissen, conc. Barytlösung alkalisch gemacht, filtriert, mit Schwefelsäure angesäuert, wieder filtriert, in einem geräumigen Kolben auf etwa 1 Liter aufgefüllt und kalt mit kochend heisser Silbersulfatlösung allmählich unter zeitweisem kräftigen Umschwenken solange versetzt, bis ein Tropfen in einem mit Barytwasser gefüllten und auf dunkler Unterlage stehenden Uhrglas nicht mehr eine weisse oder hellgelbe, sondern eine braungelbe Fällung hervorruft. Man kühlt jetzt gut ab, sättigt mit gepulvertem Aetzbaryt (es soll auch nach längerem Umschwenken etwas ungelöster Aetzbaryt am Boden liegen), lässt den Niederschlag absitzen, saugt ihn ab, zerreibt ihn samt Filter in einer Reibschale unter Zufügen von gereinigtem Seesand mit Barytwasser, saugt nochmals ab und wäscht mit barythaltigem Wasser gründlich aus. Der Niederschlag (A) enthält Histidin und Arginin, die Flüssigkeit (B) Lysin.

A. Der Niederschlag (Histidin und Arginin) wird in schwefelsäurehaltigem Wasser mit Hilfe von Sand fein zerrieben und mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Die Flüssigkeit wird durch Kochen von Schwefelwasserstoff befreit, der Niederschlag (Schwefelsilber und Bariumsulfat) abgesaugt und wiederholt ausgekocht, Filtrat und Waschwasser auf etwa 1 Liter eingedampft, mit Barytwasser genau neutralisiert, mit Bariumnitratlösung versetzt, so lange noch ein Niederschlag entsteht, und filtriert. Das auf etwa 300 ccm eingedampfte Filtrat versetzt man in einem Kolben nach Ansäuern mit Salpetersäure mit concentrierter Silbernitratlösung, bis eine Tropfenprobe (in der oben beschriebenen Weise geprüft) mit Barytwasser einen braungelben Niederschlag gibt. Nun wird mit Barytwasser schwach sauer oder eben neutral gemacht, aufgeschwemmtes Bariumcarbonat zugesetzt und zunächst im Wasserbad angewärmt, dann auf dem Drahtnetz zum einmaligen Aufkochen erhitzt. Nach dem Erkalten und Absitzen filtriert

*) Unter diesem Namen fasst Kossel Arginin, Lysin und Histidin zusammen (H.-S. **25**. 175. (1898.)

**) Es sind das die Mengen, welche Kossel und Kutscher für die quantitative Bestimmung der Hexonbasen benutzten. Der oben beschriebene Gang lässt sich leicht quantitativ gestalten und mit einer Bestimmung des Ammoniaks und Melaninstickstoffs verbinden, siehe darüber die Originalarbeit. Die Ausbeuten sind natürlich nur geringe. Zur Gewinnung grösserer Mengen Hexonbasen ist mehr basenreiches Ausgangsmaterial zu verwenden. Ueber die präparative Darstellung siehe die einzelnen Hexonbasen.

1) H.-S. **31**. 165. (1900/01.) Eine genaue Beschreibung dieses Verfahrens unter Berücksichtigung von Verbesserungen von Kossel (H.-S. **49**. 318. 1906) und Steudel (H.-S. **37**. 219. (1902/03) u. **44**. 157. (1905.) siehe bei Weiss, H.-S. **52**. 107. (1907.)

man ab und wäscht mit ganz schwachem Barytwasser (5—6 Tropfen einer 5 proc. Aetzbarytlösung auf 100 ccm Wasser) bis zum Verschwinden der Salpetersäurereaction sorgfältig aus. Der Niederschlag enthält Histidin (a), das Filtrat Arginin (b).

a. Der Niederschlag (Histidinsilber) wird im Kolben mit schwefelsäurehaltigem Wasser in der Hitze bis zur sauren Reaction versetzt und durch Schwefelwasserstoff zersetzt. Man kocht zur Entfernung des Schwefelwasserstoffs, filtriert, kocht den Niederschlag aus, dampft Filtrat und Waschwasser auf etwa 250 ccm ein, entfernt die Schwefelsäure durch Aetzbaryt, den überschüssigen Aetzbaryt durch Kohlensäure und dampft ein. Aus der nochmals filtrierten und nötigenfalls von Barytspuren durch wenige Tropfen verdünnter Schwefelsäure befreiten Flüssigkeit, welche etwa 10 ccm betragen soll, scheidet sich das Histidin auf Zusatz eines geringen Ueberschusses von in wenig heissem Alkohol gelöster Pikrolonsäure allmählich als Histidinpikrolonat ab.

b. Das Arginin enthaltende Filtrat wird mit gepulvertem Aetzbaryt gesättigt, der Niederschlag abgesaugt, nochmals mit Barytwasser verrieben, wieder abgesaugt und bis zum Verschwinden der Salpetersäurereaction ausgewaschen. Man reibt ihn jetzt mit schwefelsäurehaltigem Wasser bis zur sauren Reaction an, zersetzt ihn mit Schwefelwasserstoff, entfernt den Schwefelwasserstoff durch Kochen, filtriert und dampft Filtrat und Waschwasser auf etwa 500 ccm ein. Man entfernt nun die Schwefelsäure in der Hitze mit Barytwasser, den überschüssigen Baryt mit Kohlensäure, dampft ein, filtriert, entfernt nötigenfalls Spuren von Baryt mit wenigen Tropfen verdünnter Schwefelsäure, bringt die Flüssigkeit auf etwa 10 ccm und scheidet das Arginin durch Zufügen von Pikrolonsäure (in wenig heissem Alkohol gelöst) als Argininpikrolonat ab.

B. Die Flüssigkeit (Lysin) wird mit Schwefelsäure angesäuert, durch Schwefelwasserstoff vom Silber befreit, filtriert, auf etwa 500 ccm eingedampft, mit Schwefelsäure bis zu einem Gehalt von 5 pCt. versetzt und mit Phosphorwolframsäure ausgefällt. Der abgesaugte Niederschlag wird mit 5 proc. Schwefelsäure angerieben, wieder abgesaugt und ausgewaschen, dann mit Barytwasser zerlegt, das Filtrat durch Kohlensäure vom Baryt befreit, bis fast zur Trockne eingedampft, mit Wasser aufgenommen, filtriert und nochmals eingedampft. Den Rückstand rührt man jetzt mit einer geringen Menge alkoholischer Pikrinsäure unter Zusatz von Alkohol an und fügt so lange kleine Portionen alkoholischer Pikrinsäure zu, als noch weiterer Niederschlag eintritt. Ein Ueberschuss von alkoholischer Pikrinsäure muss vermieden werden, da dieser das Lysinpikrat wieder in Lösung bringt. Nach mehrstündigem Stehen wird abfiltriert, mit wenig absolutem Alkohol gewaschen, in siedendem Wasser gelöst und die Lösung eingedampft. Es krystallisiert Lysinpikrat aus.

478. Gehalt einiger Proteine a

(+ bedeutet vorhanden, aber nicht bestimmt, 0 nicht vorhande

	Serumalbumin [1]	Ovalbumin [2]	Lactalbumin [3]	Fibrinogen [4]	Serumglobulin [5]	Bence-Jonesscher Körper [6]	Syntonin [7]	Histon aus Nucleohiston [8]	Gadushiston [9]	Lotahiston [10]	Globin (berechnet aus Hämoglobin) [11]	Salmin [12]	Cyprinin-α [13]	Sturin [14]	Keratin aus Rinderhorn [15]	Keratin aus Hammelhorn [16]	Keratin aus Schafwolle [17]	Keratin aus Pferdehaaren [18]	Gä se fe de [19]
Ammoniak							0,83	1,66	0,74	0,66		0							
Glykokoll	0	0	0	3,0	3,52	1,7	0,5	0,5			0	0			0,34	0,45	0,58	4,7	2,
Alanin . .	2,68	2,1	2,5	3,6	2,22	4,5	4,0	3,46			4,19	0		+	1,2	1,6	4,4	1,5	1,
Valin . . .		+?	0,9	1,0	+		0,9					4,3	+	0?	5,7	4,5	2,8	0,9	0,
Leucin . .	20,0	6,1	19,4	15,0	18,70	10,6	7,8	11,80			29,04	0		+	18,3	15,3	11,5	7,1	8,
Isoleucin .												0							
Asparaginsäure. . .	3,12	1,5	1,0	2,0	2,54	4,5	0,5	+			4,43	0			2,5	2,5	2,3	0,3	1,
Glutaminsäure. . .	7,7	8,0	10,1	10,4	8,5	6,0	13,6	3,66			1,73	0			16-18	17,2	12,9	3,7	2,
Cystin. . .	2,3	0,2		1,17	1,51			+			0,31	0			6,8	7,5	7,3	7,98	
Serin . . .	0,6			0,8	+						0,56	7,8		0?	0,68	1,1	0,1	0,6	0,
Diaminotrioxydodekansäure												0							
Arginin . .		2,14				+	5,06	14,36	15,52	12,0	5,42	87,4	4,9	58,2	2,25	2,7		4,45	
Lysin . . .		2,15				+	3,26	7,7	8,30	3,17	4,28	0	28,8	12,9		0,2		1,12	
Histidin . .		0				+	2,66	1,21	2,34	2,85	10,96	0		12,9		— ?		+ ?	
Prolin. . .	1,04	2,25	4,0	3,6	2,76	1,9	3,3	1,46			2,34	11,0		0	3,6	3,7	4,4	3,4	3,
Oxyprolin .											1,04	0							
Phenylalanin. . . .	3,08	4,4	2,4	2,5	3,84	1,5	2,5	2,20			4,24	0			3,0	1,9			+
Tyrosin . .	2,1	1,1	0,85	3,5	2,5	1,7	2,2	6,31			1,33	0			4,6	3,6	2,9	3,2	3,
Tryptophan . .	+				+						+	0							

1) Abderhalden, H.-S. **37**. 495. (1902/03.), **46**. 194. (1905.)
2) Abderhalden u. Pregl, H.-S. **46**. 24. (1905.)
Hugounenq u. Gulimard, C. r. **143**. 242. (1906.)
3) Abderhalden u. Pribram, H.-S. **51**. 409. (1907.)
4) Abderhalden u. Voitinovici, H.-S. **52**. 371. (1907.)
K. Mörner, H.-S. **34**. 268. (1901/02.)
5) Abderhalden, H.-S. **44**. 22. (1905.), **46**. 194. (1905.)
Lehrb. d. physiol. Ch. S. 188.
K. Mörner, H.-S. **34**. 267. (1901/02.)
6) Abderhalden u. Rostoski, H.-S. **46**. 135. (1905.)
7) Abderhalden u. Sasaki, H.-S. **51**. 404. (1907.)
Hart, H.-S. **33**. 355. (1901.)
8) Kossel u. Kutscher, H.-S. **31**. 165. (1900/01.)
Kutscher, H.-S. **38**. 114. u. 126. (1903.)
Abderhalden u. Rona, H.-S. **41**. 278. (1904.)
9) Kossel u. Kutscher, H.-S. **31**. 165. (1900/01.)
10) Ehrström, H.-S. **32**. 350. (1901.)
11) Abderhalden, H.-S. **37**. 484. (1902/03.)
Abderhalden u. Baumann, H.-S. **51**. 397. (1907.)
12) Kossel u. Dakin, H.-S. **41**. 407. (1904.) und die A gaben § 377.
13) Kossel u. Dakin, H.-S. **40**. 567. (1903/04.)
14) Literatur siehe § 382.
15) E. Fischer u. Dörpinghaus, H.-S. **36**. 462. (1902.
Abderhalden u. Voitinovici, H.-S. **52**. 352. (190
Hedin, H.-S. **21**. 160. (1895/96.)
K. Mörner, H.-S. **34**. 218. (1901/02.)
16) Abderhalden u. Voitinovici, H.-S. **52**. 351. (190
17) Abderhalden u. Voitinovici, H.-S. **52**. 349. (190
18) Abderhalden u. Wells, H.-S. **46**. 31. (1905.)
Argiris, H.-S. **54**. 86. (1907/08.)
Buchtala, H.-S. **52**. 474. (1907.)
19) Abderhalden u. Le Count, H.-S. **46**. 40. (1905.)
20) Argiris, H.-S. **54**. 86. (1907/08.)

Monamino- und Diaminosäuren.

0? wahrscheinlich nicht vorhanden, +? wahrscheinlich vorhanden.)

Eihäute von													Casein von			
Neurokeratin [20]	Hühnereiern [21]	Scyllium stellare [22]	Testudo graeca [23]	Koilin [24]	Elastin [25]	Ichthylepidin [26]	Glutin [27]	Fibroin [28]	Spinnenseide [29]	Byssus [30]	Sericin [31]	Spongin [32]	Oxyhämoglobin [33]	Kuh [34]	Ziege [35]	Frau [36]	
							0,26		1,16					1,84			Ammoniak
	3,9	2,6	+	1,2	25,75	5,7	16,5	36,0	35,13	viel	0,1	13,9	0	0			Glykokoll
	3,5	3,2	+?	5,8	6,58	3,1	0,8	21,0	23,4	+	5,0	+?	4,02	0,9	1,5		Alanin
	1,1				1,0		+?			+?		+?		1,0			Valin
+	7,4	} 5,8	+	} 13,2	21,38	15,1	2,1	1,5	1,76	+?		7,5	27,82	10,5	7,4		Leucin
														+			Isoleucin
	1,1	2,3	+	2,3		1,2	0,56			+		4,7	4,25	1,2	1,1		Asparaginsäure
	8,1	7,2	+	5,2	0,76	9,2	0,88	—?	11,7			18,1	1,66	10,7	11,25	+	Glutaminsäure
1,5	7,62												0,3	0,017			Cystin
							0,4	1,6	—?	+?	6,7		0,54	0,43			Serin
																	Diaminotrioxydodekansäure
														0,75	+		
2,24		3,2		3,6	+ wenig		9,3	1,0	} 5,24 als Arginin berechnet		4,0	5-6	5,2	4,84			Arginin
2,70		3,7		1,64	+ wenig		5—6	+?			+	3-4	4,1	5,80			Lysin
+?		1,7		+?	+ wenig		0,4	+?					10,5	2,59			Histidin
	4,0	4,4	+	5,5	1,74	6,7	5,2	0,3	3,68	viel		6,3	2,25	3,1	4,62		Prolin
							0,3						1,0	0,23			Oxyprolin
		3,3	+?	2,3	3,89	—?	0,4	1,5	—?	+?			4,06	3,2	2,75		Phenylalanin
4,6	0	10,6		5,4	+	1,0	0	10,0	8,2	viel	+	0	1,28	4,5	4,95	4,71	Tyrosin
							0			—?			+	1,5			Tryptophan

21) Abderhalden u. Ebstein, H.-S. **48**. 530. (1906.)
K. Mörner, H.-S. **34**. 231. (1901/02.)
22) Pregl, H.-S. **56**. 1. (1908.)
23) Abderhalden u. Strauss, H.-S. **48**. 535. (1906.)
24) Hofmann u. Pregl, H.-S. **52**. 448. (1907.)
v. Knaffl-Lenz, H.-S. **52**. 472. (1907.)
25) Abderhalden u. Schittenhelm, H.-S. **41**. 293. (1904.)
Kossel u. Kutscher, H.-S. **25**. 551. (1898.)
Horbaczewski, M. **6**. 639. (1885.)
Richards u. Gies, A. J. of Ph. **7**. 93. (1902.)
26) Abderhalden u. Voitinovici, H.-S. **52**. 368. (1907.)
27) E. Fischer, Levene u. Aders, H.-S. **35**. 70. (1902.)
E. Fischer, B. **35**. 2660. (1902.)
E. Fischer u. Abderhalden, H.-S. **42**. 543. (1904.)
Kossel u. Kutscher, H.-S. **31**. 203. (1900/01.)
Hart, H.-S. **33**. 358. (1901.)
Hopkins u. Cole, J. of Ph. **29**. 456. (1903.)
28) E. Fischer u. Skita, H.-S. **33**. 177. (1901.), **35**. 221. (1902.)
E. Fischer, H.-S. **39**. 157. (1903.)
29) E. Fischer, H.-S. **53**. 126. (1907.)
30) Abderhalden, H.-S. **55**. 236. (1908.)
31) E. Fischer u. Skita, H.-S. **35**. 224. (1902.)
32) Abderhalden u. Strauss, **48**. 49. (1906.)
Kossel u. Kutscher, H.-S. **31**. 205. (1900/01.)
33) Abderhalden, H.-S. **37**. 484. (1902/03.)
Abderhalden u. Baumann, H.-S. **51**. 397. (1907.)
34) E. Fischer, H.-S. **33**. 151. (1901.), **39**. 155. (1903.)
Abderhalden, H.-S. **44**. 23. (1905.), **53**. 19. (1907.)
E. Fischer u. Abderhalden, H.-S. **42**. 540. (1904.)
Hart, H.-S. **33**. 356. (1901.)
K. Mörner, H.-S. **34**. 285. (1901/02.)
Hopkins u. Cole, J. of Ph. **27**. 418. (1902.)
35) Abderhalden u. Schittenhelm, H.-S. **47**. 458. (1906.)
36) Abderhalden u. Schittenhelm, H.-S. **47**. 458. (1906.)

Die in der vorstehenden Tabelle aufgeführten Zahlen geben den Procentgehalt an. Die Werte sind nur für einige der Spaltungsproducte z. B. für Arginin, Lysin und Histidin annähernd quantitativ. Da aber die allermeisten Bestimmungen nach demselben Verfahren ausgeführt worden sind, so sind die für die verschiedenen Proteine erhaltenen Resultate gut untereinander vergleichbar.

Ungefähre Bestimmung der Stickstoffverteilung in Proteinen nach Hausmann[1]).

479. Eine bestimmte Menge (etwa 1 g) des Proteinstoffes wird mit 20 proc. Salzsäure 7—10 Stunden (jedenfalls bis zum Verschwinden der Biuretreaction) am Rückflusskühler gekocht, die Lösung auf dem Wasserbad auf 2—3 ccm eingedampft, mit ungefähr 350 ccm Wasser in einen Kolben gebracht und mit Magnesia, welche durch langes Erhitzen von Ammoniak völlig befreit ist, in geringem Ueberschuss versetzt. Man destilliert nun, fängt das Destillat in $^n/_{10}$ Säure auf und bestimmt durch Titration das
Amidstickstoff. übergegangene Ammoniak (Amidstickstoff). Der Kolbeninhalt wird durch stickstofffreies Papier filtriert, der quantitativ gesammelte Rückstand mit Wasser gründlich gewaschen und der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt
Huminstickstoff. (Huminstickstoff). Das Filtrat wird auf 100 ccm concentriert, auf 20° abgekühlt und mit 5 g Schwefelsäure und 30 ccm einer Lösung, welche 20 g Phosphorwolframsäure und 5 g Schwefelsäure auf 100 ccm enthält, versetzt. Nach 24 Stunden (oder auch früher, wenn der Niederschlag beim Umrühren rein körnig und frei von jeder flockigen Beimengung erscheint) wird abfiltriert und mit einer Lösung, die 2,5 g Phosphorwolframsäure und 5 g Schwefelsäure in 100 ccm enthält, dreimal ausgewaschen u. z. geschieht das Auswaschen in der Weise, dass man den Niederschlag mit der Waschflüssigkeit in ein Becherglas spritzt und auf das Filter zurückbringt. Die Menge der Waschflüssigkeit beträgt etwa 200 ccm. Den ausgewaschenen Niederschlag samt Filter bringt man in einen Kjedahlkolben und bestimmt
Diaminosäurenstickstoff. den Stickstoff nach Kjeldahl (Diaminosäurenstickstoff). Den Mon-
Monaminosäurenstickstoff. aminosäurenstickstoff findet man durch Subtraction der durch die 3 Operationen gefundenen Stickstoffmengen von dem Gesamtstickstoffgehalt des Proteins oder auch durch Bestimmung des Stickstoffs in einem gemessenen und durch Eindampfen conc. Teil des gesamten Filtrats.

---

1) H.-S. **27.** 95. (1899.) u. **29.** 136. (1900.)
Osborne u. Harris, Z. f. anal. Ch. **43.** 286. (1904.) oder J. A. Ch. S. **25.** 323. (1903.).
Gümbel, B. Ph. P. **5.** 297. (1904.)
Die obige Darstellung folgt im wesentlichen den Angaben von Osborne u. Harris.

Genaue Werte erhält man mit dieser Methode nur für den Amidstickstoff. Die Werte für die Monaminosäuren sind annähernd genau, die für die Diaminosäuren meist etwas zu niedrig.

Fermente (Enzyme)

bearbeitet von H. Steudel.

Allgemeine Eigenschaften.

480. Ueber die chemische Natur der Fermente ist nichts Sicheres bekannt. Charakteristisch für sie sind nur ihre specifischen Wirkungen. Sie lassen sich durch Auspressen der Organe unter hohem Druck gewinnen oder durch Wasser oder Glycerin den Geweben entziehen. Sie galten früher für diffusionsunfähig, doch ist für manche einigermassen gereinigte Fermente Diffusionsvermögen festgestellt worden. Sie werden durch Ammonsulfat ausgesalzen und haben die Eigenschaft aus ihren Lösungen durch Niederschläge[1]) mitgerissen, durch fein verteilte Substanzen (z. B. Kohle, Kaolin) adsorbiert und durch Alkohol gefällt zu werden. Auf diesen Eigenschaften beruhen die Methoden ihrer Isolierung, die aber noch bei keinem zu einer unzweifelhaften Reinheit geführt haben. Bei Körpertemperatur oder etwas darüber wirken sie am besten. Die Temperatur, bei der sie in wässeriger Lösung zerstört werden, ist bei den einzelnen Fermenten etwas verschieden, auch je nach der Reaction, dem Salzgehalt, dem Lösungsmittel usw., schwankend; doch vernichtet ein Erhitzen der Lösung auf 80° wohl in allen Fällen die Wirksamkeit. In trockenem Zustande vertragen sie eine weit höhere Erhitzung. Meist werden sie in unwirksamer Form secerniert (Profermente, Zymogene) und erst durch besondere Substanzen (Kinasen, Activatoren) wirksam gemacht. Die Existenz von Antifermenten wird noch nicht allgemein anerkannt.

Wenn irgendwo, so ist gerade bei dem Studium der Fermentwirkungen die allerpeinlichste Sauberkeit und Sorgfalt nötig. Da die Wirkungen der Enzyme von vielen noch unbekannten Factoren abhängig sind, so erhält man oft beim sorgfältigsten Arbeiten negative Resultate, wie andererseits leicht enzymatische Wirkung einer zu untersuchenden Lösung vorgetäuscht werden kann durch secundär in die Flüssigkeit hineingekommene Fermente.

Vorkommen.

481. **Pepsin.** Das Ferment, welches bei Gegenwart von Salzsäure Eiweissstoffe verdaut, findet sich im Magensaft der Wirbeltiere u. z., soweit die Untersuchungen reichen, aller Wirbeltiere mit Ausnahme einiger Fische. Es wird von den Drüsen der Magenschleimhaut (hauptsächlich den Fundusdrüsen) in Form eines unwirksamen Zymogens (Pepsinogen, Propepsin) secerniert. Die Umwandlung in die active Form erfolgt sofort durch

Zymogen.

1) Das Ferment scheint unter Umständen eine chemische Verbindung mit dem Substrat eingehen zu können, siehe Hedin, H.-S. **52.** 412. (1907.), **57.** 468. (1908.)

die Salzsäure des Magensaftes. Pepsin ist auch im Harn nachgewiesen worden.

Das von Ebstein und Grützner entdeckte Zymogen wurde von Langley[1]) und neuerdings von Glässner[2]) untersucht. Zur Darstellung einer Propepsinlösung wird nach Glässner die gereinigte, fein zerhackte Schweinemagenschleimhaut mit der doppelten Menge Wasser versetzt und nach Zufügen von Soda bis zur deutlich alkalischen Reaction und von Toluol 3 bis 4 Wochen bei 40° stehen gelassen. Man versetzt nun die filtrierte Flüssigkeit mit Kochsalz bis zu 1 pCt., fügt Essigsäure hinzu, filtriert, macht mit Soda schwach alkalisch und fällt mit Uranylacetat. Der dickflockige Niederschlag, welcher die Vorstufen des Pepsins und Labs enthält, wird centrifugiert und mit kleinen Mengen schwach sodahaltigen Wassers ausgezogen und Fällung und Extraction wiederholt. Fügt man der so erhaltenen (durch Einengen bei 40° conc.) Lösung Natriumphosphat und die entsprechende Menge Uranylacetat hinzu, so reisst der entstehende Niederschlag das Propepsin mit nieder, während das Prochymosin[3]) im Filtrat sich findet. Die durch Ausziehen des Niederschlags mit schwach alkalischem Wasser erhaltene Lösung ist ganz unwirksam gegen Eiweissstoffe, wird aber auf Zusatz von verd. Salzsäure durch Umwandlung des Propepsins in Pepsin wirksam. Gegen Soda bis zu 0,5 pCt. ist sie widerstandsfähig, während Pepsin in 0,5 proc. Sodalösung zerstört wird (Langley). Im übrigen stimmt eine Propepsinlösung in vieler Beziehung mit einer Pepsinlösung überein, siehe darüber bei Glässner.

Darstellung des Pepsins.

Zur Darstellung von Pepsin benutzt man nach Pekelharing[4]) den Magensaft, welchen nach Pawlow mit Oesophagus- und Magenfistel versehene Hunde bei der sog. Scheinfütterung liefern und verfährt in folgender Weise: Der gesammelte und sofort filtrierte, farblose Magensaft wird etwa 20 Stunden lang bei einer wenig über 0° gelegenen Temperatur gegen destilliertes Wasser dialysiert, die trübe Flüssigkeit centrifugiert, der Bodensatz nach Abgiessen des grösseren Teiles der überstehenden Flüssigkeit auf einem kleinen Filter gesammelt, mit wenig Wasser gewaschen und im Exsiccator getrocknet. Um aus dem Filtrat weitere Mengen zu erhalten, sättigt man dasselbe halb mit Ammonsulfat, befreit den entstandenen Niederschlag durch Dialyse von Salz, löst ihn bei 37° in möglichst wenig 0,2 proc. Salzsäure, dialysiert die filtrierte Lösung und verfährt weiter wie oben angegeben. Das auf letztere Weise erhaltene Präparat stellt ein noch reineres dar, insofern es vollkommen frei von einer phosphorhaltigen Beimengung ist. Statt des Magensaftes wurde von Pekelharing zur Darstellung auch das durch 5tägige Digestion mit 0,5 proc. Salzsäure bei 37° hergestellte und unter vermindertem Druck filtrierte Extract der zerkleinerten Fundusmucosa des Schweinemagens benutzt. Doch ist das auf diese Weise erhaltene Präparat weniger rein. Dasselbe gilt von dem Pepsin, welches

---

1) J. of Ph. **3**. 269. (1881.)
Langley u. Edkins, J. of Ph. **7**. 371. (1886.)

2) B. Ph. P. **1**. 1. (1902.)

3) Eine Trennung der Profermente ist Pekelharing nicht gelungen. Arch. des sciences biologiques. **11**. Suppl. 36. (1906.)

4) H.-S. **22**. 233. (1897.) u. **35**. 8. (1902.)

beim Abkühlen des nach Pawlow[1]) gewonnenen Magensaftes sich abscheidet.

Zusammensetzung.

Das so erhaltene Präparat ist ein Proteinstoff besonderer Art von der Zusammensetzung C 51,99; H 7,07; N 14,44; S 1,63 (auf aschefreie Substanz berechnet); es enthält ferner Chlor (0,49 pCt.) und Eisen. Der Beweis, dass in dieser Substanz das reine Pepsin vorliegt, ist natürlich nicht erbracht und zurzeit auch nicht zu erbringen.

Eigenschaften.

Es stellt ein farbloses Pulver dar, in Wasser nicht merklich löslich (frisch mittels Dialyse gefällt ist es in Wasser einigermassen löslich), es löst sich aber in verdünnter Kochsalzlösung. In verdünnten Säuren, z. B. in 0,2 proc. Salzsäure wird es, am Besten bei Körpertemperatur, zu wasserklarer Flüssigkeit gelöst; bei Verringerung des Säuregehaltes, z. B. durch Diffusion, scheidet es sich zum Teil u. z. in Form durchsichtiger Kügelchen wieder ab. In Salzsäure löst es sich am wenigsten, wenn sie 0,02 pCt. HCl enthält. Das Pepsin gibt nach den meisten Autoren die Eiweissreactionen, zeigt Linksdrehung und wird durch Halbsättigung mit Ammonsulfat aus seinen Lösungen abgeschieden. Es ist eine sehr labile Substanz, die nicht nur sehr rasch in schwacher Alkali- oder Sodalösung, sondern schon durch Waschen mit Alkohol und allmählich auch in salzsaurer Lösung ihre fermentativen Eigenschaften verliert. Unter Ammonsulfatlösung aufbewahrt hält sie sich lange unverändert.

Veränderung durch Wärme.

Beim schnellen Erhitzen seiner sauren Lösung findet Gerinnung statt, bei 60° beginnt die Lösung sich zu trüben. Beim langsamen Erhitzen selbst bis zur Siedetemperatur kann sie völlig klar bleiben u. z. um so leichter, je weniger Säure sie enthält, aber die Fähigkeit, fermentativ zu wirken, geht auch in diesem Falle beim längeren (viertelstündigen) Erwärmen auf 60° verloren. Ueber die Untersuchung des Gerinnungsproductes, welches in Säure unlöslich und in Alkali leicht löslich ist, siehe bei Pekelharing.

Fermentwirkung.

Das Pepsin ist sehr wirksam, noch 0,001 mg in 6 ccm 0,2 proc. Salzsäure gelöst, bringt in 20 Stunden eine Fibrinflocke in Lösung. Durch Pepsinsalzsäure entstehen aus Eiweiss Acidalbumin, Albumosen und Peptone. Die Fähigkeit zu einer weiter gehenden Spaltung scheint dem Pepsin nicht zuzukommen. Das bei der lange Zeit fortgesetzten Pepsinverdauung beobachtete Auftreten von Aminosäuren usw. dürfte auf die Anwesenheit anderer aus der Magenschleimhaut extrahierter Fermente[2]) zu beziehen sein. Es scheint, dass dem Pepsin durch gewisse mit manchen Reinigungsverfahren verbundene Eingriffe die Fähigkeit zu tiefer greifender Spaltung

---

1) Schoumow-Simanowsky, A. exp. P. u. Ph. **33**. 336. (1894.)
Nencki u. Sieber, H.-S. **32**. 291. (1901.)

2) Bergman, Skand. A. Ph. **18**. 144. (1906.)

verloren gehen kann. Ueber die Veränderung, welche andere Proteinstoffe durch Pepsinsalzsäure erfahren, siehe das bei diesen Gesagte.

Der Nachweis des Pepsins beruht ausschliesslich auf seiner Eigenschaft, Eiweiss bei Gegenwart von Salzsäure zu verdauen.

Bestimmung der relativen eiweissverdauenden Kraft.

482. Eine quantitative Bestimmung der absoluten Pepsinmenge in einer Flüssigkeit ist nicht möglich, es lässt sich nur die relative eiweissverdauende Kraft von Lösungen bestimmen. Die am häufigsten hierfür benutzte Methode beruht auf dem von E. Schütz[1]) gefundenen Gesetz, dass die Mengen der in einer bestimmten Zeit gebildeten Verdauungsproducte innerhalb bestimmter Grenzen den Quadratwurzeln aus den relativen Pepsinmengen proportional sind. Die Ausführung geschieht am einfachsten mit Hülfe des Verfahrens von Mett[2]). Mit Hühnereiweiss vollgesogene Glasröhrchen von 1—2 mm lichter Weite werden auf 95° erhitzt und nach erfolgter Coagulation des Eiweisses in Stückchen von 1—2 cm Länge zerschnitten. Man bringt solche Stückchen in die zu prüfende Flüssigkeit und hält die Proben etwa 10 Stunden bei Brutemperatur. Nach dieser Zeit wird mit Hülfe einer Lupe die Länge der gelösten Eiweisssäule in Millimetern und deren Bruchteilen gemessen. Die in den zu vergleichenden Flüssigkeiten vorhandenen Pepsinmengen verhalten sich wie die Quadrate der Millimeter Eiweisssäule, die in gleicher Zeit gelöst sind (Borissow[2]). Man erfährt also die relativen Pepsinmengen durch Quadrierung der Länge der verdauten Eiweisssäulen.

Für sehr verdünnte Pepsinlösungen (z. B. sehr verdünnten Magensaft, wie man ihn bei klinischen Untersuchungen bekommt) eignet sich das Verfahren nach den Untersuchungen von J. Schütz[3]) nicht. Siehe auch die Kritik des Mett'schen Verfahrens von E. Schütz und Huppert[4]), ferner von Grützner[5]). Genauere, aber weniger einfache Methoden sind von E. Schütz[1 u. 4]) und J. Schütz[3]) angegeben.

Grützner[5]) empfiehlt fein zerschnittenes Fibrin mit Karmin zu färben. Dies gibt an Salzsäure seinen Farbstoff nicht wieder ab, sondern quillt nur auf, dagegen geht bei Gegenwart von Pepsin der verdauten Fibrinmenge entsprechend Karmin in Lösung. Durch Vergleich mit Lösungen von bekanntem Karmingehalt lässt sich leicht der Grad der Verdauung bestimmen.

---

1) H.-S. **9**. 577. (1885.) Siehe auch Arrhenius, Meddel. fran Vet. Ak. Nobelinstitut. Bd. I. No. 9.

2) Siehe bei Pawlow, Die Arbeit der Verdauungsdrüsen. Wiesbaden. Bergmann. 1898. S. 31.

3) H.-S. **30**. 1. (1900.)

4) Pfl. A. **80**. 470. (1900.)

5) Pfl. A. **106**. 463. (1905.)
Vernon, J. of Ph. **26**. 405. (1901.)

F. Volhard[1]) hat eine Methode zur quantitativen Pepsinbestimmung angegeben, die sich auch für die quantitative Trypsinbestimmung eignet.

Man stellt eine Stammlösung von Caseinnatrium her (100 g Casein gelöst in 80 ccm n-Natronlauge, mit Wasser auf 2000 ccm aufgefüllt, auf 85—90° erhitzt), hierauf lässt man Pepsinsalzsäure resp. den zu untersuchenden Magensaft bei 40° längere Zeit einwirken. Es entstehen dann lösliche Producte, die Salzsäure binden; man unterbricht die Verdauung durch Zusatz von 100 ccm 20 proc. Na_2SO_4-lösung, filtriert, und bestimmt in einem aliquoten Teile des Filtrates die Gesamtacidität durch Titration, wobei man sich als Indicator am besten des Alizarins[2]) bedient. Das auf dem Filter zurückgebliebene Casein hat immer einen gleichen Teil der Säure gebunden. Durch Titration vor und nach der Verdauung lässt sich aus der Aciditätszunahme dis verdauende Kraft bestimmen. Für die Trypsinbestimmung kann man sich derselben Caseinlösung bedienen, man fügt nur die Säure am Ende der Verdauung hinzu und titriert dann nach dem Natriumsulfatzusatz.

Darstellung einer peptischen Verdauungsflüssigkeit.

483. Darstellung einer peptischen Verdauungsflüssigkeit. Zur Untersuchung der verdauenden Eigenschaften des Pepsins benutzt man am besten einen nach Pawlow gewonnenen Magensaft (von einem Hund mit Oesophagus- und Magenfistel). Bei der Verwendung künstlicher Magensäfte (Extraction von Magenschleimhaut, käufliche Pepsinpräparate) ist zu berücksichtigen, dass ausser dem Pepsin auch andere aus der Magenschleimhaut stammende proteolytische Fermente ihre Wirksamkeit entfalten. Um künstlichen Magensaft zu bereiten, befreit man den Fundusteil eines Magens vom Schwein, Kalb usw. durch Waschen mit Wasser von Schleim etc., präpariert die Schleimhaut sorgfältig ab, zerhackt sie und extrahiert sie in der Kälte und unter öfterem Umrühren einige Stunden mit 1 Liter Wasser, dem 8 ccm concentrierter Salzsäure (spec. Gew. 1,19) zugesetzt sind. Dann filtriert man ab und versetzt das Filtrat mit dem gleichen Volumen Wasser. Der Filterrückstand kann noch einmal auf die gleiche Weise extrahiert werden. Man erhält so mehrere Liter sehr guter Verdauungsflüssigkeit, die sich aber nur einige Tage hält. Haltbarer ist ein Glycerinauszug der fein zerkleinerten Magenschleimhaut; der im Filtrat durch Alkohol hervorgerufene Niederschlag stellt ein unreines, aber ziemlich wirksames Ferment dar. Am einfachsten ist es, eines der käuflichen Pepsinpräparate zu benutzen; sie liefern zu etwa 0,2 g in 500 ccm 0,2—0,3 proc. Salzsäure gelöst eine gute Verdauungsflüssigkeit.

Untersuchung eines peptischen Verdauungsgemisches.

484. Untersuchung eines peptischen Verdauungsgemisches. Eine scharfe Isolierung der einzelnen Verdauungsproducte ist noch nicht möglich. Es soll hier nur angegeben werden, wie man die drei Hauptgruppen der peptischen Verdauungsproducte, das Acidalbumin, die Albumosen und die Peptone von einander trennt und nachweist.

---

1) M. m. W. 1903. S. 2129. S. 2238. 1904. S. 157.
W. Löhlein, B. Ph. P. **7**. 120. (1905.)
S. Küttner, H.-S. **52**. 63. (1907.)

2) M. m. W. 1903. S. 2185.

Eiweiss, z. B. etwa 100 g von Blutfarbstoff durch Waschen mit Wasser befreites und stark ausgepresstes Fibrin, wird in einem Kolben mit 500 ccm einer der in § 483 besprochenen Verdauungsflüssigkeiten übergossen und nach Zusatz von etwas Chloroform oder Toluol und gutem Umschütteln in den Brutschrank gestellt. Das Fibrin quillt auf und geht allmählich in Lösung. Nach etwa 2 Tagen wird ein Teil der Flüssigkeit filtriert und das klare Filtrat mit Sodalösung neutralisiert. Der entstehende Niederschlag besteht aus Acidalbumin und wird nach § 315 als solches identificiert. (Dasselbe wird in weit reichlicherer Menge erhalten, wenn die Verdauung bald nach eingetretener Lösung unterbrochen wird. Bei weit vorgeschrittener Verdauung tritt kein Niederschlag mehr ein.) Die Hauptmenge der Flüssigkeit wird coliert, das Filtrat mit Sodalösung neutralisiert und wieder filtriert. Man säuert jetzt mit Essigsäure schwach an, erhitzt zum Kochen, filtriert, dampft auf etwa 100 ccm ein und sättigt, nachdem etwa erfolgte Ausscheidungen durch Filtration entfernt worden sind, mit Ammonsulfat. Der dabei entstehende Niederschlag (a) besteht aus Albumosen, das Filtrat (b) enthält Pepton. Den Niederschlag (a) wäscht man durch Zerreiben mit gesättigter Ammonsulfatlösung aus, filtriert, löst ihn dann in Wasser und kocht die Lösung mit überschüssigem Bariumcarbonat unter Ersatz des verdampfenden Wassers, bis sich kein Ammoniak mehr entwickelt und sich in einer filtrierten Probe keine Schwefelsäure mehr nachweisen lässt. Nun wird filtriert und etwa vorhandenes Barium durch Zusatz von Ammoniak und Ammoniumcarbonat (Salkowski) ausgefällt. Das Filtrat, das also weder mit Chlorbarium noch mit Schwefelsäure eine Trübung geben darf, wird eingedampft und mit Alkohol gefällt. Der Niederschlag, durch Alkohol von Wasser, durch Aether von Alkohol befreit, stellt ein Gemenge verschiedener Albumosen dar. Seine Lösung gibt die sogenannten Albumosereactionen:

Acidalbumin.

Albumosen.

Albumosereactionen.

1. Keine Fällung beim Kochen.

2. Auf Zusatz des gleichen Volumens gesättigter Kochsalzlösung + Essigsäure Niederschlag, der beim Erwärmen verschwindet, um beim Erkalten wiederzukehren. Hier hat man sich vor einer Verwechselung mit gewissen Polypeptiden[1]) (Tyrosinpeptiden) zu hüten, die sich ebenfalls aus ihren Lösungen aussalzen lassen.

3. Auf Zusatz von etwas Kochsalzlösung und concentrierter Salpetersäure Niederschlag, der auf weiteren Salpetersäurezusatz und ebenso beim Erwärmen verschwindet.

4. Auf Zusatz von Kupferacetat und ebenso von Ferrocyankalium + Essigsäure Niederschläge, die beim Erwärmen mehr oder weniger vollständig verschwinden.

5. Biuretraction mit rotvioletter Farbe (§ 293, 8).

---

1) E. Fischer, B. **40**. 3544 u. 3704. (1907.)

Von dem Filtrat (b) wird eine Probe nach Zusatz von viel starker Natronlauge auf Biuretreaction geprüft. Fällt sie nur schwach aus, so kann sich nur wenig Pepton gebildet haben und man untersucht nicht weiter. Fällt sie stark aus, so sucht man zunächst noch vorhandene Albumosen zu entfernen, indem man nach Kühne[1]) nach einander bei neutraler, ammoniakalischer und essigsaurer Reaction in der Hitze mit Ammonsulfat sättigt, nach jeder Sättigung erkalten lässt und von den Ausscheidungen abfiltriert. Die saure Flüssigkeit wird dann unter Umrühren eingedampft, von den ausgeschiedenen Krystallen abgesaugt und durch Versetzen mit Alkohol und Einsetzen in eine Kältemischung weiter von Salzen befreit. Schliesslich entfernt man den Alkohol durch Kochen, die Schwefelsäure durch Erhitzen mit Bariumcarbonat, das in Lösung gegangene Barium durch Schwefelsäure und dampft ein. Es hinterbleibt ein Gemenge von Substanzen, das man als Peptone bezeichnet. Seine wässerige Lösung zeigt von den oben angeführten Reactionen nur die Reaction 5 und diese mit rosen- bis purpurroter Farbe. Peptone.

485. **Trypsin**, ein Ferment, welches am besten bei alkalischer (0,3 bis 0,4 proc. Soda), aber auch bei neutraler und schwach saurer Reaction Eiweissstoffe verdaut, findet sich im Pancreassaft und in der Pancreasdrüse als Zymogen. Im Darmkanal wird das Zymogen durch die im Darmsaft vorhandene Enterokinase (Pawlow) in wirksames Trypsin umgewandelt. Eine solche Activierung erfährt das im Pancreas enthaltene Trypsinogen beim Liegen der Drüse an der Luft, durch Einwirkung von Alkohol, schwachen Säuren, auch von Wasser. Vorkommen. Zymogen.

Die Reindarstellung des Trypsins ist bisher nicht gelungen, Versuche zur Gewinnung möglichst reinen Trypsins siehe bei Mays[2]), der Trypsinlösungen erhielt, die gleiche quantitative Wirksamkeit hatten wie die frisch untersuchten Drüsen. Darstellung.

Seine Einwirkung auf Eiweissstoffe besteht in der Bildung von Albumosen und zwar Deuteroalbumosen, von Pepton und Polypeptiden und weiterhin in einer sehr weitgehenden Spaltung in kleinere Moleküle (Ammoniak, Mono- und Diaminosäuren). Auch viele synthetisch dargestellte Polypeptide werden durch Trypsin gespalten (E. Fischer u. Abderhalden[3]). Fermentwirkung.

Für die quantitative Bestimmung der tryptischen Wirksamkeit von Verdauungslösungen kommt besonders die von Hedin[4]) angewandte Methode in Betracht (Fällen der zu untersuchenden Flüssigkeit mit Gerbsäure und Bestimmung des Stickstoffs im Filtrate). Siehe auch S. 525 oben u. § 488.

486. Darstellung tryptischer Verdauungsflüssigkeit. Man benutzt am besten das Secret einer nach Pawlow hergestellten Pancreasfistel. Darstellung tryptischer Verdauungsflüssigkeit.

1) Z. f. B. **29**. 1. (1892.)
2) H.-S. **38**. 428. (1903), **49**. 124. (1906), **51**. 182. (1907.)
3) H.-S. **46**. 52. (1905.), **51**. 264. (1907.)
4) H.-S. **52**. 415. (1907.), Weis, H.-S. **31**. 79. (1900.)

Zur Herstellung künstlicher Verdauungsflüssigkeit, bezüglich derer dieselben Bedenken geltend zu machen sind wie bei dem künstlichen Magensaft § 483, wird die Pancreasdrüse vom Rinde von Fett- und Bindegewebe möglichst frei präpariert, fein zerhackt und mit Wasser, dem man Chloroform oder Toluol zugesetzt hat, 3—4 Tage bei Zimmertemperatur extrahiert. Dann wird durch ein Tuch coliert und die colierte Flüssigkeit durch ein Faltenfilter filtriert. Nun prüft man die Reaction des Filtrats (diese ist gewöhnlich schwach sauer und aus dem Trypsinogen ist Trypsin gebildet worden), neutralisiert mit Soda und fügt dann noch soviel einer Sodalösung von bekanntem Gehalt hinzu, dass die Alkalescenz der Lösung 0,25—0,3 pCt. Soda entspricht.

Ein sehr wirksames und haltbares, aber unreines Präparat ist das sogenannte Trockenpancreas nach Kühne, zu dessen Darstellung man die Drüse nach 24 stündigem Liegen an der Luft rein präpariert, zerkleinert, mit absolutem Alkohol von Wasser befreit, mit Aether extrahiert, zerreibt und durch ein feines Sieb gehen lässt. Fügt man von diesem Pulver etwa 0,2 g zu 500 ccm einer etwa 0,5 proc. Sodalösung, so erhält man eine wirksame Verdauungsflüssigkeit; statt des Trockenpancreas kann man auch eines der käuflichen Trypsinpräparate benutzen. Diese enthalten aber meist noch andere pancreatischen Fermente, z. B. Lipase.

Untersuchung eines tryptischen Verdauungsgemisches.

487. Untersuchung eines tryptischen Verdauungsgemisches. Mit 500 ccm einer nach § 486 hergestellten Flüssigkeit übergiesst man in einem Kolben befindliches Eiweiss (etwa 100 g gut ausgewaschenes und stark ausgepresstes Fibrin), fügt reichlich Chloroform oder Toluol zur Verhinderung der Fäulnis hinzu, schüttelt gut um und stellt den Kolben wohlverschlossen in den Brutschrank. Es erfolgt bald Lösung des Fibrins ohne voraufgegangene Quellung. Bald nach eingetretener Lösung wird die eine Hälfte mit Essigsäure ganz schwach angesäuert, aufgekocht, filtriert,

Albumosen und Peptone.

eingeengt und weiter in der § 484 beschriebenen Weise auf Albumosen und Peptone untersucht. Die andere Hälfte bleibt mindestens 2—3 Tage unter häufigem Umschütteln im Brutschrank, jedenfalls so lange, bis eine herausgenommene Probe eine sehr intensive Reaction auf Tryptophan (S. 302) (Violettfärbung auf Zusatz von Bromwasser) gibt. Man erhitzt dann nach Zufügen von Essigsäure bis zur schwach sauren Reaction zum Kochen, filtriert, fällt mit basischem Bleiacetat, befreit das Filtrat durch Schwefelwasserstoff vom Blei, filtriert wieder und dampft ein. Es scheidet

Tyrosin.

sich Tyrosin krystallinisch aus. Um noch andere Aminosäuren und Diaminosäuren zu isolieren, verwendet man grössere Mengen Fibrin, setzt zweckmässig die Verdauung lange (3—4 Wochen) fort, bis die Biuretreaction ganz oder fast ganz verschwunden ist, und verfährt dann nach den Angaben von Kutscher[1]) oder von Abderhalden und Reinbold[2]).

1) H.-S. **25**. 195. (1898.), **26**. 110. (1899.), **28**. 88. (1899.)
2) H.-S. **46**. 159. (1905.)

488. **Erepsin,** ein Ferment, welches Peptone leicht und schnell in Amino- und Diaminosäuren bis zum Verschwinden der Biuretreaction zerlegt, wurde von O. Cohnheim[1]) in der Darmschleimhaut nachgewiesen. Es ist auch im Darmsaft enthalten. Vorkommen.

Von Vernon[2]) wurde Erepsin in der Niere, Milz und in anderen vegetativen Organen gefunden.

Cohnheim stellte eine Lösung dieses Fermentes dar durch Versetzen von 2 Teilen des wässerigen Auszuges der Schleimhaut des Hundedarms mit 3 Teilen gesättigter Ammonsulfatlösung, Dialysieren des abfiltrierten und in Wasser suspendierten Niederschlages und Filtrieren. Isolierung.

Es wirkt in schwach alkalischer und neutraler, nicht in schwach saurer Lösung, am besten in einer mit Kohlensäure gesättigten Lösung von Natriumcarbonat. Es spaltet auch Albumosen und Protamine vollständig bis zum Verschwinden der Biuretreaction, desgleichen Casein, die übrigen nativen Eiweissstoffe aber gar nicht, ebensowenig Globin und den Bence-Jones'schen Eiweisskörper. Die durch Erepsinwirkung entstehenden Spaltungsproducte sind die gleichen wie die durch Trypsin gebildeten. Fermentwirkung.

Eine einfache Methode, die fermentative Wirkung von Pancreas- und Darmsäften quantitativ zu verfolgen, besteht darin, sie auf die von E. Fischer[3]) dargestellten optisch-activen Polypeptide einwirken zu lassen und die Aenderung der Drehung des polarisierten Lichtes zu bestimmen. Diese Methode ist von Abderhalden[4]) und seinen Mitarbeitern angewandt worden, stösst aber insofern auf Schwierigkeiten, als nur ganz reine active Polypeptide zu solchen Versuchen verwendbar sind. Sobald zum Teil racemische Producte vorliegen, sind die Resultate nicht mehr eindeutig.

489. **Proteolytische Fermente der Gewebe.** Sie wurden in tierischen Organen zuerst von Salkowski[5]) bei Gelegenheit seiner Untersuchungen über Autodigestion (Autolyse) festgestellt, dann von Jacoby[6]) und anderen weiter untersucht. Ihr Vorkommen ist wohl ein über alle Organe verbreitetes. In Leber, Muskeln, Milz, Nebennieren, Nieren, Lymphdrüsen, Lunge, Thymusdrüse, Gehirn, malignen Tumoren, Blut, Blutkörperchen usw. wurden sie nachgewiesen. Vorkommen.

Jacoby gelang es, ein solches Ferment einigermassen zu isolieren, indem er den Auszug von 14 Tage digeriertem Lebergewebe mit Ammon- Isolierung.

---

1) H.-S. **33**. 451. (1901.), **35**. 134. (1902.), **47**. 286. (1906.)
2) J. of Ph. **32**. 33. (1904.)
3) B. **39**. 2893. (1906.), **40**. 489. (1907).
4) H.-S. **51**. 294. (1907.), **52**. 326. (1907.), **53**. 251. (1907.), **54**. 363. (1907/08.), **55**. 416. (1908.), **57**. 342. (1908.)
5) Z. f. k. M. **17**. Supplb. 77. (1900.), ferner Ueber Autolyse. (1903.)
Schwiening, Virch. A. **136**. 444. (1893.)
Biondi, Virch. A. **144**. 373. (1896.)
6) H.-S. **30**. 149 u. 174. (1900.), **33**. 126. (1901.)

sulfat sättigte. Nach Hedin[1]) enthält die Milz zwei proteolytische Fermente, die Lieno-α-protease, welche vorzugsweise bei alkalischer Reaction und die β-Protease, die nur oder vorzugsweise bei saurer Reaction wirkt. Die β-Protease wird durch Extraction mit schwacher Essigsäure erhalten, die α-Protease zusammen mit der β-Protease durch Extraction mit Natriumchloridlösung, Dialyse und Fällung mit Essigsäure.

Die Spaltung, welche das Eiweiss durch diese Proteasen erfährt, ist eine sehr weitgehende. Unter den Producten, welche die Milzproteasen aus Eiweiss bilden, liessen sich fast alle Amino- und Diaminosäuren nachweisen (Leathes[2]), Dakin[3]), Cathcart[4]). Die Gewebsproteasen spalten auch die Polypeptide (Abderhalden und Mitarbeiter[5]).

Vorkommen. 490. **Labferment (Chymosin),** welches Milch oder kalkhaltige Caseinlösungen bei neutraler oder auch sehr schwach alkalischer Reaction zur Gerinnung bringt und in Albumoselösungen Niederschläge (Plasteine § 328) bildet, findet sich im Magensaft und in der gesunden Schleimhaut des Magens (besonders des Fundusteils) vom Menschen, Hund, Kalb, Schaf, Schwein (wahrscheinlich auch der meisten anderen Säugetiere), allerdings, Prochymosin. wie es scheint, oft erst aus einem Zymogen (Prochymosin) durch Einwirkung von Säure sich bildend. In der Schleimhaut vom Kalb und Schaf ist es vorgebildet und durch Wasser in wirksamem Zustande extrahierbar. Beim Menschen fehlt es bei starker Degeneration der Magenschleimhaut. Nach Edmunds[6]) kommt eine schwache Labwirkung den verschiedensten Organen, Pancreas usw., zu.

Besonders von Pawlow[7]) ist die Ansicht vertreten worden, dass ein besonderes Labferment nicht existiere und dass die milchcoagulierende und die proteolytische Wirkung einem einzigen Fermente zukomme. Indessen ist aus verschiedenen Gründen, besonders auch mit Rücksicht auf neuere Versuche von Hammarsten[8]) zunächst wenigstens an der Selbständigkeit des Labferments festzuhalten.

Darstellung des Prochymosins. Das Labzymogen wurde zuerst von Hammarsten[9]) beobachtet, dann von Lörcher[10]) und zuletzt von Glässner untersucht. Nach Glässner gewinnt man eine Lösung von Zymogen, der nur Spuren von Pepsinogen beigemengt sind, in der § 481 beschriebenen Weise. Siehe dagegen Pekelharing[11]), der Lab- und Pepsinzymogen nicht trennen konnte.

Darstellung des Labfermentes. Zur Darstellung von möglichst reinem Lab wird nach Hammarsten ein mit 0,3 proc. Salzsäure hergestellter Auszug der Magenschleimhaut vom

1) J. of Ph. **30**. 155. 195. (1903.)
2) J. of Ph. **28**. 360. (1902.)
3) J. of Ph. **30**. 84. (1903.)
4) J. of Ph. **32**. 299. (1905.)
5) H.-S. **47**. 466. (1906.), **48**. 537. (1906.), **49**. 1 u. 31. (1906.), **51**. 334. (1907.), **53**. 280, 294, 308. (1907.), **55**. 371, 377, 390. (1908.)
6) J. of Ph. **19**. 466. (1896.)
7) Pawlow u. Parastschuk, H.-S. **42**. 415. (1904.)
8) H.-S. **56**. 18. (1908.)
9) Maly's Jbr. 1872. S. 118. H.-S. **22**. 103. (1896.)
10) Pfl. A. **69**. 141. (1898.)
11) Arch. des sciences biolog. St. Petersburg. **11**. Supplb. 36. (1906.)

Kalb mit Magnesiumcarbonat gesättigt und mit überschüssigem Magnesiumcarbonat geschüttelt, das Filtrat mit bas. Bleiacetat gefällt und der Niederschlag mit sehr verdünnter Schwefelsäure zerlegt. Fügt man zu dieser schwachsauren Lösung wässerige Stearinseifenlösung, zerteilt den abfiltrierten Niederschlag in Wasser und schüttelt mit Aether, so löst sich die Stearinsäure in Aether und das Lab bleibt in Wasser gelöst.' Die Methode ist neuerdings eingehend von Hammarsten[1]) beschrieben.

Labferment ist gegen Alkali sehr empfindlich. Nach Bang[2]) unterscheidet sich das aus Menschen- und Schweinemagen gewonnene von dem aus Kalbsmagen in bezug auf Widerstandsfähigkeit gegen verdünnte Säuren, verdünntes Alkali und Erhitzen. (Parachymosin). Eigenschaften.

Ueber die bei der Einwirkung von Casein auftretenden Spaltungsproducte vergl. S. 490. Fermentwirkung.

491. Darstellung einer Labflüssigkeit und Prüfung der Labwirkung. Als wirksame Lablösung kann man den Magensaft selbst oder einen mit 0,2 proc. Salzsäure hergestellten Auszug der Magenschleimhaut benutzen. Beide Flüssigkeiten zeigen auch nach der Neutralisation Labwirkung. Auch ein mit Kochsalzlösung hergestellter Kälbermagenauszug ist sehr wirksam, desgleichen eines der käuflichen Labpräparate. Fügt man eine kleine Menge einer solchen neutralen Lösung oder etwas käufliches Labpulver zur Milch, so tritt bei Bruttemperatur alsbald Gerinnung ein. Prüfung der Labwirkung.

492. **Diastatisches Ferment**, welches Stärkemehl und Glykogen spaltet, findet sich regelmässig im Pancreassaft und in der Pancreasdrüse, beim Menschen und manchen Tieren (nicht bei typischen Carnivoren) im Speichel und in den Speicheldrüsen (Ptyalin). In geringerer Menge wurde es in Blut und Lymphe, Leber und Galle, Magen- und Darmschleimhaut (auch Dünndarmsaft) nachgewiesen, es scheint überhaupt in fast allen Organen und Flüssigkeiten vorzukommen. Vorkommen.

Um das Ferment einigermassen zu isolieren, fügt man nach J. Cohnheim[3]) zu Speichel oder einem wässerigen Pancreasauszug etwas verdünnte Phosphorsäure und darauf Kalkwasser bis zur neutralen oder schwach alkalischen Reaction. Der entstehende Niederschlag von Calciumphosphat reisst das Ferment teilweise mit und gibt es nach dem Abfiltrieren beim Auswaschen mit wenig Wasser an dieses ab. Durch Fällen mit Alkohol wird es abgeschieden und durch abermaliges Lösen in Wasser und Fällen mit Alkohol gereinigt. Zur Isolierung aus Organen kann man diese nach v. Wittich[4]) durch Alkohol erhärten und dann mit Glycerin extrahieren. Aus der Glycerinlösung, in der sich das Ferment beliebig lange unverändert hält, wird es durch Alkohol gefällt. Isolierung.

1) H.-S. **56**. 53. (1908.)
2) Pfl. A. **79**. 425. (1900.)
3) Virch. A. **28**. 241. (1863.)
4) Pfl. A. **3**. 339. (1870.)

Das diastatische Ferment wirkt am besten bei neutraler oder minimal saurer Reaction. Schon 0,03 proc. Salzsäure, ebenso Alkalien wirken ungünstig ein und etwas höhere Concentrationen zerstören das Ferment.

Fermentwirkung. Die Wirkung der Diastase besteht in einer Spaltung von Amylum und Glykogen in Dextrine (Amidulin, Erythrodextrine, Achroodextrine § 105), Maltose (§ 101) und Isomaltose (§ 101). Auch rohe Stärke wird in dieser Weise gespalten, viel schneller und leichter aber gekochte (Stärkekleister).

Untersuchung der diastatischen Wirkung.

493. Untersuchung der diastatischen Wirkung. Eine leicht beschaffbare diastatisch wirkende Flüssigkeit stellt der menschliche Speichel dar. Bringt man einen dünnen Stärkekleister mit etwa dem 10. Teil Speichel zusammen, so kann man in vielen Fällen sofort nach dem Zusammenmischen der Flüssigkeiten in einer Probe mit Hilfe der Trommerschen Reaction (S. 110) Dextrine und Maltose nachweisen (Amylum und Amidulin geben diese Reaction nicht). Durch Wiederholung der Prüfung nach einigen Minuten, nach $^1/_4$ Stunde usw. lässt sich eine durch das Fortschreiten der Spaltung bedingte Zunahme des Reductionsvermögens feststellen. Bei Bruttemperatur verläuft der Process schneller. Ebenso prüft man von Zeit zu Zeit Proben der Mischung auf ihr Verhalten zu Jodjodkalilösung. Während Amylum und Amidulin sich mit Jod blau färben, gibt sich die Bildung von Erythrodextrin durch eine Rotfärbung zu erkennen. Achroodextrin und die weiteren Spaltungsproducte färben sich nicht mehr mit Jod.

Vorkommen. 494. **Invertase, Maltase, Lactase.** Diese 3 Fermente[1]), welche Rohrzucker, Maltose und Milchzucker in die entsprechenden Hexosen spalten, kommen besonders in den Hefen vor.

Invertase findet sich in der Dünndarmschleimhaut vom Menschen und Pferd, ebenso im Dünndarmsaft. Es fehlt in der Dünndarmschleimhaut von Kalb und Rind, in der Magenschleimhaut und dem Pancreas von Pferd und Rind, im Blutserum aller darauf untersuchten Tiere.

Maltase ist nachgewiesen worden in der Dünndarmschleimhaut und im Blutserum von Menschen und allen darauf untersuchten Tieren, im Darmsaft, im Pancreas, in den Speicheldrüsen und ihren Secreten, in der Schilddrüse und den Hoden vom Pferd.

Lactase wurde gefunden in der Dünndarmschleimhaut und dem Dünndarmsaft von neugeborenen Menschen und jungen Tieren, auch von vielen erwachsenen Säugetieren; sie scheint auch im Darmsaft des Menschen regelmässig vorzukommen. Sie fehlt im Blutserum, Pancreas, in der Schilddrüse, in den Hoden, soweit die Untersuchungen reichen. Im Pancreas saugender junger Hunde fand Weinland[2]) sie, durch Fütterung erwachsener

---

1) Siehe bes. E. Fischer u. Niebel, Sitzungsber. d. K. pr. Acad. d. W. 1896. V. S. 73.

2) Z. f. B. **38**. 607. (1899.), **40**. 386. (1900.)

Hunde mit Milchzucker konnte er von neuem deren Pancreas zur Production von Lactase veranlassen.

Isolierung.

Alle drei Fermente gehen in den wässerigen Auszug der Organe über und werden aus diesem durch Alkohol gefällt. Die Maltase wird durch Alkohol leicht zerstört.

Untersuchung der Fermentwirkung.

Um die Anwesenheit der Fermente in Blut oder Organen festzustellen, wird Blutserum, resp. der wässerige Auszug der abgeschabten Schleimhaut oder des zerkleinerten Organes mit 5 pCt. eines der drei Disaccharide und 1 pCt. Toluol versetzt und in den Brutschrank gestellt. Nach 24 Stunden entfernt man durch Aufkochen unter schwachem Ansäuern mit Essigsäure das Eiweiss und untersucht das Filtrat. Bei Rohrzuckerversuchen beweist der stark positive Ausfall der Trommer'schen Probe (S. 110) die Anwesenheit von Invertase; bei den Versuchen mit Maltose und Milchzucker, welche selbst die Trommer'sche Probe geben, benutzt man zum Nachweis der eingetretenen Spaltung die Phenylhydrazinprobe. Vielleicht lässt sich der Nachweis auch auf eine Aenderung des Drehungs- und Reductionsvermögens gründen.

Vorkommen.

495. **Lipase**, das Ferment, welches Neutralfette in Fettsäuren und Glycerin spaltet, findet sich im Pancreas und dessen Secret, nach Volhard[1]) auch in der Magenschleimhaut und im Magensaft. Es scheint auch in anderen Organen vorzukommen. Möglicherweise beruht das Auftreten von Lipase im Magensaft auf Duodenalsecret, das durch den geöffneten Pylorus in den Magen geflossen ist. Ein geringes Fettspaltungsvermögen kommt nach Boldyreff[2]) auch dem Darmsaft (von Hunden) zu.

Eigenschaften.

Es ist äusserst leicht zersetzlich und nur in der frischen Pancreasdrüse nachweisbar, durch Fällung mit Alkohol wird es schon verändert. Die Wirksamkeit der Pancreas- und Leberlipase wird durch Zusatz von Galle und zwar durch gallensaures Salz[3]) befördert. Auf der Wirkung einer Lipase beruht auch die Spaltung von Lecithin durch Pancreasextracte, die Kutscher und Lohmann[4]) u. A. beobachtet haben.

Untersuchung der Lipasewirkung

496. Untersuchung der Lipasewirkung. Um ihre Wirkung festzustellen, bedarf es völlig säurefreien Fettes. Man löst am besten Butter, Mandel- oder Olivenöl in Aether, schüttelt diese Lösung mit verdünnter Sodalösung im Scheidetrichter, giesst die klare Aetherlösung ab, wäscht sie mit Wasser und gewinnt das reine Fett durch Abdestillieren des Aethers. Man mischt durch starkes Umschütteln ungefähr gleiche Volumina des Fettes und der zu prüfenden Flüssigkeit zur feinen Emulsion, fügt Toluol

---

1) Verh. des 19. Congress f. innere Med. S. 302. M. m. W. 1900. S. 141 und 195. Z. f. k. M. **42**. 414., **43**. 397. (1901.)
2) H.-S. **50**. 394. (1906/07.)
3) Nencki, A. exp. P. u. Ph. **20**. 367. (1886.)
Zuntz, A. f. A. u. Ph. Ph. A. 1900. S. 380.
Magnus, H.-S. **48**. 376. (1906.)
4) H.-S. **39**. 159 u. 313. (1903.)

hinzu und lässt unter öfterem Umschütteln 2—6 Stunden bei 40° stehen. Um nun zu untersuchen, inwieweit fette Säuren abgespalten sind, fügt man zur Emulsion verdünnte Sodalösung und Aether, schüttelt anhaltend, aber ohne zu heftige Stösse um, lässt einige Zeit ruhig stehen, sodass der Aether sich klärt, giesst diese ätherische Lösung der noch unzersetzt gebliebenen Fette ab, wäscht die wässerige alkalische Flüssigkeit noch mehrmals mit Aetherportionen, fügt dann verdünnte Schwefelsäure bis zur stark sauren Reaction hinzu und schüttelt die saure Flüssigkeit mit neuen Aetherportionen aus. Die klar abgegossenen, nötigenfalls filtrierten Aetherauszüge geben beim Verdunsten die durch das Ferment aus dem Fett in Freiheit gesetzten Säuren.

Vereinfachter Nachweis.

Einfacher ist es, Milch in einem Reagensglas mit der auf Lipase zu prüfenden Flüssigkeit zu versetzen, etwas Lacmustinctur, Sodalösung bis zur schwachen Blaufärbung und etwas Chloroform hinzuzufügen, die Mischung in zwei Reagensgläser zu verteilen, den einen Teil zum Kochen zu erhitzen und dann beide mehrere Stunden bei 40° stehen zu lassen. Bei Anwesenheit von Lipase wird infolge der Fettspaltung in dem nicht gekochten Teil Rotfärbung eintreten, während in dem gekochten Teil die blaue Farbe erhalten bleibt.

497. **Arginase.** Die Imidbindung der harnstoffbildenden Gruppe (Guanidinrest) mit dem d-Ornithin (Diaminovaleriansäure) wird durch ein von Kossel und Dakin[1]) entdecktes Enzym, die Arginase, gelöst. Aus

Vorkommen.

d-Arginin entsteht Ornithin und Harnstoff. Das Ferment kommt vor in der Thymusdrüse, Leber, Niere, den Lymphdrüsen und der Darmschleimhaut. Die Arginase lässt sich der Organsubstanz durch Wasser oder verdünnte Essigsäure entziehen und kann aus dieser Lösung durch Ammonsulfat oder Alkohol und Aether gefällt werden.

Isolierung.

Zur Darstellung wird die zerkleinerte und mit Kieselguhr verriebene frische Leber mit der Buchner'schen Presse ausgepresst, bis etwa 45 pCt. der Leber an Presssaft gewonnen sind. Diese Flüssigkeit wird sodann mit einer Mischung von 2 Volumina Alkohol und 1 Volumen Aether gefällt, der Niederschlag mit Aether gewaschen und im Exsiccator über Schwefelsäure getrocknet. Aus 200 g Leber erhält man auf diese Weise ungefähr 5 g Arginasepulver, das nur teilweise in Wasser löslich ist. Das Präparat ist längere Zeit (noch nach 2 Monaten) wirksam. 0,1 g sind imstande, 2 g d-Arginin während eines Tages völlig zu zerlegen. Auf l-Arginin, sowie auf Kreatin und ähnliche Körper wirkt die Arginase nicht ein.

Vorkommen.

498. **Nuclease.** Der Abbau der Nucleinsäuren im Organismus wird durch ein besonderes Ferment bewirkt, das in frischen Pancreasdrüsen, in der Thymusdrüse, Dünndarmschleimhaut und in der Milz auf-

---

1) H.-S. **41.** 321. (1904.), **42.** 181. (1904.), M. m. W. 1904. S. 543.

gefunden[1]) worden ist. Es ist sehr empfindlich gegen Trypsin und wird von ihm bald zerstört. Am besten wirkt es in schwach saurer Lösung, von Alkalien wird es bei Körpertemperatur leicht zersetzt. Durch seine Wirkung werden die Nucleinsäuren zunächst aus der gelatinierenden in die nicht gelatinierende Form übergeführt und dann unter Bildung von Phosphorsäure, Purin- und Pyrimidinkörpern und Kohlehydraten aufgespalten.

Eine nucleasehaltige Lösung erhält man, wenn man frischen Pancreasbrei mit Sand zerreibt, mit der Handpresse auspresst, den Saft mit Wasser verdünnt und filtriert. Die Reaction der Lösung ist dann schwach sauer. Zur Gewinnung eines Trockenpräparates wird frisches Pancreas (z. B. 570 g) mit Sand und Kieselguhr verrieben und mit der Buchner'schen Presse ausgepresst. Der gewonnene Saft (100 ccm) wird mit Ammonsulfat ausgesalzen, der Niederschlag abfiltriert und mit Alkohol und Aether getrocknet. Isolierung.

499. **Auf Purinbasen wirkende Fermente.** Auf die Purinbasen wirkt eine Reihe von Fermenten ein, von denen nach Schittenhelm[2]) eine Purindesamidase das Guanin in Xanthin und das Adenin in Hypoxanthin umwandeln, während nach Jones[3]) diese Wirkung zwei Fermenten, der Guanase und Adenase, zukommen soll. Ferner wird eine Xanthinoxydase, die das Hypoxanthin zu Xanthin und das Xanthin zu Harnsäure oxydiert, angenommen. Die Versuche werden dadurch compliciert, dass in denselben Geweben, die diese Fermente enthalten, durch andere Fermente, z. B. das uricolytische Ferment, die eben gebildete Harnsäure zerstört wird. Purindesamidase. Guanase, Adenase Xanthinoxydase. Uricolytisches Ferment.

Die einfachsten Verhältnisse bietet der wässerige Auszug von Rindermilz, der sehr gut Harnsäure zu bilden, aber nicht zu zerstören vermag.

Zur Darstellung des Extractes[4]) wird ein Teil in der Fleischhackmaschine zerkleinerte Rindermilz, der vorher die Kapsel abgezogen ist, mit $1\frac{1}{2}$—2 Teilen Wasser tüchtig gerührt, ca. 12 Stunden unter Zugabe von Chloroform und Toluol (je ca. 10 g) stehen gelassen, durch Coliertuch gepresst und nun das Colat durch Watte und aufgeschwemmtes Filtrierpapier mit Hülfe der Saugpumpe filtriert. Zur abgemessenen Menge Extract wird z. B. Guanin in natronalkalischer Lösung, unter Vermeidung eines Ueberschusses von Natronlauge, hinzugegeben. Dann wird das Gemisch im Wasserbad bei 35—37° unter Luftdurchleitung einige Stunden lang gehalten. Nun wird die Flüssigkeit durch Aufkochen bei schwach essigsaurer Reaction Isolierung

1) F. Sachs, H.-S. **46.** 337. (1905.)
Kutscher, H.-S. **34.** 114. (1901.)
2) H.-S. **42.** 251. (1904.), **43.** 228 u. 365. (1904/05.), **45.** 121, 152 u. 161. (1905.), **46.** 354. (1905.), **48.** 571. (1906.), **50.** 30. (1906/07.)
3) H.-S. **41.** 101. (1904.), **42.** 35. (1904.), **44.** 1. (1905.), **48.** 110. (1906.)
4) Schittenhelm, H.-S. **57.** 21. (1908.)

enteiweisst und die Isolierung der Purinkörper resp. der Harnsäure nach bekannten Methoden vorgenommen.

Die Spaltung und Oxydation von Methylpurinen, z. B. Coffein, in Organen beruht ebenfalls auf Fermentwirkung.

500. **Oxydierende Fermente.** Von den im Pflanzenreich zahlreich vorkommenden oxydierenden Fermenten, den Oxydasen, sind auch mehrere
Aldehydase. im Tierkörper aufgefunden, z. B. die Aldehydase[1]) in der Leber, die Salicylaldehyd in Salicylsäure verwandeln kann. Ferner ist durch neuere Untersuchungen bekannt geworden, dass ein Ferment, das Tyrosin in
Tyrosinase. schwarze oder gefärbte Pigmente verwandeln kann, die Tyrosinase, bei niederen Tieren verbreitet ist, z. B. im Darm von Tenebrio molitor[2]), im Tintenbeutel von Sepia officinalis[3]), in der Hämolymphe von Schmetterlingspuppen[3]).

Isolierung. Die Methoden zur Gewinnung dieser Fermente beruhen ebenfalls auf Wasserextraction der betreffenden zerkleinerten Gewebe.

---

1) Jacoby, H.-S. **30**. 135. (1900.)
2) Biedermann, Pfl. A. **72**. 105. (1898.)
3) v. Fürth u. Schneider, B. Ph. P. **1**. 229. (1902.)
C. Gessard, C. r. soc. biol. **54**. 1304. (1902.), **57**. 285. 320. (1904.)
C. Gessard, C. r. **139**. 644. (1904.)

III. ABTEILUNG.

Untersuchung tierischer Flüssigkeiten, Gewebe und Concretionen.

An den Anfang dieses Abschnitts ist die Untersuchung der Aschen gestellt worden, da die für sie in Betracht kommenden Methoden für alle Untersuchungsobjecte die gleichen sind.

Untersuchung der Aschen.

Herstellung der Aschen.

Vorprüfung.

501. Hat eine Probe bei der Prüfung auf Platinblech (§ 53) einen anorganischen Rückstand hinterlassen, so kann man sich durch Prüfung seiner Löslichkeit in Wasser, der Reaction seiner wässerigen Lösung gegen Lacmuspapier, seines Verhaltens gegen Säure (Aufbrausen) meist bei sehr kleinen Aschenrückständen zu manchen Zwecken hinreichend orientieren, zu jeder genaueren Untersuchung ist jedoch die Anfertigung grösserer Aschenquantitäten erforderlich. Die Veraschung kann in allen Fällen auf trockenem Wege (§ 502) geschehen; für manche Zwecke ist die Veraschung auf nassem Wege (§ 504) bei weitem vorzuziehen.

502. **Veraschung auf trockenem Wege.** Man trocknet die Substanzen zunächst möglichst und bringt sie dann in eine Platinschale, welche mindestens das 6fache Volumen der zu veraschenden Substanz fasst. Flüssigkeiten (Harn, Milch) werden gleich in der Platinschale eingedampft. Ist die Substanz spröde, knistert und zerspringt sie beim Erhitzen (Eiweissstücke und dergl.), so bedeckt man zunächst die Schale und erhitzt bedeckt so lange, als man das Knistern hört, dann entfernt man den Deckel. Jedenfalls ist das Erhitzen nur langsam zu steigern, um dem Wasser, gasförmigen und öligen Destillationsproducten hinreichend Zeit zum ruhigen Entweichen zu lassen; zu rapides Entweichen der Gase kann Verlust an Substanz durch Fortreissen zur Folge haben und somit erheblichen Verlust

an Asche*). Tritt zu heftiges Aufschäumen ein, so kann man durch Umrühren und Hinabdrücken mit einem Platinspatel oder starkem Platindraht das Ueberschäumen meist verhindern; ist dies jedoch nicht zu fürchten, so ist es zweckmässiger, die verkohlende Masse nicht zu berühren. Man erhitzt in dieser Weise höchstens bis zur beginnenden Rotglut und erhält bei dieser Temperatur, bis keine Dämpfe oder Nebel mehr entweichen und die Kohle fest und unbeweglich geworden ist. Nun lässt man erkalten. Die erkaltete Kohle wird mit ein wenig Wasser übergossen, unter demselben möglichst fein zerrieben, nach Zusatz von mehr Wasser zum Sieden erhitzt, durch ein aschefreies Filter filtriert und nach dem Ablaufen der Flüssigkeit mit heissem Wasser genügend ausgewaschen. Schale, Filter und Kohle werden jetzt im Luftbade getrocknet, die trockenen Substanzen mit dem Filter in der Schale abermals bei schwacher Rotglut erhitzt, nach dem Erkalten wieder mit Wasser zerrieben und in der beschriebenen Weise behandelt. Das Filtrat wird mit dem ersten vereinigt. Schale, Filter und Kohle werden wieder getrocknet, allmählich bis zum heftigen Glühen erhitzt und so lange im Glühen erhalten bis die Kohle völlig oder bis auf geringe Spuren verschwunden ist. Da die Kohle stets noch Spuren löslicher Salze zurückhält, ist auch die Asche noch mit Wasser zu extrahieren. Das Filtrat wird mit den andern vereinigt und die ganze Flüssigkeitsmenge durch Eindampfen concentriert. Die in Wasser unlöslichen Aschebestandteile werden mit verdünnter Salzsäure erwärmt (Aufbrausen beim Uebergiessen mit Salzsäure zeigt Kohlensäure an, Schwefelwasserstoff gibt sich durch den Geruch zu erkennen) und wenn hierbei Eisenoxyd zurückbleiben sollte, bis zur völligen Lösung mit conc. Salzsäure auf dem Wasserbade digeriert; etwaige Spuren von Kohle werden durch Filtration entfernt. Man erhält auf diese Weise einen wässerigen und einen salzsauren Auszug der Asche, deren qualitative Untersuchung in den §§ 507 u. 508 beschrieben ist.

Wässeriger und salzsaurer Aschenauszug.

Die mehrmalige Extraction der Kohle mit Wasser vor ihrer völligen Zerstörung durch heftiges Glühen hat einerseits den Zweck, die Verflüchtigung der Alkalisalze zu vermeiden, andrerseits die Reduction von schwefelsauren Salzen oder Phosphorsäure zu hindern. Ist eine Kohle reich an Alkalisalzen, so tritt ausserdem der Uebelstand ein, dass dieselben in starker Hitze schmelzen, die Kohle als Schmelze überziehen und den Zutritt des Sauerstoffs zur Kohle verhindern.

Sind die zu veraschenden Quantitäten der Substanz nicht zu bedeutend, so dient zur Heizung der Bunsen'sche Gasbrenner oder die Spiritus-

*) Trotz der oben angegebenen Vorsichtsmassregeln treten beim Verkohlen und Veraschen leicht Verluste an Alkalisalzen, besonders Chlorverbindungen und kohlensauren Salzen ein, wenn beim Verkohlen sich aufblähende organische Substanzen (wie Proteinstoffe) in reichlicher Menge zugegen sind. Es ist deswegen zur Anfertigung von Aschen aus Blut und anderen eiweissreichen Körpern zweckmässig, die getrockneten und pulverisierten Substanzen mit kochendem Wasser auszulaugen und diese Extracte gesondert von den wieder zu trocknenden, in Wasser nicht löslichen Stoffen der Veraschung in obiger Weise zu unterwerfen.

flamme, grössere Quantitäten verascht man zweckmässiger in der Muffel, in welche man die Substanz in Platin- oder Porzellanschalen einschiebt. Die Oeffnung der Muffel nach der Feuerung ist dabei zu verschliessen, vorn dagegen der Luftzutritt zu gestatten.

Veraschung unter Sodazusatz.

503. Da die tierischen Gewebe und Flüssigkeiten organisch gebundenen Phosphor und Schwefel enthalten, welche bei der Veraschung als Phosphorsäure und Schwefelsäure erscheinen, diese Säuren aber wegen Mangels an genügenden Basen sich teilweise verflüchtigen, auch Kohlensäure und Salzsäure aus ihren Verbindungen austreiben können, so ist es für die quantitative Bestimmung mancher Aschebestandteile in den meisten Fällen nötig, die zu veraschende Substanz mit Soda zu mengen oder Flüssigkeiten schon vor dem Eindampfen mit Soda zu versetzen. Bei der Veraschung des Harns ist ein Zusatz von Soda nicht erforderlich.

504. Veraschung auf nassem Wege nach A. Neumann[1]).

Bei dieser Methode entweichen alle flüchtigen Säuren, wie Salzsäure, Kohlensäure. Sie kann also nur zum Nachweis und zur Bestimmung der nicht flüchtigen Säuren*) und der Metalle dienen. Für die quantitative Bestimmung dieser Bestandteile ist sie aber im Allgemeinen der alten Methode vorzuziehen, da die Veraschung, besonders wenn es sich um grössere Mengen Substanz handelt, bequemer auszuführen und ein Verlust durch Verspritzen und Fortfliegen von Substanz und durch Verflüchtigung z. B. von Alkalisalzen ausgeschlossen ist. Auch braucht das zu veraschende Material nicht getrocknet zu werden.

Princip. Bei diesem Verfahren werden die Stoffe nicht in gewöhnlicher Weise verascht, sondern durch ein kräftig wirkendes Oxydationsgemisch aus Salpeter- und Schwefelsäure zerstört. Die Verkohlung wird vermieden durch langsames, beständiges Zufügen dieses Oxydationsmittels.

Erforderliche Lösungen und Apparate. Als Oxydationsmittel dient ein Säuregemisch, das aus gleichen Volumteilen conc. Schwefelsäure und conc. Salpetersäure (spec. Gew. 1,4) besteht.

Die Operation wird vorgenommen in einem schiefliegenden Rundkolben von $^1/_2$ bis $^3/_4$ Liter Inhalt aus Jenaer Glas, in dessen Hals das Ablaufrohr eines Hahntrichters eben hineinragt. Das Trichterrohr ist zweckmässig zunächst seitlich und dann erst nach unten gebogen, damit man den Hahn regulieren kann, ohne von den ausströmenden Dämpfen belästigt zu werden. Der Hahntrichter wird von einem an einem Stativ befestigten Glas- oder Porzellanring getragen.

Vorbereitung der Substanz. Man kann trockene oder feuchte Substanzen verwenden, selbst Flüssigkeiten können in den meisten Fällen ohne weiteres, in andern nach dem Eindampfen im Rundkolben (z. B. Blut) in Arbeit genommen werden. Sollte ein Stossen oder Schäumen eintreten, wie es bei fett- oder kohlehydrathaltigen Stoffen (z. B. Milch) zuweilen der

---

*) Eine Bestimmung der Salzsäure lässt sich übrigens auch mit dieser Methode verbinden, siehe § 519.

1) H.-S. **37**. 115. (1902/03.), **43**. 32. (1904/05.)

Fall ist, so empfiehlt es sich vorher mit 1 proc. reiner Kalilauge (z. B. 15 ccm auf 25 ccm Milch) bis zur Syrupdicke einzudampfen. Milch versetzt man auch zweckmässig, besonders wenn es sich um grössere Mengen handelt, mit dem 4. Teil conc. Salpetersäure und dampft auf dem Baboblech mit starker Flamme ein.

Concentrieren grösserer Harnmengen.

505. Um grössere Mengen Harn[1]) (z. B. 500 ccm zur Eisenbestimmung §512) für die Veraschung ohne Stossen schnell und quantitativ zu concentrieren, lässt man beständig kleine Mengen des mit Salpetersäure versetzten Harns zu conc. siedender Salpetersäure fliessen.

Zu diesem Zweck wird der abgemessene Harn in einem Kolben mit conc. Salpetersäure ($^1/_{10}$ des Harnvolumens) gemischt und durch den Hahntrichter tropfenweise in den Rundkolben gegeben, in dem bei Beginn der Operation 30 ccm conc. Salpetersäure zum Sieden erhitzt werden. Man reguliert nun das Zutropfen des Harns so, dass bei starkem Sieden der Flüssigkeit, das man am besten durch ein Baboblech erreicht, keine zu grosse Volumvermehrung (höchstens bis zu etwa 100 ccm) eintritt. Kolben und Hahntrichter werden mit wenig verdünnter Salpetersäure nachgespült. Gegen den Schluss der Verdampfung wird die Flamme, wenn nötig, verkleinert. Hat man die Flüssigkeit bis auf etwa 50 ccm concentriert, so gibt man durch den Hahntrichter gemessene Mengen Säuregemisch hinzu und verascht weiter nach der im Folgenden beschriebenen Methode, mit der Massgabe, dass man im Falle einer daran zu knüpfenden Eisenbestimmung ganz zuletzt, wenn das Veraschungsproduct schon ganz hell und klar geworden ist, noch $^1/_2$ bis $^3/_4$ Stunden weiter erhitzt.

506. Ausführung der Veraschung. Die Veraschung mit dem Säuregemisch wird in einem gut ziehenden Abzuge ausgeführt. Die Substanz, welche event. in der oben beschriebenen Weise vorbereitet worden ist, wird in dem Rundkolben mit annähernd gemessener Menge Säuregemisch (etwa 5—10 ccm) übergossen und mit kleiner Flamme*) erwärmt. (Sind grosse Mengen organischer Substanz zu zerstören, wie z. B. in sehr zuckerreichen Harnen, so lässt man nach dem Hinzufügen des Säuregemisches event. unter Abkühlung erst die Hauptreaction vorübergehen, ehe man erwärmt.) Sobald die Entwicklung der braunen Nitrosodämpfe geringer wird, gibt man aus dem Hahntrichter tropfenweise weiteres Gemisch hinzu und fährt damit fort, bis ein Nachlassen der Reaction eintritt und die Intensität der braunen Dämpfe abgeschwächt erscheint. Um zu entscheiden, ob die Substanzzerstörung beendet ist, unterbricht man das Hinzufliessen des Gemisches für kurze Zeit, erhitzt aber weiter, bis die braunen Dämpfe verschwunden sind und beobachtet, ob sich die Flüssigkeit im Kolben dunkler färbt oder gar noch schwärzt. Ist dieses der Fall, so lässt man wieder Gemisch zufliessen, und wiederholt nach einigen Minuten die obige Probe. Wenn nach dem Abstellen des Gemisches und dem Verjagen der braunen Dämpfe die hellgelbe oder farblose Flüssigkeit sich bei weiterem Erhitzen nicht mehr dunkler färbt und auch keine Gasentwicklung mehr

*) Man führt die Veraschung mit kleiner Flamme durch. Erst am Schluss ist es zweckmässig, die Hitze zu steigern.

1) A. Neumann, A. f. A. u. Ph. Ph. A. 1902. S. 362.

zeigt, dann ist die Veraschung beendet. Ist die Flüssigkeit schwach gelb gefärbt, so wird sie beim Erkalten völlig wasserhell. Nun fügt man etwa dreimal so viel Wasser hinzu, wie Säuregemisch verbraucht wurde, erhitzt und kocht etwa 5—10 Minuten. Dabei entweichen braune Dämpfe, welche von der Zersetzung der entstandenen Nitrosylschwefelsäure herrühren.

Die so erhaltene wasserhelle Lösung der Aschenbestandteile kann zur qualitativen und quantitativen Untersuchung auf alle Basen (mit Ausnahme von Ammoniak) und (abgesehen von den Componenten des Gemisches) auf nicht flüchtige Säuren benutzt werden.

Unter Umständen ist für die spätere Verwendung der Aschenlösung die Benutzung von viel Säuregemisch von Nachteil z. B. dann, wenn sich an die Veraschung eine Phosphorsäurebestimmung (§ 523) anschliessen soll. In solchen Fällen gibt man nur 20 oder 10 ccm Säuregemisch hinzu und beendet die Veraschung durch langsames Zufliessenlassen von conc. Salpetersäure (Gregersen[1]), E. Wörner[2]).

Qualitative Untersuchung der nach § 502 hergestellten Asche.

507. **Untersuchung des wässerigen Aschenauszugs** (§ 502). Derselbe ist zunächst auf seine Reaction gegen Lacmus zu prüfen. In den bei weitem meisten Fällen wird sie alkalisch gefunden und ist dann durch kohlensaure oder phosphorsaure Alkalien bedingt.

Ist kohlensaures Alkali zugegen, so gibt eine durch Abdampfen etwas concentrierte Probe Aufbrausen auf Zusatz von Salzsäure, rührte dagegen die alkalische Reaction von phosphorsaurem Alkali her, so tritt auch beim Erhitzen mit Salzsäure keine Gasentwicklung vor dem Sieden ein, dagegen erhält man die weiter unten angegebenen Reactionen der Phosphorsäure. Kohlensäure.

Ausser diesen Verbindungen können die Wasserauszüge der Aschen schwefelsaure und salzsaure Alkalien enthalten, auch schwefelsaurer Kalk kann in seltenen Fällen in tierischen Aschen gefunden werden. Man prüft gesonderte Proben der Flüssigkeit auf folgende Weise:

1. Man säuert mit Salzsäure an und versetzt mit Chlorbarium. Ein feinpulveriger in Salzsäure und Wasser unlöslicher Niederschlag zeigt Schwefelsäure an (§ 49). Schwefelsäure.

2. Man säuert mit Salpetersäure an und versetzt mit salpetersaurem Silber. Ein in Salpetersäure unlöslicher, in Ammoniak dagegen löslicher Niederschlag zeigt Salzsäure an (§ 46). Salzsäure.

Wenn bei der Verkohlung kohlensaures Alkali zugesetzt (§ 503) oder dieses bereits reichlich in der verkohlten Substanz vorhanden war, kann die Kohle Cyanmetall enthalten. Der Nachweis des Cyanmetalls geschieht in der § 54. b angegebenen Weise. Um in diesem Falle auf Salzsäure zu prüfen, säuert man die Probe mit Salpetersäure gut an, erhitzt in der Abdampfschale zum Kochen und prüft dann erst mit salpetersaurem Silber.

---

1) H.-S. **53**. 453. (1907.)
2) Z. f. Unters. N. u. G. **15**. 732. (1908.)

Phosphorsäure. 3. Man versetzt mit Chlorammoniumlösung, dann mit Ammoniak, schüttelt um und fügt tropfenweise Lösung von schwefelsaurer Magnesia hinzu. Ein entweder sofort oder allmählich beim Reiben mit einem Glasstab entstehender krystallinischer Niederschlag zeigt Phosphorsäure an. Zur Bestätigung kann man eine Probe mit Molybdänsäurelösung (Anh.) versetzen und erwärmen. Ist Phosphorsäure zugegen, so bildet sich allmählich ein gelber, feinkörniger Niederschlag (§ 50).

Calcium. 4. Man prüft mit Ammoniak und oxalsaurem Ammoniak auf Kalk (§ 39); derselbe kann höchstens in Spuren in der wässerigen Lösung sein, wenn diese Phosphorsäure oder Kohlensäure enthält und nicht sauer reagiert.

Kalium. 5. Eine Probe wird durch Eindampfen concentriert, mit Alkohol versetzt und nach Zufügen eines Tropfens Salzsäure mit einigen Tropfen Platinchlorid versetzt. Ein sofort oder nach dem Reiben mit dem Glasstab entstehender gelber krystallinischer Niederschlag zeigt Kali an. Weitere Proben siehe § 37.

Natrium. 6. Eine Probe wird durch Eindampfen concentriert und mit einer Lösung von pyroantimonsaurem Kali versetzt. Ein in der neutralen oder schwach alkalischen Lösung sofort oder nach dem Reiben mit einem Glasstab entstehender weisser krystallinischer Niederschlag zeigt Natron an*) (§ 38).

Proben dieses Rückstandes können auch zur spectralanalytischen Prüfung auf Spuren von Lithion (S. 38), Kali und von Kalk (nach Befeuchten des Rückstandes mit Salzsäure) benutzt werden.

Kieselsäure. 7. Um auf event. vorhandene Kieselsäure zu prüfen, säuert man eine Probe mit Salzsäure an, verdampft zur Trockne und löst den Rückstand in Salzsäure. Kieselsäure bleibt ungelöst zurück (§ 51).

Hat man wenig Asche und auf alle Bestandteile zu prüfen, so kann man die durch Salzsäurezusatz auf Kohlensäure untersuchte Probe auch zu den übrigen Reactionen ausser auf Salzsäure benutzen.

508. **Untersuchung des salzsauren Aschenauszugs** (§ 502). Die klare salzsaure Lösung**) wird mit kohlensäurefreiem Ammoniak stark alkalisch gemacht und verschlossen einige Zeit stehen gelassen, dann schnell filtriert und Filter sowie Flüssigkeit dabei möglichst bedeckt gehalten***).

Calcium u. Magnesium als Carbonate. Das Filtrat†) prüft man mit Ammoniumoxalat auf Kalk (§ 39) und

*) Diese Probe ist natürlich nur bei einer Veraschung ohne Sodazusatz anzustellen.

**) Ueber den Nachweis der Kieselsäure, welcher nur bei grosser Aschenquantität und auch dann nur, wenn in Platingefässen verascht war, ausgeführt werden kann, siehe § 51. Die von der Kieselsäure abfiltrierte salzsaure Lösung kann dann für die weitere Untersuchung benutzt werden.

***) Diese Vorsichtsmassregeln beziehen sich auf den Nachweis von nicht an Phosphorsäure gebundenem Kalk, welcher durch Ammoncarbonat gefällt werden würde.

†) Ist das Filtrat blau gefärbt, so enthält es Kupfer, man säuert dann die Flüssigkeit mit Salzsäure schwach an, fällt das Kupfer durch einen Strom Schwefelwasserstoff, filtriert, löst das Schwefelkupfer in wenig heisser Salpetersäure und prüft nach § 44. Die vom Schwefelkupfer abfiltrierte Flüssigkeit wird mit Ammoniak alkalisch gemacht und mit ihrer Untersuchung wie oben angegeben fortgefahren.

nach völligem Ausfällen des oxalsauren Kalks die abfiltrierte Flüssigkeit mit Natriumphospat auf Magnesia (§ 40). Diese beiden alkalischen Erden waren in der Asche als Carbonate vorhanden.

Calcium, Magnesium und Eisen als Phosphate.

Der durch Ammoniak erzeugte Niederschlag kann Calcium, Magnesium und Eisen als Phosphate und ausserdem Eisenoxydhydrat enthalten.

Zum Nachweis der Phosphorsäure löst man einen kleinen Teil in Salpetersäure und fügt Ammoniummolybdat hinzu (§ 50, 5).

Der durch Ammoniak hervorgerufene Niederschlag hat entweder weisse oder gelbliche bis rötliche Farbe. Wenn er weiss oder gelblichweiss erscheint, untersucht man ihn nach 1; ist er rötlich gefärbt (wie z. B. in der Blutasche), so enthält er mehr Eisenoxyd als die Phosphorsäure zu sättigen vermag und wird nach 2 behandelt.

1. Man erwärmt den Niederschlag mit Essigsäure. Ungelöst bleibende, gelblichweisse Flocken bestehen aus Ferriphosphat, welches man nach dem Lösen in Salzsäure mit Rhodan- oder Ferrocyankalium auf Eisen (§ 41) prüft. Das Filtrat vom Ferriphosphat wird mit Ammoniumoxalat auf Kalk geprüft, vorhandener Kalk unter Erwärmen völlig ausgefällt und das Filtrat mit Ammoniak versetzt. Ist Magnesia vorhanden, so bildet sich sogleich oder nach einiger Zeit ein krystallinischer Niederschlag.

2. Ist der durch Ammoniak erhaltene Niederschlag rötlich und sonach reich an Eisen, so löst man ihn in wenig Salzsäure, stumpft die Säure durch Natrium- oder Ammoniumcarbonat so weit ab, dass die Lösung rötlich erscheint, aber noch klar ist und sauer reagiert, fügt dann eine genügende, aber nicht zu grosse Quantität einer Lösung von essigsaurem Natron hinzu und erhitzt zum Sieden, entfernt dann die Flamme und lässt den Niederschlag sich absetzen. Die Flüssigkeit über dem braunen Niederschlag soll ganz farblos sein. Der Niederschlag wird dann abfiltriert und mit siedendem Wasser unter Zusatz von etwas Natrium- oder Ammoniumacetat schnell ausgewaschen. Der Niederschlag enthält alles Eisen und die ganze Phosphorsäure (Prüfung wie oben). Die abfiltrierte Flüssigkeit wird mit Ammoniak*) und Ammoniumoxalat versetzt, ein entstandener Niederschlag von Calciumoxalat abfiltriert und das Filtrat durch Zusatz von Natriumphosphat auf Magnesia geprüft.

Quantitative Bestimmungen einzelner Aschebestandteile.

Bei allen diesen Bestimmungen ist das Ausgangsmaterial genau abzuwägen und jede einzelne Operation nach den Regeln der quantitativen Analyse (§§ 11 ff) auszuführen.

Bestimmung von Kalium und Natrium.

509. **Kalium** und **Natrium**. Man benutzt entweder den nach § 502 hergestellten wässerigen Auszug der Asche (Veraschung ohne Sodazusatz!) oder besser die nach A. Neumann hergestellte Aschelösung (§ 506), welche zu-

*) Etwa vorhandenes Mangan (§ 42), welches sich durch das Auftreten eines gelblichen bis fleischroten Niederschlags auf Zusatz von Schwefelammonium zum ammoniakalisch gemachten Filtrat zu erkennen gibt, ist zunächst durch Schwefelammonium auszufällen. Man lässt nun bedeckt an einem warmen Orte stehen, filtriert bedeckt, wäscht sogleich mit schwefelammoniumhaltigem Wasser aus und prüft dann das Filtrat auf Calcium und Magnesium.

nächst durch Abrauchen in einer Platinschale auf einem Baboblech über kleiner Flamme von dem grössten Teil der Schwefelsäure zu befreien ist.

Die Lösung wird mit Chlorbarium versetzt, so lange ein Niederschlag entsteht, dann Barytwasser bis zur stark alkalischen Reaction hinzugefügt, filtriert und der Niederschlag ausgewaschen. Das Filtrat wird mit Ammoniak und kohlensaurem Ammoniak gefällt, wieder filtriert und gewaschen, das gesammelte Filtrat zur Trockne verdunstet, zur vollständigen Entfernung der Ammonsalze bis zum schwachen Glühen erhitzt, der Rückstand in wenig Wasser aufgenommen, die Flüssigkeit nochmals mit Ammoniak und Ammoniumcarbonat behandelt und filtriert. Das Filter wird ausgewaschen, das Filtrat nach Zufügen einiger Tropfen Salzsäure abermals zur Trockne verdunstet, der Rückstand schwach geglüht und gewogen. Man löst nun den gewogenen Rückstand, welcher die Summe des Chlorkaliums und Chlornatriums ausmacht, in wenig Wasser und etwas Alkohol, fügt Platinchlorid hinzu, bis kein Niederschlag mehr entsteht und die Farbe der Flüssigkeit gesättigt gelb erscheint, lässt 12 bis 24 Stunden bedeckt stehen, sammelt dann den Niederschlag auf einem kleinen gewogenen Filter, wäscht mit verdünntem Alkohol gut aus, trocknet bei 100—110°, lässt über Schwefelsäure erkalten und wägt. Aus dem Gewichte des Kaliumplatinchlorids wird das Gewicht des Chlorkaliums nach der Tabelle (Anh.) berechnet und durch Subtraction desselben von dem vorher gefundenen Gewichte der Summe der Chloralkalimetalle das Gewicht des Chlornatriums gefunden.

510. **Calcium** und **Magnesium.** Die Bestimmungen werden in der nach A. Neumann hergestellten Aschenlösung (§§ 504—506) vorgenommen. Eine teilweise Entfernung der Schwefelsäure durch Eindampfen ist nötig, wenn Calcium oder Magnesium in nur geringer Menge vorhanden ist. Auf jeden Fall verjagt man einen Teil der Schwefelsäure, wenn grössere Mengen von Säuregemisch verbraucht sind. Von sehr kalkarmem Material, z. B. Fleisch, Blut usw. verbrennt man zweckmässigerweise die zur Analyse nötige Menge in einzelnen Portionen von 10—15 g Trockensubstanz nacheinander in demselben Kolben. Auch lässt man im späteren Verlauf der Operation nicht Säuregemisch, sondern nur Salpetersäure zutropfen (Aron[1]).

a) Calcium.

Bestimmung von Calcium: als Sulfat.

1. Als Calciumsulfat*) nach Aron[1]). Die Lösung wird nach dem Erkalten mit etwas Wasser verdünnt, kurz aufgekocht, in ein Becherglas übergeführt (indem man den Kolben das erste Mal mit Wasser, nachher mit Alkohol ausspült), unter Umrühren mit dem 4—5 fachen Volumen

*) Diese Bestimmung ist einfacher als die als Calciumoxyd (siehe 2) und auch insofern genauer, als das Molekulargewicht des Calciumsulfats um das $2^1/_2$fache grösser ist.

1) B. Z. **4**. 268. (1907.)

Alkohol versetzt und auf dem Wasserbad erwärmt, bis sich der Niederschlag flockig abgesetzt hat. Nach 6—12 Stunden filtriert man den Niederschlag ab, wäscht ihn mit 80—90 proc. Alkohol aus, verascht im gewogenen Platintiegel (bei grösseren Mengen trennt man den Niederschlag zunächst möglichst vom Filter und verbrennt dieses für sich) und wägt als Calciumsulfat. Noch besser sammelt man den Niederschlag im Goochtiegel und trocknet bei 105°. Die dem Calciumsulfat entsprechende Menge Calcium berechnet man nach der Tabelle im Anhang.

als Oxyd. 2. Als Calciumoxyd. Man filtriert den nach 3. erzeugten Niederschlag von Calciumoxalat durch ein aschefreies Filter (ist das Filtrat trübe, so muss es solange zurückgegossen werden, bis die Flüssigkeit völlig klar abläuft), wäscht mit heissem Wasser aus, verbrennt ihn in einem gewogenen Platintiegel vorsichtig, glüht im Gebläse oder Hempelschen Ofen und wägt als Calciumoxyd. Die dem Calciumoxyd entsprechende Menge Calcium berechnet man nach der Tabelle im Anhang.

titrimetrisch. 3. Titrimetrische Bestimmung mit Permanganat. Man macht die Lösung deutlich ammoniakalisch (dazu bringt man ein Stück Curcumapapier in die Flüssigkeit), säuert mit Essigsäure an, filtriert, wenn nötig, von ungelöstem Ferriphosphat ab und fällt mit Ammoniumoxalat. Nach einstündigem Stehen auf dem Wasserbad, während dessen sich der Niederschlag abscheidet, filtriert man unter Decantation durch ein kleines aschefreies Filter von 6—8 cm Durchmesser (indem man so wenig wie möglich von dem Niederschlag auf das Filter bringt) und wäscht mit warmem Wasser unter Decantieren so lange aus, bis eine Probe des Filtrats nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure und Erwärmen einen Tropfen der zur Titration dienenden Permanganatlösung nicht mehr entfärbt (völlige Entfernung von Oxalsäure und salpetriger Säure). Nun spült man den Niederschlag vom Filter in den Kolben zu der Hauptmenge zurück, fügt Schwefelsäure hinzu, erwärmt, bis gerade Blasen springen und titriert je nach der Kalkmenge mit $^n/_{10}$ oder $^n/_{100}$ Permanganatlösung, deren Gehalt jedesmal durch Titration mit einer $^1/_{10}$ oder $^1/_{100}$ Oxalsäure ermittelt worden ist (§ 19). Es empfiehlt sich, bei der Titration etwa die gleiche Flüssigkeitsmenge zu benutzen, wie bei der Titerstellung. Die zur Oxydation von 10 ccm $^n/_{10}$ Oxalsäure nötigen Cubikcentimeter Kaliumpermanganat entsprechen 0,02 g Ca.

b) Magnesium.

Bestimmung von Magnesium.

Das Filtrat der Kalkfällung von a, 2 (+ Waschwasser) wird hinreichend concentriert, mit Ammoniak*) stark übersättigt und nach Zusatz von etwas Ammoncitrat mit Natriumphosphatlösung gefällt. Nach zwölfstündigem

*) Enthielt die Flüssigkeit bereits Phosphorsäure und waren die Salze derselben nur durch Essigsäure in Lösung gehalten, so genügt häufig schon die Uebersättigung mit Ammoniak zur Ausfällung der Magnesia.

Stehen filtriert man ab, wäscht mit 2,5 proc. Ammoniakflüssigkeit aus, trocknet, verascht zuerst das Filter, dann den Niederschlag im Porzellantiegel, indem man zunächst sehr allmählich erhitzt, schliesslich stark glüht. Zuletzt fügt man noch einige Tropfen verdünnter Salpetersäure hinzu, trocknet, glüht abermals und wägt als Magnesiumpyrophosphat. Ist die Substanz nicht völlig weiss, so muss die Behandlung mit Salpetersäure nochmals wiederholt werden. Die Umrechnung auf Magnesium geschieht nach der Tabelle im Anhang.

511. **Eisen***). Für die Bestimmung des Eisens ist von A. Neumann eine jodometrische Methode angegeben worden, welche sich an seine § 504—§ 506 beschriebene Veraschungsmethode anschliesst. Sie ist wegen der Einfachheit und Schnelligkeit der Ausführung und weil sie nur geringe Mengen Ausgangsmaterial (z. B. von Blut 5 ccm) erfordert den älteren Methoden vorzuziehen, bei welchen die umständliche Veraschung auf trockenem Wege vorangehen muss.

Jodometrische Eisenbestimmung.

512. Jodometrische Bestimmung von Eisen nach A. Neumann[1]).

Princip. Wenn man eine schwefelsaure Lösung von Zinksulfat und viel phosphorsaurem Natron schwach ammoniakalisch macht und dann erhitzt, so scheidet sich alles Zink in Form von Zinkammoniumphosphat krystallinisch ab; enthält die Lösung nicht zu grosse Mengen von Eisenoxyd, so wird auch dieses quantitativ mitgefällt. Durch das so abgetrennte Eisenoxyd werden nach dem Lösen in Salzsäure aus Jodkalium äquivalente Mengen Jod frei gemacht, welche nach Zusatz von Stärkelösung noch mit einer etwa $^n/_{250}$ Thiosulfatlösung gemessen werden können (§ 20).

Erforderliche Lösungen. 1. Eisenchloridlösung, enthaltend 2 mg Fe in 10 ccm. Dieselbe wird hergestellt, indem man genau 20 ccm der Fresenius'schen Eisenchloridlösung[2]), welche 10 g Fe im Liter enthält und von der Firma Kahlbaum bezogen werden kann, in einen Litermasskolben fliessen lässt, mit etwa 2 ccm conc. Salzsäure versetzt und dann genau zum Liter auffüllt. Diese Lösung ist lange unverändert haltbar; man verwahrt sie zweckmässig in einer braunen Flasche.

2. Etwa $^n/_{250}$ Thiosulfatlösung. Man löst 40 g Natriumthiosulfat (annähernd abgewogen) in etwa 1 Liter Wasser. Aufbewahrung in brauner Flasche. Diese sehr haltbare Lösung verdünnt man für den Gebrauch einer Woche um das 40fache, z. B. 5 ccm auf 200 ccm annähernd.

3. Stärkelösung. Man löst in $^1/_2$ Liter kochenden Wassers 1 g lösliche Stärke (Schering) und kocht noch weitere 10 Minuten.

4. Zinkreagens. Etwa 25 g Zinksulfat und etwa 100 g Natriumphosphat werden jedes für sich in Wasser gelöst und die Lösungen in einem Litermasskolben vereinigt. Der entstandene Niederschlag von Zinkphosphat wird durch Zusatz von verdünnter Schwefelsäure gerade gelöst und die Lösung sodann zum Liter aufgefüllt.

Alle zur Eisenbestimmung benutzten Reagentien müssen frei von Eisen sein.

---

*) D. h. das in anorganischer und organischer Bindung vorhandene. Enthält die Substanz keine Eisensalze, so ist das Resultat auf organisch gebundenes Eisen zu beziehen.

1) A. f. A. u. Ph. Ph. A. 1902. S. 362.
H.-S. **37**. 120. (1902/03.), **43**. 33. (1904/05.)

2) Fresenius, Quantitative Analyse. B. I. S. 288.

Titerstellung der Thiosulfatlösung. Da die sehr verdünnte Thiosulfatlösung nicht unverändert haltbar ist, so muss bei jeder Bestimmung der Titer derselben festgestellt werden. Dieses geschieht leicht und schnell in folgender Weise: 10 ccm Eisenchloridlösung werden in einem Kolben mit etwas Wasser, einigen Cubikcentimetern Stärkelösung und etwa 1 g (nach dem Augenmass) Jodkalium versetzt, auf etwa 50—60° erwärmt und mittelst der Thiosulfatlösung titriert, bis die blaue Farbe über rotviolett gerade verschwindet. Die Lösung muss mindestens 5 Minuten farblos bleiben. Färbt sie sich früher violett, so muss noch etwas Thiosulfatlösung zugegeben werden. Die verbrauchten Cubikcentimeter entsprechen dann gerade 2 mg Fe.

Ausführung der Eisenbestimmung. Die mit Wasser verdünnte und etwa 10 Minuten (siehe dazu § 505) gekochte Aschenlösung*) (§ 506) wird nach dem Abkühlen und eventueller Zugabe von genau abgemessenen 10 ccm Eisenchloridlösung (siehe zweitnächsten Absatz) mit 20 ccm Zinkreagens und dann mit Ammoniak (unter Abkühlung) so lange versetzt, bis der weisse Niederschlag von Zinkphosphat gerade bestehen bleibt. (Bis zur annähernden Neutralisation nimmt man concentriertes, dann verdünntes Ammoniak.) Nun gibt man etwas Ammoniak im Ueberschuss zu, bis der weisse Niederschlag gerade eben verschwunden**) ist, und erhitzt auf dem Baboblech zum Sieden. Wenn krystallinische Trübung eingetreten ist, erhitzt man noch etwa 10 Minuten; hierbei ist Vorsicht nötig, da die Flüssigkeit zuweilen hochgeschleudert wird. (Man verhindert das Stossen am besten, wenn man die Flüssigkeit in starkem Sieden erhält.) Der krystallinisch abgeschiedene Niederschlag setzt sich schnell ab und kann leicht durch Decantieren von der Flüssigkeit getrennt werden. Man setzt den Rundkolben auf einen Stativring, giesst die heisse Flüssigkeit durch ein kleines, aschefreies, anliegendes Filter (von 6 cm Durchmesser, nicht über 7 cm) und prüft eine kleine Probe des Filtrates mit Salzsäure und Rhodankalium auf Eisen; es darf keine oder nur eine äusserst schwache Rötung eintreten. (War die Färbung deutlich rot, so muss man das schon Filtrierte zurückgiessen, nochmals auf dem Baboblech erhitzen und wieder prüfen.) Der Niederschlag im Rundkolben wird nun etwa dreimal durch Decantieren mit

*) Will man die Bestimmung in rein anorganischer, schwach eisenhaltiger Lösung ausführen, so ist es nötig, vor dem Zusatz des Zinkreagens mit 5 ccm conc. Schwefelsäure anzusäuern, damit bei der Neutralisierung durch Ammoniak genügende Menge Ammonsalz eine vollständige Abscheidung des Niederschlags bewirkt.

**) Enthält die Aschenlösung Erdalkaliphosphate (z. B. bei Fäces) in grösseren Mengen, so bleibt natürlich der weisse Niederschlag bestehen und der schöne Indicator, welcher durch das Zinkphosphat gegeben wird, fällt weg. In diesem Fall muss man unter Prüfung mit Lacmuspapier gerade schwach ammoniakalisch machen. In den meisten Fällen ist aber der flockige Zinkniederschlag von der Erdalkaliphosphatfällung leicht zu unterscheiden.

heissem Wasser ausgewaschen; das letzte Waschwasser darf dann, wenn man etwa 5 ccm davon mit einigen Krystallen Jodkalium, Stärkelösung und einem Tropfen Salzsäure versetzt, keine oder nur äusserst schwache Violettfärbung zeigen (Prüfung auf Jod frei machende Substanzen, z. B. salpetrige Säure). Nunmehr wird der Trichter mit dem Filter auf den Kolben, in dem sich noch die Hauptmenge des Niederschlags befindet, gesetzt, das Filter zweimal mit verdünnter heisser Salzsäure gefüllt und dann mit heissem Wasser vier bis fünfmal ausgewaschen. Eine Probe des letzten Waschwassers darf ebenso wenig wie das Filter mit Rhodankalium eine Rotfärbung geben. Jetzt befindet sich das ganze Eisen in salzsaurer Lösung im Kolben. Da aber für die Titration die Flüssigkeit nur schwach sauer sein darf, so wird zunächst mit verdünntem Ammoniak neutralisiert, bis gerade wieder der weisse Zinkniederschlag bestehen bleibt, dann auf dem Wasserbad erhitzt und durch tropfenweises Zugeben von verdünnter Salzsäure gerade wieder völlig klar gelöst. Diese Lösung wird nach dem Abkühlen auf 50—60° genau in derselben Weise titriert, wie es für die 10 ccm Eisenchloridlösung bei der Titerstellung der Thiosulfatlösung angegeben ist.

Berechnung. Sie ist äusserst einfach. Ergab die Titerstellung, dass 10 ccm Eisenlösung (= 2 mg Fe) 9,2 ccm Thiosulfatlösung erforderten, und wurden bei der Haupttitration 12,5 ccm Thiosulfat verbraucht, so berechnet sich aus der Proportion $9{,}2 : 2 = 12{,}5 : x$ $x = 2{,}72$ mg Fe.

Bemerkungen. 20 ccm Zinkreagens sind ausreichend für 5—6 mg Fe. Man wählt die Substanzmenge für eine Bestimmung zweckmässig so, dass darin 2—3 mg Fe vorhanden sind, z. B. bei Blut 5—10 g, bei trocknen Fäces 3—5 g. Hat man selbst in grossen Mengen Substanz, z. B. in 300 ccm Harn, sehr wenig Eisen, so muss man genau abgemessene 10 ccm Eisenchloridlösung vor dem Hinzufügen des Zinkreagens zugeben, um eine vollständige der Eisenmenge entsprechende Jodabscheidung zu erhalten. Man zieht in diesem Falle von den Cubikcentimetern Thiosulfatlösung, welche bei der Haupttitration verbraucht wurden, die Anzahl Cubikcentimeter Thiosulfatlösung ab, welche bei der Titerstellung von 10 ccm Eisenchloridlösung beansprucht wurden.

Oxydimetrische Eisenbestimmung.

513. Oxydimetrische Bestimmung des Eisens mit Permanganat.

Dieses Verfahren ist besonders wegen der vorangehenden Veraschung auf trockenem Wege umständlicher und reicher an Fehlerquellen, als das im vorigen Paragraphen beschriebene und kann eigentlich nur bei eisenreichen Substanzen z. B. Blut verwendet werden, obgleich auch hier das jodometrische bei weitem vorzuziehen ist.

Princip. Das in der Asche als Oxyd vorhandene Eisen wird durch schweflige Säure reduciert und das so gebildete Eisenoxydul durch Permanganat oxydiert.

Erforderliche Lösungen. 1. Eine gesättigte wässerige Lösung von schwefliger Säure (in einer braunen Flasche mit Glasstopfen aufzubewahren).

2. Eine auf $^n/_{100}$ Oxalsäure eingestellte Lösung von Kaliumpermanganat (§ 19).

Ausführung. Man verdampft den salzsauren Auszug, der nach § 502 hergestellten Asche in einer Platinschale mit überschüssiger reiner Schwefelsäure über kleiner Flamme ohne Sieden, erhitzt bis zum Beginn der Nebelbildung durch verdampfende Schwefelsäure, löst den Rückstand in Wasser, bringt die Lösung unter mehrmaligem Nachspülen mit Wasser in einen Kolben, fügt ungefähr 20 ccm der gesättigten wässerigen Lösung von schwefliger Säure hinzu, erhitzt zum Sieden und hält solange im schwachen Sieden, bis die schweflige Säure völlig verschwunden ist. Nachdem das Volumen der Flüssigkeit durch Zufügen von Wasser oder Eindampfen auf das Volumen gebracht ist, welches die zur Titerstellung benutzte Oxalsäurelösung gehabt hatte, fügt man von der Kaliumpermanganatlösung hinzu, bis die Rotfärbung der Flüssigkeit beim Stehen in 10—20 Minuten nicht wieder verschwindet. Die für die Oxydation von 10 ccm $^n/_{100}$ Oxalsäure erforderliche Cubikcentimeter-Anzahl der Permanganatlösung entspricht 0,00559 g Fe.

Für diese Bestimmung sind von Blut mindestens 50 ccm erforderlich, von Harn, Galle, Milch und anderen Flüssigkeiten und Organen müsste man schon die 4—10fache Menge nehmen.

Gewichtsanalytische Eisenbestimmung.

514. Gewichtsanalytische Bestimmung des Eisens als Ferriphosphat. Der nach § 502 hergestellte salzsaure Auszug wird mit etwas Natriumphosphat*) versetzt, mit Ammoniak alkalisch und mit Essigsäure sauer gemacht. Man filtriert das unlösliche Ferriphosphat ab, wäscht aus, glüht und wägt. Die dem Ferriphosphat entsprechende Menge Eisen berechnet man nach der Tabelle im Anh.

515. **Mangan.** Der Gehalt tierischer Aschen an Mangan ist meist zu unbedeutend, als dass er ohne Verwendung sehr grosser Aschemengen irgend genau bestimmt werden könnte. Hat man das Mangan entsprechend dem S. 543 Anm. angegebenen Verfahren als Schwefelmangan gefällt, den Niederschlag auf kleinem Filter gesammelt, nachdem man ihn zuerst durch Decantieren von der Flüssigkeit getrennt hat, und mit schwefelammoniumhaltigem Wasser gewaschen, so bringt man ihn am Besten in einen Rose'schen Tiegel, trocknet und glüht bis zur völligen Veraschung des Filters. Nach dem Erkalten bestreut man die geglühte Masse mit etwas reinem Schwefelpulver, bedeckt den Tiegel und leitet durch das Einleitungsrohr getrocknetes Wasserstoffgas, erhitzt, wenn die Entwickelung einige Zeit im Gange ist, den Tiegel zum lebhaftesten Glühen, so dass aller überschüssiger Schwefel entfernt wird, lässt im Wasserstoffstrome erkalten und wägt. Das Mangan wird bei diesem Verfahren in Manganosulfid verwandelt[1]). Ueber die Umrechnung auf Mangan siehe die Tabelle im Anh.

516. **Salzsäure.** Die Bestimmung der Salzsäure kann entweder in dem wässerigen Auszug (§ 502) einer unter Sodazusatz (§ 503) hergestellten

---

*) Dieser Zusatz hat den Zweck, alles Eisen an Phosphorsäure zu binden. Er kann fortfallen, wenn mehr Phosphorsäure als dem Eisen entspricht, vorhanden ist, z. B. in den Aschen von Harn, Serum, Transsudaten und Secreten.

1) Rose, Pogg. Ann. **110.** 122. (1860.)

Asche oder nach einem von A. Neumann angegebenen Verfahren vorgenommen werden.

Bestimmung der Salzsäure: als Chlorsilber.

517. Bestimmung der Salzsäure im wässerigen Aschenauszug durch Wägung als Chlorsilber.

Man fällt die mit Salpetersäure angesäuerte Lösung durch Silbernitrat, solange ein Niederschlag entsteht, erwärmt auf dem Wasserbade, sammelt den Niederschlag auf einem Filterchen, wäscht aus, bis das ablaufende Waschwasser durch Salzsäure nicht mehr getrübt wird, trocknet dann Filter und Niederschlag im Luftbade, schüttet das Chlorsilber (wenn soviel vorhanden ist) auf ein Stückchen Glanzpapier aus, faltet das Filter zusammen und verbrennt es zunächst durch Glühen im gewogenen Porzellantiegel. Nach dem Erkalten des Tiegels wird der Rückstand des Filters, der metallisches Silber enthält, mit einigen Tropfen Salpetersäure übergossen, erwärmt und durch ein paar Tropfen Salzsäure völlig in Chlorsilber übergeführt. Man dampft vorsichtig zur Trockne ab, schüttet vom Glanzpapier das noch nicht geglühte Chlorsilber in den Tiegel, erhitzt gerade bis zum beginnenden Schmelzen des Chlorsilbers, lässt dann erkalten und wägt. Ueber die Berechnung der Salzsäure aus dem Chlorsilber siehe die Tabelle (Anh.)

Viel bequemer ist es, die ganze Operation (Filtrieren, Auswaschen, Erhitzen des Chlorsilbers bis zum beginnenden Schmelzen und Wägen) in einem gewogenen Goochtiegel (§ 11) vorzunehmen.

titrimetrisch nach Mohr.

518. Bestimmung der Salzsäure im wässerigen Aschenauszug durch Titration nach Mohr.

Princip. Fügt man zu einer Lösung, welche Chlormetall und Kaliumchromat enthält, Silbernitrat, so entsteht zunächst weisses Chlorsilber und erst, wenn alles Chlor ausgefällt ist, bildet sich rotes chromsaures Silber (Endreaction).

Lösungen: 1. Silberlösung, enthaltend in 1 Liter 29,050 g reines geschmolzenes Silbernitrat (in dunkler Flasche aufzubewahren).

1 ccm dieser Lösung = 0,01 g NaCl oder 0,00606 g Cl.

2. Conc. wässerige Lösung von neutralem Kaliumchromat.

Ausführung. Man fügt zu der neutralen Lösung (reagiert sie alkalisch, so säuert man zunächst mit Salpetersäure an und neutralisiert durch eine Messerspitze reines Calciumcarbonat) einige Tropfen Kaliumchromatlösung und dann aus der Bürette unter Umrühren in kleinen Portionen, zuletzt tropfenweise, solange Silberlösung, bis der Niederschlag eine nicht wieder verschwindende Rotfärbung zeigt (Endreaction). Die Anzahl der bis zum Eintritt der Endreaction verbrauchten Cubikcentimeter Silberlösung ergeben mit 10 multipliciert die Menge NaCl oder mit 6,06 multipliciert die Menge Cl in Milligrammen, welche in der Lösung enthalten waren.

Um die Silberlösung auf ihre Richtigkeit zu prüfen (sie kann sich bei längerer Aufbewahrung zersetzen), dient eine Lösung, welche in 1 Liter 10 g reines, schwach geglühtes, von Chorkalium freies Chlornatrium enthält. 20 ccm dieser Lösung müssen bis zum Eintritt der Rotfärbung genau 20 ccm der Silberlösung verbrauchen.

519. Bestimmung der Salzsäure bei Stoffwechselanalysen nach A. Neumann[1]).

nach A. Neumann.

Princip. Bei der in § 504—§ 506 beschriebenen Veraschung entweicht alles Chlor (aus Chloriden) in Form von Salzsäure. Lässt man nun diese Dämpfe über eine Silbernitratlösung gehen, so wird die Salzsäure quantitativ als Chlorsilber gefällt. Nach Entfernung der mitübergegangenen salpetrigen Säure durch Kochen und durch Kaliumpermanganat, sowie nach Zersetzung des letzteren durch Eisenoxydulsalz wird die überschüssige Silbermenge nach der Volhard'schen Methode (§ 544,2) mittelst Rhodankalium zurücktitriert. Man verwendet wässeriges Säuregemisch, da bei Anwendung des concentrierten leicht etwas Chlor als solches entweicht.

Angewendete Lösungen. 1. Wässeriges Säuregemisch, bestehend aus gleichen Volumteilen Wasser, conc. Salpetersäure (spec. Gew. 1,4) und conc. Schwefelsäure.

2. 5proc. Kaliumpermanganatlösung.

3. 5proc. Ferroammonsulfatlösung (mit Schwefelsäure bis zur Klärung versetzt).

4. Eisenoxydammoniakalaun. Kalt gesättigte Lösung.

5. Silbernitratlösung von bekanntem Gehalt. Man benutzt in den meisten Fällen zweckmässig eine solche, von der 1 ccm 0,002 g NaCl entspricht; dieselbe ist 5mal so schwach, wie die im § 518 beschriebene.

6. Rhodankaliumlösung, gegen die Silberlösung genau (1 : 1) eingestellt (§ 544,2).

Apparatur. In den Tubus einer Retorte von ca. $^1/_2$ Liter Inhalt ist ein Tropftrichter luftdicht eingeschliffen. Das möglichst lange Rohr der Retorte verjüngt sich so, dass es leicht durch den Hals eines Kolbens von $^1/_2$ Liter Volumen hindurchgeht. Dieser als Vorlage dienende Kolben liegt in einer Schale, welche zur Kühlung mit Wasser gefüllt wird.

Ausführung der Bestimmung. Feste Substanzen werden feucht oder trocken in die Retorte gebracht; Flüssigkeiten müssen vorher bei schwacher Soda-Alkalescenz concentriert werden. Nachdem man in den Vorlagekolben überschüssige, genau abgemessene Mengen Silberlösung gegeben hat, fügt man soviel Wasser hinzu, dass $^1/_4$ des Kolbens mit Flüssigkeit gefüllt ist. Sodann legt man ihn in die mit Wasser gefüllte Schale und schiebt das Retortenrohr so hinein, dass sein Ende sich etwa 1 cm über der Flüssigkeit befindet. Nunmehr setzt man in den Tubus den Tropftrichter luftdicht ein und lässt aus demselben das verdünnte Säuregemisch langsam unter Erwärmen eintropfen. Das übergehende Destillat erzeugt alsbald in der Silberlösung weisse Trübung oder Niederschlag von Chlorsilber. Nach Verlauf von $^1/_2$ Stunde prüft man, ob noch Salzsäure übergeht. Dazu lässt man aus derselben Bürette, aus welcher man die Silberlösung für die Vorlage abgemessen hat, 1—2 ccm in ein weites Reagensglas fliessen und lässt das zu prüfende Destillat in dieses tropfen. Wenn kein Chlorsilber mehr ausfällt, ist die Destillation beendet. Die zu den Proben benutzten Silbermengen werden quantitativ mit der Hauptmenge in

---

1) H.-S. **37**. 135. (1902/03.), **43**. 36. (1903/04.)
Symes (J. of Ph. **32**. 221. 1905) empfiehlt einige unwesentliche Modificationen.

der Vorlage vereinigt; ausserdem notiert man die Gesamtsilbermenge nach dem Stande in der Bürette.

Da die mitübergegangene salpetrige Säure die Titration mit Rhodanlösungen stört, so muss sie vorher entfernt werden. Zu dem Zwecke kocht man 5—10 Minuten*) (am besten, um Stossen zu vermeiden, auf einem Baboblech), bis alle braunen Dämpfe entwichen sind. Der Rest der salpetrigen Säure wird durch Zufügen von Kaliumpermanganat bis zur beginnenden Rötung wegoxydiert und dann der Ueberschuss an Permanganat durch einige Tropfen Ferroammonsulfat entfernt.

Nach völligem Erkalten wird unter Hinzufügen von 5 ccm Eisenoxydammoniakalaun mit der Rhodankaliumlösung zurücktitriert. Man gibt letztere schnell unter starkem Umschütteln hinzu, bis gerade eine rötlichbräunliche Färbung eintritt, welche bei ruhigem Stehen 5 bis 10 Minuten erhalten bleibt, dann aber allmählich durch Zersetzung des Chlorsilbers verschwindet.

Berechnung. Durch Subtraction der Rhodankaliummenge von der notierten Gesamtsilbermenge erhält man die Cubikcentimeter Silberlösung, welche der in der untersuchten Substanz erhaltenen Chlormenge entsprechen.

Bestimmung des Gesamtschwefels.

520. **Gesamtschwefel****). Nach Hoehnel-Glaser (-von Asbóth[1]) in der Modification von Neumann-Meinertz[2]). Die getrocknete Substanz (1 g) wird in einem Nickeltiegel von etwa 100 oder besser 200 ccm Inhalt mit 5 g Kaliumnatriumcarbonat und 2,5 g Natriumperoxyd innig vermengt und über einer kleinen Gasflamme ungefähr 1 Stunde lang erhitzt, bis die Mischung völlig zusammengesintert ist. Nach kurzer Abkühlung (etwa 5 Min.) werden wieder 2,5 g Peroxyd zugesetzt und mit kleiner Flamme noch etwa 1 Stunde erhitzt, bis die Hauptmenge sich verflüssigt hat. Jetzt entfernt man den Brenner, fügt noch 2 g Peroxyd hinzu und glüht etwa $^1/_4$ Stunde, indem man die Flamme allmählich bis zur vollen Stärke vergrössert. Jetzt ist völlige Verflüssigung eingetreten. Der Tiegel bleibt dauernd bedeckt. Bei Einhaltung der Vorschriften findet keine Verpuffung und Entzündung statt, so dass eine Beaufsichtigung unnötig ist. Die erkaltete (durch Nickeloxydbeimengung grünlich gefärbte) Schmelze wird im Tiegel mit Wasser übergossen, bedeckt (wegen der Gasentwicklung) mit

---

*) Bei der Analyse von stickstoffhaltigen Substanzen, besonders Proteinen, muss man etwa $^1/_2$ Stunde kochen, um die entstandene Blausäure völlig zu entfernen (Plimmer[3]).

**) D. h. der in anorganischer und organischer Bindung vorhandene. Enthält die Substanz keine Sulfate, so ist das Resultat auf organisch gebundenen Schwefel zu beziehen.

1) Ch. Ztg. **19**. 2. 2040. (1895.)
2) H.-S. **43**. 37. (1904/05.)
3) J. of Ph. **31**. 65. (1904.)

kleiner Flamme bis zur Lösung erhitzt und die Lösung in ein Becherglas übergeführt (100 ccm der Lösung sollen nicht mehr Schwefelsäure enthalten, als 0,2 g $BaSO_4$ entspricht). Man fügt nach vorsichtiger Neutralisation mit bromhaltiger Salzsäure (Bedecken mit Uhrglas) auf 150 ccm noch 2 ccm conc. Salzsäure hinzu und kocht bis zum Verschwinden des Broms. Zu der heissen Lösung, welche bei richtigem Verlauf kohlefrei und klar ist und daher nicht filtriert zu werden braucht, fügt man eine 10proc. Lösung von Bariumchlorid aus einer Tropfflasche langsam (nicht mehr als 5 ccm in einer Minute) hinzu (5 ccm dieser Lösung reichen zur Ausfällung von etwa 0,5 g $BaSO_4$ aus, ein sehr geringer Ueberschuss des Fällungsmittels genügt). Man lässt abkühlen, filtriert durch Goochtiegel über Asbest*), wäscht mit kaltem Wasser aus, trocknet und glüht (indem der bedeckte Tiegel auf einem Platintiegeldeckel steht und die Flamme den letzteren von unten trifft) etwa 10 Minuten. Die dem Bariumsulfat entsprechende Menge Schwefel oder Schwefelsäure berechnet man nach der Tabelle im Anhang. Die Vorschriften für die Fällung und weitere Behandlung des Niederschlags rühren von Folin[1]) her.

Bestimmung des bleischwärzenden Schwefels.

521. **Bleischwärzender Schwefel.** Nach K. A. H. Mörner[2]). Die Substanz wird mit 50 g Aetznatron, 10 g Bleiacetat und 200 ccm Wasser nach Zusatz von einem ganz kleinen Stückchen Zink (um ein ruhiges Kochen zu erzielen) auf dem Drahtnetz in einem Kolben aus Jenaglas 8—$8^1/_2$ Stunden gekocht. Das ausgeschiedene Schwefelblei wird auf einem Asbestfilter gesammelt, mit reiner sehr verdünnter Natronlauge möglichst schnell und so lange ausgewaschen, bis das Filtrat schwefelsäurefrei und die Mutterlauge entfernt ist, und nun nach Zusatz von Salpetersäure mit Bromwasser oxydiert. Das Zinkstückchen wird für sich in Salpetersäure gelöst und mit der übrigen Lösung vereinigt. Den nach Eindampfen auf dem Wasserbade hinterbleibenden Rückstand nimmt man mit reinem Natriumcarbonat und etwas Wasser auf, führt ihn in einen Silber- oder Nickeltiegel über, trocknet ein und erhitzt über der Weingeistflamme. Jetzt wird mit Wasser ausgelaugt, das Ungelöste noch einmal mit Sodalösung erwärmt und mit Wasser ausgewaschen. Das Filtrat versetzt man mit Bromwasser, übersättigt mit reiner Salzsäure und trocknet auf dem Wasserbade ein. Den Rückstand nimmt man mit nicht zu wenig Salzsäure und Wasser auf, filtriert und verfährt weiter unter Innehaltung der § 520 gemachten Angaben. Es ist darauf zu achten, dass das Bariumsulfat weiss ist; bei Gegenwart von Blei ist es gelblich. Das Blei muss in diesem Fall durch Umschmelzen mit Soda entfernt werden.

---

*) Für die Herstellung des Filters gibt Folin[1]) folgende Vorschrift: Langfaseriger glänzender Asbest wird mit der Scheere in 5—7 cm lange Stücke geschnitten und in Mengen von je einigen Grammen in einem Cylinder mit etwa 300 ccm 5proc. Salzsäure mit Hülfe eines starken Luftstroms, welcher einige Minuten hindurchgeht, fein zerteilt, dann in verdünnter Salzsäure aufbewahrt. Man bringt 0,05—0,1 g von diesem Asbest in einen Goochtiegel, saugt ihn unter Benutzung der Wasserstrahlpumpe fest, so dass er eine dünne, aber gleichmässige und feste Lage auf dem Boden bildet, wäscht mit Wasser, das in langsamem Strom durchfliesst, aus, trocknet, glüht und wägt. Der so vorbereitete Tiegel kann wiederholt benutzt werden (bis die Menge des Bariumsulfat etwa 1 g beträgt).

1) J. B. Ch. **I.** 131. (1905/06.)

2) H.-S. **34.** 207. (1902.)

Gewichtsanalytische Phosphorsäurebestimmung.

522. **Phosphorsäure***). Durch Wägung als Magnesiumpyrophosphat. Die getrocknete Substanz wird mit dem 10 bis 20 fachen Gewicht einer Mischung von 1 Teil Soda und 2 Teilen Salpeter innig gemischt und in einer Platinschale vorsichtig verbrannt. Die Schmelze wird in Wasser gelöst, die Lösung mit Salpetersäure stark übersättigt, zur Entfernung der salpetrigen Säure erhitzt, etwas eingeengt und nach Entfernung von vorhandenem Chlor als Chlorsilber und nach Zusatz von Ammonnitrat mit Molybdänlösung (Anh.) versetzt. Die Menge dieser Lösung ist so zu bemessen, dass auf 0,1 g Phosphorsäure mindestens 80 ccm der Molybdänlösung (4 g Molybdänsäure) kommen und die Menge des Ammonnitrats so, dass unter Berücksichtigung des Gehalts der Molybdänlösung an Ammonnitrat (8 pCt.) die Flüssigkeit im Ganzen 15 pCt. Ammonnitrat enthält. Man rührt um, ohne die Wandung zu berühren, lässt 12 Stunden bei etwa 40° stehen, giesst die überstehende Flüssigkeit durch ein kleines Filter ab und wäscht den Niederschlag durch wiederholtes Decantieren und Abgiessen der Flüssigkeit durch das Filter mit einer Lösung, die 15 pCt. Ammonnitrat und 1 pCt. Salpetersäure enthält, aus, bis das Filtrat auf Zusatz von Ammoniak völlig klar bleibt. Der Niederschlag wird in einer Lösung, die 2 pCt. Citronensäure und 2,5 pCt. Ammoniak enthält, gelöst, die Lösung etwas erwärmt und mit einem geringen Ueberschuss von Magnesiamischung (Anh.) unter starkem Umrühren, ohne die Wandung zu treffen, gefällt. Die weitere Behandlung geschieht nach § 510, b. Die Umrechnung des gefundenen Magnesiumpyrophosphats auf P_2O_5 geschieht nach der Tabelle (Anh.).

Alkalimetrische Phosphorsäurebestimmung.

523. Alkalimetrische Bestimmung nach A. Neumann[1]).

Princip. Der nach bestimmter Vorschrift erzeugte und völlig ausgewaschene gelbe Niederschlag von phosphormolybdänsaurem Ammoniak hat die Zusammensetzung $2\,(NH_4)_3PO_4 \,.\, 24\,MoO_3 \,.\, 4\,HNO_3$ und wird durch Natronlauge nach der Gleichung $2\,(NH_4)_3PO_4 \,.\, 24\,MoO_3 \,.\, 4\,HNO_3 + 56\,NaOH = 2\,Na_2HPO_4 + 24\,Na_2MoO_4 + 4\,NaNO_3 + 32\,H_2O + 6\,NH_3$ zerlegt. Entfernt man das Ammoniak nach Zusatz von überschüssiger Natronlauge durch Kochen, so kann man mittelst Phenolphtalein als Indicator, gegen das Dinatriumphosphat neutral reagiert, durch Säure zurücktitrieren und so genau ermitteln, wie viel Natronlauge zur völligen Neutralisation des gelben Niederschlags erforderlich ist. Verwendet man zweckmässig zur Titration $^n/_2$ Lösungen, so entspricht jedem Cubikcentimeter verbrauchter $^n/_2$ Natronlauge 1,268 mg P_2O_5, wie aus folgender Betrachtung sich ergibt: Nach obiger Gleichung entsprechen 56 Mol. Natronlauge 1 Mol. P_2O_5; mithin 56 Liter n-Natronlauge 142 g P_2O_5 oder 1 ccm $^n/_2$ Natronlauge 1,268 mg P_2O_5.

Erforderliche Lösungen: 1. 50 proc. Ammonnitratlösung. 2. 10 proc. in der Kälte hergestellte und filtrierte Ammonmolybdatlösung. 3. $^n/_2$ Natronlauge und $^n/_2$ Schwefelsäure (§ 17). 4. 1 proc. alkoholische Phenolphtaleinlösung.

---

*) D. h. die in anorganischer und organischer Bindung vorhandene. Enthält die Substanz keine Phosphate, so ist das Resultat auf organisch gebundene Phosphorsäure zu beziehen.

1) H.-S. **37**. 129. (1902/03), **43**. 35. (1904/05.)

Substanzmenge. Es ist zweckmässig, die Menge so zu wählen, dass sie nicht mehr als 50 mg P_2O_5 (= 21,8 mg P) enthält, weil man sonst unnötig viel von den Normallösungen gebraucht und die Bestimmungen selbst bei 15 mg P_2O_5 noch sehr zuverlässige Resultate geben.

Ausführung. a) In der ursprünglichen Form. Die Veraschung*) wird nach § 504 bis § 506 vorgenommen, aber zweckmässiger Weise so, dass nicht mehr als 40 ccm Säuregemisch verbraucht werden. Nach Beendigung der Veraschung wird nicht, wie dort angegeben, sondern in folgender Weise verfahren: Unter der Annahme, dass für die Veraschung nicht mehr als 40 ccm Gemisch benutzt worden sind, werden etwa 140 ccm Wasser zu dem Veraschungsproduct zugegeben, so dass man etwa 150—160 ccm (etwa die Hälfte des Säuregemisches verflüchtigt sich während der Veraschung) Flüssigkeit hat. Nach dem Zufügen von 50 ccm Ammoniumnitrat wird auf etwa 70– 80° erhitzt, d. h. bis gerade Blasen aufsteigen. Darauf werden 40 ccm Ammonmolybdat**) zugegeben. Man schüttelt den entstandenen Niederschlag von phosphormolybdänsaurem Ammoniak etwa $^1/_2$ Minute gründlich durcheinander, wodurch er sich körniger abscheidet, und lässt 15 Minuten in einem Stativring stehen. (Wurden bei der Veraschung mehr als 40 ccm Säuregemisch verwendet, so ist die Verdünnung mit Wasser in demselben Verhältnis zu steigern und soviel Ammonnitratlösung zuzufügen, dass in jedem Fall der fünfte Teil der Gesamtflüssigkeit aus 50 proc. Ammonnitratlösung besteht.) Ausführung in der ursprünglichen Form.

Das Filtrieren und Auswaschen geschieht durch Decantieren. (Man verwendet Faltenfilter mit einem Durchmesser von 10—12 cm aus dünnem, am besten aschefreiem Filtrierpapier, welches beim späteren Auflösen des Niederschlags in verdünnter Natronlauge leicht zerreisst und sich durch die ganze Flüssigkeit verteilt.) Vor dem Filtrieren wird das Filter mit eiskaltem Wasser gefüllt, um die Filterporen zusammenzuziehen und so zu verhindern, dass die noch warme Lösung infolge des äusserst feinen Niederschlags nicht ganz klar filtriert. Um bequem zu decantieren, legt man den Kolben auf einen Stativring etwas höher als das Filter und lässt durch Neigen des Kolbenhalses die klare Flüssigkeit ohne Unterbrechung durch das Filter fliessen, indem man den Zufluss nach dem Abfluss reguliert. Auf diese Weise kann man erreichen, dass nur sehr wenig Niederschlag auf das Filter kommt, welches stets nur bis zu $^2/_3$ seines Volumens gefüllt wird. Das Auswaschen geschieht in der Weise, dass man zu dem im Kolben zurückgebliebenen Niederschlage unter vollständiger Bespülung der Kolbenwandungen etwa 150 ccm eiskaltes Wasser setzt, heftig durchschüttelt und in dem Stativringe absitzen lässt. Während dessen wird

*) Soll die Bestimmung in rein anorganischer Lösung vorgenommen werden, so fügt man 10 ccm Säuregemisch hinzu und verdünnt mit Wasser auf etwa 150 ccm.

**) 40 ccm Ammonmolybdat reichen aus für 60 mg P_2O_5 (= 26,25 mg P).

auch das Filter 1—2 mal mit eiskaltem Wasser gefüllt. Man decantiert dann wieder, wie oben beschrieben, und wiederholt das Auswaschen etwa 3—4 mal, bis das Waschwasser und das Filter (besonders auch der Filterrand) gerade nicht mehr gegen Lacmuspapier sauer reagiert. Nunmehr gibt man das ausgewaschene Filter in den Kolben hinein zu der Hauptmenge der Fällung, fügt etwa 150 ccm Wasser hinzu, zerteilt durch heftiges Schütteln das Filter durch die ganze Flüssigkeit und löst den gelben Niederschlag, indem man aus einer Bürette gemessene Mengen einer $^n/_2$ Natronlauge hinzufügt, unter beständigem Schütteln und ohne zu erwärmen, eben gerade zu einer farblosen Flüssigkeit auf. Sodann wird noch ein Ueberschuss von 5—6 ccm $^n/_2$ Natronlauge hinzugefügt und die Flüssigkeit solange (etwa 15 Min.) gekocht, bis mit den Wasserdämpfen kein Ammoniak mehr entweicht (Prüfung mit feuchtem Lacmuspapier). Nach völligem Abkühlen unter der Wasserleitung und Ergänzen der Flüssigkeitsmenge auf etwa 150 ccm wird durch Hinzufügen von 6—8 Tropfen Phenolphtaleinlösung die Flüssigkeit stark gerötet*) und der Ueberschuss an Alkali durch $^n/_2$ Säure zurückgemessen. Es empfiehlt sich, zur Vermeidung eines kleinen durch vorhandene Kohlensäure bedingten Fehlers einen kleinen Ueberschuss an Säure zuzufügen, aufzukochen und nun mit $^n/_2$ Lauge zurückzutitrieren.

Statt des Filtrierens durch Papier und des zeitraubenden Auswaschens des Filters empfiehlt es sich, nach dem Vorschlag von Plimmer und Bayliss[1]) einen Goochtiegel zu verwenden, in dem sich eine mit Salzsäure und Lauge gereinigte und mit Wasser völlig ausgewaschene Asbestlage befindet. Die Filtration und das Auswaschen geht unter Benutzung einer Saugpumpe ausserordentlich schnell. Der Inhalt des Tiegels lässt sich unter Benutzung eines Trichters leicht mit Hülfe des ja doch hinzufügenden Wassers und der $^n/_2$ Natronlauge (gemessene Mengen aus der Bürette) in den Kolben zurückbringen. Selbstverständlich ist dafür zu sorgen, dass keine Natronlauge am Tiegel oder Trichter hängen bleibt, sondern quantitativ mit Wasser in den Kolben gespült wird.

Berechnung. Die Anzahl der zugefügten Cubikcentimeter $^n/_2$ Natronlauge abzüglich der verbrauchten Cubikcentimeter $^n/_2$ Säure ergeben mit 1,268 multipliciert die Menge P_2O_5 in Milligrammen oder mit 0,554 multipliciert die Menge P in Milligrammen.

Modificationen.

b) Modificationen[2]). Es sind kleine Veränderungen in der Ausführung angegeben worden, wodurch die Methode einfacher und in den Fällen, in denen 40 ccm Säuregemisch für die Veraschung nicht ausreichen und infolgedessen eine stärkere Verdünnung vorgenommen werden muss, auch genauer wird. Die Modificationen, welche Gregersen[2]) auf Grund sorgfältiger Versuche vorschlägt, sind folgende:

---

*) Wird die Flüssigkeit nicht stark rot, so müssen noch einige ccm $^n/_2$ Natronlauge zugefügt werden. Auch nach abermaligem Erhitzen (Prüfung auf Ammoniak) muss die Lösung stark rot bleiben.

1) J. of Ph. **33**. 441. (1905/06), Reh, B. Ph. P. **II**. 6. (1908.)

2) Gregersen, H.-S. **53**. 453. (1907.)
E. Wörner, Z. f. Unters. N. u. G. **15**. 732. (1908.)

1. Bei der Veraschung*) fügt man gleich im Anfang 20 ccm Säuregemisch hinzu, dann aber nur noch conc. Salpetersäure, die langsam, tropfenweise zufliesst. Harn, Fäces, Proteine, Lecithin, Fett, Zucker, Cellulose usw. liessen sich auf diese Weise ebenso leicht als mit Säuregemisch veraschen. Zum Schluss wird der Ueberschuss der Salpetersäure durch Kochen entfernt.

2. Statt der unter a angeführten Mengen fügt man bei einem Phosphorgehalt von 10—25 mg 125 ccm Wasser, 75 ccm Ammonnitrat und 40 ccm Ammonmolybdat hinzu, bei einem Phosphorgehalt von etwa 4—10 mg 145 ccm Wasser, 75 ccm Ammonnitrat und 20 ccm Ammonmolybdat. Im übrigen verfährt man genau wie unter a angegeben.

3. Handelt es sich darum, noch weniger Phosphor zu bestimmen (ein paar Milligramme und weniger), so verwendet man zur Veraschung nur etwa 10 ccm Säuregemisch und führt die Fällung in einem Vol. Flüssigkeit von 50 ccm, die 15 pCt. Ammonnitrat enthalten, aus.

524. **Kieselsäure.** Die Substanz ist in einer Platinschale zu veraschen (§ 502) und die Kohle durch Glühen möglichst vollständig zu entfernen. Man übergiesst dann die Asche mit Salzsäure und digeriert bis zur Lösung, verdampft zur Trockne und erhitzt auf dem Sandbade über 100°, bis keine sauren Dämpfe mehr entweichen, digeriert den Rückstand mit Salzsäure auf dem Wasserbade einige Zeit, verdünnt dann mit Wasser und bringt die allein ungelöst bleibende Kieselsäure auf ein kleines Filter, wäscht gut aus, trocknet, glüht und wägt nach dem Erkalten über Schwefelsäure.

Man prüft die gewogene Kieselsäure auf ihre Reinheit durch Kochen mit mässig conc. Lösung von kohlensaurem Natron (ist sie rein, so löst sie sich hierbei klar auf) oder besser durch Abdampfen in conc. Lösung mit überschüssiger wässeriger Flusssäure und Erhitzen zum Glühen, wobei sich die Kieselsäure verflüchtigt (§ 51), während vorhandene andere Stoffe zurückbleiben und gewogen werden können.

525. **Kohlensäure.** In den Aschen der Organe oder Flüssigkeiten höherer Tiere findet sich nur wenig kohlensaures Salz. Beim Veraschen (§ 502) kann Kohlensäure aus ihren Verbindungen durch Phosphorsäure ausgetrieben und beim Glühen Calciumcarbonat in Calciumoxyd umgewandelt werden. Aschen, in denen Kohlensäure bestimmt werden soll, sind deshalb mit besonderer Vorsicht darzustellen.

Zur Bestimmung der Kohlensäure kann der in Fig. 9 abgebildete Apparat dienen. Die Substanz, deren Kohlensäuregehalt bestimmt werden soll, wird in den Kolben *A* gebracht und etwas ausgekochtes destilliertes Wasser hinzugefügt, so dass nach Aufsetzen des Korkes die Einleitungsröhre mit der Oeffnung *a* unter dem Niveau desselben steht. Die Glashähne *c* und *d* sind vorläufig beide geschlossen. Das zunächst an den Kolben angefügte Chlorcalciumrohr *F* ist grösstenteils mit Stücken von getrocknetem Chlorcalcium, von *f* bis *m* jedoch mit Bimsteinstücken, die mit Kupfervitriollösung getränkt und dann zur Entwässerung des Kupfervitriols scharf erhitzt sind, gefüllt. An dies Chlorcalciumrohr ist der Liebig'sche Kalikugelapparat *G* und hieran das U-Röhrchen *H*, gefüllt mit Aetzkalistückchen, angefügt. Die Apparate *G* und *H*, der erstere mit Kalilauge von 1,27 spec. Gew. in passender Weise gefüllt, sind vor dem Ver-

*) Soll die Bestimmung in rein anorganischer Lösung vorgenommen werden, so fügt man nur 10 ccm conc. Schwefelsäure hinzu und verfährt weiter nach 2., indem man die Menge des zuzufügenden Wassers so bemisst, dass die Gesamtmenge der Flüssigkeit (incl. Ammonnitrat und -molybdat) 250 ccm beträgt.

suche genau zu wägen. Die Flaschen K und M enthalten Chlorcalciumstücke und die U-Röhren J und L kleinkörnigen Natronkalk. Diese Apparate ML und KJ verhindern, dass Kohlensäure und Feuchtigkeit von aussen in den Apparat gelangen können, wenn Luft in der einen oder anderen Richtung hineindringt.

Ausführung. Ist nun die Substanz mit Wasser in A eingebracht und sind die Apparate durch Kautschukröhrchen mit einander verbunden, die Enden der Röhren n und o aber offen, so giesst man eine genügende Quantität reine starke Salzsäure in die Glashahnbürette B, deren Hahn geschlossen ist und deren verlängertes unteres Ende durch den Kautschukstopfen in den Hals des Kolbens A hinreichend tief hineinragt. Man lässt dann tropfenweise durch vorsichtiges Oeffnen des Hahns c Salzsäure in den Kolben A fallen, bewegt den Kolben etwas, wartet einige Zeit, wenn sich noch Gasblasen aus der Flüssig-

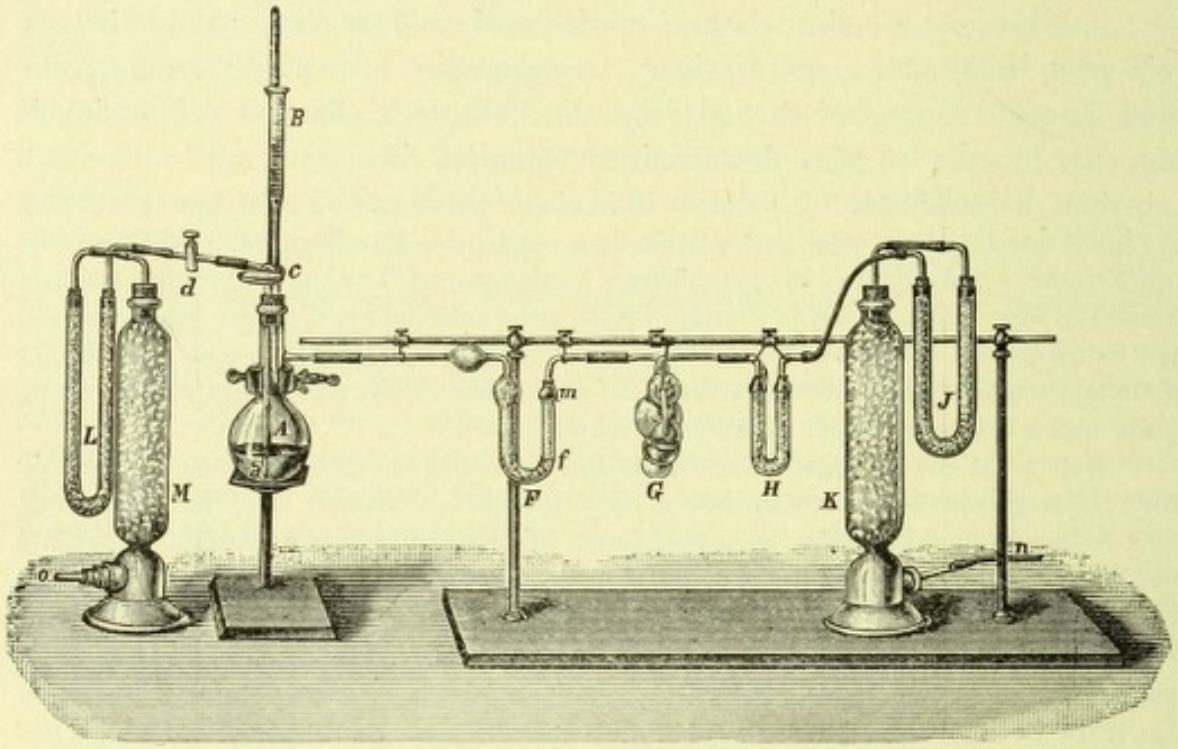


Fig. 9.

keit entwickeln, und lässt dann von Neuem einige Tropfen Salzsäure in den Kolben fliessen, bis keine weitere Gasentwickelung mehr zu bemerken ist. Jetzt erhitzt man den Kolben A sehr langsam, allmählich aber bis zum Sieden der Flüssigkeit, öffnet dann schnell den Hahn d, während man die Flamme entfernt, verbindet den Kautschukschlauch n mit einem Aspirator und saugt langsam Luft durch die ganze Reihe der Apparate hindurch, bis das aus dem Aspirator abgelaufene Wasser ungefähr das 10—15fache Volumen des Kolbens A ausmacht. Dann werden die Kaliapparate G und H abgenommen und gewogen; ihre Gewichtszunahme ist das Gewicht der in der Substanz enthaltenen Kohlensäure.

Es ist besonders darauf zu achten, dass das Erhitzen der Flüssigkeit im Kolben A so langsam geschieht, dass der entweichende Luftstrom langsam durch die Kalilauge geht, dass man nur soweit das Sieden unterhält, bis sich etwas Wasser in der Kugel des Chlorcalciumrohrs F niederschlägt und dass man dann schnell den Hahn d öffnet, während man die Flamme entfernt.

Der Apparat kann zu allen erforderlichen Kohlensäurebestimmungen dienen. Die

Resultate sind genau und die Operation ist einfach und leicht ausführbar. Die Füllung der Apparate reicht meist für mehrere Bestimmungen aus.

Quantitative Bestimmung der Gesamtasche.

526. Wie schon oben (§ 503) erwähnt, werden bei der Veraschung tierischer Gewebe und Flüssigkeiten anorganische Verbindungen neu gebildet oder aus organischen Atomcomplexen frei und fügen sich zu den in den Geweben der Flüssigkeiten vorgebildeten anorganischen Verbindungen hinzu. Aus dem Schwefel der Proteine entsteht Schwefelsäure, aus dem Eisen der Proteide Eisenoxyd, aus Proteiden und Phosphatiden wird Phosphorsäure frei. Berücksichtigt man weiter, dass die sich so hinzugesellenden starken Säuren aus Mangel an Basen Salzsäure und Kohlensäure austreiben, so ist es klar, dass der Ascherückstand nicht den ursprünglich vorhandenen anorganischen Bestandteilen entspricht. Die Anwesenheit der Proteine und Phosphatide macht also nicht nur die Bestimmung der in den Geweben vorgebildeten Phosphate, Sulfate und Eisensalze unmöglich (indem man sie nur zusammen mit den bei der Veraschung erst entstehenden bestimmen kann), sondern auch die summarische Bestimmung der gesamten vorgebildeten Aschebestandteile. Der Ascherückstand wird umsomehr der richtige Ausdruck dieser vorgebildeten Aschebestandteile sein, je weniger von den genannten organischen Verbindungen in der zu veraschenden Substanz vorhanden ist.

Man verfährt in folgender Weise: Das abgewogene oder abgemessene Ausgangsmaterial wird in einer gewogenen Platinschale getrocknet bzw. eingedampft und in der § 502 angegebenen Weise behandelt nur mit der Abweichung, dass die wässerigen Kohleauszüge zu dem stark geglühten Veraschungsrückstand in die Platinschale gegossen und in dieser verdampft werden. Man erhitzt jetzt nochmals kaum bis zum schwachen Glühen, lässt erkalten und wägt. Der erhaltene Wert abzüglich des Gewichts der Platinschale ergibt die Menge der Asche. Ausführung.

Will man den wasserunlöslichen und wasserlöslichen Teil der Asche getrennt bestimmen, so stellt man zunächst, wie es im § 502 angegeben ist, zwei Wasserauszüge der Kohle und einen Wasserauszug der Asche her und ermittelt nun einerseits, wie oben angegeben, das Gewicht der bei der Behandlung mit Wasser zurückgebliebenen und nochmals schwach geglühten Asche (wasserunlöslicher Teil), andererseits das Gewicht des beim Verdampfen der vereinigten Wasserauszüge hinterbleibenden und ganz schwach geglühten Rückstandes (wasserlöslicher Teil).

---

527. Vor Kurzem haben Dennstedt u. Rumpf[1]) vorgeschlagen, nur die in den Körperflüssigkeiten gelösten anorganischen Bestandteile zu bestimmen. Indem sie in Ausführung dieses Vorschlags den in Wasser suspendierten Organbrei aufkochen, nach dem Erkalten mit Gerbsäurelösung versetzen und filtrieren, gewinnen sie eine Flüssigkeit, welche die löslichen anorganischen Bestandteile enthält und in der diese, da sie frei ist von Proteinen und Phosphatiden, gut bestimmt werden können.

Derartige Analysen, an den verschiedenen Organen und an gesundem und krankem Material ausgeführt, werden gewiss wertvoll sein. Vollständige Aschenanalysen sind es natürlich nicht, aber es sind auch keine vollständigen Analysen der physiologisch wichtigen Salze, wie Dennstedt u. Rumpf meinen, denn ihrer Ansicht, dass nur die in den Körperflüssigkeiten gelösten anorganischen Bestandteile von physiologischer Bedeutung sind, wird man keineswegs beitreten können.

---

1) H.-S. **41**. 42. (1904.)

Bestimmung des Gesamtstickstoffs nach Kjeldahl*).

528. Princip. Diese Methode, mit deren Hilfe der Stickstoff in allen Organen, Flüssigkeiten, Bestandteilen und Ausscheidungen des Körpers bestimmt werden kann, beruht auf der quantitativen Ueberführung des gesamten Stickstoffs in Ammoniak unter gleichzeitiger völliger Zerstörung der organischen Substanz durch Erhitzen mit conc. Schwefelsäure und Bestimmung der Menge des gebildeten Ammoniaks durch Titration. Die zerstörende Wirkung der Schwefelsäure wird begünstigt durch die Anwesenheit von Kaliumsulfat (Bildung von Kaliumpyrosulfat) (Gunning, Arnold und Wedemeyer) und von Metalloxyden z. B. Kupfersulfat (Wilfarth).

Erforderliche Apparate und Lösungen: 1. Rundkolben aus hartem Glas von ca. 700 ccm Inhalt und 10 ccm Halslänge.

2. Eine Destillationsvorrichtung, wie sie in nebenstehender Zeichnung (Fig. 10) abgebildet ist: der unter 1 erwähnte Kolben (*a*) mit Kugelaufsatz (*b*) zur Verhinderung des Ueberspritzens, Liebig'scher Kühler, Vorlage (*f*).

3. Conc. stickstofffreie Schwefelsäure.
4. 33proc. Natronlauge.
5. $^n/_{10}$ Schwefelsäure und $^n/_{10}$ Lauge (§ 17).
6. Krystallisiertes Kupfersulfat.
7. Krystallisiertes stickstofffreies Kaliumsulfat.
8. Talcum.
9. Lacmoidlösung (S. 13).

Ausführung der Bestimmung im Harn.

a) Ausführung im Harn. Man bringt genau abgemessene 5 ccm Harn in einen Kjeldahlkolben, fügt etwa 10 ccm conc. Schwefelsäure und ungefähr 0,2 g Kupfersulfat hinzu, erhitzt den in schräger Lage auf dem Drahtnetz unter dem Abzuge liegenden Kolben und gibt, wenn alles Wasser, verdampft ist und weisse Schwefelsäuredämpfe sich entwickeln, ca. 5 g Kaliumsulfat hinzu. Man erhält die Flüssigkeit in lebhaftem Sieden, bis sie jede Spur eines gelblichen Farbentones verloren und farblos oder blaugrün geworden ist, und setzt das Kochen dann noch $^1/_4$ Stunde fort. Bei Menschenharnen ist im Ganzen ein halbstündiges Sieden nötig. Pflanzenfresserharne erfordern längere Zeit. Nachdem die Flüssigkeit etwas abgekühlt ist, werden unter Bewegung des Kolbens etwa 200 ccm Wasser (zunächst vorsichtig) zugefügt. Jetzt setzt man einige Esslöffel Talcum hinzu, wischt das am oberen Teil des Halses hängen gebliebene Pulver mit einem Tuche heraus und versetzt nun ohne Umschütteln mit soviel starker Natronlauge als zur Alkalisierung nötig ist. Man vermeide, dass die Natronlauge mit dem obern Teil des Kolbenhalses in Berührung kommt, da sonst der Stopfen nicht fest sitzt. Die erforderliche Menge der Natronlauge muss bekannt sein, bei Benutzung einer 33proc. Lauge genügen 40 bis 50 ccm. Sobald die Lauge zugefügt ist, verbindet man den Kolben schnell mit dem Kugelaufsatz (*b*), welcher dazu dient, ein Uebersprizen alkalischer Flüssigkeit während des Destillierens zu verhindern und seinerseits an das vom Liebig'schen Kühler umgebene Destillationsrohr *c* angeschlossen ist, und zündet sofort den Brenner unter dem Kolben an. Das an das vordere Ende des Rohrs *c* mittels Gummischlauchs angefügte Glas-

*) Z. anal. Ch. **22**. 366. (1883.) Eine Verbesserung erfuhr diese Methode hauptsächlich durch Wilfarth, Z. anal. Ch. **24**. 455. (1885.), Gunning, Z. anal. Ch. **28**. 188. (1889.) und Arnold und Wedemeyer, Z. anal. Ch. **31**. 525. (1892.)

rohr *d*, welches eine kugelförmige Erweiterung hat, führt in den Kolben *f*. In diesen Kolben („die Vorlage") hat man schon **vorher** 50 ccm $^n/_{10}$ Schwefelsäure eingebracht. Das Rohr *d* soll in diese Flüssigkeit eben eintauchen oder wenigstens nahe der Oberfläche enden. Die Destillation geht (wegen der Anwesenheit des Talcum) ohne Stossen vor sich und wird unterbrochen, wenn alles Ammoniak übergegangen ist. Um sich davon zu überzeugen, löst man nach etwa 20 Min. langem Kochen die Gummiverbindung zwischen *c* und *d*, fängt einen Tropfen des Destillats auf einem

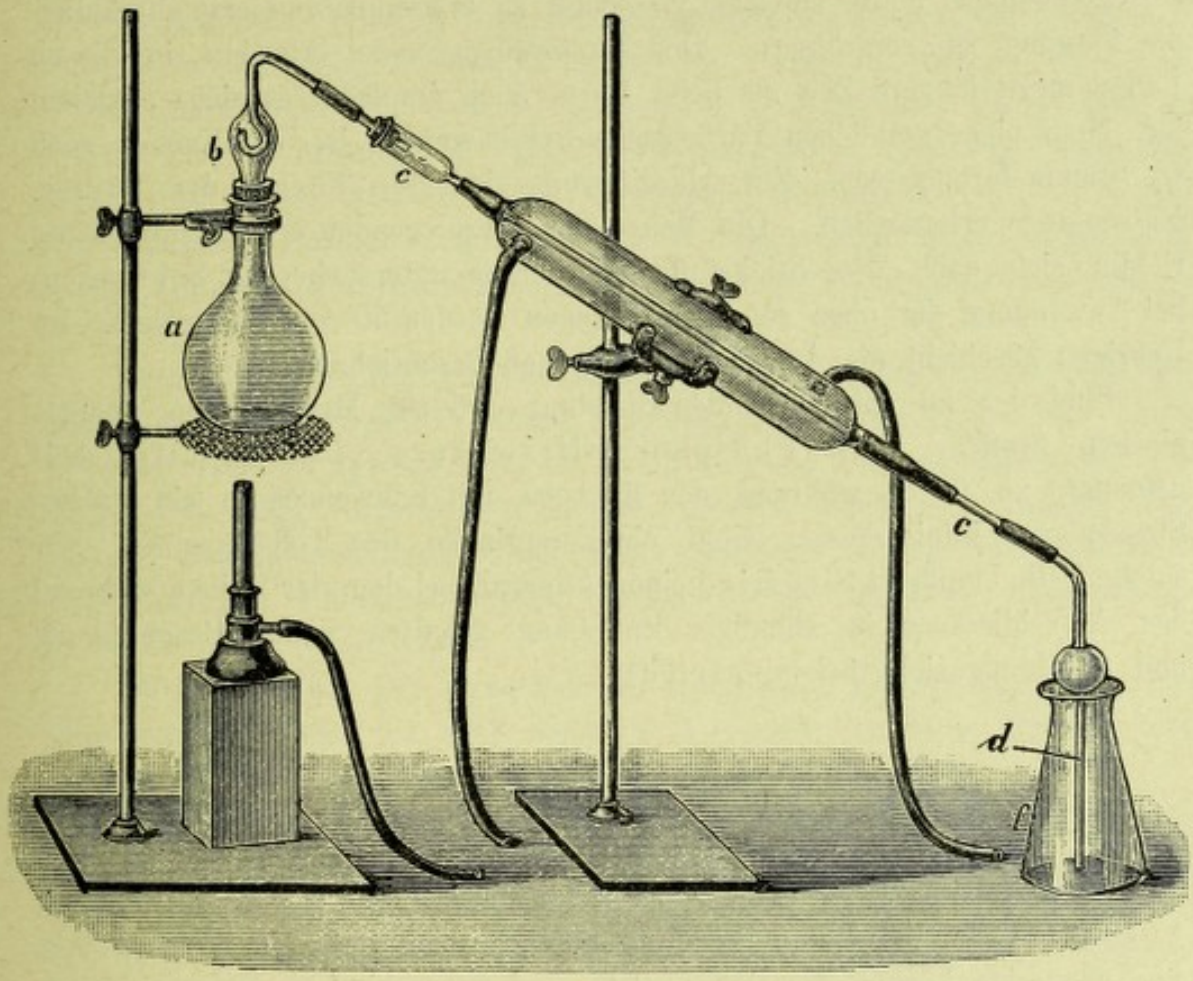


Fig. 10.

roten Lacmuspapier auf und stellt sofort die Gummiverbindung wieder her. Wird das Papier noch blau gefärbt, so prüft man nach einiger Zeit aufs neue. Zeigt sich keine Andeutung einer Blaufärbung mehr, so löst man die Gummiverbindung, spritzt die innen und aussen am Rohre *d* hängende Flüssigkeit mit der Spritzflasche in den Kolben *f*, fügt einige Tropfen Lacmoidlösung hinzu*) und titriert mit $^n/_{10}$ Natronlauge zurück (§ 16). Zieht man die verbrauchten ccm Natronlauge von den verbrauchten ccm

*) Sollte sich hierbei alkalische Reaction ergeben, so kann man mit $^n/_{10}$ Säure den Ueberschuss an Ammoniak ermitteln. Ein Verlust an Ammoniak hat nicht stattgefunden.

Schwefelsäure ab und multipliciert diese Zahl mit 1,401, so erhält man die Menge Stickstoff in Milligrammen, welche in 5 ccm Harn enthalten sind.

Ausführung der Bestimmung in eiweisshaltigen Substanzen, Fäces usw.

b) Ausführung bei eiweisshaltigen Substanzen (Milch, Fleisch, Organen, Brod), bei Fäces usw. Man nimmt von Milch 5 ccm, von frischem Fleisch, frischen Organen, trockenem Brod, getrockneten Fäces je 1 g. Ueber das Abwägen siehe § 12. Zur Zerstörung dieser Substanzen werden etwa 15 ccm conc. Schwefelsäure, 0,2 g Kupfersulfat und (nach Auftreten weisser Schwefelsäuredämpfe) 7—8 g Kaliumsulfat verwandt. Bei kohlehydrathaltigen Stoffen, wie Milch, Brod, ist es zur Verhinderung eines Ueberschäumens nötig, zunächst vorsichtig zu erwärmen und erst allmählich die Flamme zu vergrössern. Der Zerstörungsprocess erfordert in diesen Fällen meist längere Zeit als beim Harn, auch empfiehlt es sich, nachdem jede Spur eines gelblichen Farbentones verschwunden ist, das Kochen noch $^1/_2$ Stunde fortzusetzen. Zur Alkalisierung sind 60—70 ccm der 33proc. Natronlauge erforderlich. Die Menge der vorzulegenden $^n/_{10}$ Schwefelsäure richtet sich nach dem Stickstoffgehalt der zu untersuchenden Substanzen; bei Anwendung der oben genannten Mengen werden 50 ccm ausreichen. Im Uebrigen geschieht die Ausführung wie oben beschrieben.

Ausführung der Bestimmung bei starkem Stossen der Flüssigkeit.

Sind der zu untersuchenden Substanz grössere Mengen von anorganischen Stoffen, z. B. Phosphorwolframsäure, Bariumsulfat beigemengt, so findet während des Kochens mit Schwefelsäure ein starkes Stossen und infolgedessen leicht ein Zerspringen des Kolbens statt. Für solche Fälle empfiehlt Siegfried einen Apparat, bei dem der Kolben während des Aufschliessens in ständiger Bewegung gehalten wird. Beschreibung und Abbildung siehe bei Siegfried[1]).

1. Untersuchung des Harns.

Allgemeines.

529. **Bestandteile.** Der Harn des Menschen und der Wirbeltiere mit Ausnahme der Vögel und beschuppten Amphibien stellt im Wesentlichen eine wässerige Lösung von Harnstoff und anorganischen Salzen, hauptsächlich Chlornatrium, dar. Bei einer grossen Anzahl von Pflanzenfressern, besonders pflanzenfressenden Säugetieren, finden sich neben Harnstoff noch reichliche Quantitäten von Hippursäure, die aber bei Menschen und Fleischfressern nur in geringer Menge vorhanden ist und auch ganz fehlen kann. Der Harn der Vögel und beschuppten Amphibien besteht aus einem Brei von Harnsäure und harnsauren Salzen, in dem meist nur Spuren von Harnstoff vorhanden sind. Ausserdem enthält der Harn eine grosse Anzahl anderer Stoffe in geringer, zum Teil sehr geringer Menge.

1) H.-S. **41**. 1. (1904.)

Im normalen Harn des Menschen und der Säugetiere sind bis jetzt nachgewiesen worden: Normale Harnbestandteile.

Von anorganischen Stoffen: Salzsäure, Phosphorsäure, Schwefelsäure, Spuren von Salpetersäure, gebunden an Natrium, Kalium, Calcium, Magnesium. Bei vegetabilischer Nahrung kann sich auch Calciumcarbonat finden.

Von organischen Stoffen: niedere und höhere Fettsäuren, Oxalsäure, Aceton, Glycerinphosphorsäure, Glukose (Spuren), Milchzucker (bei Wöchnerinnen), Carbaminsäure, Harnstoff, Oxalursäure, Allantoin (reichlicher im Fötalzustande und einige Tage nach der Geburt), Methylguanidin, Dimethylguanidin, Vitiatin, Kreatinin, Harnsäure, Purinbasen, Rhodanwasserstoff, Trimethylamin, Novain, Reductonovain, Gynesin, Mingin, Glykocoll, Taurocarbaminsäure (?), Cystin (?), Histidin, Methylpyridin, Inosit, Hippursäure, Phenacetursäure (?), p-Oxyphenylessigsäure, Hydro-p-cumarsäure, Indolessigsäure, gepaarte Schwefel- und gepaarte Glucuronsäuren, Chondroitinschwefelsäure, Harnfarbstoffe (§§ 277 ff), organische Eisenverbindungen, Oxy-, Antoxy-, Alloxyproteinsäure, Uroferrinsäure, Harnmukoid, Fermente z. B. Pepsin.

Unter pathologischen Verhältnissen sind im Harn ausserdem gefunden worden: Milchsäure, Aceton, Acetessigsäure, β-Oxybuttersäure, Fette, Heptose, Glukose (grosse Mengen), linksdrehende Zucker, Arabinose, Lecithin, Putrescin, Cadaverin, Ptomaine, Leucin, Cystin, Oxymandelsäure, Tyrosin, Homogentisinsäure, Cholesterin, Cholsäure, Glyko- und Taurocholsäure, Hämatin, Hämatoporphyrin, Gallenfarbstoffe, Melanine, Eiweissstoffe, Blutfarbstoffe, Methämoglobin. Pathologische Harnbestandteile.

530. **Geruch.** Der eigentümliche aromatische Geruch des Harns von Menschen und Tieren hat noch nicht auf bestimmte chemische Stoffe zurückgeführt werden können.

531. **Menge und specifisches Gewicht.** Die 24stündige Harnmenge eines erwachsenen Mannes beträgt im Durchschnitt 1500 ccm und das spec. Gewicht, welches am einfachsten mit dem Aräometer (§ 22) geprüft wird, im Durchschnitt 1017—1020. Die Harnmenge ist vermehrt bei reichlicher Flüssigkeitsaufnahme, verringert bei geringer Wasserzufuhr, beim Schwitzen und bei Diarrhöen. Das spec. Gewicht, welches mit der Harnquantität fällt und steigt, kann zwischen 1000 und 1050 schwanken. Ein in reichlicher Menge ausgeschiedener Harn zeigt ein niedriges, ein in geringer Menge ausgeschiedener ein hohes spec. Gewicht. Eine Ausnahme findet beim Diabetes statt, bei dem viel Harn mit hohem spec. Gewicht secerniert wird.

532. **Consistenz.** Die Consistenz des Harns von Menschen und den meisten Säugetieren ist die einer gut tropfbaren Flüssigkeit; er besitzt weder Zähigkeit noch Klebrigkeit. Bei Blasenkatarrhen wird er zuweilen durch reichliche Beimengung von Schleim oder auch Eiweiss gallertig. Geschüttelt bildet der normale menschliche Harn weissen Schaum, der in der

Ruhe alsbald wieder verschwindet; bei Anwesenheit von Eiweiss oder viel Schleim ist der Schaum feinblasig und beständig.

Eine eigentümlich zähe, schleimige Beschaffenheit zeigt häufig bei völliger Klarheit der Pferdeharn, so dass er beim Ausfliessen aus einem Gefässe sich in langen Fäden hinabzieht. Beim Kochen wird dieser Harn unter Ausscheidung von Calciumcarbonat und Abnahme seiner Zähigkeit getrübt.

533. **Klarheit.** Der frisch gelassene normale Harn von Menschen und fleischfressenden Säugetieren erscheint klar und durchsichtig, setzt
Nubecula. aber nach kürzerem oder längerem Stehen ein Wölkchen (Nubecula) ab, welches aus Harnmukoid (S. 502) besteht, und in dem Epithelzellen und (beim Menschenharn meist) bald einzelne mikroskopische Octaeder von Calciumoxalat nachzuweisen sind. Bei reichlicher Anwesenheit von Uraten trübt sich der klar gelassene menschliche Harn beim Abkühlen auf Zimmer-
Sedimentum lateritium. temperatur und es kommt zur Abscheidung des Sedimentum lateritium (S. 171), das beim gelinden Erwärmen sofort wieder verschwindet. Ein trüber Harn kann nach vegetabilischer Nahrung ausgeschieden werden. Diese Trübung ist verursacht durch die Abscheidung von Carbonaten der alkalischen Erden und bedingt durch die alkalische Reaction des Harns (siehe § 536). Zusatz von Säuren macht den Harn wieder klar. Aus demselben Grunde ist der Harn der Pflanzenfresser meist mehr oder weniger trübe.

Ammoniakalische Harngärung. Der in reinem Gefässe aufgefangene und bei kühler Temperatur aufbewahrte Harn hält sich mehrere Tage ziemlich unverändert, allmählich aber wird er unter dem Einfluss von Mikroorganismen, welche Harnstoff in Kohlensäure und Ammoniak zerlegen, alkalisch und infolgedessen trübe. Das gebildete Ammoniak gibt sich durch den Geruch und dadurch zu erkennen, dass ein angefeuchtetes und über den Harn gehaltenes rotes Lacmuspapier blau wird, beim Trocknen aber seine blaue Farbe wieder verliert. Erfolgt diese ammoniakalische Harngärung schon in der Blase (Blasenkatarrh), so wird ebenfalls ein trüber Harn gelassen, der sich aber durch den Geruch und das Verhalten zu Lacmuspapier ohne weiteres von einem Harne, dessen trübe Beschaffenheit durch fixes Alkali bedingt ist, unterscheiden lässt.

Ueber die Untersuchung der Sedimente, welche trübe gelassene oder trübe gewordene Harne bilden, siehe später.

534. **Linksdrehung, Fluorescenz.** Fast alle Harne von Menschen und Säugetieren zeigen Linksdrehung und die meisten eine merkliche, wahre, weissliche Fluorescenz, die noch nicht auf einen bestimmten Stoff hat zurückgeführt werden können.

Takayasu[1]) fand von 100 normalen (24 Stunden mit Hefe behandelten Harnen) 7 ohne Linksdrehung, 84 mit einer Linksdrehung bis zu 0,1 pCt. (auf Traubenzucker bezogen) und 9 mit einer Linksdrehung von 0,1—0,22 pCt. Der Pferdeharn zeigt eine stärkere Linksdrehung als der menschliche (Porcher[2]).

---

1) C. f. inn. M. 1908. S. 337. 2) Ref. B. C. I. 101. (1903.)

535. **Farbe.** Die Farbe des normalen Harns von Menschen und fast allen Tieren, soweit dieselben überhaupt flüssigen Harn liefern, ist ein mehr oder weniger gesättigtes Gelb. (Pferde- und Rinderharn ist fast immer dunkler, bräunlich, gefärbt.) Die Intensität der gelben Farbe geht im allgemeinen Hand in Hand mit der Concentration. Ein conc. Harn von hohem spec. Gewicht hat eine dunkler gelbe, ein verdünnter mit niedrigem spec. Gewicht eine heller gelbe Farbe. Eine Ausnahme macht der diabetische Harn, der trotz seines hohen spec. Gewichts hellgefärbt ist. Beim Eindampfen in der Hitze wird die Farbe meist dunkler als der zunehmenden Concentration entspricht; auch beim Stehen kann die gelbe Farbe dunkler bis hellbraun werden.

Eine dunkle, bräunliche bis fast schwarze Färbung zeigen alle Harne, welche reich an aromatischer Substanz (gepaarte Schwefel- und Glucuronsäuren) sind. Dieselbe ist bedingt durch Zersetzungsproducte dieser an sich farblosen aromatischen Stoffe. Solche Dunkelfärbung wird besonders beobachtet nach Einführung von Phenol, Kresol, Brenzcatechin, Gerbsäure, Indol. Einen dunklen Harn können auch Kranke mit melanotischen Tumoren ausscheiden. Derartige Harne können auch hell gelassen werden und beim Stehen eine dunkle Farbe annehmen. Die Farbe kann aber auch hell bleiben. Ein Dunklerwerden beim Stehen an der Luft erfährt der Harn auch bei Alkaptonurie (§ 208).

Eine gelbgrüne, grüne oder braune Färbung zeigt der Harn bei Icterus wegen seines Gehalts an Gallenfarbstoffen.

Eine rötliche, gelbrote, braunrote oder braune Färbung kann auch bedingt sein durch einen Gehalt an Hämoglobin, Methämoglobin oder Hämatoporphyrin; Rotfärbung auch durch Anwesenheit von Blut, das sich durch im Sediment vorhandene rote Blutkörperchen erkennen lässt, ferner durch vermehrten Gehalt an Urobilin, Urorosein, wie das bei fieberhaften Krankheiten und Digestionsstörungen vorkommt.

Auch nach Genuss von Chrysophansäure (Rhabarber, Sennesblätter) erscheint der Harn rot, aber nur wenn er alkalisch reagiert; auf Zusatz überschüssiger Säure wird er goldgelb.

Eine blaue Färbung oder auch ein blaues Häutchen mit rotem, metallischem Glanz oder ein Sediment von dieser Farbe wird im Harn wohl nur durch Bildung von Indigo aus Indoxylschwefel- oder glucuronsäure erzeugt. Der frische Harn zeigt nie diese Färbung.

536. **Reaction.** Die Reaction des Harns ist im Ganzen abhängig von der Nahrung. Fleischfresser sondern einen gegen Lacmus sauren, Pflanzenfresser einen neutralen oder alkalischen Harn ab. Während des Hungerns reagiert der Harn in allen Fällen sauer. Der Harn des Menschen ist bei gemischter Kost sauer, der einige Stunden nach einer reichlichen Mahlzeit gelassene, schwächer sauer oder alkalisch wegen der Secretion des freie Salzsäure enthaltenden Magensaftes.

Beim Stehen des Harns an der Luft wird die Reaction allmählich alkalisch durch Ammoniak, welches durch Einwirkung von Mikroorganismen aus dem Harnstoff entsteht. Diese bakterielle Ammoniakbildung kann unter pathologischen Verhältnissen (Blasenkatarrh) auch schon in der Blase erfolgen.

Ein ammoniakalischer Harn verliert beim Sieden Ammoniak und wird sauer. Kleine Mengen in flacher Schale werden oft schon an der Luft sauer. Ein durch Eintauchen in den Harn blaugewordenes Lacmuspapier nimmt beim Trocknen an der Luft seine rote Farbe wieder an.

Die saure Reaction ist bedingt durch die Wasserstoffionen, welche von allen im Harn vorkommenden dissociierenden anorganischen und organischen Säuren stammen, die alkalische durch die Hydroxylionen, welche von fixen Alkalien und auch von Ammoniak herrühren können.

Unter Acidität versteht man zweierlei: 1. Die Acidität im physikalisch-chemischen Sinn (Ionenacidität), welche durch die Menge der im Harn enthaltenen Wasserstoffionen bedingt ist (sie gibt sich durch die „saure Reaction" des Harns zu erkennen).

2. Die Acidität im chemischen Sinne (Titrationsacidität), welche durch die Gesamtheit der durch Metall vertretbaren Wasserstoffatome bedingt ist. Zwischen beiden Grössen brauchen keine einfachen Beziehungen zu existieren, denn je nach der Relation zwischen leichter und schwerer dissociierenden Säurebestandteilen kann eine hohe Titrationsacidität mit einer relativ niedrigen Ionenacidität einhergehen und umgekehrt und tatsächlich existiert häufig, vielleicht in den meisten Fällen, kein Parallelismus (Höber[1]).

Bestimmung der Acidität.

Bestimmung der Titrationsacidität. Für die Bestimmung gibt es keine ganz genaue Methode. Man benutzt am besten die Titration mit Phenolphtalein als Indikator (Nägeli[2]), Vozarik[3]), welche wenigstens unter einander vergleichbare Werte liefert, und verfährt nach Vozarik so: man verdünnt eine gemessene Menge Harn (etwa 10 ccm) mit Wasser bis auf helles Weingelb, fügt von einer 1 proc. alkoholischen Phenolphtaleinlösung auf 10 ccm unverdünnten Harn 1 ccm hinzu und darauf $^n/_{10}$ Lauge, bis ein leichtes aber deutlich erkennbares Rot während $^1/_2$ Minute bestehen bleibt. Der Vergleich mit einer danebenstehenden, ebenso verdünnten und mit der gleichen Indikatormenge versetzten Portion desselben Harns erleichtert das Erkennen der Endreaction.

---

537. **Entfernung von Eiweiss aus eiweisshaltigem Harn.** Man erhitzt 100 ccm Harn (neutralen oder alkalischen nach tropfenweisem Zusatz verdünnter Essigsäure bis zur schwach sauren Reaction) in einer Schale zum Kochen. Erfolgt keine gute flockige Abscheidung des Eiweiss, so fügt man vorsichtig noch einen oder einige Tropfen Essigsäure hinzu. Man kocht noch ein wenig ein, filtriert durch ein kleines Filter in einen Masscylinder und wäscht Schale und Filter mit kleinen Mengen Wasser so lange nach, bis das (erkaltete) Filtrat gerade 100 ccm beträgt.

---

1) B. Ph. P. **3**. 525. (1903.)
2) H.-S. **30**. 313. (1900.)
3) Pfl. A. **III**. 473. (1906.)

Normale Bestandteile des Harns.

Qualitative Prüfung auf anorganische Stoffe im Harne.

538. Die qualitative Prüfung auf die meisten anorganischen Stoffe lässt sich direct*) im Harn führen, im eiweisshaltigen nach vorheriger Entfernung des Eiweiss**) nach § 537.

Natrium wird nachgewiesen durch Abdampfen des Harns und Prüfung einer Probe der auskrystallisierten Salze am Platindraht in der Flamme (§ 38).

Kalium. Auf Kalium prüft man mit Cobaltinatriumnitrit (Autenrieth[1]), § 37, 3) oder mit Weinsäure und zwar nach Salkowski[2]), indem man 100—200 ccm Harn auf etwa 15 ccm eindampft, nach dem Erkalten von den harnsauren Salzen abfiltriert, das Filtrat mit 5 ccm conc. Weinsäurelösung versetzt und an einem kühlen Ort stehen lässt (§ 37, 2). Ammoniaksalze geben den gleichen Niederschlag. Sie sind aber im normalen Harn nur in sehr geringer Menge vorhanden. Zur Sicherheit ist der Niederschlag noch spektroskopisch oder mit Hülfe der Flammenreaction oder nach § 37, 2 auf Kali zu prüfen.

Calcium und **Magnesium** werden direct im Harne nach §§ 39, 1 und 40, 1 nachgewiesen. Der Nachweis des Magnesiums geschieht im klaren Filtrat des Calciumoxalatniederschlags.

Eisen. Zum Nachweis des Eisens wird eine grössere Menge Harn nach §§ 505 und 506 eingedampft und verascht und die Aschelösung nach dem Erhitzen mit dem vier- bis fünffachen Vol. Wasser mit Rhodan- oder Ferrocyankalium geprüft (§ 41).

Salzsäure und **Schwefelsäure** werden direct im Harne nach §§ 46 und 49 nachgewiesen.

Aetherschwefelsäure. Man versetzt den Harn mit dem gleichen Vol. einer Barytmischung (2 Vol. kaltgesättigtes Barytwasser und 1 Vol. kaltgesättigte Chlorbariumlösung), filtriert, neutralisiert das klare Filtrat mit Salzsäure, fügt auf 100 ccm 6 ccm conc. Salzsäure hinzu und kocht (Salkowski). Es scheidet sich ein Niederschlag von Bariumsulfat ab, dessen Schwefelsäure aus der Aetherschwefelsäure stammt.

Phosphorsäure. Man fügt Essigsäure und Uranylacetatlösung direct zum Harne hinzu. Es entsteht ein gelblich weisser Niederschlag. Die Phosphorsäure ist zum Teil an alkalische Erden, zum Teil an Alkalien gebunden. Zum getrennten Nachweis fällt man den Harn mit Ammoniak, filtriert

---

*) Die meisten der dabei erhaltenen Niederschläge können organische Stoffe (Harnsäure, harnsaures Ammoniak, Hippursäure, Schleim) enthalten. Man prüft auf diese Beimengungen, indem man die Niederschläge auf dem Platinblech glüht.

**) Hierbei bleibt ein Teil der phosphorsauren alkalischen Erden im Coagulum und kann erst nach der Veraschung aufgefunden werden.

1) H.-S. **37**. 29. (1902/03.) 2) Pfl. A. **6**. 209. (1872.)

den Niederschlag, welcher aus Calciumphosphat und Magnesiumammoniumphosphat besteht und dessen salpetersaure Lösung mit Ammonmolybdat auf Phosphorsäure geprüft werden kann, ab und versetzt das etwas eingedampfte Filtrat, welches die Alkaliphosphate enthält, mit Magnesiamischung (Anh.) (§ 50).

Salpetersäure. Zum Nachweis der Nitrate[1]), welche, aus der Nahrung (Wasser, Vegetabilien) stammend, in geringer Menge im normalen Harne vorkommen, bei Hunger, Milch- und Fleischnahrung aber fehlen (Röhmann), destilliert man nach Weyl 200 ccm frischen Harn mit 30—40 ccm conc. Schwefelsäure oder Salzsäure auf dem Sandbade und prüft das Destillat mit den üblichen Reactionen (Jodkaliumstärkekleister, m-Phenylendiamin oder Sulfanilsäure und α-Naphthylamin) auf salpetrige Säure, welche durch die reducierend wirkenden organischen Harnbestandteile aus Salpetersäure entstanden ist.

Salpetrige Säure. Nitrite[1]) sind im frischen Harn nicht vorhanden, bei beginnender Zersetzung treten sie auf, bei fortschreitender verschwinden sie wieder. Sie entstehen ausschliesslich aus den Nitraten, nicht aus Ammoniak (Röhmann). Zu ihrem Nachweis dient die Reaction mit Jodkaliumstärkekleister und Schwefelsäure oder besser die Probe mit Sulfanilsäure und α-Naphthylamin. Der frische Harn gibt, wie gesagt, diese Reactionen nicht, sie fallen erst bei beginnender Zersetzung positiv aus. Harne, welche salpetrige Säure enthalten, geben nach Adler die Seliwanoff'sche Reaction d. h. es tritt Rotfärbung auf, wenn man etwa 10ccm mit einer Messerspitze Resorcin und etwa 3 ccm verd. Salzsäure versetzt und zum Sieden erhitzt.

Wasserstoffsuperoxyd findet sich im frischen Harne in Mengen, die aus unbekannten Ursachen schwanken. Beim Stehen des Harns verschwindet es gänzlich, sobald die salpetrige Säure (siehe oben) auftritt. Die besten Reagentien für den Nachweis sind nach Schönbein[2]) verdünnte Indigolösung zusammen mit Eisenvitriollösung oder durch Wasserstoffsupersulfid entfärbte Indigolösung*) gleichfalls zusammen mit Eisenvitriollösung. 1. Tröpfelt man in 200 g frischen Harn soviel Indigolösung, dass das Gemisch eine deutlich grüne Färbung zeigt, teilt es in zwei gleiche Hälften und fügt zu einer derselben 15—20 Tropfen verdünnte Eisenvitriollösung, so erscheint diese letztere Harnportion in Folge teilweiser oder gänzlicher Zerstörung des Indigos bald heller grün oder bräunlich gelb, während die eisensalzfreie Hälfte ihre anfängliche grüne Farbe noch immer zeigt. 2. Lässt man in 30—40 g frischen Harns 8—12 Tropfen der durch Wasserstoffsupersulfid genau entfärbten Indigotinctur fallen, so wird das Gemisch anfangs sich nicht bläuen, dies aber beim Zufügen weniger Tropfen Eisenvitriollösung sofort tun (Schönbein).

Quantitative Bestimmung der Gesamtasche und des Trockenrückstandes im Harne.

Bestimmung der Gesamtasche.

539. Bestimmung der Gesamtasche. Sie geschieht nach § 526 unter Benutzung von 10 ccm Harn und gibt wenigstens unter normalen Verhältnissen annähernd richtige Werte.

---

*) Zur Herstellung dieser Lösung tröpfelt man in durch Indigotinctur bis zur Undurchsichtigkeit tief gebläutes und mit etwas Schwefelsäure versetztes Wasser unter Umrühren vorsichtig eine Lösung von Mehrfachschwefelkalium, bis das Gemisch gerade völlig entbläut erscheint und filtriert. Die Flüssigkeit ist klar und farblos, fängt aber bald an, sich zu trüben und blau zu werden.

1) Schönbein, J. f. pr. Ch. **92**. 152. (1864.)
Röhmann, H.-S. **5**. 94 u. 233. (1881.)
Weyl, Virch. A, **96**. 462. (1884.) **101**. 175. (1885.)
Pfl. A. **36**. 456. (1885.) 2) J. f. pr. Ch. **92**. 168. (1864.)

Bestimmung des Trockenrückstandes.

540. Bestimmung des Trockenrückstandes. Wenn man Harn auf dem Wasserbade verdunstet, so erhält man einen syrupartigen Rückstand, der nie völlig trocknet und fortdauernd Spuren von Ammoniak entwickelt. Die Ursache der Ammoniakentwickelung ist die Einwirkung des sauren Natriumphosphats auf den Harnstoff in sehr concentrierter Lösung; der Harnstoff wird nämlich beim starken Eindampfen der wässerigen Lösung durch dies Salz zerlegt zu Kohlensäure und Ammoniak, Ammoniak verbindet sich mit dem Phosphat zu $Na(NH_4)_2PO_4$, aber diese Verbindung zerlegt sich fortwährend wieder bei 100° unter Entwickelung von Ammoniak.

Um nun trotz dieser unvermeidlichen Zersetzung eine Vorstellung vom Trockenrückstande des Harns zu erhalten, hat Neubauer folgende Methode angewendet: Durch ein cylindrisches, aus Blech gefertigtes Wasserbad geht in der Mitte senkrecht zur Achse des Cylinders ein Blechrohr von $2^1/_2$ bis 3 cm Durchmesser, in welches ein Glasrohr eingeschoben werden kann, in dem sich wieder ein Porzellanschiffchen befindet. Das Porzellanschiffchen ist etwa 7 bis 8 cm lang und 1,4 cm breit und zu $^2/_3$ mit nicht zu kleinen Glassplittern gefüllt. Die Glasröhre, in der sich das Schiffchen befindet, ist an einem Ende zu einer feineren, längeren Röhre ausgezogen, die rechtwinklig nach abwärts umgebogen durch die eine Bohrung eines doppelt durchbohrten Korkes in einen Kolben führt. Dieser Kolben enthält ein abgemessenes Volumen titrierter Schwefelsäure. Das Rohr mündet unter dem Niveau der Säure; in der zweiten Bohrung des Korkes befindet sich ein Glasröhrchen, welches den Luftraum im Kolben mit einem Aspirator verbindet. An das andere Ende der Glasröhre, welche das Porzellanschiffchen enthält, ist mittelst eines Stopfens eine mit Chlorcalciumstücken gefüllte Röhre angefügt.

Ausführung der Bestimmung.

Man trocknet zunächst das Porzellanschiffchen mit den Glasstücken und wägt es in einer Röhre, die mit einem mit Stanniol überzogenen Korken verschlossen ist, lässt dann genau 2 ccm Harn aus einer feinen Pipette in das Schiffchen fliessen, schiebt dies in die oben beschriebene, an einem Ende ausgezogene Röhre, verschliesst letztere, heizt das Wasserbad und lässt einen mässigen Luftstrom etwa 3 Stunden erst durch das Chlorcalciumrohr, dann über das Schiffchen mit Harn, von da durch das Kölbchen mit titrierter Säure hindurchgehen und wägt darauf wieder das Schiffchen mit dem Harnrückstand in demselben Glasrohre, in dem es vor der Einbringung des Harns gewogen war. Man spült nun das Glasrohr, in welchem das Schiffchen erhitzt wurde, mit Wasser aus und lässt dies Spülwasser in das Kölbchen mit Schwefelsäure einfliessen, nimmt dann dies Kölbchen ab, bestimmt mit einer titrierten Natronlauge, wie viel Schwefelsäure während des Trocknens durch Ammoniak neutralisiert ist, und berechnet hieraus die Menge des zersetzten Harnstoffes. Der im Schiffchen gewogene feste Rückstand des Harns, addiert zur berechneten Quantität von Harnstoff, gibt dann den wirklichen Ausdruck für das Gewicht der in 2 ccm Harn gelösten Stoffe.

Näheres über diese Methode siehe bei Huppert, Analyse des Harns. 10. Aufl. S. 701. (1898.).

Quantitative Bestimmung der anorganischen Stoffe im Harne.

Bestimmung von Natrium und Kalium.

541. **Natrium** und **Kalium**. 1. Man verascht 20—100 ccm Harn nach §§ 505 u. 506 und verfährt weiter nach § 509.

2. Nach Pribram u. Gregor[1]). 50 ccm Harn werden in einem Becherglas von 200 bis 300 ccm Inhalt mit 10 bis 20 ccm 10 proc. Bariumpermanganatlösung (je nach Concentration und Färbung des Harns) und 10 ccm 10 proc. Schwefelsäure unter Umrühren bis zum

1) Z. anal. Ch. **38**. 401. (1899.)

Sieden erhitzt. Verschwindet die Rotfärbung rasch, so fügt man noch cubikcentimeterweise solange Bariumpermanganatlösung hinzu, bis die rote Farbe nach 10—15 Minuten währendem Sieden nur langsam verschwindet. Ein etwaiger Ueberschuss von Permanganat wird leicht durch einige Tropfen verdünnter Oxalsäurelösung entfernt. Man versetzt jetzt, ohne zu filtrieren, die noch heisse Flüssigkeit mit einer Chlorbariumlösung, macht ammoniakalisch und fällt das überschüssige Chlorbarium mit Ammoniumcarbonat. Die nötige Menge von Chlorbarium und von Ammoniumcarbonat ist leicht zu erkennen, da die Niederschläge sich rasch und schön absetzen. Nach dem Absetzen filtriert man die überstehende klare Flüssigkeit, bringt dann den Niederschlag mit heissem Wasser auch auf das Filter, wäscht mit heissem Wasser chlorfrei und dampft das Filtrat in gewogener Platinschale ein. Nach schwachem Glühen wird gewogen. Das weitere Verfahren ist wie unter 1. angegeben.

Bestimmung von Kalium.

Bestimmung des Kaliums nach Autenrieth u. Bernheim[1]). Man versetzt 50 ccm des filtrierten Harns mit 6—10 ccm einer Natriumcobaltinitritlösung (welche man durch Vermischen einer Lösung von 30 g krystallisiertem Cobaltonitrat in 60 ccm Wasser mit 100 ccm einer conc. Natriumnitritlösung und 10 ccm Eisessig und Filtration am nächsten Tag erhält und die mindestens 3 Wochen haltbar ist), schüttelt durch, lässt 6—8 Std., am besten bis zum nächsten Tage stehen, filtriert den Niederschlag von „Cobaltgelb" durch ein nicht zu kleines, aschefreies Filter, spült mit 40—60 ccm kaltem Wasser, das mit einigen Cubikcentimetern Kobaltreagens versetzt ist, aus (ein vollständiges Auswaschen ist nicht nötig) und trocknet bei 110—120°. Den trocknen Niederschlag löst man möglichst vollständig vom Filter, bringt ihn in eine flache Porzellanschale, verascht das Filter im Platintiegel, zieht die Asche mit heissem Wasser aus und bringt die filtrierte Lösung zum Niederschlag. Nun bringt man tropfenweise und unter gelindem Erwärmen auf dem Wasserbad (Vorsicht wegen Aufschäumens und Herausspritzens!) etwa 10 ccm einer 25 proc. Salzsäure in die Schale, welche zweckmässig mit einem Uhrglas bedeckt wird. Die erhaltene blaue salzsaure Lösung dampft man auf dem Wasserbad zur staubigen Trockne ein, übergiesst den Rückstand mit etwas Wasser, dann mit 10 ccm einer 18 proc. Ueberchlorsäure, rührt gut durch, dampft wieder auf dem Wasserbad ein und erhitzt noch so lange, bis reichliche weisse Nebel von Ueberchlorsäure entweichen und der Rückstand staubtrocken ist. Den Rückstand rührt man mit etwa 10 ccm eines 96 proc. Alkohols, welcher 0,2 pCt. Ueberchlorsäure enthält, gut durch, filtriert durch Goochtiegel (Asbest) und wäscht zunächst mit einigen Cubikcentimetern überchlorsäurehaltigen Alkohols, dann mit einer Mischung gleicher Teile Alkohol und Aether so lange aus, bis eine Probe des Filtrats kaum einen Rückstand hinterlässt. Trocknen bei 120—130° bis zum konstanten Gewicht. Durch Multiplication mit 0,28247 erhält man die dem Kaliumperchlorat entsprechende Menge Kalium.

542. **Calcium** und **Magnesium.** a) im eiweissfreien Harne.

Calcium. Man misst 200 ccm ab, macht mit Ammoniak alkalisch, bringt den entstandenen Niederschlag durch möglichst wenig Salzsäure wieder in Lösung, fügt essigsaures Natrium hinzu und fällt mit Ammonoxalat. Nach 12 stündigem Stehen an einem warmen Ort wird der Niederschlag abfiltriert und weiter nach den S. 545, 2 gegebenen Vorschriften

1) H.-S. **37**. 29. (1902/03.)

behandelt. Die Bestimmung mit Permanganat (S. 545, 3) ist wegen der organischen Beimengungen unzulässig.

Magnesium. Aus dem klaren Filtrat (+ Waschwasser) der Calciumoxalatfällung wird Magnesium durch Zusatz von Ammoniak als phosphorsaure Ammoniak-Magnesia ausgefällt. Ueber das Weitere siehe § 510, b.

b) im eiweisshaltigen Harne. Man verascht 200 ccm Harn nach §§ 505 und 506 und verfährt weiter nach den § 510 gegebenen Vorschriften.

543. **Eisen.** Concentrierung, Veraschung und Bestimmung geschehen nach §§ 505, 506 und 512 unter Benutzung von 500 ccm Harn.

544. **Salzsäure.** a) im eiweissfreien Harne.

Titration der Salzsäure nach Mohr.

1. Titration nach Mohr (§ 518). Man benutzt 10 ccm Harn, fügt ungefähr 90 ccm Wasser und nicht zu wenig Kaliumchromatlösung hinzu. Dieses Verfahren liefert immer etwas zu hohe Werte, da der Harn neben dem Chlor noch mehr oder weniger andere Stoffe enthält, welche bei neutraler Reaction durch Silbernitrat gefällt werden und eine grössere Affinität zum Silber haben als die Chromsäure. Bei mittlerem Chlorgehalt kann man den Fehler in der Regel dadurch ausschalten, dass man von den verbrauchten Cubikcentimetern Silberlösung 1 ccm abzieht und aus dem Rest den Chlorgehalt berechnet. Der Fehler wird im Ganzen um so grösser sein, je weniger Chlor der Harn enthält.

Titration der Salzsäure nach Volhard.

2. Titration nach Volhard. Dieses Verfahren, welches sehr genaue Resultate liefert, ist von Arnold und fast gleichzeitig von E. Salkowski für den Harn modificiert worden.

Princip. Säuert man ein abgemessenes Volumen Harn mit Salpetersäure stark an, fügt eine bestimmte aber überschüssige Menge einer Silberlösung von bekanntem Gehalt hinzu, filtriert von dem entstandenen Chlorsilberniederschlag ab und ermittelt die in dem Filtrat vorhandene Silbermenge, so erfährt man durch Subtraction die Menge Silber, welche von dem Chlor gebunden worden ist. Die Bestimmung des im Filtrat vorhandenen Silbers geschieht durch Titration mit einer Schwefelcyankaliumlösung von bekanntem Gehalt unter Anwendung von einem Eisenoxydsalz als Indicator. Eine salpetersaure Lösung, die Silbernitrat und Eisenoxydsalz enthält, gibt auf Zusatz von Schwefelcyankalium zunächst einen weissen Niederschlag von Schwefelcyansilber und erst, wenn alles Silber ausgefällt ist, einen roten von Schwefelcyaneisen.

Erforderliche Lösungen: 1. Die § 518 beschriebene Lösung von Silbernitrat.
2. Reine Salpetersäure vom spec. Gew. 1,2.
3. Conc. Lösung von chlorfreiem Eisenammoniakalaun, der käuflich rein zu haben ist.
4. Eine titrierte Lösung von Schwefelcyankalium (siehe folgenden Absatz).

Herstellung der titrierten Schwefelcyankaliumlösung. Man löst etwa 9 g reines käufliches Schwefelcyankalium in Wasser, verdünnt zu ungefähr 1000 ccm und füllt mit der gut gemischten Lösung eine Bürette. Andererseits bringt man 10 ccm obiger Silberlösung in einen Kolben, fügt etwa 90 ccm Wasser, 4 ccm der Salpetersäure und 5 ccm der Eisenammoniakalaunlösung hinzu und lässt nun die Schwefelcyankaliumlösung in kleinen Portionen unter gutem Umschütteln bis zur bleibenden schwachen Rotfärbung zufliessen. Die Titrierung wird wiederholt und darauf

die Schwefelcyankaliumlösung mit soviel Wasser versetzt, dass 20 ccm von ihr 10 ccm der Silberlösung äquivalent werden.

Ausführung. In einen Masskolben von 100 ccm Inhalt bringt man nacheinander 10 ccm Harn, ungefähr 50 ccm Wasser, 4 ccm Salpetersäure, 20 ccm Silberlösung und Wasser bis zur Marke, schüttelt gut um und filtriert durch ein trockenes Filter und unter Benutzung eines trockenen Trichters in ein trockenes Masskölbchen von 50 ccm Inhalt genau bis zur Marke. Der Inhalt dieses Kölbchens wird in einen Kolben von ungefähr 250 ccm Inhalt gegossen, mit etwas Wasser nachgespült, 5 ccm Eisenammoniakalaunlösung zugefügt und mit Schwefelcyankaliumlösung bis zum Eintritt einer schwachen bleibenden Rotfärbung titriert.

Die Berechnung ist nach dem oben Gesagten einfach. Da 20 ccm der Schwefelcyankaliumlösung 10 ccm der Silberlösung entsprechen, so sind genau soviel Cubikcentimeter der Silberlösung der Fällung durch Chlor entgangen, als Cubikcentimeter Schwefelcyankaliumlösung für 50 ccm (die Hälfte) des Filtrats erforderlich waren. Zieht man diese Zahl von 20 (die Menge der zugesetzten Silberlösung) ab, so erfährt man, wie viel Cubikcentimeter Silberlösung zur Ausfällung des in 10 ccm Harn enthaltenen Chlors verbraucht wurden. 1 ccm der Silberlösung entspricht 0,01 g NaCl oder 0,00606 g Cl. Waren z. B. bis zum Eintritt der Endreaction 9,5 ccm Schwefelcyankaliumlösung nötig, so enthalten 10 ccm Harn (20—9,5) . 0,01 = 0,105 g NaCl.

Bestimmung des Gesamtchlors.

Um auch organisch gebundenes Chlor mitzubestimmen, empfiehlt Dehn[1]) vor der Titration 10 ccm Harn mit einem kleinen Löffel chlorfreiem Natriumsuperoxyd zu versetzen, gut umzurühren, auf dem Wasserbad zur Trockne zu verdampfen, in Wasser zu lösen und mit Salpetersäure ganz schwach anzusäuern.

Ist der Harn sehr dunkel gefärbt, so ist es zweckmässig, neben dem Eisenoxydammoniakalaun schliesslich bei der Titrierung einige Tropfen einer conc. Lösung von übermangansaurem Kali zuzufügen, welche Entfärbung bewirken.

Um mit der Methode von Volhard im Hundeharne gute Resultate zu erhalten, muss man zunächst die unterschweflige Säure und die Schwefelcyansäure durch Reduction mit Zink und Schwefelsäure auf dem Wasserbade entfernen (Gruber[2]), v. Mering[3]).

Bestimmung der Salzsäure in eiweisshaltigem Harne.

b) im eiweiss (albumose-, mucin-) haltigen Harne.

1. Nach vorausgegangener Veraschung*) durch Titration nach Mohr.

Man dampft 10 ccm Harn in einer Platinschale ab, versetzt den Rückstand mit ungefähr 1 g chlorfreier Soda und 2 – 4 g reinem Salpeter und erhitzt, von einer Seite her beginnend, zunächst vorsichtig allmählich etwas

*) Diese Methode, welche im Wesentlichen von Neubauer angegeben worden ist, wurde von Salkowski verbessert, indem er, um eine Verflüchtigung von Salzsäure beim starken Erhitzen zu vermeiden, den Sodazusatz empfahl. H.-S. **1**. 16. (1878.) und **2**. 397. (1879.)

1) H.-S. **44**. 11. (1905.)
2) Z. f. B. **19**. 569. (1883.)
3) H.-S. **8**. 229. (1884.)

stärker bis zum Schmelzen und zur Entfernung der Kohle. Die Schmelze wird nach dem Erkalten in Wasser unter mässigem Erwärmen gelöst, die Lösung mit Salpetersäure angesäuert, mit einer Messerspitze Calciumcarbonat neutralisiert und ohne vorherige Filtration nach Mohr titriert (§ 518).

2. Nach den § 519 gegebenen Vorschriften, aber unter Benutzung der § 518 angegebenen Silberlösung.

545. **Schwefelsäure, Gesamtschwefel** nach Folin[1]). Eiweiss ist zunächst nach § 537 zu entfernen.

Bestimmung der Sulfatschwefelsäure.

a) Schwefelsäure (Sulfatschwefelsäure). Man bringt in einen Erlenmeyer'schen Kolben von 200—250 ccm Inhalt ungefähr (aber mindestens) 100 ccm Wasser, 10 ccm verdünnte Salzsäure (1 Tl. conc. vom spec. Gew. 1,2 u. 4 Tl. Wasser) und 25 ccm Harn. Bei verdünntem Harn nimmt man 75 ccm Wasser, 50 ccm Harn und 10 ccm verdünnte Salzsäure. Jetzt werden tropfenweise (aus einer Tropfflasche) 10 ccm 5 proc. Bariumchloridlösung ohne Schütteln und Rühren hinzugefügt. Nach einer Stunde oder später schüttelt man um, filtriert durch einen Asbest enthaltenden Goochtiegel*), wäscht mit ungefähr 250 ccm kaltem Wasser, trocknet und glüht in der § 520 beschriebenen Weise. Die Umrechnung auf Schwefelsäure geschieht nach der Tabelle im Anhang.

Bestimmung der Gesamtschwefelsäure.

b) Gesamtschwefelsäure. Man bringt in einen Erlenmeyer'schen Kolben von 200—250 ccm Inhalt 25 ccm Harn und 20 ccm verdünnte Salzsäure (siehe unter a) (bei verdünnten Harnen 50 ccm und 4 ccm conc. Salzsäure) und kocht 20—30 Minuten, während der Kolben mit einem Uhrglas bedeckt ist, gelinde. Man kühlt jetzt unter der Wasserleitung 2—3 Minuten ab, fügt etwa 150 ccm kaltes Wasser hinzu, darauf tropfenweise (aus einer Tropfflasche) 10 ccm einer 5 proc. Bariumchloridlösung ohne Schütteln und Rühren und verfährt weiter wie unter a angegeben.

Bestimmung der Aetherschwefelsäure.

c) Aetherschwefelsäure. Man erfährt ihre Menge durch Subtraction der Sulfatschwefelsäure von der Gesamschwefelsäure oder in folgender Weise: Man mischt 125 ccm Harn mit 75 ccm Wasser und 30 ccm verdünnter Salzsäure (siehe unter a), fügt 20 ccm einer 5 proc. Bariumchloridlösung tropfenweise (Tropfflasche) ohne Rühren und Schütteln hinzu und filtriert nach einer Stunde durch ein trockenes Filter. 125 ccm des Filtrats werden 30 Minuten gelinde gekocht (siehe unter b). Man lässt abkühlen, filtriert, wäscht aus und verascht wie unter a beschrieben.

Bestimmung des Gesamtschwefels.

d) Gesamtschwefel. Man bringt 25 ccm Harn (von sehr verdünntem 50 ccm) in einen Nickeltiegel von 200—250 ccm Inhalt, fügt etwa 3 g Natriumhyperoxyd hinzu, dampft bis zur Syrupconsistenz ein und erhitzt vorsichtig und langsam, so dass die Masse in ungefähr 15 Minuten fest wird. Jetzt lässt man den Tiegel abkühlen, befeuchtet den Inhalt mit 1 bis 2 ccm Wasser, streut etwa 7 g Natriumhyperoxyd darauf und erhitzt

*) Ueber die Herstellung siehe S. 553 Fussnote.

1) J. B. Ch. I. 131. (1906.)

ungefähr 10 Minuten bis zum vollständigen Schmelzen. Nachdem etwas abgekühlt ist, bringt man ungefähr 100 ccm Wasser hinein, erhitzt wenigstens eine halbe Stunde, um alles Hyperoxyd zu zersetzen, führt den Inhalt in einen Erlenmeyer'schen Kolben von 400—450 ccm Inhalt mit heissem Wasser über und verdünnt mit Wasser bis etwa zu 250 ccm. Nun wird conc. Salzsäure zu der fast kochenden Lösung langsam zugefügt, bis das Nickeloxyd sich gerade auflöst (für 8 g Peroxyd ungefähr 18 ccm). Nachdem einige Minuten gekocht, soll die Lösung klar sein (andernfalls muss nach dem Abkühlen filtriert werden). Zu der klaren Lösung fügt man 5 ccm verdünnten Alkohol (1 : 4 Wasser), kocht noch einige Minuten, fügt zu der heissen Lösung tropfenweise (Tropfflasche) 10 ccm 10 proc. Bariumchloridlösung hinzu und filtriert nach zweitägigem Stehen in der Kälte durch einen Goochtiegel. Das Weitere wie unter a beschrieben.

546. **Phosphorsäure.** Die Bestimmung der Phosphorsäure geschieht mit hinreichender Genauigkeit durch Titration mit Uranylacetat. Anwesenheit von Eiweiss stört nicht.

Im Pflanzenfresserharn ist die Menge der Phosphorsäure eine so geringe, dass dieses Verfahren nicht angewendet werden kann. Man benutzt dann zweckmässig das Verfahren von A. Neumann (§ 523).

Princip. Uranylacetat gibt mit phosphorsauren Salzen in essigsaurer Lösung einen gelblichweissen, flockigen, unlöslichen Niederschlag von der Zusammensetzung $(UrO_2)HPO_4$. Zur Erkennung eines Ueberschusses von Uranlösung benutzt man entweder Ferrocyankaliumlösung, welche in sauren Uranlösungen einen selbst bei ausserordentlicher Verdünnung der Flüssigkeiten noch deutlich wahrnehmbaren dunkelbraunen Niederschlag gibt oder Cochenilletinctur, welche einen grünen Niederschlag gibt.

Erforderliche Lösungen. 1. Eine Lösung, die in 100 ccm 0,2 g P_2O_5 enthält. Eine 1,0093proc. Lösung von Natriumphosphat ($Na_2HPO_4 + 12\,H_2O$) entspricht dieser Anforderung. Da aber dieses Salz sehr leicht verwittert und deshalb nicht genau abgewogen werden kann, empfiehlt es sich, ungefähr 12 g abzuwägen und in 1 Liter Wasser zu lösen, von dieser Lösung 50 ccm einzudampfen, den Rückstand zu glühen und zu wägen (pyrophosphorsaures Natron) und nun mit Hülfe dieses Wertes und unter Berücksichtigung, dass 50 ccm einer 1,0093 proc. Lösung von Natriumphosphat beim Eindampfen und Glühen 0,1875 g pyrophosphorsaures Natron liefern müssen, diejenige Menge Wasser zu berechnen, mit der die Lösung zu verdünnen ist.

2. Essigsäuremischung. Man löst 100 g krystallisiertes Natriumacetat in Wasser, fügt 100 ccm starke Essigsäure hinzu und verdünnt die Mischung im Literkolben auf 1 Liter.

3. Frisch hergestellte Ferrocyankaliumlösung.

4. Cochenilletinctur (wässerig-alkoholischer Cochenilleauszug).

5. Titrierte Lösung von Uranylacetat (siehe folgenden Absatz).

Herstellung der titrierten Uranylacetatlösung. Etwa 35 g Uranylacetat werden in etwa einem Liter Wasser unter Erwärmen gelöst und filtriert. Man fügt zu 50 ccm der obigen Natriumphosphatlösung 5 ccm der Essigsäuremischung hinzu, erwärmt auf kochendem Wasserbade (oder auf freiem Feuer fast bis zum Sieden) und lässt nun in kleinen Portionen aus einer Bürette die Uranylacetatlösung zufliessen, solange die Vermehrung des

Niederschlages deutlich erkennbar ist. Dazwischen ist immer wieder für kurze Zeit zu erwärmen. Ist die Zunahme des Niederschlags nicht mehr deutlich, so nimmt man nach jedem neuen Zusatz von Uranylacetat und jedesmaligem kurzen Erwärmen einen Tropfen der Mischung heraus, lässt ihn mit einem auf einer weissen Porzellanplatte befindlichen Tropfen Ferrocyankaliumlösung zusammenfliessen und beobachtet, ob dabei eine leichte Braunfärbung (Uranylferrocyanid) auftritt. Die erste Andeutung einer schwachen Braunfärbung dient als Endreaction, denn sie beweist, dass alle Phosphorsäure ausgefällt ist und sich ein geringer Ueberschuss von Uranylacetat in der Mischung befindet. Hat man auf diese Weise erfahren, wie viel Uranlösung erforderlich ist, um 0,1 g P_2O_5 zu fällen, so verdünnt man sie soweit mit Wasser, dass 20 ccm gerade 0,1 g P_2O_5 oder 1 ccm 0,005 g P_2O_5 entsprechen.

Statt dessen kann man auch, statt des Ferrocyankaliums als Indicator Cochenilletinctur benutzend, zu der Mischung von 50 ccm obiger Natriumphosphatlösung und 5 ccm Essigsäuremischung einige Tropfen Cochenilletinctur hinzufügen, erwärmen und nun so lange vorsichtig und unter Umschütteln und Erwärmen Uranylacetatlösung zufliessen lassen, bis die rote Farbe in eine grünliche umschlägt. Doch scheint die Titration mit Hülfe von Ferrocyankalium genauer zu sein. Man kann auch gleichzeitig beide Indicatoren benutzen.

Ausführung. Man misst in ein Becherglas 50 ccm oder von conc. Harnen 20 ccm ab, fügt 5 bezw. 2 ccm der Essigsäuremischung hinzu, erwärmt und verfährt ganz wie es zur Titerstellung der Uranlösung eben angegeben ist unter Anwendung von Ferrocyankalium (oder Cochenilletinctur) als Indicator. Die Zahl der bis zur Endreaction verbrauchten Cubikcentimeter Uranlösung ergeben mit 5 multipliciert die Menge P_2O_5 in Milligrammen.

547. **Salpetersäure.** Für die quantitative Bestimmung der Salpetersäure hat Röhmann[1]) die Methode von Franz Schulze (Reduction der Salpetersäure zu Stickoxyd beim Kochen mit Salzsäure und Eisenchlorür und Messung des über Natronlauge aufgefangenen Stickoxyds) benutzt und sehr brauchbar gefunden.

Nachweis und Bestimmung des Ammoniaks im Harne.

548. Zum Nachweis bringt man in einen kleinen Kolben mittels eines Trichters Harn und Kalkmilch und in den Kolbenhals ein angefeuchtetes rotes Lacmuspapier, welches durch den verschliessenden Stopfen festgehalten wird. Nach kurzer Zeit bläut sich das Papier durch das in Freiheit gesetzte Ammoniak. Nachweis.

Kohlensaures Ammoniak, das nur bei Zersetzung des Harns innerhalb der Blase im frisch gelassenen Harn erscheint, gibt sich durch den Geruch zu erkennen. Ein solcher Harn reagiert alkalisch, ist trübe und entwickelt auf Säurezusatz Kohlensäure (§ 533 u. § 536).

549. Zur quantitativen Bestimmung dienen folgende Verfahren:

---

1) H.-S. 5. 233. (1881.)

Bestimmung des Ammoniaks nach Krüger-Reich.

1. Nach Krüger-Reich[1]) (Modification des Verfahrens von Wurster[2]). Eine im Princip gleiche Methode ist von Shaffer[3]) angegeben worden.

Princip. Das durch Kalkmilch in Freiheit gesetzte Ammoniak wird im Vacuum bei einer Temperatur unter 43° destilliert, in $^n/_{10}$ Säure aufgefangen und durch Zurücktitrieren mit $^n/_{10}$ Lauge bestimmt. Zusatz von Alkohol verhindert das Schäumen während der Destillation und erniedrigt den Siedepunkt.

Apparat. Der Apparat ist aus Fig. 11 ersichtlich. *K* ist ein Literrundkolben aus Jenaer Glas, dessen Kugel zu etwa $^1/_3$ in das Wasserbad eintaucht. Das Rohr *a* des Scheidetrichters ist unten zu einer Capillare ausgezogen. Die Peligot'sche Röhre ist etwa 24 cm hoch, der Inhalt ihrer 3 Kugeln beträgt etwa 340 ccm; sie ist in Eiswasser versenkt. *q* ist ein dickwandiger Gummischlauch, über dem sich eine Klemmschraube

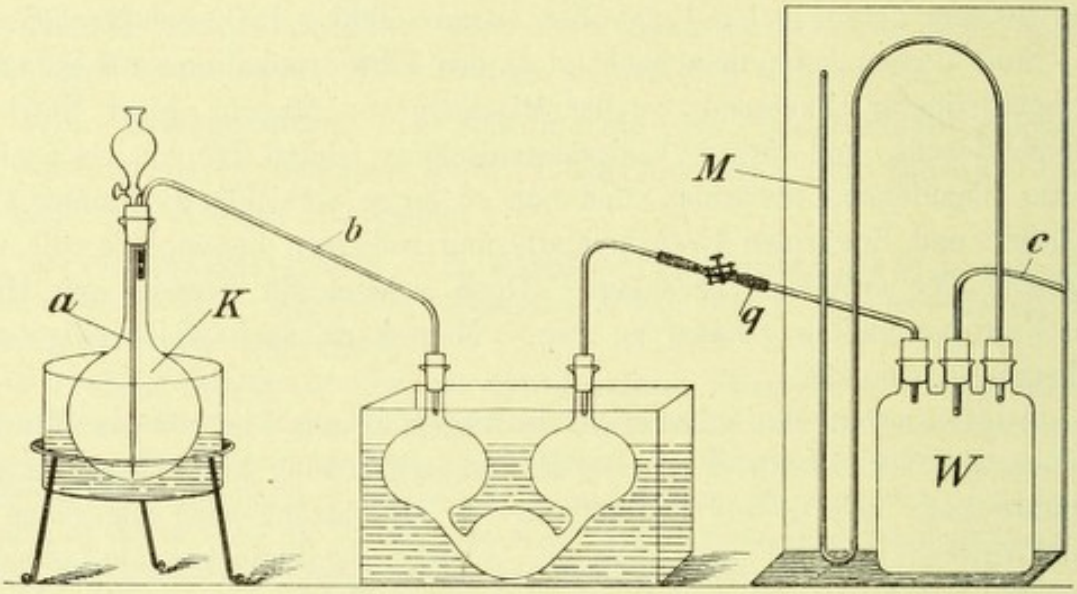


Fig. 11.

befindet. *M* ist ein mit der Woulf'schen Flasche *W* verbundenes Manometer. Das Rohr *c* führt zur Wasserstrahlpumpe. Es empfiehlt sich an das in den Kolben hineinragende Ende des Rohres *b* einen etwa 5 cm langen Gummischlauch anzufügen, welcher in der Mitte eine seitliche Oeffnung besitzt.

Ausführung. Man bringt in den Scheidetrichter 12—15 ccm Alkohol, in die Peligot'sche Röhre 25 ccm $^n/_{10}$ Säure, darauf in den Kolben 25 ccm eiweissfreien*) filtrierten Harn, etwa 10 ccm Kalkmilch und etwa 15 ccm Alkohol, schliesst nun sofort den Kolben, indem man dafür sorgt, dass das Rohr *a* fast den Boden berührt, schliesst auch die Klemmschraube

*) Zur Entfernung des Eiweiss empfehlen Krüger u. Reich 100 ccm Harn mit 1 g gepulverter Citronensäure und 0,5 g Pikrinsäure zu schütteln, bis ein flockiger Niederschlag sich absetzt, und durch Faltenfilter zu filtrieren. Nachdem man sich von der völligen Entfernung des Eiweisses überzeugt hat, verfährt man in der oben beschriebenen Weise, nimmt aber zur Bindung der Citronen- und Pikrinsäure statt der Kalkmilch 0,5 g gepulverten Aetzbaryt. Siehe auch die Bemerkung am Schluss des § 549, 1.

1) H.-S. **39**. 165. (1903.)

2) C. f. Ph. **1**. 485. (1888.)

3) A. J. of Ph. **8**. 330. (1903.)

und setzt die Wasserstrahlpumpe in Tätigkeit. Darauf wird durch vorsichtiges Oeffnen der Schraube Kolben und Peligot'sche Röhre allmählich evacuiert und gleichzeitig mit der Erwärmung des Wasserbades begonnen. Die Temperatur des letzteren soll 43° nicht übersteigen. Von Beginn des lebhaften Siedens an gerechnet wird die Destillation 17 Minuten unter einem Druck von 30—40 mm Quecksilber fortgesetzt. Die Wassertropfen, welche sich nach Verjagung des Alkohols am Kolbenhals festsetzen und möglicherweise Ammoniak enthalten, werden durch Umwickeln des Kolbenhalses mit einem in heisses Wasser getauchten Tuch beseitigt. Zum Schluss lässt man aus dem Scheidetrichter 10 ccm Alkohol zufliessen, welche den Kolbeninhalt wieder in lebhaftes Sieden bringen und die in dem Rohr *b* befindlichen Wassertropfen wegspülen. Ein Stossen findet erst statt, wenn die Flüssigkeit stark concentriert ist. Dabei kann in seltenen Fällen etwas an das Rohr *b* spritzen. Die oben (siehe bei Beschreibung des Apparats) erwähnte Schlauchvorrichtung verhindert aber ein Uebertreten in die Peligot'sche Röhre. Nach Beendigung der Destillation schliesst man zunächst die Klemmschraube, dreht die Wasserleitung ab und lässt durch Oeffnen des Scheidetrichterhahnes Luft eintreten. Der Inhalt der Peligot'schen Röhre wird in ein Becherglas übergeführt und unter Benutzung von Lacmoid oder Rosolsäure mit $^n/_{10}$ Lauge titriert. Zieht man die Anzahl der verbrauchten Cubikcentimeter von der Anzahl der verbrauchten Cubikcentimeter Säure ab und multipliciert diesen Wert mit 1,7034, so erhält man die Menge Ammoniak in Milligrammen.

Ausführung bei Eiweissgehalt.

Im eiweisshaltigen Harn lässt sich das Verfahren anwenden, wenn man statt Kalkmilch ca. 10 g Natriumchlorid und 1 g trockene Soda (Folin[1]), Shaffer) zum Harn zufügt. Das Schäumen lässt sich durch öfteren Zusatz von 15—20 ccm Alkohol und, falls die Flüssigkeit zu sehr eingedampft war, von 10—15 ccm Wasser leicht vermeiden (Schittenhelm[2]).

Bestimmung des Ammoniaks nach Folin.

2. Nach Folin[1]).

Princip. Das durch Soda in Freiheit gesetzte Ammoniak wird durch einen Luftstrom bei gewöhnlicher Temperatur ausgetrieben, von $^n/_{10}$ Säure aufgenommen und durch Zurücktitrieren mit $^n/_{10}$ Lauge bestimmt.

Apparate. 1. Ein mit doppelt durchbohrtem Gummistopfen versehener Cylinder von etwa 45 cm Höhe und 5 cm Durchmesser. Von den durch die Bohrungen gehenden Glasröhren reicht die eine bis nahe an den Boden und ist andererseits unter Zwischenschaltung einer mit Watte gefüllten U-förmigen Röhre mit einer Schwefelsäure enthaltenden Vorlage verbunden, während die andere kurz unter dem Stopfen abgeschnitten ist und andererseits mit einer mit Watte gefüllten U-förmigen Röhre in Verbindung steht, die wiederum mit 2 hintereinander geschalteten Vorlagen verbunden ist.

2. Ein Wasserstrahlgebläse oder eine Wasserstrahlpumpe, welche in der Stunde 600—700 Liter Luft befördert.

Ausführung. Man bringt in die erste Vorlage 25 ccm, in die zweite 10 ccm $^n/_{10}$ Säure und Wasser, in den Cylinder 25 ccm filtrierten Harn, 8—10 g Natriumchlorid,

1) H.-S. **37**. 161. (1902/03.) 2) H.-S. **39**. 73. (1903.)

5—10 ccm Petroleum oder Toluol*) (um das Schäumen zu verhindern) und zuletzt etwa 1 g trockene Soda, verschliesst sofort und lässt einen starken Luftstrom durch den Apparat gehen. Bei einer Temperatur von 20—25° und unter Anwendung von 600—700 Liter Luft in der Stunde ist nach 1—$1^1/_2$ Stunden alles Ammoniak in den Vorlagen. Das Weitere wie unter 1. Als Indicator empfiehlt Folin Alizarinrot (2 Tropfen einer 1proc. Lösung für 200—300 ccm Flüssigkeit und Titration bis zur Rotfärbung, nicht bis zur Violettfärbung).

Dieses Verfahren kann auch auf eiweisshaltige Harne angewendet werden.

Nach Steel u. Gies[1]) gibt es bei Anwesenheit von Ammoniak als Ammoniummagnesiumphosphat (nach Magnesiumsulfatzufuhr) zu niedrige Werte.

Bestimmung des Ammoniaks nach Schlösing.

3. Nach Schlösing. Dieses Verfahren ist einfacher auszuführen, gibt aber nicht so zuverlässige Werte, wie die unter 1 und 2 beschriebenen. Auch muss man mehrere Tage auf das Resultat warten.

Princip. Das durch Kalkmilch in Freiheit gesetzte Ammoniak wird in einem abgeschlossenen Raum innerhalb einiger Tage von $^n/_{10}$ Säure aufgenommen und durch Zurücktitrieren mit $^n/_{10}$ Lauge bestimmt.

Ausführung. Unter eine Glasglocke, die mit abgeschliffenem Rand auf eine Glasplatte mit etwas Fett luftdicht aufgesetzt wird, bringt man eine Schale mit 25 ccm $^n/_{10}$ Schwefelsäure, darüber legt man ein Dreieck von Glas und auf dieses eine Glasschale mit flachem Boden von 15—17 cm Durchmesser. In diese Schale kommen 25 ccm filtrierter eiweissfreier Harn, ein wenig Thymol und dazu, unmittelbar vor dem Aufsetzen der Glasglocke, 10—15 ccm Kalkmilch. Nach 3tägigem Stehen (bei conc. Harnen 5—8tägigem Stehen) bei Zimmertemperatur öffnet man den Apparat und titriert direct in der Schale nach Zusatz von etwas Lacmoid mit $^n/_{10}$ Lauge zurück. Berechnung wie unter 1 angegeben.

Bei eiweisshaltigem Harne scheint die Methode auch ohne vorherige Entfernung des Eiweisses anwendbar, wenn man statt Kalkmilch dem Harn etwa 10 g Kochsalz und etwa 0,5 g trockene Soda zufügt (Shaffer).

Bestimmung des Gesamtstickstoffs im Harne.

Diese Bestimmung wird jetzt allgemein nach dem Verfahren von Kjeldahl (§ 528, a) ausgeführt.

Bestimmung nach Liebig-Pflüger.

550. Verfahren nach Liebig-Pflüger (Harnstofftitrierung nach Liebig). Durch diese Methode wird nicht, wie man früher annahm, der Harnstoff, sondern der Gesamtstickstoff bestimmt. Sie ist durch das Kjeldahlverfahren (§ 528), dem sie an Genauigkeit nachsteht, mit Recht ziemlich verdrängt worden, kann aber unter Umständen noch wertvolle Dienste leisten, da sie keinerlei Abzugsvorrichtung, welche bei der Ausführung der Kjeldahlbestimmung nicht zu entbehren ist, erfordert.

Princip. Fügt man zu einer verdünnten Harnstofflösung eine Lösung von Mercurinitrat in ziemlich continuierlichem Strome, so lange noch ein Niederschlag entsteht und selbst in geringem Ueberschusse, so entsteht ein weisser Niederschlag von der Zusammensetzung $2\ CO(NH_2)_2 . Hg(NO_3)_2 . 3\ HgO$. Eine Harnstofflösung, der Quecksilberlösung in einer zur Ausfällung des gesamten Harnstoffs unzureichenden Menge zugesetzt ist, gibt mit überschüssiger Sodalösung einen weissen Niederschlag, ist dagegen bereits ein geringer Ueberschuss an Mercurinitratlösung vorhanden, so ruft Soda einen gelben

*) Statt dessen wird von af Klercker Paraff. liq. empfohlen. B. Z. **3**. 55. (1907.)

1) J. B. Ch. **5**. 71. (1908.), Steel, J. B. Ch. **5**. 85. (1908.)

Niederschlag hervor. Das Auftreten dieses gelben Niederschlags dient als Endreaction. (Im Harne tritt die Endreaction erst auf, wenn auch die meisten andern stickstoffhaltigen Bestandteile durch Quecksilberlösung gefällt sind).

Enthält die zu titrierende Harnstofflösung Chlornatrium, so bildet sich zunächst beim Hinzufügen von Mercurinitratlösung Quecksilberchlorid und Natriumnitrat und da das Quecksilberchlorid Harnstoff nicht fällt, entsteht erst dann ein Niederschlag, wenn alles Chlor an Quecksilber gebunden ist*). Die hierdurch für die Harnstoffbestimmung im Harne bedingte Ungenauigkeit wird durch eine vorausgehende Ausfällung des Chlors durch Silberlösung vermieden. Da die Phosphate sich ebenfalls mit dem Mercurinitrat umsetzen, so sind auch diese vor der Titrierung zu entfernen.

Erforderliche Lösungen: 1. Harnstofflösung. Man löst 6 g (längere Zeit im Exsiccator bis zum constanten Gewicht getrockneten) reinen Harnstoff in etwas Wasser und verdünnt die Lösung auf 300 ccm.

2. Barytmischung. Man mischt 2 Vol. kalt gesättigtes Barytwasser mit 1 Vol. kalt gesättigter Lösung von Bariumnitrat und bewahrt die Mischung in gut verschlossener Flasche auf.

3. Die für die Titrierung nach Mohr (§ 518) nötigen Reagentien.

4. Natriumcarbonatlösung. 53 g reine geglühte Soda in 1 Liter Wasser.

5. Titrierte Quecksilberlösung (siehe folgenden Absatz).

Herstellung der titrierten Quecksilberlösung. Reine conc. Mercurinitratlösung (die mit Kochsalzlösung keine Trübung geben darf) wird mit Wasser ungefähr bis zum spec. Gew. 1,10 verdünnt und in eine Bürette gefüllt, in eine zweite Bürette kommt die Harnstofflösung und in eine dritte die Sodalösung. Man bringt nun einige Cubikcentimeter der letzteren in ein auf einer schwarzen Unterlage stehendes Uhrglas, in ein Becherglas genau 10 ccm der Harnstofflösung und dazu in einzelnen Portionen so lange Quecksilberlösung, bis ein Tropfen der gut umgerührten Mischung, mit einem Glasstab vorsichtig in die Sodalösung im Uhrglase vom Rande her eingebracht, in wenigen Secunden eine deutliche Gelbfärbung hervorruft. Man giesst dann die Sodalösung mit den einzelnen Proben aus dem Uhrglase in das Becherglas, fügt Sodalösung aus der Bürette bis zur ganz schwach sauren Reaction der Mischung hinzu und prüft abermals, ob ein Tropfen in der Sodalösung den gelben Niederschlag hervorruft. Ist dies nicht der Fall, so fügt man noch weitere kleinere Portionen Quecksilberlösung bis zum Eintritt der Endreaction hinzu, neutralisiert nahezu mit gemessener Menge Sodalösung und prüft abermals. Hat man auf diese Weise annähernd ermittelt: 1. wieviel Cubikcentimenter Quecksilberlösung und 2. wieviel Cubikcentimeter Sodalösung (zur annähernden Neutralisirung) erfordert werden, so wiederholt man die ganze Titrierung, indem man zu 10 ccm Harnstofflösung gleich auf einmal soviel Quecksilberlösung und unter fortdauerndem Umrühren so viel Sodalösung zufliessen lässt, als bei der ersten Titrierung gebraucht worden waren. Die Endreaction wird jetzt ausbleiben und erst eintreten, wenn noch eine oder mehrere kleine Portionen Quecksilberlösung (nebst der erforderlichen Menge Sodalösung) zugefügt worden sind. Wiederholt man diese Titrierung abermals in derselben Weise, indem man nämlich sofort die ganze bei der zweiten Titrierung verbrauchte Quantität Quecksilberlösung zur Harnstofflösung hinzufügt, darauf sogleich die gleichfalls corrigierte Natriumcarbonatmenge unter stetem Umrühren einfliessen lässt, so wird jetzt entweder sofort die Endreaction bei Einbringung einer Probe der Mischung in ein paar

*) Auf dieses Verhalten hat Liebig eine Titration des Chlornatrium im Harne gegründet, indem er den entstehenden Niederschlag als Endreaction der Titrierung benutzte.

Tropfen Sodalösung eintreten, oder nur ganz wenig Quecksilberlösung und Natriumcarbonat hinzuzumischen sein, um sie hervorzurufen.

Die Quecksilberlösung soll nun so weit verdünnt werden, dass 20 ccm derselben gerade 10 ccm Harnstofflösung entsprechen. Man fügt aber zweckmässig nicht gleich die ganze Menge des berechneten Wassers hinzu, sondern etwas weniger, prüft die Lösung nochmals in der beschriebenen Weise mit 10 ccm Harnstofflösung, fügt wieder etwas weniger Wasser hinzu als die Berechnung ergibt, prüft wieder, wiederholt die Prüfung mit 10 ccm Harnstofflösung usw., bis man gerade die richtige Verdünnung erreicht hat, d. h. bis gerade 20 ccm der Quecksilberlösung erforderlich sind, um in 10 ccm Harnstofflösung allen Harnstoff auszufällen und die Endreaction hervorzurufen. Nähert man sich nicht sehr vorsichtig dem richtigen Verdünnungsgrade, so erhält man gewöhnlich gleich eine zu verdünnte Lösung.

1 ccm dieser Lösung entspricht 0,01 g Harnstoff.

Ausführung. Man füllt ein Probierglas zweimal mit dem (eiweissfreien § 537) Harn, giesst in ein Becherglas aus, füllt dasselbe Probierglas dann noch einmal mit der Barytmischung, giesst dieselbe zu dem abgemessenen Harnvolumen, schüttelt um, filtriert und prüft, ob ein Tropfen Barytmischung in dem Filtrate noch einen Niederschlag hervorruft. Ist das der Fall, so mischt man am besten eine neue Portion des Harns mit dem gleichen Volumen Barytmischung, filtriert und wiederholt die Prüfung. Phosphorsäurereiche Harne, z. B. Hundeharn, müssen oft mit dem doppelten Volumen Barytmischung versetzt werden, um völlig von Phosphorsäure befreit zu werden. Bei (unter Essigsäurezusatz) enteiweissten Harnen ist darauf zu achten, dass durch die Barytmischung die Reaction des Gemisches alkalisch wird.

Ist das Filtrat frei von Phosphorsäure, so misst man davon eine Quantität ab, welche 10 ccm Harn enthält. Waren also 2 Volumina Harn mit 1 Volumen Barytmischung versetzt, so misst man vom Filtrat 15 ccm ab; war der Harn mit dem gleichen Volumen Barytmischung versetzt, so benutzt man 20 ccm des Filtrats usw.

Jetzt fügt man soviel Cubikcentimeter Silberlösung hinzu, als durch eine besondere Bestimmung nach Mohr (§ 544) zur Ausfällung der Chloride in 10 ccm Harn ermittelt worden sind, und titriert, ohne das Chlorsilber abzufiltrieren, ganz ebenso wie oben bei der Herstellung der Quecksilberlösung angegeben. 4—5 ccm Quecksilberlösung kann man sofort ohne weitere Prüfung zusetzen, wenn der Harn nicht augenscheinlich sehr verdünnt ist. Die Titrierung wird um so genauer, je häufiger sie wiederholt und je schneller die Zumischung der ganzen Quecksilbermenge und der erforderlichen Sodalösung zur Harnstofflösung geschieht. Eine zweimalige Wiederholung ist jedenfalls nötig.

Correctur. Es ist zu berücksichtigen, dass die Titrierung nur für 2 proc. Harnstofflösungen genaue Resultate gibt. Um den Fehler, der durch zu grosse Verdünnung (und bei der beschriebenen Ausführung wird die Flüssigkeit stets weniger wie 2 pCt. Harnstoff enthalten) bedingt ist, auszugleichen, zieht man nach Pflüger die Anzahl der bis zur Endreaction verbrauchten Cubikcentimeter Quecksilberlösung ab von der Summe der verbrauchten Cubikcentimeter Harnbarytmischung + Silberlösung + Sodalösung und findet durch Multiplication dieser Differenz mit 0,08 die Anzahl Cubikcentimeter, welche von der Anzahl der verbrauchten Cubikcentimeter abzuziehen sind. Sind z. B. für 15 ccm Harnbarytmischung 10 ccm Silberlösung, 16 ccm Quecksilberlösung und 11,5 ccm Sodalösung verbraucht, so sind nach Pflüger $[(15 + 10 + 11{,}5) - 16] \cdot 0{,}08 = 1{,}64$ ccm von 16 ccm in Abzug zu bringen.

Berechnung. Hat man den Correcturabzug gemacht, so gibt der Rest der bis zur Endreaction verbrauchten Cubikcentimeter Quecksilberlösung in Centigrammen die Menge Harnstoff in 10 ccm Harn an. Die durch Multiplication mit 0,467 auf Stickstoff umgerechneten Harnstoffwerte stimmen mit den nach Kjeldahl (§ 528, a) gefundenen Stickstoffwerten annähernd überein.

Nachweis und Bestimmung des Harnstoffs im Harne.

551. Der Nachweis geschieht nach der Isolierung (S. 145) in der S. 148 angegebenen Weise.

Die Bestimmungsmethoden sind indirecte, insofern als in allen Fällen eine Zersetzung des Harnstoffs und eine quantitative Bestimmung eines der Spaltungsproducte vorgenommen wird. Bei der hydrolytischen Spaltung (Erhitzen mit Wasser, Säuren, Alkalien) entstehen Kohlensäure und Ammoniak, bei der oxydativen (Einwirkung von salpetriger Säure, unterbromig- oder unterchlorigsaurem Natron) Stickstoff und Kohlensäure.

Da auch andere im Harne vorkommende Stoffe (Harnsäure, Kreatinin, Purinbasen u. a.) dieselben Zersetzungsproducte liefern, so werden die Bestimmungen um so genauer ausfallen, je mehr es gelingt, den Harnstoff vor der Spaltung zu isolieren. Es ist ferner von Bedeutung, ein Spaltungsverfahren anzuwenden, welches zwar den Harnstoff völlig zerlegt, doch so wenig eingreifend wie möglich ist, damit dem Harnstoff noch beigemengte stickstoffhaltige Stoffe der Zersetzung entgehen.

Die folgenden beiden Verfahren (§ 552 u. § 553) geben die zuverlässigsten Werte. Das erste dürfte dem zweiten noch vorzuziehen sein.

552. Verfahren nach Mörner-Sjöqvist[1]) und Folin[2]). Verfahren nach Mörner-Sjöqvist.

Princip. Durch Versetzen des Harnes mit gepulvertem Aetzbaryt und einem Aether-Alkoholgemisch werden Harnsäure, Purinbasen, Oxyproteinsäure, Farbstoffe, die Hauptmenge des Allantoins usw., auch Zucker, Eiweiss, Tyrosin ausgefällt, während ausser Harnstoff, Ammoniak, Kreatinin, Hippursäure kleine Reste von Allantoin in Lösung bleiben (Mörner). Beim Eindampfen des Filtrats unter Zusatz von Magnesia usta wird das Ammoniak entfernt (Mörner). Beim Erhitzen des Rückstandes mit krystallisiertem Magnesiumchlorid und conc. Salzsäure wird eine Temperatur von 150—155° und eine völlige Spaltung des Harnstoffs in Kohlensäure und Ammoniak erreicht (Folin), während Kreatinin und Hippursäure dabei keine in Betracht kommenden Ammoniakmengen liefern. Allantoin gibt dabei zwar Ammoniak ab, ist ja aber bis auf Spuren entfernt (Folin, Mörner). Bestimmung des gebildeten Ammoniak.

Erforderliche Reagentien und Apparate: 1. Gepulverter Aetzbaryt. 2. Eine Mischung von 2 Tl. 97 proc. Alkohol und 1 Tl. Aether. 3. Krystallisiertes Magnesiumchlorid*). 4. Conc. Salzsäure. 5. Jenaer Rundkolben von etwa 500 ccm Inhalt in Verbindung mit der Wasserstrahlpumpe für die Vacuumdestillation, im Gummistopfen eine Capillare. 6. Rückflusskühler und Liebig'scher Kühler. 7. Die S. 560 unter 4, 5, 8, 9 aufgeführten Reagentien.

Ausführung. 5 ccm Harn werden mit 1,5 g gepulvertem Aetzbaryt**) und, nachdem dieses durch Umschwenken so weit als möglich gelöst ist,

*) Man benutze ein sog. reines Präparat. Doch enthalten auch diese, z. B. Magnesiumchlorid (Kahlbaum), Ammoniak. Die Menge des Ammoniaks ist in besonderem Versuch festzustellen.

**) Bei Harnen, welche viel Zucker (10 pCt.) enthalten, muss die Menge auf 2 g erhöht werden, um eine völlige Entfernung des Zuckers zu erreichen.

1) Skand. A. Ph. **2**. 438. (1891.), **14**. 297. (1903.)

2) H.-S. **32**. 504. (1901.), **36**. 333. (1902.)

mit 100 ccm Alkohol-Aether versetzt und nach Verschluss des Gefässes bis zum nächsten Tag stehen gelassen. Man filtriert in einen Jenaer Rundkolben von etwa 500 ccm Inhalt (in welchem die Bestimmung zu Ende geführt wird), wäscht mit Alkohol-Aether gründlich aus, verdunstet im Vacuum (mit eingefügter Capillare) bei einer Temperatur von etwa 55° (nicht über 60°) bis auf wenige Cubikcentimeter (etwa 20 Min.), fügt etwa 25 ccm Wasser und gebrannte Magnesia hinzu und fährt mit dem Einengen fort, bis die Dämpfe keine alkalische Reaction mehr zeigen, was im Allgemeinen der Fall ist, ehe die Flüssigkeit auf 15—10 ccm eingeengt ist (15—18 Min.). Jetzt fügt man 2 ccm conc. Salzsäure hinzu, dampft weiter im Vacuum auf nunmehr siedendem Wasserbad ein (10—15 Min.), setzt die gleiche Menge conc. Salzsäure und 20 g Magnesiumchlorid zu und kocht 2 Stunden auf dem Drahtnetz über kleiner Flamme am Rückflusskühler. Die noch flüssige Masse wird mit etwa 500 ccm Wasser versetzt, die Lösung nach Zufügen von Talcum und 7—8 ccm einer 33 proc. Natronlauge destilliert und das Destillat in $^n/_{10}$ Säure aufgefangen. Man verfährt weiter nach den Angaben im § 528, a. Die vollständige Destillation des Ammoniak dauert lange, eine Stunde und länger. Vor dem Zurücktitrieren muss die Kohlensäure aus der Vorlage durch Kochen entfernt werden.

Da das Magnesiumchlorid stets Ammoniak enthält, so ist die in 20 g enthaltene Stickstoffmenge zu bestimmen und von der gefundenen abzuziehen.

Berechnung. Durch Multiplication des Stickstoffwertes mit 2,143 erfährt man die in 5 ccm Harn enthaltene Harnstoffmenge.

Verfahren nach Pflüger-Bleibtreu.

553. Verfahren nach Pflüger-Bleibtreu[1]) mit Modificationen von Gumlich[2]) und Schöndorff[3]).

Princip. Ausfällung des grössten Teils der übrigen stickstoffhaltigen Bestandteile durch Phosphorwolframsäure, Spaltung des im Filtrat befindlichen Harnstoffs durch $4^1/_2$ stündiges Erhitzen des Filtrats mit Phosphorsäure auf 150° und Bestimmung des abgespaltenen Ammoniaks.

Einen kleinen principiellen Fehler bei dieser Methode bedingt die Anwesenheit von Oxyproteinsäure im Harn, welche durch Phosphorwolframsäure nicht gefällt und deren Stickstoff durch Erhitzen mit Phosphorsäure auf 150° zum Teil als Ammoniak abgespalten wird (Schöndorff[4]).

Erforderliche Reagentien und Apparate. 1. Eine Mischung von 9 Teilen 10proc. Phosphorwolframsäure und 1 Tl. Salzsäure (spec. Gewicht 1,124). Diese Mischung darf in 2 bis 4 proc. Harnstofflösungen auch bei längerem Stehen keine Trübung hervorrufen. 2. Kalkhydratpulver hergestellt durch Vermischen von Calciumoxyd mit Wasser, Trocknen und Pulverisieren. 3. Krystallisierte Phosphorsäure. 4. Die § 528 unter 2, 4, 5, 8 und 9 aufgeführten Apparate und Reagentien.

---

1) Pfl. A. **44**. 78. (1889.)
2) H.-S. **17**. 10. (1893.)
3) Pfl. A. **62**. 1. (1896.)
4) Pfl. A. **117**. 275. (1907.)

Ausführung. 50 ccm Harn*) (bei einem spec. Gewicht über 1017 nach Verdünnung mit gemessener Menge Wasser) werden in einem verschliessbaren Masscylinder von 200 ccm mit genau derjenigen Menge obiger Phosphorwolframsäure, welche sich zur völligen Ausfällung nach Massgabe einer Vorprobe als gerade nötig erwiesen hatte, versetzt.

Die Ausführung dieser Vorprobe geschieht so, dass zu 10 ccm Harn allmählich unter Umschütteln so lange aus einer Bürette Phosphorwolframsäure zugegeben wird, bis 1 ccm des klaren (event. mehrfach zurückgegossenen) Filtrats auf Zusatz weniger Tropfen aus der Bürette sich nach 2 Minuten nicht trübt. Es genügt die Austitrierung bis auf 1 ccm.

Man füllt auf 150 bezw. 200 ccm mit zehnfach verdünnter Salzsäure (spec. Gewicht 1,124) auf, schüttelt um und filtriert nach 24stündigem Stehen. Dabei ist auf völlige Klarheit des Filtrats zu achten (doppeltes Filter am besten aus dichtem schwedischen Filtrierpapier J. H. Munktell No. 1 hergestellt, wiederholtes Zurückgiessen). Das klare Filtrat wird mit Kalkhydratpulver bis zur alkalischen Reaction verrieben und nach Verschwinden der blauen Farbe filtriert. Man misst nun 15 bezw. 20 ccm (entsprechend 5 ccm Harn) in ein Erlenmeyer'sches Kölbchen, in das vorher ungefähr 10 g krystallisierte Phosphorsäure eingebracht sind, ab und erhitzt in einem Trockenschrank $4^1/_2$ Stunden (gerechnet von der Zeit an, wenn alles Wasser verdunstet ist) auf 150°. Nach dem Erkalten löst man die am Boden befindliche syrupartige Masse in warmem Wasser, führt sie in einen Destillationskolben über, bestimmt ihren Stickstoffgehalt wie bei der Kjeldahlbestimmung (§ 528) und erfährt durch Multiplication des Stickstoffwertes mit 2,143 die in 5 ccm Harn enthaltene Harnstoffmenge.

Nach Pflüger und Bleibtreu soll man in einer andern 5 ccm Harn enthaltenden Probe des Filtrats der mit dem Kalkpulver verriebenen Flüssigkeit eine Ammoniakbestimmung nach Schlösing (§ 549, 3) ausführen, den gefundenen Wert auf Stickstoff umrechnen und von dem Gesamtstickstoffwert vor der Umrechnung auf Harnstoff abziehen. Nach Gumlich ist bei Benutzung eines Merck'schen Phosphorwolframsäurepräparates diese Bestimmung unnötig, da in diesem Falle alles Ammoniak im Phosphorwolframsäureniederschlag sich befindet, sofern man für eine völlige Klarheit des Filtrates sorgt. Will man die Ammoniakbestimmung doch ausführen, und das ist bei Benutzung einer Phosphorwolframsäure, welche Ammoniak nicht oder nicht vollständig fällt, durchaus nötig, so ist dafür zu sorgen, dass die Proben des alkalisch reagierenden Filtrates, welche einerseits zur Bestimmung des Ammoniaks, andererseits zum Erhitzen mit Phosphorsäure benutzt werden sollen, nicht ungleiche Mengen von Ammoniak verlieren. Man giesst am Besten das Filtrat in gut verschliessbare Büretten und lässt nun hintereinander abgemessene Proben in den Phosphorsäure enthaltenden Kolben, sowie in die Glasschale des

*) Auch für zuckerhaltigen Harn ist die Methode nach Schöndorff[1]) verwendbar, wenn man den Harn auf ungefähr 1 pCt. Zucker bringt und beim Neutralisieren des Filtrats vom Phosphorwolframsäureniederschlag mit Kalkhydratpulver für einen Ueberschuss an Kalk sorgt.

1) Pfl. A. **117**. 275. (1907.)

Schlösing'schen Apparates, in die eine zur Herstellung schwach saurer Reaction nötige Menge Schwefelsäure eingebracht ist, fliessen.

Verfahren nach Hüfner.

554. Verfahren nach Hüfner. Dieses zuerst von Davy und Leconte angegebene, dann von Knop[1]) und Hüfner[2]) verbesserte Verfahren ist, da eine vorherige Isolierung nicht vorgenommen wird, weniger genau und um so unzuverlässiger, je mehr die Harnstoffmenge im Verhältnis zu den anderen stickstoffhaltigen Bestandteilen des Harnes zurücktritt. Siehe darüber besonders K. A. H. Mörner[3]).

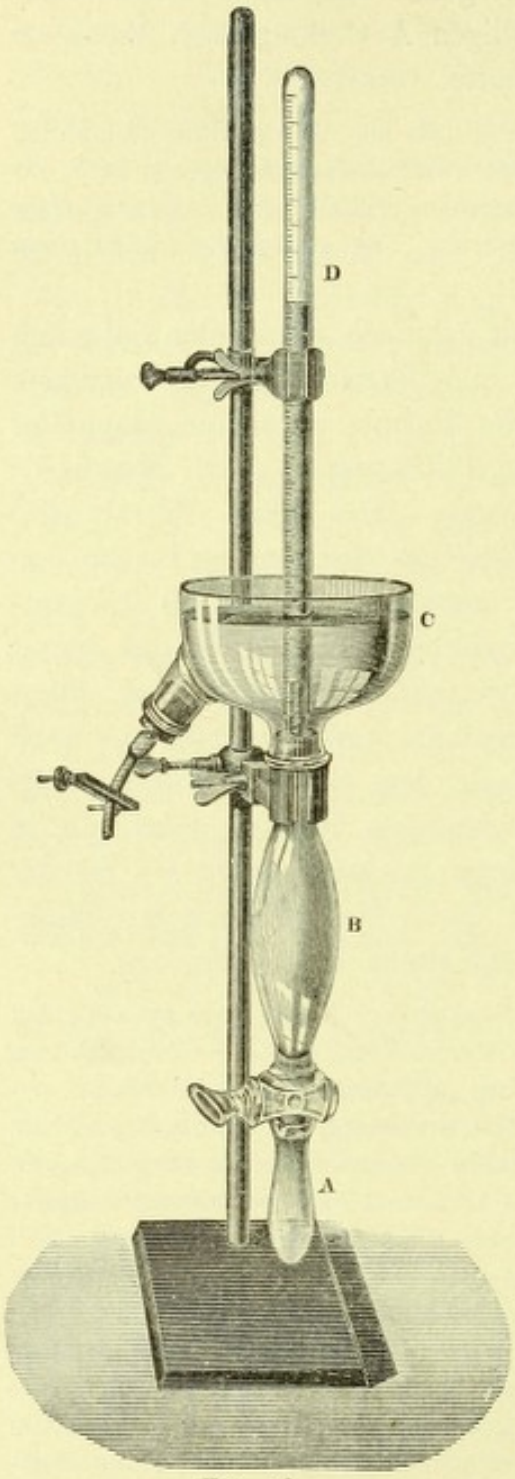


Fig. 12.

Princip. Zersetzung des Harnstoffs durch Bromlauge und gasometrische Bestimmung des entwickelten Stickstoffs.

Erforderliche Reagentien und Apparate. 1. Frisch bereitete Bromlauge, hergestellt durch Auflösen von 100 g Aetznatron in 250 ccm Wasser und Zufügen von 25 ccm Brom zu der völlig erkalteten Flüssigkeit. 50 ccm dieser Lösung reichen hin, um aus einer Salmiaklösung 130—150 ccm Stickstoff zu entwickeln. 2. Der in Fig. 12 dargestellte Apparat, dessen Gefäss *A* + zugehöriger (weiter) Hahnbohrung ungefähr 5 ccm fassen und genau calibriert sein muss. Das Gefäss *B* soll ungefähr 100 ccm fassen.

Ausführung. Man versetzt den Harn, wenn er nicht schon an und für sich verdünnt ist, mit dem gleichen, event. mit dem doppelten Vol. Wasser (er soll ungefähr 1 pCt. Harnstoff enthalten), bringt ihn mittels eines langen Trichterrohrs in das vollkommen trockene Gefäss *A*, füllt auch die Bohrung, schliesst den Hahn und spült nun das Gefäss *B* sorgfältig mit Wasser aus, um den Harn völlig zu entfernen. Jetzt füllt man das ganze Gefäss *B* und ebenso das Gefäss *C* grösstenteils mit der Bromlauge, stülpt das gleichfalls mit dieser Lauge gefüllte graduierte und calibrierte Glasrohr *D* über die Oeffnung des Gefässes *B*

1) Z. anal. Ch. **9**. 225. (1870.)
2) J. f. pr. Ch. N. F. **3**. 1. (1871.) H.-S. **1**. 350. (1878.)
3) Skand. A. Ph. **14**. 321. (1903.)

und beginnt nun die Bestimmung, indem man durch Oeffnung des Hahns die Lauge zu dem Harne in *A* eintreten lässt. Die Bohrung des Hahns soll eine recht weite sein, damit die Lauge recht plötzlich sich mit dem Harn mengt. Es zeigt sich alsbald stürmische Gasentwicklung, die sich bald verlangsamt, aber schwächer einige Zeit fortdauert. Ist die Gasentwicklung zu Ende, nach 20—30 Minuten, so wird das Rohr *D* etwas in die Höhe gezogen, mit Hilfe eines Glaslöffels in ein mit destilliertem Wasser gefülltes Cylinderglas gebracht und hier senkrecht so aufgestellt, dass das innere Niveau mit dem äusseren zusammenfällt. Nach halbstündigem Stehen bei gleichmässiger Temperatur liest man das Volumen des Gases ab, bestimmt die Temperatur der Luft über dem Wasser, notiert den Barometerstand und berechnet den Harnstoffgehalt des Harns nach folgenden Daten.

Berechnung. 1 g Harnstoff liefert nach seiner Formel 372 ccm Stickstoff von 0° und 760 mm Druck, aber nach Hüfner's Untersuchungen entwickelt die obige Brom-Natronlauge aus 1 g Harnstoff nur 354,33 cm N_2 von 0° und 760 mm Druck. Ist nun p das Gewicht des Harnstoffs für 100 ccm Harn, a die für die Bestimmung verwendete Quantität Harn, b der beobachtete Barometerstand, t die Temperatur bei der Ablesung des Volumens, v das Volumen des entwickelten Stickstoffs in Cubikcentimetern und b′ die Tension des Wasserdampfes für diese Temperatur, so ist

$$p = \frac{100\ v\ (b-b')}{760.354{,}33\ .\ a\ (1+0{,}003665\ .\ t)}.$$

Je concentrierter die Bromlauge und je höher die Temperatur, desto schneller und vollständiger vollzieht sich die Zerlegung des Harnstoffs unter Stickstoffentwickelung, desto grösser ist aber zugleich die Gefahr, dass neben Stickstoff auch Sauerstoff entwickelt wird. Harnsäure, Kreatinin, Ammoniak und mehrere andere Stoffe werden durch die Bromlange unter allmählicher Entwickelung von Stickstoff zersetzt.

Nachweis von Oxalursäure und Allantoin im Harne.

555. Ueber den Nachweis von Oxalursäure siehe § 120, über den Nachweis und die Bestimmung von Allantoin § 121.

Nachweis und Bestimmung des Kreatinins im Harne.

556. Zum Nachweis des Kreatinins im Harne dienen die S. 161 angegebenen Reactionen von Weyl oder Jaffe. Nachweis.

Für die Bestimmung dient folgendes Verfahren von Folin. Es ist viel einfacher und zuverlässiger als das ältere, durch Salkowski[1]) verbesserte Verfahren, von Neubauer[2]), welches auf der Isolierung des Kreatinins als Kreatininchlorzink beruht.

Bestimmung nach Folin[3]).

Princip. Die Methode ist eine colorimetrische und beruht auf der Jaffe'schen Reaction mit alkalischer Pikrinsäurelösung (S. 161, 2). Bestimmung nach Folin.

1) H.-S. **10**. 119. (1886.)
2) A. **119**. 27. (1861.)
3) H.-S. **41**. 223. (1904.)

10 mg Keratinin in 10 ccm Wasser gelöst, geben die maximale Rotfärbung 5 bis 10 Minuten nach Zusatz von 15 ccm 1,2 proc. Pikrinsäurelösung und 4—8 ccm 10proc. Natronlauge. Nach dieser Zeit blasst die Farbe allmählich ab. Durch Verdünnung der so erhaltenen roten Lösung mit Wasser auf 500 ccm erhält man eine Flüssigkeit, die in einer Dicke von 8,1 mm im durchfallenden Licht genau dieselbe Farbe hat wie eine 8 mm dicke Schicht einer $^n/_2$ Kaliumbichromatlösung*).

Erforderliche Lösungen und Apparate. 1. Ein aus 2 Röhren bestehendes Colorimeter, in welchem die Höhe der Flüssigkeiten bis auf $^1/_{10}$ mm eingestellt werden kann. Folin empfiehlt den Apparat von Duboscq in Paris, doch sind auch einfachere Apparate brauchbar, siehe z. B. van Hoogenhuyze u. Verploegh[1]). Neuerdings wird ein Apparat von Plesch als ganz besonders zweckmässig empfohlen[2]). 2. Eine $^n/_2$ Kaliumbichromatlösung (24,54 g i. Liter). Die Lösung ist jahrelang haltbar. 3. Eine annähernd gesättigte (1,2proc.) Pikrinsäurelösung. 4. Eine 10proc. Natronlauge.

Ausführung. Man bringt in das eine Rohr des Colorimeters $^n/_2$ Bichromatlösung, stellt genau auf 8 mm ein und übt sich zunächst nach Einbringen von der Bichromatlösung auch in das zweite Rohr in der Einstellung. Die Differenz zwischen je 2 Beobachtungen soll 0,3 mm nicht überschreiten und das Mittel aus 3 oder 4 Ablesungen darf nicht mehr als 0,1 mm vom richtigen Wert (8 mm) abweichen. Nunmehr bringt man in einen $^1/_2$ Liter-Masskolben 10ccm Harn, welcher frei von Aceton, Acetessigsäure und Schwefelwasserstoff sein muss, 15 ccm Pikrinsäurelösung und 5 ccm 10proc. Natronlauge, schüttelt ein paar Mal, lässt 5 Minuten ruhig stehen, füllt mit Wasser von 15° C. bis zur Marke auf und mischt gut. Diese Lösung wird nun sofort in das zweite zuvor mit ihr ausgespülte Rohr eingebracht und auf die Bichromatlösung eingestellt. Man macht eine Reihe von Ablesungen, bei denen Schwankungen bis zu 0,3 mm wohl unvermeidlich sind, und nimmt das Mittel.

Berechnung. Beträgt der gefundene colorimetrische Mittelwert a mm, so enthalten 10 ccm Harn $\frac{8,1}{a}$. 10 mg Kreatinin.

Wird ein colorimetrischer Wert unter 5 mm oder über 13 mm gefunden, so muss die Bestimmung wiederholt werden, und zwar im ersten Fall unter Benutzung von 5 ccm und im zweiten Fall unter Benutzung von 20 ccm Harn, statt 10 ccm. Kreatininarme Harne von Säuglingen sind zunächst zu concentrieren, am besten im Vacuum bei niedriger Temperatur, um ein Dunkelwerden zu vermeiden.

Bestimmung des Kreatins.

557. Quantitative Bestimmung des Kreatin. Man bestimmt das Kreatinin in 10 ccm wie oben angegeben, desgleichen in anderen 10 ccm, nachdem diese zuvor 3 bis 4 Std. auf dem Wasserbad mit 20 ccm Normalsalzsäure erhitzt worden sind. Bei der Aus-

---

*) Diese Werte sind von Hoogenhuyze u. Verploegh[1]), Dorner[3]), af Klercker[4]) bestätigt worden.

1) H.-S. **46**. 415. (1905.)
2) Funaro, B. Z. **10**. 467. (1908.)
3) H.-S. **52**. 225. (1907.)
4) B. Z. **3**. 45. (1907.)

führung der 2. Bestimmung sind, um die Salzsäure zu neutralisieren, 13 ccm Natronlauge zu verwenden (statt 5 ccm).

Die Differenz zwischen beiden Werten gibt die Menge Kreatin als Kreatinin.

Sehr zuverlässig ist diese Methode nicht, da man nicht auf eine quantitative Umwandlung des Kreatins in Kreatinin rechnen kann. In reinen Kreatinlösungen, deren Procentgehalt an Kreatin 0,1 nicht überschreitet, werden unter den angegebenen Bedingungen 85—100 pCt. umgewandelt (S. 157), im Harn kann die Umwandlung noch unvollständiger sein (Dorner[1]), Folin[2]). Die Genauigkeit der Bestimmung kann auch durch die infolge des Kochens mit Salzsäure eintretende Dunkelfärbung des Harns beeinträchtigt werden. Siehe darüber Weber[3]).

Nachweis und Bestimmung der Harnsäure im Harne.

558. Der Nachweis der Harnsäure geschieht nach S. 173.

Für die quantitative Bestimmung dienen die § 559 und § 560 beschriebenen Methoden.

Sedimente oder Trübungen von harnsauren Salzen bringt man zunächst durch Erwärmen, wenn nötig unter Zusatz von etwas Alkali, in Lösung; ausgeschiedene freie Harnsäure filtriert man ab und wägt sie für sich.

559. Verfahren nach Salkowski[4])-Ludwig[5]). Verfahren nach Salkowski-Ludwig.

Princip. Die Harnsäure wird durch ammoniakalische Silberlösung bei Gegenwart von Magnesiumsalzen als harnsaure Silber-Magnesia ausgefällt, diese Verbindung durch Schwefelwasserstoff zerlegt und die aus salzsaurer Lösung abgeschiedene Harnsäure gewichtsanalytisch oder nach Kjeldahl oder durch Titration mit Schwefelsäure und Kaliumpermanganat bestimmt.

Erforderliche Lösungen. 1. Ammoniakalische Silberlösung. Man löst 26 g Silbernitrat in überschüssigem Ammoniak und füllt die Lösung mit destilliertem Wasser zu einem Liter auf.

2. Magnesiamischung. Man löst 100 g krystallisiertes Magnesiumchlorid und 200 g Ammoniumchlorid in Wasser, fügt Ammoniak bis zum starken Geruch hinzu und füllt mit destilliertem Wasser zu einem Liter auf.

3. 1 proc. Kupfersulfatlösung.

Ausführung. Zu 200 ccm Harn, welcher keinen Zucker und höchstens Spuren von Eiweiss enthalten darf und dessen specifisches Gewicht nicht höher als 1020 sein darf, fügt man unter Umrühren eine Mischung von 20 ccm der Silberlösung und 20 ccm Magnesiamischung, welche man vorher mit soviel Ammoniak versetzt hat, dass das ausfallende Chlorsilber sich wieder löst. Man lässt $^1/_2$—1 Stunde stehen, überzeugt sich von der Vollständigkeit der Fällung (eine Probe der überstehenden klaren Flüssigkeit muss sich

---

1) H.-S. **52**. 225. (1907.)
2) Hammarsten-Festschrift. No. III. (1906.)
3) A. exp. P. u. Ph. **58**. 100. (1908.)
4) Salkowski u. Leube, Lehre vom Harn. 1882. S. 96.
Salkowski, Practicum der physiol. u. path. Ch. 3. Aufl. Hirschwald. 1906. S. 255.
5) Wien. med. Jahrb. 1884. S. 597.

nach Ansäuern mit Salpetersäure trüben), bringt den Niederschlag auf ein Filter aus gut filtrierendem Papier (z. B. Schleicher & Schüll No. 597) und wäscht ihn mit schwach ammoniakalischem Wasser aus, indem man gleichzeitig das Waschwasser benutzt, die im Becherglase noch befindlichen Reste des Niederschlags völlig auf das Filter zu bringen. Das Auswaschen ist beendet, wenn das letzte Waschwasser beim Ansäuern mit Salpetersäure keine Spur einer Trübung gibt und auch die auf nachträglichen Zusatz von Silberlösung entstehende Trübung nur ganz gering ist. Jetzt setzt man den Trichter auf einen Halbliter-Kolben, nimmt das Filter heraus, faltet es auseinander und bringt seinen Inhalt mit Hülfe von Spatel und Spritzflasche quantitativ durch den Trichter hindurch in den Kolben (die Menge des Wassers soll etwa 250 ccm betragen). Nach gehörigem Durchschütteln fügt man 5—10 ccm einer 1 proc. Kupfersulfatlösung*) hinzu, säuert mit einigen Tropfen Salzsäure an, sättigt die Flüssigkeit unter häufigem Umschütteln mit Schwefelwasserstoff, erhitzt zum Sieden, erhält einige Minuten im Sieden, filtriert und wäscht mit heissem Wasser aus. Das Filtrat, welches vollständig klar sein muss, wird zunächst auf freiem Feuer, dann auf dem Wasserbad in kleiner Schale bis auf wenige Cubikcentimeter eingeengt und nach Zufügen von einigen Tropfen Salzsäure bis zum nächsten Tage stehen gelassen. Nun sammelt man den ausgeschiedenen Niederschlag auf einem bei 110° getrockneten und gewogenen Filter, indem man das zuletzt ablaufende Filtrat zum vollständigen Aufbringen des Niederschlags auf das Filter benutzt. Erst wenn die Flüssigkeit vom Filter vollständig abgelaufen ist, wäscht man einige Male mit möglichst wenig destilliertem Wasser (Filtrat + Waschwasser soll womöglich nicht mehr als 50 bis 60 ccm betragen) so lange nach, bis keine Trübung mehr durch Salpetersäure + Silbernitrat entsteht, dann mit Alkohol, mehrfach mit Schwefelkohlenstoff und Aether, trocknet und wägt. Filtrat und Waschwasser werden gesammelt und gemessen; für je 10 ccm addiert man 0,00048 g Harnsäure hinzu. Diese Correctur ist aber nur dann zulässig, wenn die Quantität der Harnsäure nicht abnorm gering ist und die Quantität von Filtrat + Waschwasser 60 ccm nicht überschreitet (Salkowski).

Statt die abfiltrierte Harnsäure zu wägen, kann man ihre Menge auch bestimmen, indem man ihren Stickstoffgehalt nach Kjeldahl (§ 528, 8) ermittelt (der erhaltene Wert mit 3 multipliciert gibt die Harnsäuremenge) oder indem man sie mit Kaliumpermanganat nach § 560, a titriert. In beiden Fällen ist es natürlich unnötig, die letzten Spuren Harnsäure auf das Filter zu bringen, man kann sie vielmehr direct in den Kjeldahlkolben oder in das Becherglas, in dem die Titrierung vorgenommen wird, überführen. Bei der Titration mit Permanganat ist es auch nötig, die Harnsäure vor dem Schwefelsäure-

*) Diesen Zusatz empfiehlt Folin, um nach dem Einleiten von Schwefelwasserstoff schnell ein klares Filtrat zu erzielen (H.-S. **32**. 555. 1901.)

zusatz mit ein wenig Natronlauge (aber nicht mit Alkohol gereinigte!) in Lösung zu bringen (Folin[1]).

560. Verfahren nach Folin-Shaffer[2]). Verfahren nach Folin-Shaffer.

Es gibt dieselben Werte, wie die Methode von Salkowski-Ludwig bei einfacherer Ausführung.

Erforderliche Lösungen: 1. Eine Flüssigkeit, welche im Liter 500 g Ammonsulfat, 5 g Uranacetat und 60 ccm einer 10 proc. Essigsäure enthält. 2. Eine 10 proc. Ammonsulfatlösung. 3. Eine $^n/_{20}$ Kaliumpermanganatlösung, welche durch Auflösung von 1,5815 g KM_nO_4 in Wasser und Auffüllung der Lösung zu einem Liter hergestellt und deren Richtigkeit durch Titration mit $^n/_{20}$ Oxalsäure (§ 19) geprüft wird.

Ausführung. 300 ccm Harn, welcher Eiweiss nur in kleiner Menge enthalten darf, wird mit 75 ccm der Lösung 1 in einem Halbliterkolben gemischt und nach 5 Minuten langem Stehen durch Faltenfilter filtriert. Auf diese Weise wird eine biuretreactiongebende Substanz, welche die Titration der Harnsäure stört, entfernt. Vom Filtrat versetzt man in zwei Bechergläsern (2 Controllanalysen) je 125 ccm mit 5 ccm conc. Ammoniak, rührt um und lässt stehen. Am nächsten Tage wird die über dem ausgeschiedenen harnsauren Ammoniak stehende Flüssigkeit vorsichtig durch ein Filter (z. B. Schleicher & Schüll No. 597) gegossen, zuletzt die Ausscheidung mit 10 proc. Ammonsulfatlösung auf das Filter gebracht und einige Male mit 10 proc. Ammonsulfatlösung gewaschen. Spuren von Chloriden stören die Titration nicht, so dass das Filtrieren und Auswaschen in 20 bis 30 Minuten beendet werden kann. Nun wird das Filter aus dem Trichter genommen, auseinandergefaltet und sein Inhalt mit Spatel und Spritzflasche quantitativ in das Becherglas zurückgebracht. Zu dem in ungefähr 100 ccm Wasser suspendierten Ammonurat fügt man 15 ccm conc. Schwefelsäure, wobei eine Erwärmung auf 60—63° erfolgt und titriert sofort mit Kaliumpermanganat, indem man zunächst immer drei, dann gegen Ende einen Tropfen zufliessen lässt, bis die erste schwache Rosafärbung durch die ganze Flüssigkeit zu sehen ist. Die Temperatur soll nicht unter 50° sinken. Jeder Cubikcentimeter der Permanganatlösung entspricht 3,75 mg Harnsäure. Wegen der Löslichkeit des Ammonurats addiert man zu dem erhaltenen Wert noch 3 mg für je 100 ccm des angewendeten Harns.

Verfahren nach Hopkins[3]) in der Ausführung von Wörner[4]). Verfahren nach Wörner.

Princip. Hopkins fand, dass sich beim Sättigen des Harns mit Salmiak die Harnsäure als harnsaures Ammoniak quantitativ abscheidet. Er gründete darauf eine Methode, indem er das abgeschiedene Ammonurat abfiltrierte, mit gesättigter Salmiaklösung auswusch, durch Erhitzen mit Wasser und Salzsäure in freie Harnsäure über-

1) H.-S. **32**. 554. (1901.)
2) H.-S. **24**. 224. (1898.), **32**. 552. (1901.)
3) Proc. of the Lond. Roy. Soc. **52**. 93. (1892.)
Ref. C. C. 1892. **2**. S. 269.
4) H.-S. **29**. 70. (1900.)

führte, und diese, nachdem sie sich abgeschieden, entweder durch Wägung oder durch Titration mit Kaliumpermanganatlösung bestimmte.

Ausführung. 150 ccm filtrierter Harn, dessen Aciditätsgrenze 3 ccm Normalsäure für 150 ccm nicht überschreiten darf*), werden in einem Becherglase auf 40—45° erwärmt und darin 30 g Salmiak aufgelöst. Nach $^1/_2$—1 Stunde ist alle Harnsäure als Ammonsalz ausgefällt und der grösste Teil des letzteren hat sich zu Boden gesenkt. Man giesst die über dem Niederschlage stehende, trübe Flüssigkeit in ein anderes Becherglas ab, bringt den Niederschlag aufs Filter und filtriert dann erst die Mutterlauge durch das so dicht gemachte Filter. Man erhält so in allen Fällen ein klares Filtrat, während sonst der Niederschlag leicht durch das Filter geht. Beide Bechergläser werden mit Mutterlauge wiederholt nachgewaschen, bis alles Urat auf das Filter gebracht ist. Ist das erreicht und der Harn vollständig abgelaufen, so wird der Niederschlag mit 10 proc. Ammonsulfatlösung gründlich ausgewaschen (bis er chlorfrei ist) und dann auf dem Filter in 1—2 proc. heisser Natronlauge gelöst und das Filter mehrmals mit heissem Wasser nachgewaschen. Filtrat und Waschwasser werden in einer Schale auf dem Wasserbade so lange erhitzt, bis kein Ammoniak mehr weggeht, dann in einen Kjeldahlkolben gespült und dem Kjeldahlverfahren nach § 528, b unterworfen. 1 ccm $^n/_{10}$ Schwefelsäure entspricht 0,0042 g Harnsäure.

Bestimmung der Harnsäure und Purinbasen im Harne nach M. Krüger u. J. Schmid[1]).

561. Princip. Harnsäure und Purinbasen werden als Kupferoxydulverbindungen gemeinsam ausgefällt und diese durch Schwefelnatrium zerlegt. Aus der wässerigen Lösung fällt Salzsäure die Harnsäure, aus dem Filtrat werden die Purinbasen wieder als Kupferoxydul- oder Silberverbindungen abgeschieden. Schliesslich wird der Stickstoff sowohl der Harnsäure, als des Purinbasengemenges nach Kjeldahl ermittelt.

Erforderliche Lösungen. 1. Käufliche Natriumbisulfitlösung (Kahlbaum).

2. 10 proc. Kupfersulfatlösung.

3. Natriumsulfidlösung. Man stellt eine 1proc. reine Natronlauge her, sättigt die eine Hälfte mit Schwefelwasserstoff und vereinigt sie mit der anderen.

4. Aufschwemmung von Braunstein in Wasser. Eine heisse 0,5 proc. Lösung von Kaliumpermanganat wird mit Alkohol bis zur Entfärbung versetzt.

5. 10 proc. Salzsäure. 6. 10 proc. Essigsäure.

Ausserdem für die Bestimmung der Purinbasen mit der Silberfällung:

7. Ammoniakalische Silberlösung (§ 559).

8. Magnesiamischung (§ 559). 9. 6 proc. Dinatriumphosphatlösung.

Ausführung. 400 ccm (event. nach § 537 enteiweisster) Harn**) (der 4. oder 5. Teil der auf 1600 oder 2000 ccm gebrachten Tagesmenge)

*) Ist das der Fall, so muss er neutralisiert werden. Lewandowsky, Z. f. kl. M. **40**. 199. (1900.)

**) Nimmt man eine andere Menge Harn, so sind auch die Mengen der Zusätze entsprechend zu verändern.

1) H.-S. **45**. 1. (1905.)

werden in einem Literrundkolben mit 24 g Natriumacetat und 40 ccm Natriumbisulfitlösung versetzt, zum Kochen erhitzt und nach Zusatz von 40—80 ccm Kupfersulfatlösung (je nachdem der Harn wenig oder viel Purinkörper enthält) mindestens 3 Minuten im Sieden erhalten. Der entstandene flockige Niederschlag wird sofort oder nach dem Abkühlen der Flüssigkeit durch ein Faltenfilter filtriert, mit heissem Wasser so lange gewaschen, bis das Filtrat farblos abläuft und schliesslich mit heissem Wasser in den Kolben, in dem die Fällung vorgenommen worden war, zurückgespritzt. Man fügt soviel Wasser hinzu, dass die Flüssigkeitsmenge etwa 200 ccm beträgt, erhitzt zum Sieden und zersetzt den Kupferoxydulniederschlag durch Hinzufügen von 30 ccm Natriumsulfidlösung. In den meisten Fällen wird diese Menge genügen, doch hat man sich jedesmal von der Vollständigkeit der Fällung zu überzeugen, indem man einen Tropfen der Flüssigkeit auf ein mit einem Tropfen Bleiacetatlösung befeuchtetes Stück Filtrierpapier bringt. Braunfärbung zeigt Ueberschuss an Natriumsulfid an. Nach völliger Zersetzung säuert man mit Essigsäure an, erhält noch so lange im Sieden, bis der ausgeschiedene Schwefel sich zusammengeballt hat, filtriert siedend heiss mit Hülfe der Saugvorrichtung und unter Benutzung einer Porzellanfilterplatte, wäscht mit heissem Wasser aus, fügt 10 ccm 10 proc. Salzsäure hinzu und dampft das Filtrat in einer 300 ccm fassenden Porzellanschale bis auf etwa 10 ccm ein. Während des Einengens und darauffolgenden zweistündigen Stehens scheidet sich die Harnsäure ab, während die Purinbasen in Lösung bleiben. Die weitere Bearbeitung der Abscheidung geschieht nach 1, die der Lösung nach 2.

1. Die abgeschiedene Harnsäure wird durch ein kleines Filter abfiltriert, mit schwefelsäurehaltigem Wasser ausgewaschen, bis Filtrat und Waschflüssigkeit zusammen 75 ccm betragen und samt dem Filter nach Kjeldahl (§ 528, b) behandelt. Zu der aus dem gefundenen Stickstoffwert durch Multiplication mit 3 berechneten Harnsäure sind noch 3,5 mg (für die in 75 ccm Filtrat gelöste Harnsäure) hinzuzuaddieren.

2. Im Filtrate von der Harnsäure können die Purinbasen sowohl durch Kupferfällung (nach a) als auch durch Silberfällung (nach b) bestimmt werden. Beide Verfahren geben übereinstimmende Werte.

a) Mit Hülfe der Kupferfällung. Die Flüssigkeit wird mit Natronlauge alkalisch, darauf mit Essigsäure schwach sauer gemacht, nach Erwärmen auf 70° oder einige Grade darüber mit $^1/_2$—1 ccm 10 proc. Essigsäure und 10 ccm der Braunsteinaufschwemmung (zur Oxydation der geringen Mengen noch vorhandener Harnsäure) versetzt und 1 Minute geschüttelt. Man fügt jetzt 10 ccm der Natriumbisulfitlösung, welche gleichzeitig den überschüssigen Braunstein löst, und 5—10 ccm der 10 proc. Kupfersulfatlösung hinzu, erhält die Flüssigkeit 3 Minuten im Sieden, filtriert den Niederschlag sofort durch ein Faltenfilter (am besten aus schwedischem Papier J. H. Munktell No. 1), wäscht mit heissem Wasser aus und

bestimmt den Stickstoff nach Kjeldahl (§ 528, b). Eine Umrechnung des gefundenen Stickstoffs auf die Basen selbst erscheint unzweckmässig, da man dabei eine willkürlich angenommene Zusammensetzung des Basengemisches zu Grunde legen muss.

b) Mit Hülfe der Silberfällung. Zunächst ist das Verfahren dasselbe wie bei a. Die essigsaure Lösung, welche den überschüssigen Braunstein suspendiert enthält, wird mit Ammoniak alkalisch gemacht, abgekühlt und mit 10 ccm der ammoniakalischen Silberlösung und Ammoniak bis zur Lösung des Chlorsilbers versetzt. Um das Absitzen zu begünstigen und die Filtration und das Auswaschen des voluminösen Silberniederschlags der Purinbasen zu erleichtern, erzeugt man gleichzeitig in der Flüssigkeit einen Niederschlag von phosphorsaurer Ammoniakmagnesia, indem man 10 ccm der Dinatriumphosphatlösung und 5 ccm der Magnesiamischung hinzufügt. Nach zweistündigem Stehen filtriert man den Niederschlag durch ein Faltenfilter ab, wäscht ihn mit destilliertem Wasser möglichst ammoniakfrei, spritzt ihn mit heissem Wasser in einen Rundkolben und vertreibt das Ammoniak durch Kochen unter Zusatz von Magnesia usta. Nunmehr erfolgt die Bestimmung des Stickstoffs nach Kjeldahl (§ 528, b).

Bestimmung der Purinbasen.

Verfahren nach Salkowski.

562. Verfahren nach Salkowski[1]).

Princip. Aus dem Harn, welcher durch Magnesiamischung von der Phosphorsäure befreit ist, werden Harnsäure und Purinbasen durch ammoniakalische Silberlösung gefällt. Nach Zerlegung des Niederschlags durch Schwefelwasserstoff wird die Harnsäure von den Purinbasen durch Schwefelsäure getrennt und die die Purinbasen enthaltende schwefelsaure Lösung wieder durch ammoniakalische Silberlösung gefällt. In dem Niederschlag wird nach Veraschen das Silber nach Volhard bestimmt und aus dem gefundenen Silber die Menge der Purinbasen (auf Xanthin bezogen) berechnet.

Erforderliche Lösungen. 1. Magnesiamischung (§ 559). 2. Silberlösung (§ 559). 3. Verdünnte Schwefelsäure (550 ccm Wasser und 10 ccm conc. Schwefelsäure). 4. $^n/_{50}$ Schwefelcyankaliumlösung. Man stellt sie auf $^n/_{50}$ Silberlösung (3,4 g $AgNO_3$ im Liter) ein. 1 ccm = 1,521 mg Xanthin.

Ausführung. Man vermischt von eiweissfreiem Harn mittlerer Concentration 500 ccm mit 50 ccm Magnesiamischung und 50 ccm starkem Ammoniak, filtriert nach einigen Minuten durch ein trockenes Faltenfilter in ein trockenes Gefäss, misst vom Filtrat eine bestimmte Menge etwa 540 ccm (= 450 ccm Harn) ab und versetzt sie mit der Silberlösung und zwar auf 100 ccm Harn 10 ccm. Der Niederschlag muss flockig und gelatinös aussehen, sieht er weiss aus, so enthält er noch Chlorsilber, welches durch weiteren Ammoniakzusatz in Lösung zu bringen ist. Einige weisse Punkte in dem Niederschlag schaden jedoch nicht. Nach einstündigem Stehen und nachdem man sich von der Vollständigkeit der Fällung überzeugt hat (eine abgegossene Probe der überstehenden klaren Flüssigkeit muss sich nach Ansäuern mit Salpetersäure trüben) filtriert man ihn durch ein glattes Filter, wäscht aus, bis Proben des Filtrats beim Ansäuern mit Salpetersäure klar bleiben und auch beim nachträglichen Zusatz von Silbernitrat nur

1) Pfl. A. **69**. 280. (1898.) Die kleinen unwesentlichen Abweichungen in der obigen Darstellung rühren von Huppert, Analyse des Harns. 1898. S. 829, her.

noch ganz schwache Trübung zeigen und spritzt ihn in einen Kolben von etwa $1\frac{1}{2}$ Liter Inhalt. Die Flüssigkeit, deren Volumen 500—600 ccm betragen soll, wird nun gut durchgeschüttelt, mit einigen Tropfen Salzsäure versetzt, mit Schwefelwasserstoff gesättigt und nach Erhitzen auf dem Wasserbad filtriert. Filtrat und Waschwasser werden zuerst auf freiem Feuer, dann auf dem Wasserbad zur Trockne verdunstet. Der trockene Rückstand wird mit 25—30 ccm der verdünnten Schwefelsäure bis zum beginnenden Sieden erhitzt, die Flüssigkeit 16—20 Stunden stehen gelassen, die Harnsäure, welche sich abgeschieden hat, mit Hülfe des Filtrats auf das Filter gebracht und dieses mit der verdünnten Schwefelsäure gewaschen. Ein 2—3 maliges Waschen genügt, so dass das gesamte Filtrat nicht mehr als 50 ccm zu betragen braucht. Man macht nun mit Ammoniak alkalisch, fällt wieder mit der Silberlösung, filtriert durch ein aschefreies Filter, wäscht den Niederschlag chlor-, silber- und schwefelsäurefrei, trocknet und verascht ihn in einem Porzellantiegel. Die Asche wird unter gelindem Erwärmen auf dem Wasserbad und unter Bedeckung des Tiegels mit einem Uhrglas in chlorfreier Salpetersäure gelöst, die Lösung (welche ganz klar sein sollte, aber in der Regel eine minimale Trübung von Chlorsilber zeigt) in ein Kölbchen gebracht und nach Volhard (§ 544,2) mit der $^n/_{50}$ Rhodanlösung titriert. 1 ccm = 1,52 mg Xanthin.

Eine kleine Ungenauigkeit dieser Methode ist — wie Salkowski selbst hervorhebt — bedingt 1. durch eine geringe Löslichkeit der Harnsäure in der Schwefelsäure, 2. durch die nicht ganz vollständige Fällbarkeit der Purinbasen aus der ammoniakalischen Lösung durch Silbernitrat und 3. durch das Vorhandensein einer minimalen Menge von Chlorsilber in der zu titrierenden Flüssigkeit. Diese Fehler kommen aber um so weniger in Betracht, als die unter 1 und 2 genannten Fehlerquellen in entgegengesetzter Richtung wirken.

Indirecte Verfahren. Weniger gut sind die Methoden, bei denen die Bestimmung der Purinbasen auf indirectem Wege erfolgt. Eine solche Methode ist die von Camerer angegebene, die man am besten nach den Vorschriften von Arnstein[1]) ausführt. Indirekte Verfahren.

Princip. Man fällt den Harn mit Magnesiamischung und das Filtrat mit ammoniakalischer Silberlösung, kocht den abfiltrierten Niederschlag (samt Filter) mit Wasser und etwas Magnesia, um das Ammoniak zu entfernen und bestimmt dann seinen Stickstoffgehalt nach Kjeldahl. Von diesem Stickstoff (Harnsäure + Purinbasen) wird der Stickstoff der besonders bestimmten Harnsäure abgezogen. Die Differenz ist Purinbasenstickstoff.

Nachweis und Bestimmung der Schwefelcyansäure im Harne.

563. Zum Nachweis fällt man nach J. Munk[2]) etwa 200 ccm mit Salpetersäure angesäuerten Harns mit Silbernitrat, zerteilt den abfiltrierten Niederschlag in Wasser, zersetzt ihn mit Schwefelwasserstoff, destilliert die filtrierte Flüssigkeit und prüft das Destillat auf Blausäure mit Hülfe der Berlinerblauprobe. Die Blausäure ist bei der Destillation aus Schwefelcyansäure entstanden. Nachweis.

Zur quantitativen Bestimmung dient das Verfahren von Rupp[3]). Bestimmung.

Princip. Rhodanid reagiert in bicarbonathaltiger Lösung mit Jod im Sinne der Gleichung $KCNS + 8J + 4H_2O = H_2SO_4 + 6HJ + KJ + JCN$. Nach Zufügen von Salzsäure erfolgt die Reaction $JCN + HJ = HCN + 2J$, so dass also der Endzustand durch die in zwei Phasen verlaufende Reaction $KCNS + 6J + 4H_2O = H_2SO_4 + 5HJ + KJ + HCN$ bedingt wird. Ein Molekül Kaliumrhodanid entspricht also 6 Atomen

1) H.-S. **23**. 426. (1897.), C. f. med. W. 1898. S. 257.
2) Virch. A. **69**. 350. (1877.)
3) Rupp u. Schied, B. **35**. 2191. (1902.)
Thiel, B. **35**. 2766. (1902.)

Jod oder 1 ccm $^n/_{10}$ Jodlösung = 0,0016203 g KCNS. Das unverbrauchte Jod wird mit Thiosulfat unter Anwendung von Stärke als Indicator zurücktitriert.

Erforderliche Lösungen. 1. Natrium bicarbon. pur., 2. Jodkali, 3. salpetersäurehaltiges Wasser (1 : 100), 4. 3 proc. Silbernitratlösung, 5. 2proc. Stärkelösung, 6. u. 7. $^n/_{10}$ Jodlösung und $^n/_{10}$ Thiosulfatlösung (§ 20).

Ausführung (nach den Angaben von Edinger u. Clemens[1]). 50—100 ccm klar filtrierter eiweissfreier Harn werden mit stark verdünnter Salpetersäure angesäuert und mit einem Ueberschuss einer 3 proc. Silbernitratlösung (für 100 ccm Harn sind etwa 100 ccm nötig) versetzt. Nachdem der Niederschlag sich unter Erwärmen auf dem Wasserbad gut abgesetzt hat und auf Vollständigkeit der Fällung geprüft worden ist, saugt man den Niederschlag ab, wäscht mit salpetersäurehaltigem Wasser aus, und bringt ihn mit dem Filter und etwas Wasser in eine etwa 1 Liter fassende weithalsige Glasstopfenflasche. Nun fügt man 3 g Natriumbicarbonat oder etwas mehr (jedenfalls bis zur alkalischen Reaction der Flüssigkeit) und 3 g Jodkali (zur Ueberführung des Chlorsilbers in Jodsilber) hinzu, löst durch sanftes Umschwenken die beiden Salze, verteilt mit einem Glasstabe den Niederschlag und das Filter möglichst fein und lässt so lange $^n/_{10}$ Jodlösung in gemessener Menge zufliessen, bis die Flüssigkeit deutlich braun gefärbt bleibt, wozu im Allgemeinen 20 ccm genügen. Nach 4 stündigem Stehen der gut verschlossenen Flasche in einem dunklen Raum säuert man mit 10proc. Salzsäure vorsichtig an, fügt Stärkelösung hinzu und titriert mit $^n/_{10}$ Thiosulfatlösung zurück.

Nachweis und Bestimmung der Fettsäuren im Harne.

564. Zur Isolierung der flüchtigen Fettsäuren wird eine grössere Menge Harn mit Phosphorsäure versetzt und unter öfterem Zufügen von Wasser (das Volumen soll niemals weniger als 400 ccm betragen, um das Uebergehen von Salzsäure zu verhindern) solange destilliert, als das Destillat noch sauer reagiert. Das Destillat wird mit Barytwasser alkalisch gemacht und nach Entfernung des überschüssigen Baryts durch Kohlensäure eingedampft. Der Rückstand wird mit wenig Wasser aufgenommen, die Lösung in eine gewogene Platinschale filtriert, mit wenig Wasser nachgewaschen, eingedampft, getrocknet und gewogen: Barytsalze der Fettsäuren. Vergl. auch § 73.

Ueber die Methode zur Isolierung nicht flüchtiger höherer Fettsäuren siehe bei Hybbinette[2]).

Nachweis und Bestimmung der Oxalsäure im Harne.

Nachweis. 565. Zum Nachweis von oxalsaurem Kalk im Harn auch bei stark saurer Reaction lässt man ihn einige Zeit stehen und bringt das vielleicht kaum erkennbare Sediment, oft nur eine schleimige Nubecula, unter das Mikroskop. Die Krystalle vergrössern und vermehren sich gewöhnlich beim Stehen des Harnes während einiger Tage. Die Form der Krystalle (Briefcouvertform*), ihre Unlöslichkeit in Ammoniak, in Essigsäure, Löslichkeit in Salzsäure dienen dann zur Erkennung. Indessen kann die Krystallabscheidung auch bei Anwesenheit von oxalsaurem Kalk ausbleiben. In solchen Fällen verfährt man in der für die quantitative Bestimmung anzugebenden Weise. Der sich dabei zuletzt ausscheidende Niederschlag ist amorph und krystallinisch und zwar zeigt er in letzterem Fall gewöhnlich die von Feser u. Friedberger beschriebenen Formen*).

---

*) Gelegentlich sieht man auch quadratische Prismen mit pyramidalen Endflächen (den Krystallen von Ammoniummagnesiumphosphat ähnlich) und im Pferdeharn ausserdem kugelige oder knollige Formen, Sanduhrformen, Dumbbells vergl. Feser u. Friedberger referiert in Maly's Jbr. 1874. S. 231.

1) Z. f. kl. M. **59**. 218. (1906.) 2) Skand. A. Ph. **7**. 380. (1897.)

Für die Bestimmung der Oxalsäure wurden gleichzeitig von Schreiber[1]) und Autenrieth u. Barth[2]) Verfahren angegeben, welche auf demselben Princip (Ausfällen als Calciumoxalat und Isolierung der Oxalsäure aus dem mit Salzsäure versetzten Niederschlag durch Aether) beruhen. Im Folgenden wird die Methode nach den Angaben von Autenrieth u. Barth beschrieben. Sie gewährleistet eine völlige Abscheidung der Oxalsäure aus dem Harn. Bestimmung.

Man versetzt die Tagesmenge Harn mit Chlorcalciumlösung im Ueberschuss, dann mit Ammoniak bis zur stark alkalischen Reaction, schüttelt gut durch und lässt 18—20 Stunden stehen. Die über dem Niederschlag stehende Flüssigkeit giesst man durch das Doppelfilter einer nicht zu kleinen Nutsche, bringt zuletzt den Niederschlag darauf und spült mit wenig kaltem Wasser nach. Bei Benutzung guten Filtrierpapiers lassen sich selbst 2 Liter Harnflüssigkeit in einer halben Stunde klar filtrieren, auch wenn man, um ein klares Filtrat zu erhalten, wiederholt zurückgiessen muss. Der gut abgesaugte Niederschlag wird in einem Becherglase in möglichst wenig heisser Salzsäure gelöst (meist genügen 30 ccm einer etwa 15 proc. Salzsäure) und die Lösung in einer geräumigen Flasche 4—5 Mal mit je 150—200 ccm Aether, dem 3 pCt. absol. Alkohol zugefügt ist, tüchtig durchgeschüttelt. Die vereinigten Aetherauszüge lässt man 1 Stunde lang in einem Kolben ruhig stehen, wobei sich meist noch einige Tropfen wässeriger Flüssigkeit abscheiden, filtriert durch ein trockenes Filter und destilliert sie nach Zufügen von etwa 5 ccm Wasser ab. Die rückständige wässerige Flüssigkeit wird, wenn nötig, mit wenig Blutkohle geschüttelt, filtriert, auf dem Wasserbade auf 3—5 ccm eingeengt, mit Calciumchloridlösung, darauf mit Ammoniak bis zur stark alkalischen Reaction versetzt und nach einiger Zeit mit verdünnter Essigsäure ganz schwach angesäuert. Am nächsten Tage filtriert man durch ein aschefreies Filter und verfährt weiter nach S. 545, 2. Das Gewicht des gefundenen Calciumoxyds multipliciert mit 1,6046 gibt die Menge der Oxalsäure.

Nachweis und Bestimmung von Phenol-, Kresol-, Brenzcatechin-, Indoxylschwefelsäure im Harne.

Aetherschwefelsäure. Ueber Nachweis und Bestimmung der in diesen Verbindungen enthaltenen Schwefelsäure siehe S. 567 u. S. 573.

566. **Phenol und Kresol.** In Betreff des Nachweises siehe § 191. Nachweis.

Bei reichlicher Anwesenheit empfiehlt sich nach Salkowski[3]) folgendes einfachere Verfahren: Man erhitzt den Harn im Reagensglas mit Salpetersäure zum Kochen (Geruch nach bittern Mandeln durch das entstehende o-Nitrophenol), lässt erkalten und fügt Bromwasser hinzu. Es tritt mehr oder weniger starke Trübung oder Niederschlag auf, während eine Kontrollprobe mit normalem Harn höchstens leichte Trübung gibt. Eine zweite Probe macht man nach dem Erhitzen mit Salpetersäure mit Natronlauge alkalisch: orangerote Färbung durch Nitrophenolnatrium.

Zur quantitativen Bestimmung dient das folgende Verfahren.

Verfahren nach Kossler und Penny[4]) in der Modification von Neuberg[5]). Verfahren nach Kossler und Penny.

Princip. Die Methode ist eine jodometrische und beruht darauf, dass unter bestimmten Bedingungen durch Hypojodit das Phenol in Trijodphenol und das Kresol in

1) Höne, Diss. Göttingen. 1901. 2) H.-S. **35**. 327. (1902.)
3) Practicum d. physiol. u. pathol. Ch. 3. Aufl. 1906. S. 176.
4) H.-S. **17**. 117. (1893.)
5) H.-S. **27**. 123. (1899.)

Trijodkresol übergeführt wird. Die Modification von Neuberg hat den Zweck, die bei der Destillation mit verdünnten Säuren aus Kohlehydraten entstehenden jodoformbindenden Substanzen zu entfernen. Ihre Anwendung ist bei zuckerhaltigen Harnen durchaus notwendig, empfiehlt sich aber bei allen Harnen.

Erforderliche Lösungen. 1. $^n/_{10}$ Natronlauge (§ 17).

2. $^n/_{10}$ Jodlösung und $^n/_{10}$ Thiosulfatlösung (§ 20).

Ausführung. 500 ccm Harn werden bei schwach alkalischer Reaction auf etwa 100 ccm eingedampft (dabei entweicht das vorhandene Aceton), der conc. Harn wird in einen Destillationskolben übergeführt, mit soviel Schwefelsäure versetzt, dass die Flüssigkeit ungefähr 5 pCt. der ursprünglichen Harnmenge davon enthält und destilliert. Wenn der Kolbeninhalt soweit abdestilliert ist, dass die Flüssigkeit heftig zu stossen beginnt, verdünnt man mit Wasser, destilliert weiter und wiederholt dies mindestens 5—6 Mal*). Das Destillat wird zur Bindung von Ameisensäure und salpetriger Säure mit Calciumcarbonat ordentlich durchgeschüttelt, abermals destilliert und die Destillation nach Zufügen von Wasser zum Rückstande mehrmals wiederholt. Um die bei der Destillation aus den Kohlehydraten des Harns entstehenden jodbindenden Körper abzutrennen, werden die Destillate in einem grossen Kolben vereinigt, mit einer Auflösung von 1 g Aetznatron und 6 g Bleizucker versetzt und etwa 15 Min. auf lebhaft siedendem Wasserbade und dann am absteigenden Kühler auf freiem Feuer erhitzt, bis wenige Cubikcentimeter des Destillats ammoniakalische Silberlösung nicht mehr reducieren, was gewöhnlich nach etwa 5 Minuten der Fall ist. Längeres Erhitzen ist zu vermeiden. Die Phenole bleiben als basische Bleiphenolate zurück, während die andern jodbindenden Stoffe entweichen (Neuberg). Man säuert nun den Kolbeninhalt stark mit verdünnter Schwefelsäure an und destilliert die Phenole unter zweimaliger Ergänzung des Wassers ab. Ein aliquoter Teil des gemessenen Destillates wird in einer gut schliessenden Stöpselflasche aus einer Bürette mit nitritfreier $^n/_{10}$ Natronlauge bis zur stark alkalischen Reaction versetzt, durch Eintauchen in heisses Wasser erwärmt, nun $^n/_{10}$ Jodlösung u. z. 15—25 ccm mehr, als man $^n/_{10}$ Natronlauge genommen, zugefügt, verschlossen und geschüttelt**). Nach dem Erkalten wird angesäuert und das frei gewordene Jod unter Benutzung von Stärkekleister als Indicator mit $^n/_{10}$ Natriumthio-

---

*) Mit Hülfe qualitativer Reactionen kann man ihrer zu geringen Empfindlichkeit wegen nicht entscheiden, ob alles Phenol übergegangen ist. Es bleibt nichts anderes übrig, als nach 5—6 maligem Destillieren nochmals zu destillieren und dieses Destillat getrennt von der Hauptmenge, aber ebenso wie diese, weiter zu behandeln. Vermag es bei der Titration noch nennenswerte Mengen Jod zu binden, so ist die Destillation fortzusetzen.

**) Die Menge der zuzusetzenden Natronlauge und Jodlösung richtet sich nach der Menge der Phenole, jedenfalls muss die Flüssigkeit nach Zusatz des Jods stark braun gefärbt sein; es empfiehlt sich zunächst nur einen Teil des Destillates zur Titration zu nehmen, um die Titration wiederholen zu können.

sulfatlösung bis zum Farbenumschlag von Violett in Rot zurücktitriert (§ 20).

1 ccm $^n/_{10}$ Jodlösung entspricht 1,567 mg Phenol oder 1,8017 mg Kresol.

567. **Brenzcatechin** wird nach § 192 isoliert und nachgewiesen, zur quantitativen Bestimmung nach demselben Paragraphen in Substanz dargestellt, getrocknet und gewogen.

568. **Indoxyl.** Der Nachweis der Indoxylschwefelsäure (incl. etwa vorhandener Indoxylglukuronsäure) beruht auf der Spaltung derselben und Ueberführung des Indoxyls in Indigo. Der ursprünglich von Jaffe[1]) als Oxydationsmittel empfohlene Chlorkalk hat den Nachteil, dass die Menge, welche erforderlich ist, um sämtliches Indoxyl in Indigo zu verwandeln, nur durch Ausprobieren gefunden werden kann. Setzt man zu wenig zu, ist die Bildung des Indigos unvollständig, nimmt man zu viel, so wird Indigo oxydiert. Es ist deswegen ratsam, an Stelle des Chlorkalks das von Obermayer[2]) empfohlene Eisenchlorid zu verwenden (wenngleich auch dieses nach Ellinger[3]) eine geringe Oxydation zu Isatin bewirkt) und in folgender Weise zu verfahren: Der Harn wird mit Bleizuckerlösung unter Vermeidung eines Ueberschusses ausgefällt. Das Filtrat versetzt man mit dem gleichen Volumen reiner rauchender Salzsäure, welche in 500 Tl. 1—2 Tl. Eisenchlorid enthält, und schüttelt tüchtig 1 oder 2 Minuten durch. Der gebildete Indigo wird nun mit Chloroform aufgenommen. Dasselbe setzt sich rasch vollkommen klar und rein blau ab. Zuweilen beobachtet man durch einen andern Farbstoff bedingte Violettfärbung.

Nachweis nach Obermayer.

Die quantitative Bestimmung geschieht in folgender Weise:

1. Von Obermayer[4]) und gleichzeitig von Wang[5]) wurde ein Verfahren angegeben, welches auf der Oxydation zu Indigo (Indigoblau und etwas Indigorot) und Titration des Indigos als Indigosulfosäure mit Kaliumpermanganat beruht. An der Ausarbeitung haben sich Bouma[6]), Ellinger[7]), Maillard[8]), Salkowski[9]) beteiligt. Eine völlige Einigung über die beste Art der Ausführung ist noch nicht erzielt worden. Die Beschreibung folgt im allgemeinen den Angaben von Ellinger. Eine wesentliche Abweichung betrifft nur die Art der Reinigung des Chloroformauszuges, welche nach dem Vorschlag von Maillard geschieht.

Verfahren nach Obermayer-Wang in der Ausführung von Ellinger.

Erforderliche Lösungen. 1. Bleiessig. 2. Obermayer's Reagens (reine rauchende Salzsäure, welche in 1000 Tl. 2—4 Tl. Eisenchlorid enthält). 3. Reine conc.

---

1) Pfl. A. **3**. 448. (1870.)
2) W. k. W. 1890. S. 176. 3) H.-S. **38**. 186. (1903.)
4) Wien. kl. Rundschau. 1898. No. 34. H.-S. **26**. 427. (1899.)
5) H.-S. **25**. 406. (1898.), **27**. 135. (1899.), **28**. 576. (1899.)
6) H.-S. **27**. 348. (1899.), **30**. 117. (1900.), **39**. 356. (1903.)
7) H.-S. **38**. 178. (1903.), **41**. 20. (1904.)
8) H.-S. **41**. 437. (1904.) Hier auch die früheren Arbeiten citiert.
9) H.-S. **42**. 236. (1904.)

Schwefelsäure, welche Permanganat nicht entfärben darf. 4. Chloroform. 5. 0,1 proc. Natronlauge. 6. Kaliumpermanganatlösung, zu deren Herstellung für jedesmaligen Gebrauch 5 ccm einer Stammlösung (ca. 3 g in 1 Liter Wasser) auf 200 ccm mit Wasser verdünnt werden. Der Titer dieser Lösung, von der 1 ccm etwa 0,00015 g Indigo entspricht, muss mit reinem Indigo eingestellt werden.

Ausführung. Der sauer reagierende oder mit Essigsäure schwach angesäuerte Harn (bei einem Gewicht über 1040 nach Verdünnung mit dem gleichen Volumen Wasser) wird mit $^1/_{10}$ Vol. Bleiessig gefällt. Eine abgemessene Menge des Filtrats z. B. 100 ccm*) wird mit dem gleichen Volumen Obermayer's Reagens im Scheidetrichter versetzt und sofort mit je ca. 30 ccm Chloroform mehrmals ausgeschüttelt, bis eine neue Portion Chloroform sich nicht mehr färbt. Nach einer halben Stunde wird noch eine weitere Ausschüttelung vorgenommen. Man schüttelt sodann die vereinigten Chloroformlösungen in einem Scheidetrichter zunächst mit Wasser, dann mit 0,1 proc. Natronlauge, dann wieder mit Wasser (Maillard). Da salzsäurehaltiges Chloroform mehr Indigo löst als reines, so kann bei diesen Waschungen durch Entziehung der Salzsäure sich aus concentrierten Lösungen etwas Indigo abscheiden. Man fügt deshalb (nach einer persönlichen Mitteilung von Ellinger) zweckmässig zu stark gefärbten Chloroformlösungen vor dem Waschen noch reichlich Chloroform hinzu. Die im Scheidetrichter abgetrennte Chloroformlösung wird durch ein trockenes Filter in einen sorgfältig gereinigten Kolben filtriert, mit Chloroform nachgewaschen und verdunstet. Auf den Rückstand bringt man nun etwa 10 ccm conc. Schwefelsäure, erwärmt 5—10 Minuten zur vollständigen Lösung auf kochendem Wasserbad, giesst die Lösung vorsichtig in einen sorgfältig gereinigten Erlenmeyer'schen Kolben, in welchem sich etwa 100 ccm destilliertes Wasser befinden und spült mit destilliertem Wasser nach. Die blaue Lösung wird heiss mit der Kaliumpermanganatlösung titriert, bis der rötliche Ton verschwunden und die Flüssigkeit hellgelb oder fast farblos geworden ist.

Nach Ellinger findet man etwa 86 pCt. der theoretischen Menge, so dass zu dem gefundenen Wert noch etwa $^1/_6$ hinzuzufügen ist.

Verfahren nach Bouma.

2. Ein anderes Verfahren, welches auf der Ueberführung des gesamten Indoxyls in Indigorot durch Kochen des Harns mit Isatinsalzsäure und Titration des Indigorots als Indigorotsulfosäure mit Permanganat beruht, ist von Bouma[1]) angegeben worden.

Colorimetrische Verfahren.

3. Colorimetrische Methoden. Man vergleicht die nach 1 gewonnene Indigochloroformlösung mit einer chloroformischen Indigolösung von bekanntem Gehalt (Strauss[2]) oder die nach 2 gewonnene Indigorotchloroformlösung mit einer chloroformischen Indigorotlösung von bekanntem Gehalt (Bouma). Die Unbequemlichkeit

*) Ueber die im einzelnen Fall zu nehmende Menge lassen sich keine bestimmten Angaben machen. Sie richtet sich nach dem Indicangehalt des Harns und soll so gewählt werden, dass 3—4 Ausschüttelungen mit je etwa 30 ccm Chloroform und von je etwa 2 Min. Dauer genügen, um alles Indigo zu entfernen.

1) H.-S. **32**. 82. (1901.) 2) D. m. W. 1902. S. 299.

dieser Verfahren besteht darin, dass die Vergleichslösungen beim Aufbewahren ihre Farbe ziemlich rasch verändern und deshalb häufig erneuert werden müssen. Oerum[1]) empfiehlt deshalb die Benutzung des Meisling'schen Colorimeters, bei dem keine Vergleichslösung gebraucht wird.

Nachweis und Bestimmung der Hippursäure (und Benzoesäure) im Harne.

569. Zum Nachweis der nach S. 275 isolierten Hippursäure dienen die S. 276 angegebenen Reactionen.

Auch zur Bestimmung der Hippursäure dient allein die Darstellung derselben aus einer abgemessenen Quantität Harn.

1. Verfahren nach Bunge und Schmiedeberg[2]). Die nicht zu kleine Quantität Harn, vom menschlichen Harn mindestens 300 ccm, wird mit Sodalösung alkalisch gemacht, filtriert und das Filtrat zum dicken Syrup eingedampft, der Rückstand wird wiederholt mit kaltem Alkohol ausgezogen und der alkoholische Auszug eingedampft, mit Salzsäure versetzt und wiederholt (wenigstens fünfmal) mit Essigäther ausgeschüttelt. Die klar abgegossene Lösung der Hippursäure in Essigäther wird mit Wasser gewaschen und dann bei mässiger Temperatur verdunstet. Den Rückstand zieht man, um Benzoesäure und andere Verunreinigungen zu entfernen, mehrmals mit frisch destilliertem Petroläther aus und löst ihn in wenig warmem Wasser. Die wässerige Lösung wird mit etwas Tierkohle digeriert, filtriert, das Filtrat bei höchstens 50—60° zur Krystallisation verdunstet und der Rückstand getrocknet und gewogen. Diese Methode gibt gute Resultate[3]) und ist auch zur Bestimmung der Benzoesäure geeignet, wenn man den Rückstand des Petrolätherauszugs in Wasser warm löst, filtriert, das Filtrat bei mässiger Temperatur verdunstet, den Rückstand trocknet und wägt.

Verfahren nach Bunge und Schmiedeberg.

Jaarsveld u. Stokvis[4]) verfahren gleichfalls nach obiger Methode, wandeln aber nachher die durch Petroläther gereinigte Hippursäure durch $^1/_4$ bis $^1/_2$stündiges Kochen mit starker Natronlauge in Benzoesäure um, säuern dann mit Salzsäure an, schütteln mehrmals mit Petroläther, lassen diesen bei gewöhnlicher Temperatur verdunsten und berechnen aus dem getrockneten und gewogenen Rückstand die Hippursäure (Multiplication des erhaltenen Wertes mit 1,467).

Zur besseren Reinigung empfiehlt Wiechowski[5]) die nach Jaarsveld und Stokvis gewonnene natronalkalische Lösung der Benzoesäure mit Phosphorsäure anzusäuern und der Dampfstromdestillation zu unterwerfen, das in Sodalösung aufgefangene Destillat bis fast zur Trockne einzudampfen, den Rückstand nach Ansäuern mit Salzsäure mit Petroläther wiederholt auszuschütteln usw. Es wird auf diese Weise rein weisse Benzoesäure erhalten.

---

1) H.-S. **45**. 459. (1905.)
2) A. exp. P. u. Ph. **6**. 233. (1877.)
3) v. Schröder, H.-S. **3**. 323. (1879.)
4) A. exp. P. u. Ph. **10**. 271. (1879.)
van de Velde u. Stokvis, A. exp. P. u. Ph. **17**. 190. (1883.)
5) B. Ph. P. **7**. 264. (1906.)

Verfahren nach Völker.

2. Verfahren nach Völker[1]). 200 bis 300 ccm Harn werden in einem Hofmeister'schen Schälchen auf $^1/_3$ eingeengt, nach Zusatz von 4 g Natriumphosphat weiter zur Syrupconsistenz eingedampft und nach Beimengung von gebranntem Gips so lange erwärmt, bis sich die Masse zu Pulver zerdrücken lässt. Letzteres wird samt der zerschlagenen Schale im Soxhlet'schen Extractionsapparat zuerst 4—6 Stunden mit Petroläther, dann nach Wechseln des Kolbens 6—10 Stunden mit trocknem Aether extrahiert. Der Aetherrückstand wird in Wasser gelöst, die Lösung mit Kohle entfärbt, auf 1—2 ccm bei 50—60° verdunstet und der Krystallisation überlassen. Die Krystalle sammelt man auf einem bei 110° getrockneten und gewogenen Filter, wäscht mit etwas Wasser und ein paar Tropfen Aether, trocknet und wägt. Als Correctur kann für je 1 ccm Filtrat 0,0015 g Hippursäure in Rechnung gesetzt werden.

Nachweis der p-Oxyphenylessigsäure und Hydro-p-cumarsäure im Harne.

570. Zum Nachweis erwärmt man etwa 20 ccm Harn nach Baumann[2]) mit Salzsäure auf dem Wasserbade und schüttelt mit Aether aus. Die ätherische Lösung wird mit einer schwachen Sodalösung geschüttelt und diese nach Ansäuern mit Schwefelsäure wieder mit Aether. Den beim Verdunsten des Aethers hinterbleibenden Rückstand löst man in Wasser und prüft die wässerige Lösung mit Millon's Reagens (Anh.). Bei Anwesenheit der Säuren tritt Rotfärbung ein (§ 203 u. § 204).

Nachweis des Inosit im Harne.

571. Dem Nachweis, zu dem die S. 273 angegebenen Reactionen dienen, muss die Isolierung vorangehen. Diese geschieht nach den S. 271 gemachten Angaben. Nur ist es zweckmässig 1. den Harn vor der Fällung auf $^1/_4$ einzuengen, 2. nach vorsichtiger Ausfällung mit Bleiessig noch etwas Ammoniak zuzufügen und 2 Tage stehen zu lassen, 3. das Filtrat vom Schwefelblei, nachdem es etwas eingeengt ist, stehen zu lassen, von Ausscheidungen abzufiltrieren und dann weiter einzudampfen.

Ein vielleicht besseres Verfahren, welches die Widerstandsfähigkeit des Inosit gegen Barytwasser und Salpetersäure zu Hilfe nimmt, ist soeben von Rosenberger[3]) angegeben worden.

Verhalten des Harns zu Essigsäure und Nachweis der Chondroitinschwefelsäure.

572. Häufig beobachtet man, dass im normalen Harne auf Zusatz von Essigsäure Trübung oder Fällung eintritt. Nach K. Mörner[4]) ist dieselbe in der Regel nicht durch ein im Harn präformiertes Proteid (Mucin, Nucleoproteid) bedingt, sondern durch den Gehalt jeden Harns an kleinen Mengen von Eiweiss einerseits und eiweissfällenden Mitteln (Chondroitinschwefelsäure, Nucleinsäure) andererseits, welche auf Zusatz von Essigsäure als unlösliche Verbindungen ausfallen. Die Salze des Harns stören die Ausfällung. Unter günstigen Versuchsbedingungen erhält man aber in jedem normalen Harne diese Ausscheidung u. z. dann, wenn man die Salze durch Dialyse vermindert, Chloroform und Essigsäure zusetzt und schüttelt.

---

1) Maly's Jbr. 1887. S. 215. 2) H.-S. **4**. 304. (1880.)
3) H.-S. **56**. 373. (1908.)
4) Skand. A. Ph. **6**. 332. (1895.), B. Ph. P. **5**. 524. (1904.)

Zum Nachweis[1]) der Chondroitinschwefelsäure wird eine kleine Menge Harn filtriert, dialysiert — was bei Verwendung von Schilfschläuchen nur einige Stunden in Anspruch nimmt —, der Dialysenrückstand, falls er nicht ganz klar ist, mit Kieselgur geschüttelt und bis zur völligen Klarheit filtriert. Etwa 5—10 ccm vom Filtrat füllt man in ein Reagensglas, versetzt mit 5 Tropfen 25 proc. Essigsäure, schüttelt um und lässt stehen. Nimmt die Trübung, welche oft eintritt, nicht mehr zu, so teilt man die Probe und versetzt die eine Hälfte mit 2—3 Tropfen einer klaren, ebenfalls mit Essigsäure angesäuerten Gelatinelösung, die 0,2 g reine Gelatine und 10 ccm conc. Essigsäure auf 200 ccm Wasser enthält. Eine deutliche Zunahme der Trübung lässt auf Anwesenheit von Chondroitinschwefelsäure schliessen. Zur weiteren Sicherung kann man den Dialysenrückstand nach dem Kochen mit Salzsäure auf Schwefelsäure und reducierendes Kohlehydrat prüfen. Ueber ein Verfahren zur quantitativen Bestimmung siehe bei Pons[1]).

Nachweis und Bestimmung der Kynurensäure im Hundeharne.

573. Ueber Isolierung und Nachweis siehe § 222. Die quantitative Bestimmung geschieht nach Jaffe[2]) oder nach Capaldi[3]).

Verfahren nach Jaffe. Der Harn (100 ccm) wird zum dicken Syrup eingedampft, mit heissem Alkohol behandelt und 24 Stunden stehen gelassen; in dieser Zeit scheidet sich die Flüssigkeit klar ab. Man filtriert und wäscht den Niederschlag mit Alkohol aus. Das Filtrat wird eingedampft, der zurückbleibende Syrup in Wasser gelöst, mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und mit Aether stark geschüttelt. Die Kynurensäure scheidet sich ziemlich rein aus. Verfahren nach Jaffe.

Verfahren nach Capaldi. Der Harn (100 ccm) wird mit 50 pCt. einer 10proc. Chlorbariumlösung, die 5 pCt. conc. Ammoniak enthält, vermischt, das Filtrat bis auf $^1/_3$ der benutzten Harnmenge eingedampft und mit 4 pCt. conc. Salzsäure versetzt. Der Niederschlag wird nach 16—24 Stunden abfiltriert, mit 1proc. Salzsäure ausgewaschen, in ein Becherglas gespritzt und in Ammoniak gelöst. Die Lösung wird auf dem Wasserbade bis zum Verschwinden des freien Ammoniaks erwärmt, filtriert und wieder mit 4 pCt. conc. Salzsäure versetzt. Der entstandene weisse Niederschlag wird nach etwa 6 Stunden durch ein gewogenes Filter filtriert, mit 1proc. Salzsäure und zweimal mit Wasser gewaschen, bei 100° getrocknet und gewogen. Verfahren nach Capaldi.

Vorwiegend pathologische Harnbestandteile.

Nachweis und Bestimmung des Traubenzuckers im Harne.

574. Zum Nachweis dienen folgende Proben.

Trommer's Probe. Etwaiges Eiweiss ist zunächst nach § 537 zu entfernen. Trommer's Probe.

Man verfährt in der S. 110, 4 angegebenen Weise. Reichliches Lösungsvermögen für Kupfersulfat und das Auftreten eines deutlichen gelben oder roten Niederschlags beim Erwärmen sind für Zucker charakteristisch.

Da aber jeder normale Harn Stoffe enthält, welche Kupferoxyd in Lösung halten und reducieren, und solche, welche das Kupferoxydul am Ausfallen verhindern, so kann die Probe in manchen Fällen besonders bei

1) K. A. H. Mörner, Skand. A. Ph. **6**. 332. (1895.)
Pons, B. Ph. P. **9**. 399. (1907.)
2) Bei August Schmidt, Diss. Königsberg. 1884.
3) H.-S. **23**. 92. (1897.)

geringem Zuckergehalt zweifelhaft bleiben. Um sie nun auch bei solchen zweifelhaften Fällen möglichst empfindlich und für Zucker charakteristisch zu machen, wird sie nach den umfassenden Untersuchungen von Worm-Müller[1]) am besten in folgender Weise angestellt: In einem Reagensglas werden 5 ccm filtrierter Harn, in einem andern 1 ccm 2,5 proc. Kupfersulfatlösung und 2,5 ccm alkalische Seignettesalzlösung (auf 100 ccm 4 proc. Natronlauge 10 g weinsaures Kalinatron) gleichzeitig erhitzt. 20 bis 25 Sec. nach Unterbrechung des Kochens giesst man die alkalische Kupferlösung in den Harn ohne zu schütteln und beobachtet nun, ob die Flüssigkeit blau bleibt oder sich nur mehr weniger verfärbt (negativer Ausfall) oder ob sofort oder während der nächsten 10 Min. (nach Pflüger 12 Stunden) eine bei auffallendem Licht schmutzig gelbgrüne oder gelbrote Färbung entsteht, welche von fein verteiltem, sich häufig ganz langsam als gelbroter Niederschlag zu Boden senkendem Kupferoxydul herrührt (positiver Ausfall). Erhält man keine Ausscheidung mit 1 ccm, so muss man die Probe mit 2, 2,5 ccm usw. Kupfersulfatlösung (die Menge der Seignettesalzlösung und des Harns bleiben dieselben) wiederholen, bis entweder Ausscheidung erfolgt oder die Flüssigkeit nicht mehr entfärbt wird, d. h. ihre grüne Farbe behält. Bei nicht ganz geringem Zuckergehalt beobachtet man auch bei dieser Art der Ausführung eine deutliche gelb- oder ziegelrote Trübung von ausgeschiedenem Kupferoxydul.

Ausführung bei geringem Zuckergehalt nach Worm-Müller.

Lävulose und Milchzucker geben auch die Trommer'sche Probe, ebenso die Pentosen, diese aber in etwas anderer Weise.

Boettger's Probe. Etwaiges Eiweiss ist zunächst nach § 537 zu entfernen. Man versetzt den Harn*) mit dem zehnten Teil des Almén-Nylander'schen Reagens (S. 110, 6), erhitzt zum Kochen und setzt das Kochen bei schief gehaltenem Reagensglas und unter leichtem Schütteln über kleiner Flamme 2—3 Min. oder höchstens 5 Min. fort. Der Harn färbt sich dunkler, wird schwarzbraun oder fast schwarz und setzt beim Stehen einen ebenso gefärbten Phosphatniederschlag ab.

Da auch viele normale Harne eine gleiche Reaction zeigen, so hat diese Probe mehr einen negativen Wert, insofern ein Harn, welcher die Reaction nicht gibt, als practisch zuckerfrei (weniger als 0,05 pCt.) angesehen werden kann (Hammarsten[2]).

Lävulose und Milchzucker geben gleichfalls die Probe.

---

*) Harne, welche nach Gebrauch von Rheum und manchen andern Arzneimitteln gelassen werden, sind mit dieser Probe nicht auf Zucker zu prüfen, da sie an und für sich eine positive Reaction geben.

1) Pfl. A. **27**. 112. (1882.)
Pflüger, Schöndorff u. Wenzel, Pfl. A. **105**. 121. (1904.)
Pflüger, Pfl. A. **116**. 265. (1907.)

2) Lehrb. d. physiol. Ch. 6. Aufl. 654. H.-S. **50**. 36. (1906/07.) Pfl. A. **116**. 517. (1907.)

Phenylhydrazinprobe von E. Fischer. Phenylhydrazinprobe.

Für den Harn empfiehlt sich die Ausführung dieser Probe in folgender von A. Neumann[1]) angegebenen Modification, welche selbst bei sehr geringem Zuckergehalt in kurzer Zeit sehr reine und schön ausgebildete Krystalle liefert: 5 ccm Harn werden mit 2 ccm mit Natriumacetat gesättigter 50proc. Essigsäure und 2 Tropfen reinem Phenylhydrazin in einem Reagensglas*) auf 3 ccm eingekocht, nach schnellem Abkühlen nochmals erwärmt und der langsamen Abkühlung überlassen. Noch bei Anwesenheit von 0,02 pCt. Traubenzucker scheiden sich in 5—10 Min. schön ausgebildete Osazonkrystalle ohne Beimengung aus. Hat der Harn bei geringem Zuckergehalt hohes spec. Gewicht, so muss man etwas länger warten.

Ueber den Nachweis kleinster Zuckermengen in conc. Harnen mit Hilfe von Phenylhydrazin siehe Salkowski[2]).

Lävulose, welche in seltenen Fällen im Harn vorkommt, gibt dasselbe Osazon.

Rubner's Probe. Man fällt den Harn mit conc. Bleizuckerlösung im Ueberschuss, versetzt das Filtrat vorsichtig mit Ammoniak, so dass ein flockiger Niederschlag entsteht und erwärmt auf 80°: Rotfärbung (E. Voit[3]). Rubner's Probe.

Conc. Harne müssen zunächst mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt werden.

G. Hoppe-Seyler's Probe[4]). 5 ccm (1 Teelöffel) des Reagens (0,5proc. Lösung von o-Nitrophenylpropiolsäure in Natronlauge und Wasser) werden mit etwa 10 Tropfen des zu untersuchenden Harns versetzt, dann etwa $^1/_4$ Minute gekocht. Wird die Lösung dunkelblau (Indigo), so sind reducierende Substanzen (mindestens = 0,5 pCt. Zucker) vorhanden. Normaler Harn gibt erst bei Zusatz von mindestens 1 ccm Grünfärbung, eine deutliche Blaufärbung ist auch bei grösseren Mengen gewöhnlich nicht zu erzielen. Gehalt des Harns an Eiweiss schadet nicht. G. Hoppe-Seyler's Probe

Gärungsprobe. Man erhitzt den frischen und unzersetzten, von Blut, Eiweiss, Albumosen freien Harn in einem Kölbchen zum Kochen, erhält einige Minuten im Sieden (um Mikroorganismen zu vernichten), lässt abkühlen, fügt, falls er neutral oder alkalisch reagiert, Weinsäure bis zur schwachsauren Reaction hinzu, kocht in diesem Falle nochmals auf, um Kohlensäure zu entfernen, verteilt ein Stückchen frischer Bierhefe (auf 10 ccm Harn etwa 1 g) in ihm und bringt ihn in ein gut gereinigtes Gärkölbchen, dessen langer Schenkel völlig mit ihm erfüllt wird. Durch Eingiessen von etwas Quecksilber schliesst man die Flüssigkeit in dem langen Schenkel ab. (Statt des Gärkölbchens kann man auch ein Reagensglas benutzen, welches völlig gefüllt und umgekehrt in einer Schale mit Quecksilber aufgestellt wird). In einem anderen Gärkölbchen (oder Reagensglas) wird derselbe Versuch mit normalem Harn angesetzt. Beide Gefässe werden bei 34—36° aufgestellt. Bei irgend erheblichem Zuckergehalt beginnt nach einiger Zeit die Gasentwicklung; sie ist umso reichlicher, je zuckerreicher der Harn. Die Vergärung ist bei der genannten Gärungsprobe.

*) Neumann benutzt sog. Kugelreagensgläser, welche mit Marken für 3, 5 und 7 ccm versehen sind und oberhalb dieser Graduierung eine kugelförmige Erweiterung haben. Sie gestatten bei fast horizontaler Haltung ein sehr schnelles Eindampfen.

1) A. f. A. u. Ph. Ph. A. 1899. Suppl.-Bd. S. 549.
Margulies, B. k. W. 1900. S. 881.

2) Arb. aus d. pathol. Inst. zu Berlin. Hirschwald. 1906. S. 587.

3) Maly's Jbr. 1890. S. 186. 4) H.-S. 17. 83. (1893.)

Temperatur nach 6 Stunden eine vollständige (Victorow[1]). Wenn also nicht schon vorher eine deutliche Gasentwicklung eingetreten ist, so darf der Versuch nicht früher abgebrochen werden. Nach dieser Zeit wird auch in dem Controllversuch eine kleine Luftblase entstanden sein (Selbstgärung der Hefe) und der zu untersuchende Harn ist nur dann als zuckerhaltig anzusehen, wenn in ihm mehr Gas entstanden ist. Um in zweifelhaften Fällen zu entscheiden, ob die Gasentwicklung erheblicher ist, als in dem Controllversuche, erwärmt man beide Kölbchen einige Zeit auf 70°, wodurch eine etwa vorhandene Grössendifferenz der beiden Gasblasen deutlicher hervortritt.

Am Schluss des Versuches ist die Flüssigkeit auf ihre Reaction zu prüfen[2]). Ist sie alkalisch, so beweist eine Gasentwicklung nichts für Zucker. Stellt man die Gärprobe in der beschriebenen Weise[3]) an, so zeigt ein positiver Ausfall die Anwesenheit von Zucker an. Ueber den Einwand, den Pflüger gegen die absolute Zuverlässigkeit dieser Probe bei kleinen Zuckermengen macht, siehe Pfl. A. **111**. 241. (1906).

Lävulose, welche in seltenen Fällen im Harn vorkommt, vergärt auch mit Hefe. Andere mit Bierhefe vergärbare Substanzen im Harn sind nicht bekannt.

Polarisationsprobe.

Polarisationsprobe. Man untersucht den Harn im Polarisationsapparat auf Rechtsdrehung. Ueber die Ausführung etwa nötiger Klärung oder Entfärbung siehe § 575. Vorhandenes Eiweiss ist nach § 537 zu entfernen.

Die quantitative Bestimmung kann durch Polarisation, durch Titration und mit Hilfe der Vergärung ausgeführt werden.

575. **Bestimmung durch Polarisation.** Diabetische Harne können in vielen Fällen nach der Filtration ohne weitere Vorbereitung polarisiert werden. Sind sie trübe und durch einfache Filtration nicht zu klären oder sind sie zu sehr gefärbt, so schüttelt man eine kleine Menge mit etwas fein gepulvertem Bleiacetat, filtriert und verwendet das klare Filtrat. Ein alkalisch reagierender Harn ist vor dem Zusatz des Bleizuckers mit Essigsäure bis zur deutlich sauren Reaction zu versetzen. Als Polarimeter benutzt man am besten das § 34 abgebildete Saccharimeter von Schmidt und Haensch, bei dem sich der Procentgehalt an Traubenzucker gleich an der Skala ablesen lässt. Verwendet man einen nicht für die speciellen Zwecke der Zuckerbestimmung construierten Apparat, so geschieht die Berechnung der Traubenzuckermenge nach § 32 ($[\alpha]_D = 52{,}74°$).

Die Bestimmung gibt nur dann richtige Werte, wenn der Harn keine linksdrehenden Substanzen (Eiweiss, β-Oxybuttersäure, gepaarte Glukuronsäuren, Leo'scher Zucker, Lävulose) enthält. Etwa vorhandenes Eiweiss

1) Pfl. A. **118**. 583. (1907.)
2) Pflüger, Schöndorff u. Wenzel, Pfl. A. **105**. 139. (1904.)
3) Salkowski, B. k. W. 1905. S. 48.

ist in der § 537 beschriebenen Weise vor der Polarisation zu entfernen. Um die Anwesenheit anderer linksdrehender Substanzen festzustellen, lässt man den Harn vergären und wiederholt dann die Polarisation. Ergibt sich hierbei eine Linksdrehung, so ist der gefundene Wert zu dem zuerst gefundenen hinzuzuaddieren.

β-Oxybuttersäure*), gepaarte Glukuronsäuren, Leo'scher Zucker vergären nicht. Die äusserst selten vorkommende Lävulose vergärt allerdings auch, an sie wird aber erst zu denken sein, wenn die Polarisation im Verhältnis zur Titrierung zu geringe Werte gibt und alle anderen linksdrehenden Stoffe auszuschliessen sind.

Polarimetrische Bestimmung bei sehr geringem Zuckergehalt.

Ausführung bei sehr geringem Zuckergehalt. Man fällt eine grössere (gemessene) Menge Harn mit Bleizucker, filtriert, fällt das Filtrat mit Bleiessig und etwas Ammoniak und zerlegt den in Alkohol zerteilten Niederschlag mit Schwefelwasserstoff. Das Filtrat wird, wenn nötig, mit wenig Tierkohle entfärbt, bei mässiger Temperatur auf ein kleines (zu messendes) Volumen eingeengt (wobei die Reaction stets schwach essigsauer sein muss) und im Polarisationsapparat untersucht. Betrug das Volumen des benutzten Harns 1500 ccm, das Volumen der alkoholischen Lösung 21 ccm, die Länge des benutzten Rohres 2 dm und die am Saccharimeter von Schmidt u. Haensch (§ 34) abgelesene Drehung 3 Teilstriche, so sind in 1500 ccm Harn $\frac{3 \cdot 21}{100} = 0{,}63$ g Traubenzucker.

Eine Complication kann bei dieser Untersuchung entstehen durch etwaige Anwesenheit von Gallensäuren oder Milchzucker im Harn, welche, wenn auch nur in kleiner Menge vorhanden, gleichfalls durch basisches Bleiacetat und Ammoniak gefällt werden und nach rechts drehen. Man schützt sich vor dieser Fehlerquelle, indem man die alkoholische Lösung nach der Polarisation durch Eindampfen vom Alkohol befreit, etwas Wasser zusetzt, zum Kochen erhitzt, Hefe zufügt, nach 6stündigem Stehen bei 34—36° filtriert, mit Alkohol nachwäscht, auf das ursprüngliche Volumen einengt und wieder polarisiert. Eine jetzt noch vorhandene Rechtsdrehung ist auf andere Stoffe (Gallensäuren, Milchzucker) zu beziehen.

576. Bestimmung durch Titration.

Alle auf Reduction beruhenden titrimetrischen Methoden müssen den Zuckergehalt etwas zu hoch erscheinen lassen, da der Harn noch andere reducierende Stoffe (z. B. Harnsäure, Kreatinin) enthält. Je mehr Zucker und je weniger von den andern reducierenden Stoffen der Harn enthält, um so geringer wird der Fehler sein. Abwesenheit von Milchzucker, Fruchtzucker, Pentosen ist natürlich Voraussetzung. Etwa vorhandenes Eiweiss ist bei den Methoden mit Fehling'scher Lösung und nach Pavy vorher zu entfernen, bei der Methode von Bang schadet es nicht.

Die Titration mit Fehling'scher Lösung ist bei geringem Zuckergehalt in der Regel direkt im Harn nicht ausführbar, die beiden andern sind in der Beziehung leistungsfähiger.

Titration mit Fehling'scher Lösung.

a) mit Fehling'scher Lösung.

Prinzip. Die Methode beruht auf der Trommer'schen Probe (S. 110, 4).

*) Es ist zu berücksichtigen, dass die Linksdrehung der β-Oxybuttersäure durch Zusatz von Bleiacetat erheblich gesteigert wird.

Herstellung der Fehling'schen Lösung. Man löst 34,639 g reines krystallisiertes Kupfersulfat in Wasser auf und verdünnt die Lösung zu 500 ccm; man löst ferner 173 g krystallisiertes, völlig reines weinsaures Kali-Natron in wenig Wasser, fügt 100 ccm Natronlauge, welche 50 g Aetznatron enthält, hinzu und verdünnt gleichfalls zu 500 ccm. Zu jedesmaligem Gebrauch mischt man gleiche Volumina beider Lösungen. Die fertige Fehling'sche Lösung hält sich, auch beim Aufbewahren im Dunkeln, nicht lange; sie ist zu verwerfen, wenn eine kleine im Reagensglas gekochte Probe während etwa einstündigen Stehens einen Niederschlag von Kupferoxydul abscheidet.

20 ccm der Fehling'schen Lösung entsprechen 0,1 g Traubenzucker.

Ausführung. Man bringt 20 ccm der Fehling'schen Lösung, mit einer Pipette oder Bürette abgemessen, in eine Porzellanschale oder einen Kolben und fügt 80 ccm Wasser hinzu. Ferner lässt man von dem (event. nach § 537 von Eiweiss befreiten) Harne, dessen Zuckergehalt bestimmt werden soll, 10 ccm in einen Masskolben von 100 ccm fliessen, fügt Wasser bis zur Marke hinzu (ist der Harn nur in geringem Grade zuckerhaltig, so verdünnt man wenig oder gar nicht), mischt gut und füllt mit der Mischung eine Bürette. Man erhitzt nun durch eine kleine Flamme die verdünnte Kupferlösung zum beginnenden Kochen, gibt zunächst 2 ccm von dem verdünnten Harn hinzu, lässt ein paar Secunden kochen und beobachtet, ob die Flüssigkeit noch blau bleibt, fügt, wenn dies der Fall ist, 1 ccm des verdünnten Harns hinzu, kocht, fügt wieder 1 ccm Harn hinzu usw., bis die Flüssigkeit über dem entstandenen roten Niederschlage von Kupferoxydul farblos, aber noch nicht gelb (Einwirkung der Natronlauge auf überschüssigen Zucker bei fehlendem Kupferoxyd) geworden ist. Man liest dann ab, wie viel von dem verdünnten Harne verbraucht ist.

Die Endreaction, d. h. die völlige Entfärbung der Flüssigkeit ist nur nach guter Abscheidung des Kupferoxydulniederschlags scharf zu erkennen. Man darf jedoch nicht lange Zeit warten, bis der Niederschlag sich ganz abgesetzt hat, da sonst ein Teil des Oxyduls durch Einwirkung des Sauerstoffs der Luft wieder in Kupferoxyd übergeführt wird. Ist also in der Flüssigkeit nicht sehr bald zu erkennen, ob noch blaue Färbung vorhanden ist, so filtriert man schnell eine Probe derselben durch ein kleines Filter in ein Reagensglas, hält dieses neben einem andern wasserenthaltenden Reagensglas vor ein weisses Papier und betrachtet beide im auffallenden Licht. Erscheint dabei das Filtrat noch blau gefärbt, so giesst man es in den Kolben zurück und fährt mit der Titrierung fort. Es ist zweckmässig, mehrere kleine Filterchen und Reagensgläser bereit zu halten, um nach weiterm Harnzusatz und Kochen wiederholt zu prüfen; zeigt die filtrierte Probe Gelbfärbung, so ist bereits zuviel Harn zugesetzt. Bei einer Wiederholung der Titrierung lässt sich das Ende genauer feststellen, da jetzt die Grenzen des zu viel und zu wenig annähernd bekannt sind. Es empfiehlt sich durch eine dritte Titrierung das Resultat der zweiten zu kontrollieren. Die früher empfohlenen Endproben mit Salzsäure und Ferrocyankalium, Prüfung mit Fehling'scher Lösung usw. sind für den Harn zu verwerfen.

Berechnung. Da 20 ccm Fehling'sche Lösung 0,1 g Traubenzucker entsprechen, so enthalten die bis zum Eintritt der Endreaction verbrauchten Cubikcentimeter Flüssigkeit 0,1 g Traubenzucker. Die Berechnung des Procentgehaltes unter Berücksichtigung der Verdünnung des Harns ist einfach.

Diese schnell auszuführende Methode, welche für klinische Zwecke vollständig ausreicht, kann ganz genaue Resultate nicht geben, da die der Berechnung zu Grunde liegende Annahme, dass 1 Aeqiv. Glukose 10 Aequiv. Kupferoxyd reduciere, bei Innehaltung der oben gegebenen Vorschriften nicht richtig ist[1]). Das Reductionsvermögen der Glukose ist verschieden je nach der Concentration der Zuckerlösung und je nach dem Verdünnungsgrad der Fehling'schen Lösung. Nach Soxhlet reducieren 50 ccm unverdünnter Fehling'scher Flüssigkeit 23,75 ccm einer 1proc. Glukoselösung während 2 Minuten dauernden Kochens, aber auch nur dann genau, wenn die Zuckerlösung nicht nach und nach, sondern mit einem Male zugesetzt wird. Hieraus ergibt sich folgende Vorschrift für die Ausführung einer genauen Titration:

Genaue Titration mit Fehling'scher Lösung.

50 ccm der Fehling'schen Lösung werden zum Kochen erhitzt. Von dem unverdünnten Zuckerharn wird portionsweise so lange zugesetzt, bis die Flüssigkeit nach dem Kochen nicht mehr blau erscheint. Durch diese Vorprobe stellt man den Zuckergehalt der Lösung annähernd — etwa auf 10 pCt. der Gesamtmenge — fest. Man verdünnt nun den Harn soweit, dass er 1 pCt. Zucker enthält. Die wahre Concentration wird dann 0,9 bis 1,1 pCt. sein. Diese geringe Abweichung von der gewünschten hat auf das Resultat keinen Einfluss. Man erhitzt nun neuerdings 50 ccm Fehling'scher Lösung, ohne dieselbe mit Wasser zu verdünnen, mit einer dem vorhergehenden Versuch entsprechenden Menge des verdünnten Zuckerharns 2 Minuten lang und sieht (event. nach dem Filtrieren), welche Farbe die Flüssigkeit hat. Ist sie blau, so nimmt man zu einem neuen Versuch 1 ccm von der Zuckerharnlösung mehr; ist sie gelb, so nimmt man 1 ccm weniger. In der Anstellung solcher Versuche fährt man so lange fort, bis zwei Versuche, in welchen nur um 0,1 ccm verschiedene Mengen Harnlösung angewendet wurden, Filtrate ergeben, von denen das eine bläulich, das andere gelblich befunden wird. Die zwischen diesen beiden Mengen liegende Quantität ist gerade nötig zur Reduction von 50 ccm Fehling'scher Flüssigkeit, enthält also 0,2375 g Glukose. Unter Berücksichtigung der Verdünnung lässt sich leicht der Procentgehalt des Harns an Zucker berechnen.

Titration mit Fehling'scher Lösung bei sehr geringem Zuckergehalt.

Ausführung bei sehr geringem Zuckergehalt. Man verfährt zunächst wie in § 575 angegeben, verdunstet dann das alkoholische Filtrat des Schwefelbleiniederschlags auf dem Wasserbade bei schwach essigsaurer Reaction zum Syrup, löst den Rückstand in Wasser, misst das Volumen der Lösung und giesst sie in eine Bürette. Andererseits verdünnt man 10 ccm Fehling'scher Lösung mit 40 ccm Wasser, bringt von dieser Mischung 5 oder 10 ccm genau abgemessen in eine Schale oder einen Kolben und titriert, wie oben angegeben, bis zur völligen Entfärbung.

Ein Verfahrung zur Bestimmung kleinster Zuckermengen im Harn, welches auf Entfernung der stickstoffhaltigen Substanzen durch Fällung mit Mercurinitrat beruht, ist von Schöndorff[2]) angegeben worden.

Titration nach Pavy.

b) nach Pavy. Dieses Verfahren in der von Kumagawa u. Suto[3]) vorgeschlagenen Form ist sehr zu empfehlen und bei Harnen mit geringem

1) Soxhlet, J. pr. Ch. N. F. **21**. 227, 289. (1880.)
2) Pfl. A. **121**. 602. (1908.)
3) Salkowski-Festschrift. Berlin. Hirschwald. 1904. S. 211.
Kinoshita, B. Z. **9**. 208. (1908.)

Zuckergehalt dem Fehling'schen vorzuziehen, da es auch in diesen Fällen, in denen es bei der Titration nach Fehling oft zu keiner ordentlichen Abscheidung des Kupferoxyduls kommt, ein gutes Erkennen der Endreaction gestattet. Nach Kumagawa u. Suto kann man bei einem Harn mit etwa 1 pCt. Zucker die Endreaction noch scharf erkennen.

Princip. Die Methode beruht ebenfalls auf der Trommer'schen Probe. Ein Zusatz von Ammoniak zur Fehling'schen Flüssigkeit hält aber das gebildete Kupferoxydul dauernd in Lösung, so dass die Beurteilung der Endreaction (Verschwinden der blauen Farbe) nicht gestört wird.

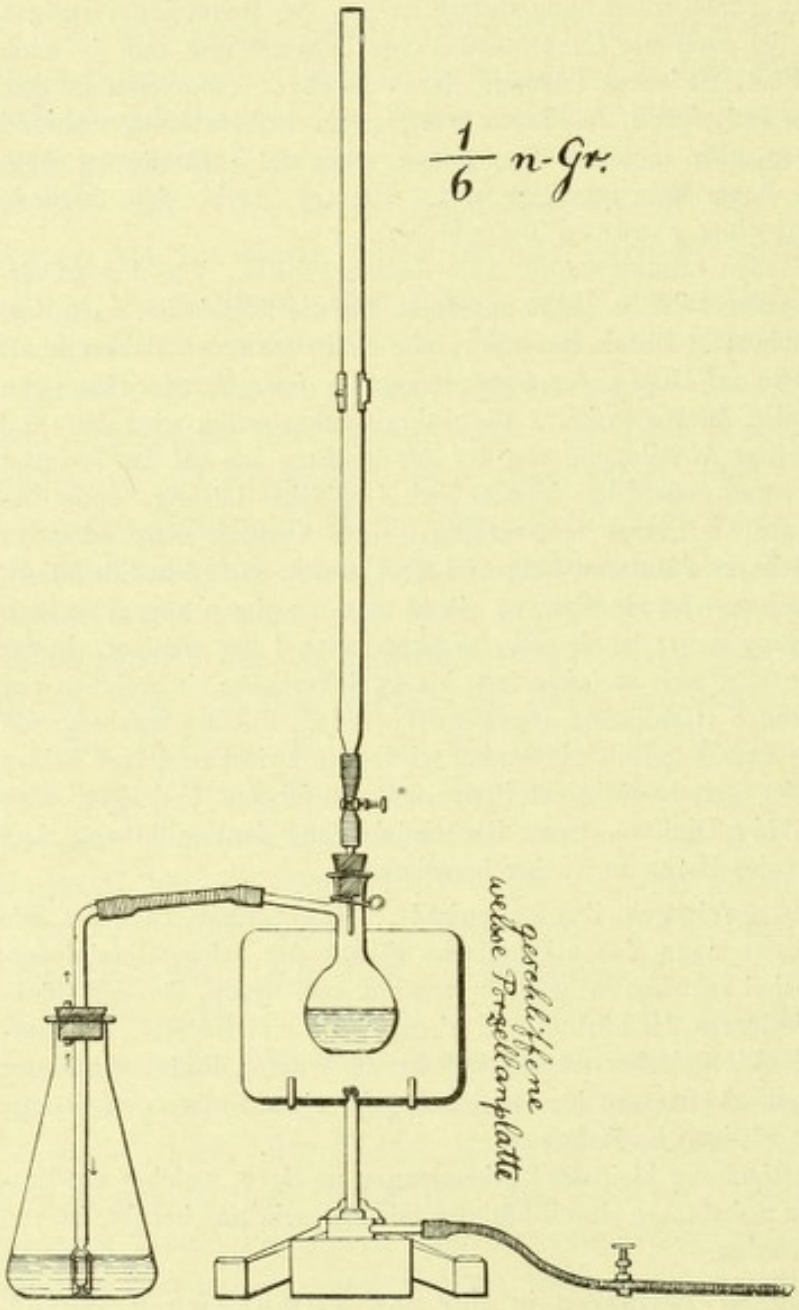


Fig. 13.

Lösungen und Apparat. 1. Eine Kupfersulfatlösung, welche in 1 Liter 4,278 g krystallisiertes Kupfersulfat enthält. 20 ccm dieser Lösung entsprechen 0,01 g wasserfreiem Traubenzucker. 2. Eine Lösung, welche in 1 Liter 21 g Seignettesalz, 21 g Aetzkali und 300 ccm concentriertes Ammoniak (spec. Gewicht 0,880) enthält. 3. Der in Figur 13 dargestellte Apparat. Der Erlenmeyer'sche Kolben enthält ca. 50 ccm conc. Schwefelsäure, 100 ccm Wasser und 1 bis 2 ccm 10 proc. Kupfersulfatlösung. Die Schwefelsäure soll das aus dem Titrationskolben entweichende Ammoniak festhalten, das Kupfersulfat durch den Farbenumschlag anzeigen, wenn die Schwefelsäure neutralisiert ist. Die Menge Schwefelsäure reicht für etwa 30 Bestimmungen aus. Das in die Flüssigkeit eintauchende Glasrohr ist unten mit einem Glasventil versehen, welches das Zurücktreten der Flüssigkeit in den Titrationskolben verhindert. Der Brenner, ein Mikrobrenner, ist mit seiner Oeffnung $1^1/_2$ ccm von dem Boden des Kolbens entfernt und mit einer Kappe aus grobmaschigem Drahtnetz versehen, um ein Zurückschlagen zu verhindern.

Ausführung. In den Kolben bringt man je 20 ccm der beiden Lösungen, in die Bürette den durch Verdünnen mit Wasser auf etwa 0,2 pCt. Zuckergehalt gebrachten Harn*). Man erhitzt jetzt, kocht einige Secunden mit der vollen Flamme des Brenners, bis in der Schwefelsäure keine Blasen mehr aufsteigen und erhält nun mit ganz kleiner (etwa bohnengrosser) Flamme die Flüssigkeit in fortdauerndem schwachen Sieden. Nun lässt man aus der Bürette den Zuckerharn zufliessen, u. z. 2 bis 3 ccm in der Minute, bis die blaue Farbe fast verschwindet, wartet etwa 2 Minuten, lässt 0,05—0,1 ccm zulaufen, wartet wieder 2 Minuten und so fort, bis eine grünliche Farbe eben verschwindet. Entfärbung bildet die Endreaction, ein gelblicher Farbenton zeigt an, dass zuviel Zuckerharn eingebracht ist. Eine rötlichgelbe Farbe, schon vor der Endreaction, bedingt durch sich abscheidendes Kupferoxydul, tritt nur dann ein, wenn durch fehlerhaftes zu starkes Kochen zuviel Ammoniak entwichen ist. Bei Benutzung der vorgeschriebenen kleinen Flamme kann das Kochen ohne Befürchtung einer Kupferoxydulausscheidung bis zu 30 Min. fortgesetzt werden.

Berechnung. 20 ccm der Kupferlösung entsprechen 0,01 g Traubenzucker. Bei der Berechnung des Procentgehaltes ist natürlich die Verdünnung zu berücksichtigen.

c) nach Bang[1]). Titration nach Bang.

Princip. Der Harn wird mit einer bestimmten, aber überschüssigen Menge einer Kaliumcarbonat und Kaliumrhodanid enthaltenden Kupferlösung von bekanntem Kupfergehalt versetzt und gekocht. Das gebildete Kupferrhodanür (CuCNS) bleibt als farblose Verbindung in Lösung. Die Flüssigkeit bleibt blau. Ihr Kupferoxydgehalt wird durch Titration mit einer Hydroxylaminlösung von bekanntem Gehalt, welche man bis zum Verschwinden der blauen Farbe zusetzt, bestimmt. Die verbrauchten Cubikcentimeter Hydroxylaminlösung geben die Zuckermenge an.

Lösungen. 1. 500 g Kaliumcarbonat, 400 g Kaliumrhodanid und 100 g Kaliumbicarbonat werden unter Erwärmen auf 50—60° in etwa 1200 ccm Wasser in einem 2 Liter Masskolben gelöst. Nach Abkühlung bis auf Zimmertemperatur fügt man langsam eine gleichfalls abgekühlte Lösung von 25 g reinem krystallisierten Kupfersulfat in etwa 150 ccm Wasser hinzu, spült nach, füllt bis zur Marke auf und filtriert nach 24 Stunden.

2. 200 g Kaliumrhodanid werden in einem 2 Liter Masskolben in etwa 1500 ccm Wasser gelöst. Man fügt eine Lösung von 6,55 g reinem Hydroxylaminsulfat in Wasser hinzu, spült mit Wasser nach und füllt bis zur Marke mit Wasser auf.

Beide Lösungen sind dauernd haltbar. 1 ccm der Hydroxylaminlösung entfärbt 1 ccm Kupferlösung.

---

*) Die dazu nötige Wassermenge ermittelt man durch vorangehende orientierende Titrationen mit dem unverdünnten oder mit gemessener Wassermenge verdünnten Harn. Bei einem Zuckergehalt von nur etwa 1 pCt. verdünnt man mit der 5—10fachen Menge Wasser. Bei noch geringerem Zuckergehalt ist es zweckmässig, den Harn zunächst mit Bleiacetat zu entfärben.

1) B. k. W. 1907. S. 216. u. B. Z. 2. 271. (1907.)

Ausführung. Die Menge des für die Titration zu benutzenden Harns richtet sich nach dem Zuckergehalt. Von einem weniger als 0,6 pCt. Zucker enthaltenden nimmt man 10 ccm, von einem zuckerreicheren (je nach dem Zuckergehalt) 5 oder nur 2 ccm. (Ein mehr als 3 pCt. Zucker enthaltender Harn ist zunächst mit gemessenen Mengen Wasser zu verdünnen.) In jedem Fall muss die Menge der für die Titration zu benutzenden Flüssigkeit 10 ccm betragen, so dass 5 ccm Harn mit 5 ccm Wasser, 2 ccm Harn mit 8 ccm Wasser zu versetzen sind. Eine Entfernung etwa vorhandenen Eiweisses ist unnötig.

10 ccm werden in einen Kolben von ca. 200 ccm Inhalt gebracht, nach Hinzufügen von 50 ccm Kupferlösung auf einem Drahtnetz zum Sieden erhitzt und genau 3 Minuten im Kochen erhalten. Die Flüssigkeit muss noch blau sein, andernfalls ist die Bestimmung mit weniger Harn zu wiederholen. Jetzt kühlt man rasch unter der Wasserleitung auf Zimmertemperatur ab und lässt aus einer Bürette Hydroxylaminlösung bis zum Verschwinden der blauen Farbe zufliessen. Der Eigenfarbe des Harns wegen wird bei zuckerarmen Harnen die Flüssigkeit nicht farblos, sondern gelb. Das erschwert das scharfe Erkennen der Endreaction, so dass man sich unter Umständen mit einer Fehlergrenze von etwa 0,5 ccm Hydroxylaminlösung begnügen muss. Je reicher an Zucker der Harn ist und je weniger Harn infolgedessen zur Bestimmung genommen zu werden braucht, umsoweniger wird die Eigenfarbe stören. Bei einem Zuckergehalt von 1—2 pCt. oder mehr bemerkt man kaum die Gelbfärbung.

Berechnung. Untenstehende Tabelle gibt die den verbrauchten Cubikcentimetern Hydroxylaminlösung entsprechende Zuckermenge in Milligrammen an. Die Berechnung des Procentgehaltes unter Berücksichtigung der Verdünnung ist einfach.

44 ccm	Hydroxylaminlösung	4,9 mg	Zucker	22 ccm	Hydroxylaminlösung	27,7 mg	Zucker
43 „	„	5,8 „	„	21 „	„	29,0 „	„
42 „	„	6,7 „	„	20 „	„	30,2 „	„
41 „	„	7,6 „	„	19 „	„	31,4 „	„
40 „	„	8,5 „	„	18 „	„	32,6 „	„
39 „	„	9,4 „	„	17 „	„	33,9 „	„
38 „	„	10,4 „	„	16 „	„	35,1 „	„
37 „	„	11,4 „	„	15 „	„	36,4 „	„
36 „	„	12,4 „	„	14 „	„	37,7 „	„
35 „	„	13,4 „	„	13 „	„	39,0 „	„
34 „	„	14,4 „	„	12 „	„	40,4 „	„
33 „	„	15,4 „	„	11 „	„	41,8 „	„
32 „	„	16,5 „	„	10 „	„	43,3 „	„
31 „	„	17,5 „	„	9 „	„	44,7 „	„
30 „	„	18,6 „	„	8 „	„	46,3 „	„
29 „	„	19,6 „	„	7 „	„	48,0 „	„
28 „	„	20,7 „	„	6 „	„	49,8 „	„
27 „	„	21,8 „	„	5 „	„	51,6 „	„
26 „	„	22,9 „	„	4 „	„	53,4 „	„
25 „	„	24,1 „	„	3 „	„	55,0 „	„
24 „	„	25,2 „	„	2 „	„	57,3 „	„
23 „	„	26,5 „	„	1 „	„	59,4 „	„

d) nach Knapp[1]).

Titration nach Knapp.

Princip. Die Methode beruht darauf, dass Cyanquecksilber in alkalischer Lösung durch Traubenzucker reduciert wird.

Herstellung der Knapp'schen Lösung. Man löst 10 g trockenes Cyanquecksilber in Wasser, fügt 100 ccm Natronlauge (1,145 spec. Gew.) hinzu und füllt mit Wasser auf 1 Liter auf. Unter den unten beschriebenen Bedingungen entsprechen 40 ccm dieser Lösung 0,1 g Traubenzucker.

Ausführung. Man misst 40 ccm der Lösung in eine Porcellanschale, fügt das 3 bis 4fache Volum Wasser hinzu, erhitzt zum Sieden und lässt den eiweissfreien (§ 527) und in der unter a angegebenen Weise verdünnten Harn aus einer Bürette sehr langsam, und indem man immer wieder zum Kochen erhitzt, zufliessen bis zur Endreaction. Diese besteht darin, dass ein Stückchen Filtrierpapier, auf das man mit einer Capillare einen kleinen Tropfen der Flüssigkeit gebracht hat, sich eben nicht mehr gelblich färbt, wenn man es zuerst über rauchende Salzsäure und dann über starkes Schwefelwasserstoffwasser hält. Die Berechnung ist einfach.

Nach Hoppe-Seyler's Versuchen mit menschlichem Harn ist diese Titrierung weniger genau als die mit Fehling'scher Lösung. Auch Salkowski empfiehlt diese Methode nicht.

577. **Bestimmung durch Gärung.** a) Durch volumetrische Messung der Kohlensäure. Unter den für diesen Zweck empfohlenen Gärungssaccharimetern ist besonders der Lohnstein'sche Apparat[2]) in der verbesserten Form von Wagner[3]), das sog. Gärungs-Saccharo-Manometer, zu nennen.

Bestimmung durch volumetrische Messung der Kohlensäure.

b) Durch die Abnahme des specifischen Gewichts nach Roberts[4]). Zur Bestimmung dienen sehr genaue Aräometer (4 Decimalstellen), z. B. das von Lohnstein angegebene. Man kocht den eiweissfreien Harn einige Minuten, fügt, falls die Reaction nicht sauer ist, Weinsäure bis zur schwachsauren Reaction hinzu, kocht in diesem Falle nochmals auf, um Kohlensäure zu entfernen, zerreibt ihn nach Abkühlung auf Zimmertemperatur mit 10 pCt. reiner Hefe und misst das specifische Gewicht. Nach 6stündigem Stehen in einem mit Wattebausch verschlossenen Gefäss bei 34—36° ist nach Victorow[5]) die Gärung beendet. Jetzt bringt man die zu Boden gesunkene Hefe wieder in Suspension und misst abermals das specifische Gewicht bei annähernd derselben Temperatur, bei der die erste Bestimmung geschah. Die Differenz der specifischen Gewichte multipliciert mit dem Factor 234 gibt den Zuckergehalt des Harns in Procenten an. Die Reaction muss auch nach Beendigung der Gärung sauer sein. Ist sie alkalisch, so ist die Bestimmung unbrauchbar.

Bestimmung durch Abnahme des specifischen Gewichts.

---

1) A. **154**. 252. (1870.)
Worm-Müller, J. f. pr. Ch. N. F. **26**. 78, 87. (1882.)
2) Allgem. med. Centralztg. 1899. No. 101.
3) M. m. W. 1905. S. 2327.
4) Edinburgh med. Journ. 1861.
Lohnstein, Pfl. A. **59**. 479. (1895.), **62**. 82. (1896.)
5) Pfl. A. **118**. 583. (1907.)

Bestimmung der Kohlensäure als Gewichtsverlust.

c) Durch Bestimmung der Kohlensäure als Gewichtsverlust. Hierfür eignet sich der von Will und Fresenius zur Kohlensäurebestimmung empfohlene, in Fig. 14 abgebildete Apparat. Die beiden Kolben müssen möglichst klein und leicht sein. Man bringt in den Kolben *C*, welcher gut gereinigt sein muss, mit einer Pipette 20 ccm frischen eiweissfreien (vorher einige Minuten gekochten und nach dem Abkühlen wieder auf das ursprüngliche Volum gebrachten) Harn, fügt, falls er nicht sauer reagiert, Weinsäure bis zur schwach sauren Reaction hinzu (kocht in diesem Fall nochmals auf um Kohlensäure zu entfernen) und darauf nach dem Abkühlen etwa 10 pCt. frische mit Wasser geschlemmte Hefe, in den Kolben *D* concentrierte Schwefelsäure, setzt dann die Stopfen auf beide Kolben luftdicht auf, verschliesst auch die Oeffnung des Röhrchens *a* mit einem Stöpfchen *b* und wägt nun den ganzen so gefüllten Apparat. Nach kurzer Zeit wird sich beim Stehen bei gewöhnlicher Temperatur der Eintritt der Gärung dadurch bemerklich machen, dass einzelne Luftbläschen in dem Kolben *C* an die Oberfläche der Flüssigkeit steigen, dann werden auch grössere Luftblasen bald durch die Schwefelsäure im Kolben *D* streichen; diese Entwickelung wird immer stürmischer im

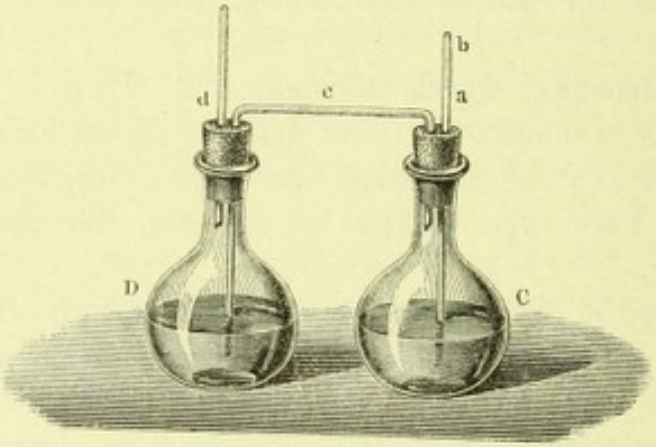


Fig. 14.

Verlaufe einiger Stunden, nach Victorow ist die Gärung bei 34—36° nach 6 Stunden beendet. Das Ende der Gärung erkennt man daran, dass die Flüssigkeit über der sich zu Boden setzenden Hefe klar wird und dass keine Gasblasen mehr entweichen. Man saugt dann, nachdem das Stöpfchen *b* entfernt ist, am Röhrchen *d* so lange Luft durch den Apparat, bis man sicher ist, dass alle Kohlensäure, die sich noch in dem Kolben befand, durch atmosphärische Luft ausgetrieben ist, setzt das Stöpfchen *b* wieder auf und wägt den Apparat abermals. Zum Schluss ist der Harn auf seine Reaction zu prüfen. Reagiert er alkalisch, so ist die Bestimmung unbrauchbar. Durch Subtraction des gefundenen Gewichts von dem des Apparats vor der Gärung erhält man das Gewicht der entwichenen Kohlensäure und dies multipliciert mit 2,046 gibt das Gewicht des in 20ccm Harn enthaltenen Zuckers.

Nachweis des Fruchtzuckers im Harne.

578. Ein fruchtzuckerhaltiger Harn gibt die Trommer'sche, Boettger'sche, die Phenylhydrazin- und Gärungsprobe (§ 574) ebenso wie ein traubenzuckerhaltiger. Er dreht aber links, falls nicht gleichzeitig vorhandener Traubenzucker oder Milchzucker die Linksdrehung aufhebt. Zur Unterscheidung von Traubenzucker und Milchzucker soll die

Reaction von Seliwanoff dienen. Indessen bedarf die Brauchbarkeit dieser Probe, welche nach Borchardt[1]) am besten in folgender Weise ausgeführt wird, weiterer Bestätigung. Einige Cubikcentimeter Harn werden im Reagensglas mit der gleichen Menge 25 proc. Salzsäure und einigen Körnchen Resorcin einmal kurz aufgekocht. Tritt Rotfärbung ein, so kühlt man unter der Wasserleitung, giesst die Flüssigkeit in eine Schale oder ein Becherglas, macht mit Soda in Substanz alkalisch, giesst in das Reagensglas zurück und schüttelt mit Essigäther aus. Bei Anwesenheit von Fruchtzucker färbt sich der Essigäther gelb. Da bei gleichzeitiger Anwesenheit von Nitriten und Indikan die Reaction auch bei fehlendem Fruchtzucker positiv ausfällt, so muss man vor Anstellung der Probe etwa vorhandene salpetrige Säure durch Kochen (1 Minute lang) des mit Essigsäure angesäuerten Harns entfernen. Bei sehr reichlichem Indikangehalt geht zuweilen ein blauer Farbstoff in den Essigäther über, welcher die gelbe Farbe verdeckt. In diesem Fall entfernt man das Indikan, indem man eine Mischung gleicher Teile von Harn und Obermayer's Reagens (S. 597) mehrmals mit Chloroform ausschüttelt. Nach Abgiessen des Chloroforms fügt man $^1/_3$ Vol. Wasser hinzu, dann einige Körnchen Resorcin und verfährt weiter wie oben angegeben.

Anwesenheit von Urorosein stört ebenfalls, indem ein rotvioletter Farbstoff in den Essigäther übergeht, welcher das Erkennen der gelben Farbe hindert.

Neuberg u. Strauss[2]) empfehlen zum Nachweis und zur Isolierung des Fruchtzuckers seine Ueberführung in das Methylphenylosazon, dessen unter bestimmten Bedingungen vor sich gehende Abscheidung nach ihnen für Fruchtzucker charakteristisch ist (S. 112). Ueber die Ausführung des Verfahrens siehe die Originalarbeit.

Nachweis des Milchzuckers im Harne.

579. Ein milchzuckerhaltiger Harn verhält sich der Trommer'schen und Boettger'schen Probe (§ 574) gegenüber wie ein traubenzuckerhaltiger und zeigt ebenfalls Rechtsdrehung. Zur Unterscheidung des Milchzuckers von Traubenzucker dient die Rubner'sche Probe welche in der S. 603 angegebenen Weise ausgeführt keine Rotfärbung, sondern nur Gelb- bis Braunfärbung gibt. Ferner verschwindet in einem Harne, welcher Milchzucker enthält, das Reductionsvermögen nicht durch gewöhnliche Bierhefe. Es ist indessen nötig, für diesen Zweck eine Reincultur von Hefe zu verwenden und den Harn vorher zu sterilisieren, damit nicht andere Mikroorganismen den Milchzucker zerstören. Man kann auch den Nachweis mit Hülfe des Osazons führen (Langstein u. Steinitz[3]), oder durch Ueberführung des Milchzuckers in Schleimsäure durch Salpetersäure (Bauer[4], Langstein u. Steinitz[3]). Im letzteren Fall muss man sich vor einer Verwechselung mit Galactose hüten, welche im Harn von schwer magenkranken Säuglingen neben Milchzucker vorkommen kann.

Nachweis der Arabinose (Harnpentose) im Harne.

580. Ein Harn, welcher Pentose enthält, gibt die Trommer'sche und Boettger'sche Probe (§ 574). Bei der Trommer'schen Probe tritt

1) H.-S. **55**. 241. (1908.)
2) H.-S. **36**. 227. (1902.), Neuberg, H.-S. **45**. 500. (1905.)
3) B. Ph. P. **7**. 575. (1906.) 4) H.-S. **51**. 158. (1907.)

die Reduction meist erst beim längeren Sieden schussweise auf. Er gärt nicht und ist inactiv.

Luzzato[1]) beobachtete einen Fall von Pentosurie, bei dem der eingeengte Harn eine schwache Rechtsdrehung zeigte; die isolierte Pentose erwies sich als l-Arabinose. Gewöhnlich scheint es sich um i-Arabinose zu handeln (§ 109).

Zum speciellen Nachweis dient 1. das Osazon (i-Arabinosazon), welches weit löslicher ist als das Glukosazon und in reinem Zustande bei 166—167° schmilzt (§ 109). Aber auch ein niederer Schmelzpunkt (etwa bei 156°) des direct aus dem Harn erhaltenen möglichst gereinigten Osazons ist noch für die Harnpentose charakteristisch. Zur Reinigung empfiehlt es sich, das Osazon in wenig Pyridin zu lösen, zu filtrieren und das Filtrat mit viel Wasser (dem tausend- bis zweitausendfachen Volumen) zu verdünnen. Dabei krystallisiert das Osazon aus.

2. Die Orcin-Salzsäurereaction (S. 127) und zwar in einer der beiden folgenden Ausführungen, von denen die von Bial angegebene die grössere Sicherheit vor Verwechselung mit gepaarter Glukuronsäure bietet.

a) Beim Erhitzen von etwa 5 ccm Harn mit dem gleichen Volumen conc. Salzsäure und etwas Orcin tritt, nachdem vielleicht vorübergehend rötlichblaue Färbung aufgetreten ist, bald grünliche Färbung ein. Kühlt man nun, sobald beim Erhitzen Trübung eingetreten ist, bis zur Lauwärme ab und schüttelt alsbald gelinde mit Amylalkohol, so nimmt dieser eine gesättigte grüne Farbe an und zeigt den Spectralstreifen zwischen C und D nahe an D.

b) Nach Bial[2]). Man benutzt ein Reagens, welches aus 500 ccm 30 proc. Salzsäure, 1 g Orcin und 25 Tropfen Liquor ferri sesquichlorati besteht und in dunkler Flasche aufzubewahren ist. Von diesem Reagens erhitzt man 4—5 ccm zum Sieden und lässt nach Entfernen der Flamme einige Tropfen, höchstens 1 ccm Harn zufliessen. Es tritt sofort oder sehr rasch Grünfärbung auf.

Eine von A. Neumann[3]) angegebene Modification der Orcinprobe gestattet ebenalls eine gute Unterscheidung der Pentose (Arabinose) von Traubenzucker und Glukuronfäure. Man führt sie in folgender Weise aus: 10 Tropfen der Lösung werden in einem Reagensglas mit 5 ccm 99proc. Eisessig und einigen Tropfen einer 5proc. alkoholischen Orcinlösung versetzt und nach Umschütteln bis zum völligen Sieden erhitzt. Während das Reagensglas im Halter gehalten wird, setzt man dann tropfenweise unter Umschütteln concentrierte Schwefelsäure zu: es tritt Rotviolettfärbung auf, sowie im Spectrum ein Streifen violettwärts von D, welcher Gelb und Gelbgrün bedeckt. Die Färbung ändert sich nicht bei nachträglichem Wasserzusatz.

Ueber den Ausfall dieser Reaction bei Pentosurieharnen liegen noch keine Mitteilungen vor. Vergl. Sachs[4]).

Die Phloroglucin-Salzsäurereaction (S. 127) ist zum Nachweis der Harnpentose ungeeignet, da auch gepaarte Glukuronsäuren sie geben. Zur Unter-

---

1) B. Ph. P. **6**. 87. (1905.)
2) D. m. W. 1903. S. 477.
3) B. k. W. 1904. S. 1073.
4) B. Z. **1**. 393. (1906.)

scheidung von Pentosen und Glukuronsäuren (siehe indessen § 581) ist auch die Tollens'sche Reaction (S. 133) geeignet, welche von den Pentosen nicht gegeben wird.

Durch gleichzeitige Anwesenheit von Traubenzucker wird die Phloroglucin-Salzsäurereaction gestört, die Orcin-Salzsäurereaction nur unerheblich (Salkowski[1]). Um in einem solchen Fall das Arabinosazon vom Glukosazon zu trennen, empfiehlt sich die häufig wiederholte Behandlung des mit kaltem Wasser gewaschenen Osazongemenges mit grossen Mengen Wasser von 60°. Das Arabinosazon löst sich, scheidet sich beim Erkalten ab und wird durch Wiederholung dieser Behandlung weiter gereinigt (Külz und Vogel[2]). Eine Entfernung des Traubenzuckers durch Hefegärung (wenigstens durch gewöhnliche nicht ganz reine Hefe) ist unzweckmässig, da hierbei wenigstens kleine Mengen der Pentose (offenbar durch der Hefe beigemengte Bacterien) verschwinden können.

Ueber eine quantitative Bestimmung der Arabinose, welche auf ihrer Abscheidung als Diphenylhydrazon beruht, siehe Neuberg u. Wohlgemuth[3]).

Nachweis der gepaarten Glukuronsäuren im Harne.

581. Ueber den Nachweis siehe S. 343. In betreff der dort angegebenen Reaction von Tollens[4]) (S. 133) ist zu bemerken, dass sie nach neueren Beobachtungen von Mandel und Neuberg[5]) nicht eindeutig ist, insofern auch andere Substanzen, darunter solche, deren Vorkommen im Harn nicht ausgeschlossen ist, diese oder eine ganz ähnliche Reaction zeigen.

In bezug auf ihre Ausführung ist dem S. 133 Gesagten hinzuzufügen, dass man 5 ccm Harn nimmt und dass die Abtrennung der Aetherschicht von einer gallertigen Zwischenschicht durch Zusatz einiger Tropfen Alkohol beschleunigt werden kann.

Ueber Versuche zur quantitativen Bestimmung siehe Neuberg u. Neimann[6]).

Annähernde Bestimmung der Gesamtkohlehydrate im Harne nach v. Udránszky[7]).

582. Diese Bestimmung beruht auf der § 98, 9 beschriebenen α-Naphtholreaction. Man stellt Traubenzuckerlösungen her von bekanntem Gehalt (0,1, 0,06, 0,05 usw. bis 0,01 pCt.), versetzt je 1 Tropfen dieser Lösungen in der a. a. O. angegebenen Weise mit 1 Tropfen α-Naphthollösung, $^1/_2$ ccm Wasser und 1 ccm conc. Schwefelsäure und erhält so eine Farbenskala. Ferner bereitet man sich in derselben Weise Proben mit einem Tropfen des mit gemessener Menge Wassers verdünnten eiweissfreien Harns, vergleicht die entstehende Farbe mit der Farbenskala und setzt das Verdünnen mit Wasser so lange fort, bis man eine Harnprobe hat, deren Mischfarbe genau oder möglichst genau der Mischfarbe einer der Zuckerlösungsproben entspricht. Man hat nun den Procentgehalt dieser Lösung mit der Zahl zu multiplicieren, welche angibt, auf das Wievielfache seines Volumens der Harn verdünnt war, um den Procentgehalt des untersuchten Harns an Kohlehydraten — bezogen auf Traubenzucker — zu finden.

---

1) H.-S. **27**. 523. (1899.)
2) Z. f. B. **32**. 185. (1895.)
3) H.-S. **35**. 37. (1902.)
4) B. **41**. 1788. (1908.), C. Tollens, H.-S. **56**. 115. (1908.)
5) B. Z. **13**. 148. (1908.)
6) H.-S. **44**. 127. (1905.)
7) Vergl. Treupel, H.-S. **16**. 55. (1892.)

Es ist darauf zu achten, dass die Reagensgläser vollständig rein und frei von Papier, Staub, Baumwollfasern sind, und ebenso, dass die Reagentien ganz rein sind. Beim Zusammenbringen von 1 Tropfen α-Naphthollösung, $^1/_2$ ccm Wasser und 1 ccm der zu benutzenden conc. Schwefelsäure darf nach dem Umschütteln die grüngelbe oder gelbe Farbe keinen rötlichen oder violetten Schimmer annehmen.

Nachweis und Bestimmung von Aceton und Acetessigsäure im Harne.

Nachweis von Aceton.

583. Nachweis von Aceton

a) bei Abwesenheit von Acetessigsäure.

1. Probe von Legal. Man versetzt den Harn mit etwas frisch bereiteter Lösung von Nitroprussidnatrium und Natronlauge, wartet bis die dabei auftretende Rotfärbung abgeblasst ist und übersättigt mit Essigsäure: Purpur- bis Carminfarbe zeigt Aceton an, während die Rotfärbung auf Zusatz von Nitroprussidnatrium und Natronlauge auch von Kreatinin gegeben wird und deshalb in jedem Harn auftritt.

2. Probe von Penzoldt. Man löst etwas o-Nitrobenzaldehyd in heissem Wasser, lässt erkalten und fügt den Harn und Natronlauge hinzu. Die Flüssigkeit wird gelb, grün und dann scheidet sich Indigo ab, welcher sich mit blauer Farbe in Chloroform löst.

Beide Proben sind nicht sehr empfindlich. Zum Nachweis kleiner Mengen empfiehlt es sich, den Harn zunächst in der S. 86 angegebenen Weise zu destillieren und das Destillat mit obigen Reactionen oder nach S. 87 zu prüfen.

b) bei Anwesenheit von Acetessigsäure.

Man schüttelt den schwach alkalisch gemachten Harn vorsichtig mit reinem (alkohol- und acetonfreiem) Aether, die abgetrennte ätherische Lösung mit Wasser und stellt nun mit der wässerigen Lösung die Reactionen auf Aceton (S. 87) an.

Nachweis von Acetessigsäure.

Nachweis von Acetessigsäure.

1. Probe von Gerhardt. Weinrote Färbung auf tropfenweisen Zusatz von Eisenchlorid. Deutlicher tritt die Färbung hervor, wenn man den auf Zusatz weniger Tropfen Eisenchlorid entstehenden Niederschlag von Eisenphosphat zunächst abfiltriert und das Filtrat für die Reaction benutzt. Die Färbung verschwindet allmählich. 0,4—0,5 pM. lassen sich im Harn noch nachweisen.

Eine ähnliche Färbung mit Eisenchlorid geben Phenol, Salicylsäure, Stoffwechselproducte des Antipyrin (vergl. v. Jacksch, Ueber Acetonurie und Diaceturie, Berlin 1885). Vor Verwechselung mit diesen Körpern schützt die weinrote Färbung sowie der Umstand, dass bei Anwesenheit von Acetessigsäure die Färbung sofort auftritt und allmählich verblasst, sowie dass die Acetessigsäurereaction im gekochten Harn nicht mehr auftritt.

2. Probe von Arnold[1])-Lipliawsky[2]). Sie ist sehr viel empfindlicher und wird nicht gestört durch Anwesenheit von Salicylsäure und anderen Medicamenten.

---

1) W. k. W. 1899. S. 541 u. C. f. inn. M. 1900. S. 417.

2) D. m. W. 1901. S. 151., Allard, B. k. W. 1901. S. 985.

Erforderliche Lösungen. 1. eine frisch bereitete 1proc. Lösung von p-Amidoacetophenon, der zur leichteren Lösung auf 100 ccm 2 ccm conc. Salzsäure zugefügt sind. 2. eine 1proc. Kaliumnitritlösung.

6 ccm der 1. Lösung und 3 ccm der 2. Lösung werden mit dem gleichen Volumen Harn versetzt, ein Tropfen conc. Ammoniak wird hinzugefügt und stark geschüttelt, wobei eine ziegelrote Färbung entsteht. Von dieser Mischung nimmt man — je nach dem Gehalt des Harns an Acetessigsäure — 10 Tropfen bis 2 ccm, setzt etwa 15—20 ccm Salzsäure (spec. Gew. 1,19), 3 ccm Chloroform und 2—4 Tropfen Eisenchloridlösung hinzu und lässt nun die Mischung $^1/_2$—1 Minute oder noch länger langsam durcheinanderlaufen (nicht schütteln). Bei Anwesenheit von Acetessigsäure färbt sich das Chloroform violett bis marineblau (die Farbe ist lichtbeständig und dauernd haltbar), bei Abwesenheit nur gelblich oder schwach rötlich. 0,04 pM. Acetessigsäure im Harn lassen sich noch nachweisen.

584. 1. Bestimmung von Aceton (+ Acetessigsäure). Bei gleichzeitiger Anwesenheit von Acetessigsäure wird diese ebenfalls als Aceton mitbestimmt. Bestimmung von Aceton (+ Acetessigsäure):

a) nach Huppert-Messinger[1]). nach Huppert-Messinger.

Princip. Titrimetrische Bestimmung der Menge Jod, welche erforderlich ist, das durch Destillation aus dem Harne abgeschiedene Aceton in Jodoform überzuführen.

Erforderliche Lösungen. 1. 50 proc. Essigsäure. 2. $^n/_{10}$ Jodlösung und $^n/_{10}$ Thiosulfatlösung (§ 20).

Ausführung. 500 ccm normal saurer*) Harn (von Fieberharn 100 ccm, von acetonreicherem Harn noch weniger) werden mit Essigsäure (auf 100 ccm Harn 2 ccm 50 proc. Essigsäure) versetzt und bis auf $^1/_{10}$ des Volumens abdestilliert. (Ein so starkes Einengen ist aber nur bei zuckerfreiem Harn zulässig. Bei zuckerhaltigem muss man durch Zutropfen von Wasser aus einem Scheidetrichter eine so starke Concentration verhindern, da andernfalls aus dem Zucker jodoformbildende Substanz entsteht (Borchardt[2]). Das Destillat wird in einer mit doppelt durchbohrtem Kork versehenen und mit Eis gekühlten Vorlage aufgefangen. Mittelst der einen Bohrung ist die Vorlage am Kühler befestigt, mittelst der andern mit einem mit Wasser gefüllten Kugelapparat verbunden. Destillat und vorgelegtes Wasser werden vereinigt, zur Entfernung von salpetriger Säure und Ameisensäure mit Calciumcarbonat in einem Kolben ordentlich geschüttelt und in gleicher Weise wieder destilliert. Das nun erhaltene Destillat und vorgelegte Wasser werden mit 1 ccm achtfach verdünnter Schwefelsäure versetzt und abermals in gleicher Weise der Destillation unterworfen. Das neue Destillat bringt man in eine Flasche mit gut eingeriebenem Glasstöpsel, die so gross sein muss, dass sie vom Destillat, den Spülwässern und den hinzuzufügenden Reagentien nur bis zu $^1/_3$ gefüllt wird, fügt einen grossen

*) Alkalischer Harn wird durch Zusatz von Essigsäure zunächst auf die normale Acidität gebracht.

1) Huppert, Analyse des Harns. 1898. S. 760.

2) B. Ph. P. 8. 62. (1906.)

Ueberschuss abgemessener Menge $^n/_{10}$ Jodlösung hinzu, schwenkt um, tropft starke nitritfreie Alkalilauge im Ueberschuss zu, verschliesst die Flasche, schüttelt $^1/_4$ Min. und lässt noch 5 Min. stehen. Jetzt wird der Stopfen in die Flasche abgespritzt, die Flüssigkeit mit conc. Salzsäure angesäuert und das Jod zurücktitriert. Zu dem Zweck lässt man $^n/_{10}$ Thiosulfatlösung aus der Bürette zufliessen, bis die Mischung nur noch schwach gelb ist, fügt einige Cubikcentimeter Stärkelösung zu und nun weiter Thiosulfatlösung bis zum Verschwinden der blauen Farbe. Ist die Grenze überschritten, so misst man noch etwas Jodlösung in die Flüssigkeit und titriert aufs neue zurück. 1 ccm $^n/_{10}$ Jodlösung entspricht 0,967 mg Aceton.

nach Van Ekenstein und Blanksma.

b) nach Van Ekenstein u. Blanksma[1]) nach der Vorschrift von S. Möller[2]).

Princip. Das durch Destillation isolierte Aceton wird als p-Nitrophenylhydrazon abgeschieden und gewogen.

Ausführung. Man destilliert 200 ccm Harn nach Zusatz von 5 ccm 33proc. Schwefelsäure und fängt das Destillat in eisgekühlter Vorlage, der noch eine Kugelvorlage vorgeschaltet ist, auf. Zu dem 100—120 ccm betragenden Destillat fügt man eine frische Lösung von 0,5—1,0 g p-Nitrophenylhydrazin in 5—10 ccm Eisessig, die mit der doppelten Menge Wasser verdünnt und, wenn nötig, filtriert ist. Alsbald beginnt die Abscheidung eines rein krystallinischen, hellgelben Niederschlags, welcher nach einer halben Stunde (längeres Warten ist unzulässig wegen Zersetzung des Reagens) auf einem gehärteten und gewogenen Filter abgesaugt wird. Trocknen bis zum constanten Gewicht unterhalb 80°. Das gefundene Gewicht multipliciert mit 0,3 ergibt die entsprechende Menge Aceton, zu der noch für 100 ccm der gefällten Lösung 0,0018 g Aceton addiert wird, um den durch die Löslichkeit des Hydrazons bedingten Fehler zu corrigieren.

Getrennte Bestimmung von Aceton und Acetessigsäure.

2. Getrennte Bestimmung von Aceton und Acetessigsäure.

a) nach Embden u. Schliep[3]).

Man macht mit 20 ccm ganz frischem Harn (bei sehr hohem Gehalt mit 10 ccm, bei sehr niedrigem mit einer grösseren Menge) eine Acetonbestimmung nach Huppert-Messinger (siehe 1, a) (Gesamtaceton). Eine gleich grosse Harnmenge wird in einem 2 Literrundkolben nach Zufügen von 130—150 ccm Wasser unter möglichst niedrigem Druck und bei einer Wasserbadtemperatur von nicht über 34—35° unter Benutzung einer Capillare destilliert, so dass mindestens 55—60 ccm übergehen. Dazu sind 30 bis 35 Min. erforderlich. Mit dem Destillationsrückstand wird nach Ueberführen in ein geeignetes Destillationsgefäss ebenfalls eine Acetonbestimmung nach

1) Ref. C. C. 1904. **I.** 14. u. 1905. **I.** 1277.
2) Z. f. k. M. **64.** 207. (1907.)
3) C. f. d. ges. Physiol. u. Pathol. des Stoffw. N. F. **2.** 250 u. 289. (1907.)

Huppert-Messinger ausgeführt (Aceton aus Acetessigsäure). Da bei der Vacuumdestillation geringe Mengen von Acetessigsäure gespalten werden, so sind die für Aceton aus Acetessigsäure erhaltenen Werte als Minimal-, die für präformiertes Aceton erhaltenen als Maximalwerte anzusehen.

b) nach Folin[1]). Folin gibt genaue Vorschriften für ein im Princip ähnliches Verfahren, in dem die Entfernung des Aceton durch einen Luftstrom bewirkt wird.

Nachweis und Bestimmung der β-Oxybuttersäure im Harne.

Nachweis.

585. Zum Nachweis dient folgendes Verfahren von E. Külz[2]). Man prüft den Harn zunächst mit Eisenchlorid auf Acetessigsäure (§ 583 b, 1.). Fällt die Reaction negativ aus, ist auch keine Oxybuttersäure vorhanden. Fällt sie positiv aus, wird der (event. vergorene) Harn mit Bleizuckerlösung geklärt und mit dem Polarisationsapparat geprüft. Zeigt sich Linksdrehung und wird dieselbe durch Bleiessig und Ammoniak nicht entfernt, so ist ein Gehalt von β-Oxybuttersäure wahrscheinlich. Man dampft dann eine grössere Portion des event. vergorenen Harns zum Syrup ein, mischt mit dem gleichen Volumen conc. Schwefelsäure und destilliert die Mischung ohne Kühler in ein Probierröhrchen als Vorlage unter starker Kühlung desselben. Unter Umständen scheidet sich bei starker Kühlung bereits eine Krystallisation von α-Crotonsäure aus. Ist dies nicht der Fall, so schüttelt man das Destillat mit Aether aus, giesst die Aetherlösung ab, verdunstet, trennt im Rückstand nötigenfalls die α-Crotonsäure von Benzoesäure durch Behandlung mit etwas Wasser, in dem sich die α-Crotonsäure leichter auflöst und charakterisiert sie durch den Schmelzpunkt (S. 80). Dieser Nachweis gelingt meist schon bei 100 ccm Harn.

Bestimmung nach Magnus-Levy[3]).

Bestimmung.

Princip. Die Säure wird dem Harn durch Extraction mit Aether entzogen und polarimetrisch bestimmt.

Ausführung. Der frische Harn (100 – 1000 ccm je nach der Menge der Oxybuttersäure) wird auf je 100 ccm mit 30—40 g Ammoniumsulfat und 10—15 ccm 20 proc. Schwefelsäure versetzt, sofort in den Aetherextractionsapparat*) übergeführt und mit Aether extrahiert. Nach 24 und nach 48 Std. giesst man den Aether aus dem Kölbchen**) durch ein trockenes

*) Für grössere Mengen (300 ccm oder mehr) wird der Apparat von Czelmannowitz, für kleinere der sog. Perkolator empfohlen.

**) Sammelt sich, was namentlich bei Verarbeitung grosser Harnmengen der Fall ist, in dem Aetherkölbchen eine braune Schmiere unter dem Aether, so löst man diese nach Abgiessen des Aethers in wenig Wasser und bringt sie in den Extractionsapparat zum Harne zurück.

1) J. B. Ch. **3**. 177. (1907.) 2) Z. f. B. **23**. 332. (1887.) Hart, J. B. Ch. **4**. 473. u. 477. (1908.)

3) Ergebnisse der innern Medicin u. Kinderheilkunde. **I**. 416. (1908.)

Filter in ein Becherglas und überlässt ihn der freiwilligen Verdunstung. Der Rückstand, welcher aus einem meist Hippursäurekrystalle enthaltenden Syrup besteht, wird mit 8—16 ccm Wasser versetzt. Nachdem eine dabei entstehende Trübung oder ölige Fällung sich in 12—24 Stunden zum Teil krystallinisch abgesetzt hat, wird in einen kleinen Masscylinder abgegossen, mit möglichst wenig Wasser quantitativ nachgespült und auf 10 oder 20 ccm genau aufgefüllt. Man gibt eine kleine Messerspitze Kieselgur hinzu, filtriert durch ein dichtes Filter, indem man die ersten trüb durchlaufenden Teile wieder auf das Filter zurückgiesst und polarisiert. Wenn der Aether der zweiten Portion nur noch einen ganz geringen Rückstand hinterlässt und keine wesentliche Linksdrehung mehr zeigt, ist die Extraction zu Ende. Sonst muss noch eine dritte event. vierte 24stündige Extraction angeschlossen werden. Auf jeden Fall muss man sich in der angegebenen Weise von der Vollständigkeit der Extraction überzeugen. Eine Entfärbung vor der Polarisation ist kaum jemals nötig. Wenn sie doch erwünscht ist, bewirkt man sie durch Schütteln mit einigen Körnchen Bleicarbonat, Einleiten von Schwefelwasserstoff und Filtrieren.

Mit Hilfe der specifischen Drehung der β-Oxybuttersäure ($[\alpha]_D = -24{,}12^0$) lässt sich aus dem gefundenen Wert leicht die Menge berechnen.

Nachweis der Milchsäure im Harne.

586. Der eingedampfte Harn wird mit dem 10fachen Volumen Alkohol gemischt, nach 12 Stunden abfiltriert, das eingedampfte Filtrat mit Phosphorsäure angesäuert und mit grossen Mengen Aether wiederholt geschüttelt. Der Aetherrückstand wird in wenig Wasser gelöst, event. filtriert, eine halbe Stunde auf dem Wasserbade mit reinem Bleicarbonat erhitzt, nach dem Erkalten filtriert, das mit Schwefelwasserstoff behandelte Filtrat stark eingeengt und abermals mit Aether ausgeschüttelt, der Aetherrückstand zur Darstellung des Zinksalzes benutzt und dieses untersucht (§ 74).

Für die Bestimmung hat soeben Jerusalem[1]) ein Verfahren angegeben, welches auf der Oxydation der mittels Aether isolierten Milchsäure zu Acetaldehyd durch Permanganat und titrimetrische Bestimmung des Acetaldehyd beruht.

Nachweis von Fett im Harne.

587. Fett erscheint im Harne unter pathologischen Verhältnissen (gelegentlich auch unter normalen nach Aufnahme grosser Fettmengen) entweder in feinster Verteilung und ein milchiges Aussehen des Harns bewirkend (Chylurie) oder in grösseren Tropfen, die sich an der Oberfläche ansammeln. Unter dem Mikroskop sieht man Fetttröpfchen und beim Schütteln mit Aether klärt sich der Harn. Beim Verdunsten des abgegossenen Aethers hinterbleibt eine fettige Masse, in der sich Olein, Palmitin und Stearin nachweisen lassen (§ 92).

Nachweis und Bestimmung von Eiweiss im Harne.

588. Das pathologischer Weise im Harne auftretende Eiweiss ist fast regelmässig ein Gemenge von Serumalbumin und Serumglobulin, aber in

1) B. Z. **12**. 385. (1908.)

sehr verschiedenen Verhältnissen. Die Gesamtmenge beträgt meist weniger als 1 pCt., selten steigt sie bis auf 4 pCt.; doch sind auch 8 pCt. beobachtet worden.

589. **Nachweis des Eiweiss.** Man stellt mit dem event. in der gleich zu beschreibenden Weise vorbehandelten Harne folgende Reactionen*) an: Nachweis des Eiweiss im Harne.

Ein nicht ganz klarer Harn muss zunächst filtriert werden. Wird er auch bei mehrmaligem Filtrieren durch doppeltes Filter nicht klar, so schüttelt man ihn mit ein wenig Kieselgur und filtriert dann. Kieselgur ist indessen womöglich zu vermeiden, da er kleine Mengen von Eiweiss zurückhält.

Gibt der Harn mit Essigsäure in der Kälte Niederschlag (§ 572), so ist dieser zunächst zu entfernen. Man bringt zu diesem Zweck 100 oder 200 ccm durch Verdünnen mit Wasser auf das spec. Gewicht 1007—1008, fügt Essigsäure bis zur deutlich sauren Reaction hinzu, lässt bei kühler Temperatur bis zum nächsten Tage stehen und giesst oder filtriert die klare überstehende Flüssigkeit ab. Erfolgt kein klares Absitzen, so centrifugiert man oder man schüttelt mit ein wenig Kieselgur (Salkowski[1]). Hat man den Harn mit Wasser verdünnt, so ist es zweckmässig bei Ausführung der Probe 3 und 4 wenige Tropfen gesättigte Kochsalzlösung zuzufügen.

1. Eine Portion Harn (reagiert er alkalisch, so ist er zunächst zu neutralisieren) wird im Reagensglase erhitzt; entsteht Niederschlag oder Trübung, so können sie von Eiweiss oder phosphorsaurem Kalk (kohlensaurem Kalk bei Pflanzenfressern) herrühren. Löst sich der Niederschlag nicht auf Zusatz von Salpetersäure oder entsteht ein Niederschlag erst nach Zusatz dieser Säure, so enthält der Harn Eiweiss.

Albumosen und Peptone geben diese Reaction nicht.

Die Schätzung der Menge des Eiweiss aus der Höhe des flockigen Niederschlags, welcher sich nach der Coagulation eines bestimmten Volumens des Harns nach bestimmter Zeit im Reagensglase abgesetzt hat, ist eine so trügerische, dass sie kaum einen Anhaltspunkt gewähren kann.

2. Beim Kochen des mit dem gleichen Volumen gesättigter Natriumsulfatlösung oder dem dritten Teil gesättigter Kochsalzlösung und etwas Essigsäure versetzten Harns entsteht bei Anwesenheit von Eiweiss Niederschlag.

Albumosen und Peptone geben diese Reaction nicht.

3. Bringt man unter den Harn in einem Reagensglase mit einer feinen Pipette vorsichtig starke Salpetersäure, so entsteht bei Anwesenheit von Eiweiss an der Berührungsstelle eine schwach begrenzte, weisse, ringförmige Ausscheidung (Heller'sche Eiweissprobe).

Albumosen geben dieselbe Reaction.

Ein nicht an der Berührungsstelle beider Flüssigkeiten, sondern etwas über dieser entstehender trüber Ring entsteht in einem harnsäurereichen Harne durch Abscheidung von Harnsäure. Bei Wiederholung der Probe mit dem mit Wasser verdünnten Harne wird eine ringförmige Trübung nicht von Harnsäure herrühren.

---

*) Die im normalen Harn vorhandenen geringen Eiweissmengen (§ 572) werden durch diese Reactionen nicht angezeigt.

1) Charité-Annal. **30**. 385. (1906.)

4. Auf Zusatz von Essigsäure und einigen Tropfen Ferrocyankaliumlösung entsteht bei Anwesenheit von Eiweiss Trübung oder Niederschlag.

Albumosen geben dieselbe Reaction.

Die Farbenreactionen auf Eiweiss (§ 293 B) lassen sich nicht direct im Harn anstellen, wohl aber mit den erhaltenen und abfiltrierten Niederschlägen.

Nachweis von Globulin und Albumin.

Zum Nachweis von Globulin und Albumin neutralisiert man den Harn mit Ammoniak und versetzt ihn mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung: Das Globulin fällt aus, während das Albumin aus dem Filtrat durch weiteren Zusatz von Ammonsulfatlösung oder durch Erhitzen abgeschieden wird.

Zur besseren Charakterisierung des Eiweiss ist es von grossem Wert, es qualitativ und womöglich quantitativ auf seine Spaltungsproducte zu untersuchen. Glutaminsäure und Tyrosin lassen sich in verhältnismässig einfacher Weise schon in 50—100 g, ja schon in 25 g aus dem Harn abgeschiedenem Eiweiss quantitativ bestimmen. Tryptophan, Cystin, Glykokoll können leicht qualitativ nachgewiesen werden. Die für diese Untersuchungen dienenden Methoden sind § 472 ff beschrieben. Näheres darüber siehe bei Abderhalden[1]).

590. **Bestimmung des Eiweiss.** Zur genauen Bestimmung des Eiweiss dient eine der folgenden Methoden.

Bestimmung des Eiweiss nach Scherer.

1. nach Scherer. Man misst vom filtrierten Harne 50 oder 100 ccm in eine hinreichend geräumige Porzellanschale ab, erhitzt unter gutem Umrühren über einer kleinen Flamme zum Kochen, fügt, falls keine gute flockige Gerinnung erfolgt, vorsichtig einige Tropfen sehr verdünnter Essigsäure hinzu, erhitzt wieder zum Sieden und prüft abermals, ob die Flüssigkeit über dem Coagulum klar erscheint. Ist dies erreicht, so filtriert man noch heiss durch ein kleines, aschefreies, bei 120° getrocknetes und gewogenes Filter, sammelt auf demselben das ganze Coagulum, wäscht gleich nach dem Ablaufen der Flüssigkeit mit warmem Wasser, zuletzt mit Alkohol und Aether sorgfältig aus und trocknet Filter und Coagulum im Luftbade bei 120° längere Zeit bis zum constanten Gewicht. Man verascht dann Filter und Niederschlag in einem gewogenen Platintiegel, wägt wieder und zieht das so gefundene Gewicht der Asche von dem Gewicht der Trockensubstanz ab.

Bei dieser Bestimmung wird leicht etwas zu wenig gefunden, da auch beim vorsichtigsten Ansäuern mit Essigsäure oft etwas Eiweiss gelöst bleibt; man prüft zu diesem Zweck das Filtrat mit Essigsäure und Ferrocyankalium. Ist der Harn sehr reich an Eiweiss, so verdünnt man ihn vor dem Kochen mit seinem doppelten Volumen oder noch mehr Wasser oder giesst ihn in kleinen Portionen in das bereits siedende Wasser unter Umrühren.

---

1) Z. exp. P. u. Th. **2**. 642. (1906.)

2. nach Devoto[1]). 100 ccm filtrierter, sauer reagierender event. angesäuerter Harn werden in einem Becherglase mit 80 g Ammonsulfat versetzt, bis zur Lösung des Salzes im Wasserbade unter Umrühren erwärmt und dann noch 30—40 Min. in einem Dampftopf erhitzt. Das entstandene Eiweisscoagulum wird durch ein aschefreies, gewogenes Filter abfiltriert und weiter verfahren, wie bei der vorigen Methode. Diese Methode, welche den Vorteil hat, dass ein Ueberschuss von Säure nicht schadet, gibt in gewöhnlichen Fällen gute Resultate, ist aber bei harnsäurereichen conc. Harnen, besonders wenn sie gleichzeitig wenig Eiweiss enthalten, nicht zu brauchen, da andere Harnbestandteile, besonders harnsaures Ammoniak, mit in das Coagulum gehen (Redelius[2]). Bestimmung des Eiweiss nach Devoto.

3. Bestimmung des Globulins nach Hofmeister und Pohl[3]) 50 oder 100 ccm des mit Ammoniak bis zum Verschwinden der sauren Reaction versetzten Harns werden in einem Becherglase mit dem gleichen Volumen einer gesättigten, neutral reagierenden Ammonsulfatlösung vermischt. Der Niederschlag (Globulin) wird nach mindestens einstündigem Stehen auf ein gewogenes aschefreies Filter gebracht und mit halbgesättigter Ammonsulfatlösung bis zum Verschwinden der Reaction mit Ferrocyankalium + Essigsäure im Filtrat ausgewaschen. Man erhitzt jetzt Filter und Niederschlag einige Zeit auf 110°, wäscht das coagulierte Globulin mit kochendem Wasser, Alkohol und Aether aus und verfährt weiter wie unter 1 angegeben. Die Menge des Albumins erfährt man durch Subtraction der Globulinmenge von der Gesamteiweissmenge. Bestimmung des Globulins.

591. **Annähernde Bestimmung des Eiweiss.** Von den vielen Methoden, welche in der Absicht, die Eiweissbestimmung für klinische Zwecke einfacher zu gestalten, angegeben worden sind, hat keine Anspruch auf unbedingte Zuverlässigkeit. Die beste von ihnen, die Methode von Záhor[4]), mit der man den Eiweissgehalt aus dem Unterschied der spec. Gewichte des Harns vor und nach der Coagulation durch Erhitzen unter Säurezusatz ermittelt, erfordert grosse Sorgfalt in der Ausführung und ist kaum einfacher als eine der oben beschriebenen. Im Folgenden sollen das Verfahren von Roberts-Stolnikow, welches von Brandberg[5]) weiter ausgearbeitet worden ist, und das Verfahren von Tsuschija[6]), welches dem vielfach benutzten Esbach'schen[7]) ähnlich ist, aber überlegen zu sein scheint, beschrieben werden. Sie sind leicht und schnell auszuführen und unter Umständen für klinische Zwecke verwendbar. Annähernde Bestimmung des Eiweiss:

1. nach Roberts-Stolnikow. Die Methode beruht auf der Beobachtung, dass die Heller'sche Eiweissprobe (§ 589, 3) d. h. das Auftreten einer ringförmigen Trübung nach Roberts-Stolnikow.

---

1) H.-S. **15**. 465. (1891.) 2) Maly's Jbr. 1892. S. 241.
3) A. exp. P. u. Ph. **20**. 434. (1886.)
4) H.-S. **12**. 484. (1888.)
5) Maly's Jbr. 1880. S. 265.
Vergl. auch Hammarsten, Maly's Jbr. 1883. S. 217.
6) C. f. inn. M. 1908. S. 105 u. 605.
7) Gaz. méd. de Paris. 1874. p. 61.
Esbach, Dosage de l'albumine. Paris 1886.

an der Berührungsfläche zwischen Salpetersäure und eiweisshaltiger Flüssigkeit nach 2—3 Minuten schwach aber deutlich sichtbar wird, wenn die Lösung 0,0033 pCt. Eiweiss enthält.

Zur Ausführung nach Brandberg verdünnt man den Harn mit 9 Vol. Wasser und bereitet sich von diesem Zehntelharn eine Reihe von Versuchsflüssigkeiten bekannter Verdünnung. Darauf giesst man in eine Anzahl Reagensgläser aus einer Pipette einige Cubikcentimeter conc. Salpetersäure mit der Vorsicht, dass die Wandungen oberhalb nicht benetzt werden, verteilt in die einzelnen Gläser mit einer sehr fein ausgezogenen Pipette etwa gleiche Volumina der verschieden verdünnten Harnlösungen, so dass beide Flüssigkeiten sich nicht mischen und notiert die Zeit, wann in jeder Probe ein eben sichtbarer bläulich weisser Ring auftritt. Diejenige Probe, in welcher das innerhalb 2 bis 3 Minuten geschieht, enthält 0,0033 pCt. Eiweiss. Man erfährt den Eiweissgehalt des unverdünnten Harns durch folgende Gleichung: $p = \frac{k + x}{k \,.\, 30}$, in der p die Procente Eiweiss im unverdünnten Harn, k die zu jeder Probe verwendete Menge Zehntelharn und x die zur Verdünnung verwendete Wassermenge sind.

nach Tsuschija.

2. nach Tsuschija. Man giesst vorsichtig in ein für diesen Zweck besonders graduiertes Rohr*) (Albuminimeter) bis zu einer mit U bezeichneten Marke den filtrierten Harn (dessen spec. Gewicht 1006—1008 betragen soll), darauf bis zu einer zweiten mit R bezeichneten Marke das Reagens (1,0 g frische gut krystallisierte Phosphorwolframsäure, 5,0 reine conc. Salzsäure, 100 g 96 proc. Alkohol), kehrt vorsichtig 10—15 Mal um und lässt nun 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen. Jetzt liest man ab, bis zu welchem Teilstrich der Niederschlag reicht und erfährt so die Quantität Eiweiss in Grammen für 1000 ccm Harn.

Ein Harn, welcher mehr wie 6 pM. Eiweiss enthält, ist zuvor mit gemessener Menge Wasser zu verdünnen.

Nachweis von Albumosen im Harne.

592. Während Pepton im Harn bis jetzt nicht einwandsfrei nachgewiesen, ist das Vorkommen von Albumosen unter pathologischen Verhältnissen festgestellt.

Verfahren nach Hofmeister.

1. Verfahren nach Hofmeister[1]). Es erfordert ziemlich viel Zeit, garantiert aber einerseits eine vollständige Enteiweissung und bietet andrerseits die Sicherheit, dass keine Albumosen aus Eiweiss abgespalten werden.

Der Harn wird mit saurem phosphorsaurem Kali schwach angesäuert und nach Zufügen des doppelten Volumens 96 proc. Alkohols 5—6 Stunden im nicht siedenden Wasserbad am Rückflusskühler erhitzt bei einer Temperatur im Innern des Kolbens von nicht über 80—90°. Nach dem Erkalten wird filtriert, das klare Filtrat bei 50—60° bis fast auf die Hälfte der ursprünglichen Harnmenge eingeengt und nach Zufügen von etwas Schwefelsäure bei gelinder Wärme mit Zinksulfat gesättigt. Der Niederschlag wird abfiltriert, durch 24stündige Behandlung mit wasserfreiem Alkohol, der nach Bedarf mehrmals gewechselt wird, von Urobilin befreit und in Wasser gelöst. Die Lösung dient für die Biuretreaction.

Empfindlichkeitsgrenze 0,01—0,02 pCt. Albumose bei Benutzung von 500 ccm Harn.

Verfahren nach Devoto.

Verfahren nach Devoto[2]) in der Modification von Bang[3]). 10 ccm Harn (die vorherige Entfernung von Eiweiss und mucinähnlicher Substanz ist nicht nötig)

---

*) Zu beziehen von Rudolf Schoeps, Halle a/S.

1) Morawitz u. Dietschy, A. exp. P. u. Ph. **54**. 92. (1906.)

2) H.-S. **15**. 465. (1891.) 3) Skand. A. Ph. **8**. 272. (1898.)

werden mit 8 g Ammonsulfat in einem Reagensglase bis zur Lösung erhitzt, einen Augenblick aufgekocht und sofort $^1/_2$—1 Min. centrifugiert. Die Flüssigkeit wird abgegossen, der Bodensatz mit einem Glasstabe zerrieben und mehrmals mit Alkohol (zur Entfernung des Urobilins) extrahiert, dann in wenig Wasser aufgeschlemmt, zum Sieden erhitzt und filtriert. Das Filtrat wird mit einigen Tropfen Schwefelsäure angesäuert, mit Chloroform geschüttelt (um das Urobilin völlig zu entfernen) und nach Abpipettieren des Chloroforms zur Biuretreaction benutzt. Empfindlichkeitsgrenze bei 0,05—0,02 pCt. Albumose.

Nachweis von Aminosäuren im Harne.

593. Während in normalem Harn von Aminosäuren bisher nur Glykokoll mit Sicherheit nachgewiesen worden ist, erscheinen unter pathologischen Verhältnissen auch andere (Tyrosin, Leucin, Cystin).

Isolierung von Tyrosin und Leucin. Der Harn wird mit neutralem, darauf mit basischem Bleiacetat gefällt, so lange Niederschlag entsteht, filtriert, das Filtrat mit Schwefelwasserstoff behandelt, wieder filtriert und nach Entfernung des Schwefelwasserstoffs eingeengt. Tyrosin und Leucin krystallisieren aus und lassen sich durch fractionierte Krystallisation trennen, indem sich zunächst das Tyrosin ausscheidet. Es ist durch seine Krystallform und den positiven Ausfall der Millon'schen Reaction ausgezeichnet (§ 207). Das Leucin führt man zweckmässig durch Kochen mit frisch gefälltem Kupferhydroxyd in das Kupfersalz über, welches aus dem heissen Filtrat in blassblauen Schüppchen krystallisiert und durch eine Kupferbestimmung identificiert werden kann (§ 174). Für die Trennung von Tyrosin und Leucin eignet sich auch Auskochen mit Eisessig, wobei das Leucin viel leichter in Lösung geht (Habermann u. Ehrenfeld[1]). Isolierung von Tyrosin u. Leucin.

In sehr seltenen Fällen scheidet sich Tyrosin bei sehr reichlichem Gehalt in feinen Krystallnadeln als Sediment aus. Es löst sich nach dem Abfiltrieren leicht in Ammoniak und krystallisiert beim Verdunsten des Ammoniak wieder in seiner charakteristischen Form aus. Die Krystalle zeigen starke Millon'sche Reaction.

Isolierung von Cystin. Bei Cystinurie kann Cystin im Harne in Form von Steinen oder Sedimenten vorkommen. Sie lösen sich in Ammoniak leicht auf und beim Verdunsten erscheinen die charakteristischen sechsseitigen Tafeln. Isolierung von Cystin.

Um im Harne gelöstes Cystin zu isolieren, behandelt man ihn am besten in der oben beschriebenen Weise mit Bleiacetat, auch auf die Gefahr, dass kleine Mengen Cystin durch das basische Bleiacetat gefällt werden. Aus dem eingeengten Filtrat von Schwefelblei scheidet sich das Cystin bei längerem Stehen in der Kälte direct ab oder nach Uebersättigung mit Eisessig. Zur Entfernung beigemengten Tyrosins löst man die abfiltrierte Ausscheidung in 10proc. Ammoniak[2]), filtriert, fügt vorsichtig Eisessig bis zur schwach aber noch deutlich alkalischen Reaction hinzu, filtriert

1) H.-S. **37**. 18. (1902/03.)
2) Friedmann, B. Ph. P. **3**. 15. (1903.)
Abderhalden u. Schittenhelm, H.-S. **45**. 468. (1905.)

vom sich ausscheidenden Tyrosin ab und übersättigt das Filtrat mit Eisessig: Cystin scheidet sich ab und kann nochmals derselben Behandlung unterzogen werden. Der Nachweis geschieht nach S. 250.

Isolierung von Aminosäuren als β-Naphthalinsulfoverbindungen.

Isolierung von Aminosäuren nach E. Fischer u. Bergell[1]) in Form ihrer β-Naphthalinsulfoverbindungen.

a) nach Ignatowski[2]). Man fällt eine grössere Harnmenge (500 ccm) mit Bleizucker, entbleit das Filtrat mit Schwefelwasserstoff, dampft im Vacuum bei einer Temperatur unter 45° auf die Hälfte ein und schüttelt nach Zufügen von Salzsäure einige Stunden mit Aether. Nach Abtrennung des Aethers wird β-Naphthalinsulfochlorid (u. z. auf 500 ccm ursprünglichen Harn 2 g in 10 proc. ätherischer Lösung) und Kalilauge bis zur leicht alkalischen Reaction zugefügt und 9 Stunden geschüttelt. Nach 3 und 6 Stunden fügt man je 1 g Naphthalinsulfochlorid in ätherischer Lösung hinzu und unter Umständen auch noch etwas Kalilauge, so dass die alkalische Reaction erhalten bleibt. Nach 9 Stunden wird die ätherische Lösung abgetrennt und die wässerige Lösung mit Salzsäure unter Vermeidung eines Ueberschusses versetzt. Dabei fallen die Naphthalinsulfoaminosäuren aus. Beim Schütteln mit Aether (3 Stunden oder mehr) gehen sie in diesen über. Der von der ätherschen Lösung abgetrennte Harn wird wieder alkalisch gemacht und nochmals derselben Behandlung unterworfen.

Die vereinigten ätherischen Lösungen wäscht man gut mit Wasser, verdunstet den Aether, übergiesst den Rückstand mit etwas kaltem Wasser, fügt Ammoniak bis zur schwach alkalischen Reaction hinzu und lässt auf Eis stehen. Nachdem das in Ammoniak unlösliche Amid der Naphthalinsulfosäure sich gut abgesetzt hat, filtriert man und versetzt das klare Filtrat mit Salzsäure. Dabei fallen die Naphthalinsulfoaminosäuren wieder aus. Durch Umkrystallisieren aus heissem Wasser kann man sie krystallinisch erhalten, indessen ist eine Abtrennung der einzelnen Individuen aus diesem Gemenge bisher wohl nur bei der Glykokollverbindung gelungen. Das Verfahren, welches auf der Unlöslichkeit des Bariumsalzes des β-Naphthalinsulfoglycins in kaltem Wasser beruht, besteht darin, dass man das Gemenge mit der etwa 20fachen Menge Wasser übergiesst, vorsichtig mit soviel Ammoniak versetzt, als zur Lösung erforderlich ist, das überschüssige Ammoniak wegkocht und nun mit Bariumchlorid versetzt. Aus der ausgefallenen und abgesaugten Bariumverbindung kann man durch Umsetzen mit Salzsäure in der Kälte die Glycinverbindung erhalten, deren Identificierung nach S. 228 erfolgt (Abderhalden u. Bergell[3]).

1) B. **35**. 3779. (1902.)
2) H.-S. **42**. 371. (1904), Forssner, H.-S. **47**. 15. (1906.)
3) H.-S. **39**. 464. (1903.)

Ueber weitere Versuche aus diesem Gemenge Aminosäuren zu erhalten, siehe Ignatowski[1]), Wohlgemuth[2]), Embden u. Reese[3]).

b) nach Embden u. Reese[4]). Sie verfahren insofern abweichend, als sie die Reaction in stärker alkalischer Lösung (auf 100 ccm neutralisierten Harn noch 2—4 ccm Normalnatronlauge) vornehmen und 2 Tage lang unter öfterem Alkali- und Reagenszusatz (4—6 mal täglich) bei etwa 30° schütteln. Sie erhalten dabei auch aus normalem Harn, welcher bei dem oben geschilderten Verfahren in der Regel keine Aminosäuren liefert, reichliche Mengen von Reactionsproducten, unter denen die Glycinverbindung isoliert werden konnte.

Isolierung von Aminosäuren als Ester.

Isolierung von Aminosäuren mit Hilfe des Esterverfahrens von E. Fischer aus dem im Vacuum zur Trockne verdampften Harn. Ueber dieses Verfahren, mit Hilfe dessen eine Trennung von Aminosäuren jedenfalls am besten gelingen dürfte, welches aber in seiner Anwendung auf den Harn noch nicht genügend festgestellt worden ist, siehe Abderhalden[5]).

Bestimmung von Cystin im Harne nach Gaskell[6]).

594. Der von Cystinsedimenten abfiltrierte Harn (z. B. 200 ccm) wird mit Ammoniak deutlich alkalisch gemacht und mit Calciumchlorid ausgefällt, das Filtrat (+ Waschwasser) in einem Becherglas mit dem gleichen Volumen Aceton versetzt und mit Essigsäure gerade sauer gemacht. Nach 3 bis 4tägigem Stehen wird der Niederschlag auf ein Filter gebracht, mit destilliertem Wasser gewaschen und dann auf dem Filter mit $2^1/_2$ proc. Ammoniak gelöst. Die ammoniakalische Lösung wird wieder mit dem gleichen Volum Aceton versetzt und mit Essigsäure angesäuert. Nach 12—24 Stunden sammelt man die entstandene Fällung auf gewogenem Filter, trocknet bei etwa 80° und wägt. Da das Cystin hygroskopisch ist, muss die Wägung im Wägegläschen geschehen.

Bestimmung der Aminosäuren im Harne nach Krüger u. Schmid[7]).

595. Bei dieser Methode wird der Stickstoff der Hippursäure mit als Aminosäure-Stickstoff ermittelt. Sie gibt aber auch abgesehen davon zu hohe Werte, weil sie jedenfalls einen Teil des Stickstoffs der Oxyproteinsäure, des Kreatins und vielleicht auch anderer Harnbestandteile mit bestimmt.

Princip. Die Methode beruht darauf, dass die Aminosäuren durch Phosphorwolframsäure nicht gefällt werden und beim Erhitzen mit Schwefelsäure im geschlossenen Rohr auf 160—180° kein Ammoniak abspalten.

Ausführung. 50 ccm Harn werden genau, wie es S. 583 angegeben, mit Phosphor-

1) H.-S. **42**. 387. (1904.)
2) H.-S. **44**. 79. (1905.)
3) B. Ph. P. **7**. 420. (1906.)
4) B. Ph. P. **7**. 411., Embden u. Marx, B. Ph. P. **11**. 308. (1908.)
5) Abderhalden u. Barker, H.-S. **42**. 524. (1904.)
Abderhalden u. Rona, H.-S. **44**. 205. (1905.)
6) J. of Ph. **36**. 142. (1907/08.)
7) H.-S **31**. 556. (1901.)

wolframsäure gefällt und nach 2 Min. filtriert. In einer Probe des Filtrats, welche 5 ccm Harn entspricht, bestimmt man den Gesamtstickstoff nach Kjeldahl (§ 528, a). Eine zweite gleich grosse Probe wird im Rohr mit dem halben Volum conc. Schwefelsäure 3 bis 4 Stunden (die Zeit des Anwärmens nicht mitgerechnet) auf 160—180° erhitzt. Den Rohrinhalt giesst man in einen Destillationskolben, spült das Rohr der Reihe nach mit Wasser, wenig Natronlauge (um den an den Wandungen sitzenden Niederschlag von phosphorwolframsaurem Ammoniak zu lösen) und wieder mit Wasser nach, macht mit Natronlauge*) alkalisch unter Vermeidung eines grossen Ueberschusses (für 5 ccm conc. Schwefelsäure genügen 20—22 ccm 33proc. Natronlauge), destilliert, fängt das übergehende Ammoniak in 50 ccm $^n/_{10}$ Schwefelsäure auf und bestimmt die Stickstoffmenge durch Zurücktitrieren mit $^n/_{10}$ Lauge. Zieht man den erhaltenen Stickstoffwert von dem nach Kjeldahl gefundenen ab, so erfährt man die Menge Stickstoff, welche in Form von Aminosäuren (bzw. von Aminosäureverbindungen wie z. B. Hippursäure) in 5 ccm Harn enthalten ist.

Pfaundler[1]) bewirkt die Zerstörung der im Phosphorwolframsäurefiltrat neben den Aminosäuren vorhandenen stickstoffhaltigen Bestandteile durch 18—20stündiges Erhitzen mit krystallisierter Phosphorsäure auf 150°.

Nachweis von Fermenten im Harne.

596. Pepsin und diastatisches Ferment sind im Harn nachgewiesen. Ueber das Vorkommen von Trypsin lauten die Angaben verschieden. Um diese Fermente im Harn nachzuweisen, empfiehlt es sich durch den Harn, dem einige Fibrinflocken zugefügt sind, einige Stunden einen schwachen Luftstrom zu leiten, die Flocken mit Wasser zu waschen, dann z. Tl. in 0,2—0,5proc. Salzsäure, z. Tl. in 0,5proc. Sodalösung, z. Tl. in frischer Stärkelösung zu suspendieren. Man fügt etwas Toluol hinzu und prüft nach einiger Zeit die ersten beiden Flüssigkeiten auf Albumosen und Peptone, die dritte auf reducierenden Zucker.

Nachweis von Farbstoffen im Harne.

Nachweis von Urobilin im Harne.

597. **Urobilin.** 1. Man prüft nach Zusatz einiger Tropfen Schwefelsäure spektroskopisch (S. 380).

2. Man filtriert nach Zusatz von Ammoniak, setzt Chlorzinklösung hinzu und prüft auf grüne Fluorescenz und Absorptionsstreifen (S. 380) (Jaffe).

3. Man säuert 10—20 ccm mit einigen Tropfen Salzsäure an und schüttelt mit 5—10 ccm Amylalkohol gelinde durch. Die klar abgegossene amylalkoholische Lösung wird spektroskopisch untersucht. Nach Zusatz einiger Tropfen einer Lösung, die 1 g Chlorzink in 100 ccm ammoniakalischem Alkohol enthält, entsteht grüne Fluorescenz (Nencki u. Rotschy[2]).

4. Man versetzt den Harn (nach Aufschütteln eines etwaigen Bodensatzes) mit dem gleichen Volumen von vorher durchgeschütteltem 10 pCt. Zinkacetat enthaltendem absol. Alkohol, filtriert und prüft das Filtrat auf Fluorescenz und Absorptionsstreifen (S. 380) (Schlesinger[3]).

598. **Gallenfarbstoffe.** Aus stark icterischem Harne kann man oft ohne Weiteres durch Schütteln mit Chloroform, Abgiessen und Verdunsten desselben, nochmaliges Lösen des Rückstandes in wenig Chloroform

*) Ist mit der Anwesenheit von Cystin zu rechnen, so macht man mit Natronlauge annähernd neutral und fügt einen grossen Ueberschuss von Magnesia usta hinzu.

1) H.-S. **30**. 75. (1900.)

2) M. **10**. 568. (1889.)

3) D. m. W. 1903. S. 561.

und Verdunstenlassen auf dem Uhrglase rote rhombische Prismen von Bilirubin erhalten, welche mit Salpetersäure mikroskopisch sehr schön die Regenbogenfarben zeigen, in Alkalien sich leicht lösen und an der Luft bald eine grüne Färbung geben.

Nachweis von Gallenfarbstoffen im Harne.

Von den vielen zum Nachweis angegebenen Reactionen seien die folgenden angeführt. Für Harne, die nicht zu viel andere Farbstoffe enthalten, sind alle brauchbar; die unter 4 und 5 aufgeführten sind sehr viel empfindlicher als die anderen und gestatten noch 0,01—0,02 mg Gallenfarbstoff in 10 ccm Harn nachzuweisen. In dunklen, indicanreichen Harnen ist die Rosin'sche Probe den beiden ersten vorzuziehen und bei gleichzeitiger Anwesenheit von Blutfarbstoff, Methämoglobin, viel Urobilin usw. wendet man am besten die Probe 4 oder 5 an.

1. Gmelin's Probe (S. 372, 1) in der Modification von Rosenbach[1]). Der Harn wird durch ein kleines Filter, event. mehrmals, filtriert, das Filter ausgebreitet, oberflächlich mit trocknem Filtrierpapier abgetupft und mit einzelnen Tropfen Salpetersäure bespritzt: es bilden sich im Umkreis der Tropfen concentrische Ringe, die von innen nach aussen gelbrot, rot, violett, blau und grün gefärbt erscheinen.

2. Hammarsten's Probe[2]). Man vermischt 1 Tl. des S. 372, 2 beschriebenen Säuregemisches mit 4 Tl. Alkohol und verfährt unter Benutzung des Harns statt der Bilirubinlösung genau wie a. a. O. beschrieben.

3. Rosin's Probe[3]). Man überschichtet den Harn (bei alkalischer Reaction nach Ansäuern mit Essigsäure) in einem Reagensglase mit 2 bis 3 ccm einer etwa 1proc. alkoholischen Jodlösung. Sofort oder nach 1 Min. tritt an der Grenzschichte ein grasgrüner Ring auf, der sich längere Zeit, oft stundenlang hält.

4. Huppert's Probe[4]). Dieselbe wird nach Salkowski[5]) und J. Munk[6]) am besten in folgender Weise ausgeführt: Man macht 10 ccm Harn mit Sodalösung alkalisch, setzt Calciumchloridlösung so lange zu, als noch ein Niederschlag entsteht, filtriert durch ein kleines Filter, wäscht mit Wasser aus, übergiesst Filter und Niederschlag in kleiner Porzellanschale mit 10 ccm salzsäurehaltigem Alkohol (5 ccm conc. Salzsäure auf 100 ccm Alkohol) und erhitzt die Lösung im Reagensglase: grüne bis blaue Färbung.

5. Modificierte Hammarsten'sche Probe[2]). Man giesst 10 ccm Harn in ein etwa 15 ccm fassendes Rohr einer Centrifuge, setzt einige Cubikcentimeter Chlorbariumlösung (bei Gegenwart reichlicher Mengen anderer Farbstoffe besser Chlorcalciumlösung) zu, mischt und centrifugiert $^1/_2$—1 Min. Jetzt giesst man die etwas trübe Flüssigkeit vom Bodensatz

1) C. f. d. med. W. 1876. S. 5.
2) Skand. A. Ph. **9**. 313. (1899.)
3) B. k. W. 1893. S. 106.
4) A. f. Heilk. **8**. 351 u. 476. (1867.)
5) Practikum der physiol. u. pathol. Chem. 3. Aufl. S. 189.
6) A. f. A. u. Ph. Ph. A. 1898. S. 361.

ab, bringt 1—2 ccm des Reagens*) hinzu, schüttelt stark und centifugiert von neuem etwa ½ Min. (bei Verwendung von Chlorcalcium ist das zweite Centrifugieren unnötig): grüne Lösung.

599. **Blut und Blutfarbstoffe.** Bei Blutungen in die Harnwege findet sich Blut im Harne und verleiht ihm, wenn die Menge nicht zu gering ist, eine braunrötliche Farbe. Man erkennt es, wenn man das Sediment, welches sich binnen einiger Stunden absetzt, auf Blutkörperchen untersucht.

Ausserdem kann Blutfarbstoff in gelöstem Zustande in den Harn übergehen, u. z. handelt es sich nach Hoppe-Seyler in allen Fällen im frisch secernierten Harne um Methämoglobin, das sich allerdings leicht durch Fäulnis, sei es schon in der Blase, sei es nach der Entleerung, in Hämoglobin umwandelt, aus dem weiter Oxyhämoglobin entsteht. Nach anderen kann auch der frisch secernierte Harn Hämoglobin enthalten. Ein solcher Harn kann rot, braun bis schwarz aussehen.

Nachweis von Blut u. Blutfarbstoffen im Harne.

Zum Nachweis dienen die Reactionen 1—3, von denen die Probe 2 sehr empfindlich ist, die Probe 1 ebenfalls, wenn die Eigenfarbe des Harns gestattet, eine 10—20 ccm dicke Schicht zu spektroskopieren. Die Probe 3 soll nach Schumm[1]) weniger empfindlich sein, auch gelegentlich von anderen Farbstoffen gegeben werden.

1. Spektroskopische Prüfung. Wegen des Spektrums des Oxyhämoglobins und Methämoglobins siehe die Spektraltafel. Beim Zufügen von Schwefelammonium gehen beide Spektra in das Spektrum des Hämoglobins über, aus dem beim Schütteln mit Luft wieder das Spektrum des Oxyhämoglobins entsteht. Bei Harnen, welche sehr wenig Methämoglobin enthalten, können Absorptionsstreifen erst nach Zusatz von Schwefelammonium und Schütteln sichtbar werden, da Methämoglobin spektroskopisch weniger scharf nachweisbar ist als Oxyhämoglobin.

Sehr kleine Mengen von Blut oder Blutfarbstoff lassen sich noch in folgender Weise nachweisen: Eine grössere Menge (100 ccm) Harn wird nach Zusatz von etwas Eiweisslösung (oder eiweisshaltigem Harn) zum Kochen erhitzt, das Coagulum abfiltriert, ausgewaschen, abgepresst und mit schwefelsäurehaltigem Alkohol zerrieben. Die Mischung wird erwärmt, filtriert und das Filtrat nach Zusatz von Natronlauge und Schwefelammonium auf Hämochromogen (Spectraltafel) geprüft.

2. Guajakharzprobe[1]). Man fügt zu 6—8 ccm gekochtem**) und wiederabgekühltem (aber nicht filtriertem) Harn von neutraler oder schwach saurer Reaction (alkalischer ist mit Essigsäure schwach anzusäuern) etwa 10 Tropfen einer frischen alkoholischen Guajakharztinktur***), schüttelt um

*) Siehe oben unter 2; bei sehr geringem Gallenfarbstoffgehalt nimmt man das Säuregemenge im Verhältnis von 1 : 99 (statt 1 : 19).

**) Dieses Kochen hat den Zweck, die Eigenschaft etwa vorhandener Eiterkörperchen, die Guajakharzprobe zu geben, zu vernichten.

***) Zu ihrer Herstellung schüttelt man eine kleine Messerspitze gepulvertes Guajakharz (im Dunkeln aufzubewahren!) in einem Reagensglas mit 3—5 ccm Alkohol und giesst (oder filtriert) nach einer Minute die klare Lösung ab.

1) Nach den Angaben von Schumm, C. f. d. ges. Physiol. u. Path. d. Stoffw. 1908.

(ohne das Glas mit dem Finger zu verschliessen), setzt etwa 20 Tropfen verharztes Terpentinöl*) zu, schüttelt mehrmals kräftig durch und lässt 2—3 Minuten stehen. Kommt es währenddessen zu keiner ausgesprochenen Blaufärbung, so fügt man noch wenige Cubikcentimeter Alkohol hinzu und schüttelt einmal sanft um. Bei geringem Blutgehalt wird oft erst jetzt die Blaufärbung deutlich.

Um geringste Mengen von Blut nachzuweisen, nehme man nur 3 bis 5 Tropfen Guajakharztinktur. In jedem Fall soll gleichzeitig ein Controllversuch mit Wasser, Guajakharz und Terpentinöl angesetzt werden.

Carlson[1]) empfiehlt das Terpentinöl durch Wasserstoffsuperoxyd zu ersetzen und, um die Probe möglichst empfindlich zu gestalten, so zu verfahren: Zu einer Mischung von 3 ccm Guajakharztinktur und 2 ccm 3proc. Wasserstoffsuperoxydlösung lässt man vorsichtig und ohne Schütteln des Reagensglases aus einer Pipette 1 ccm Harn fliessen. Der hinabrinnende und sich am Boden absetzende Harn zeigt Blaufärbung, welche, bei geringem Blutgehalt, nach dem Umschütteln nicht mehr deutlich zu erkennen ist.

3. Heller'sche Probe. Man kocht mit Natronlauge auf und lässt stehen: Der sich allmählich absetzende Phosphatniederschlag ist infolge von mitgerissenem Hämatin rot gefärbt. Controllprobe mit normalem Harn.

Ueber weitere Blutfarbstoffnachweise im Harn siehe bei Schumm.

Nachweis von Hämatoporphyrin im Harne.

600. **Hämatoporphyrin.** Eine kleine Menge Harn (30 ccm oder mehr) wird mit Barytmischung (Gemisch gleicher Volumen kaltgesättigter Barytlösung und 10 proc. Bariumchloridlösung) vollständig ausgefällt, der Niederschlag abfiltriert, einige Mal mit Wasser, dann einmal mit absolutem Alkohol gewaschen. Nach völligem Abtropfen zerreibt man den feuchten Niederschlag in einer Reibschale, fügt 6—8 Tropfen Salzsäure und, wenn nötig, noch so viel absoluten Alkohol hinzu, dass ein dünner Brei entsteht, verreibt und filtriert nach einigem Stehen oder gelindem Erwärmen auf dem Wasserbad durch ein trockenes Filter. Ist das Filtrat zu gering, so wäscht man noch mit etwas Alkohol nach, jedoch soll das Filtrat nicht mehr als 8—10 ccm betragen. Man prüft es spektroskopisch. Ueber das Spektrum des Hämatoporphyrin in saurer Lösung siehe Spectraltafel (Salkowski[2]). Die kleinen Spuren von Hämatoporphyrin, welche im normalen Harn vorkommen, lassen sich auf diese Weise nicht nachweisen.

Nachweis von Putrescin und Cadaverin im Harne.

Für diese Zwecke dient die § 163 angegebene Methode 1 oder 2.

Isolierung von organischen Basen**) aus Harn nach Kutscher[3]).

601. Der durch mit Kieselguhr bedeckte Filter gesaugte Harn (100 L.) wurde mit Salzsäure stark angesäuert und mit Phosphorwolframsäure ausgefällt, die Fällung nach

*) Das verharzte Terpentinöl muss genügendes Oxydationsvermögen besitzen, darf aber andrerseits mit Guajakharz allein innerhalb 5—10 Min. keine nennenswerte Färbung geben. Ueber Herstellung und Prüfung eines geeigneten Terpentinöls siehe Schumm, (H.-S. **50**. 374. (1906/07.)

**) Diese Basen sind versehentlich in die pathologischen Harnbestandteile eingereiht.

1) H.-S. **48**. 69. (1906.) 2) H.-S. **15**. 297. (1891.)

3) Kutscher u. Lohmann, **49**. 81. (1906.)
Kutscher, H.-S. **51**. 457. (1907.)

24 Stunden abfiltriert, mit 5 proc. Schwefelsäure ausgewaschen und mit Baryt zerlegt, das Filtrat nach Entfernung des Baryts durch Kohlensäure stark eingeengt. Nach einiger Zeit krystallisierte ein grosser Teil des Kreatinins aus. Die abgesaugte Mutterlauge wurde mit Salzsäure angesäuert, von sich dabei abscheidenden dunkelbraunen Flocken abfiltriert und eingeengt, der Syrup mit absolutem Alkohol aufgenommen, das Filtrat verdunstet, der Rückstand wieder mit absolutem Alkohol aufgenommen und so fortgefahren, bis sich der Rückstand in absolutem Alkohol leicht löste. Diese Lösung wurde mit Platinchlorid völlig ausgefällt, der Niederschlag nach 48 Stunden abfiltriert, mit absolutem Alkohol ausgewaschen und in heissem Wasser gelöst, wobei etwas ungelöst blieb. Das Filtrat wurde mit Schwefelwasserstoff behandelt, filtriert, mit Tierkohle entfärbt, eingedampft, der Syrup mit absolutem Alkohol aufgenommen und die Lösung nochmals mit Platinchlorid gefällt (Platinate 1). Das Filtrat schied nach starkem Einengen noch einen krystallinischen Niederschlag ab (Platinate 2a), die Mutterlauge wurde eingedampft, der Rückstand mit Wasser aufgenommen, mit Schwefelwasserstoff zerlegt, das Filtrat eingedampft, der Rückstand mit absolutem Alkohol aufgenommen und die Lösung wieder mit Platinchlorid ausgefällt (Platinate 2b). Das Filtrat enthielt die löslichen Platinate (Platinate 3). Die Platinate 2a und 2b wurden nun vereinigt und ebenso wie die Platinate 1 und die Platinate 3 in die Chloride übergeführt, die Lösungen der Chloride zum Syrup eingeengt und mit 30 proc. wässeriger Goldchloridlösung gefällt (Aurate 1, 2, 3).

Aus den Auraten 1 liessen sich die in kaltem Wasser schwerlöslichen Goldverbindungen des Methylpyridins und Gynesins gewinnen. Aus der Mutterlauge schieden sich ölige Goldverbindungen ab, welche mit den ebenfalls ölig ausfallenden Auraten 2 vereinigt wurden. Aus diesem Gemenge wurde Novain, Reductonovain, Mingin und Vitiatin isoliert[1]). Das Aurat 3 erwies sich als Methylguanidinaurat.

Verfahren nach Engeland.

Ein anderes Verfahren zur Isolierung organischer Basen aus dem Harn, welches auf der Fällung mit Quecksilberchlorid und Natriumacetat beruht und zu interessanten Ergebnissen geführt hat, wird soeben von Engeland[2]) mitgeteilt. Es liessen sich mit ihm Methylguanidin, Dimethylguanidin, Vitiatin (?), Histidin, Homologe des Histidin (Imidazolglykokoll) und eine Substanz isolieren, deren Goldsalz der Formel $C_{15}H_{36}N_8O_{13} \cdot HCl \cdot AuCl_3$ entsprach und welche die Diazoreaction, beim Erwärmen auch die Biuretreaction, aber keine Millon'sche Reaction gibt, also jedenfalls ein Histidin enthaltendes Abbauproduct der Proteinstoffe darstellt.

Nachweis und annähernde Bestimmung der Gallensäuren im Harne.

Nachweis der Gallensäuren im Harne.

602. Dem Nachweis der Gallensäuren, welche auch bei hochgradigem Icterus in nur sehr geringer Menge vorkommen, muss eine Isolierung vorangehen, welche nach den S. 334 gemachten Angaben vorgenommen wird. Den dabei erhaltenen harzigen Niederschlag löst man in Wasser und prüft die wässerige Lösung mit Hülfe der Pettenkofer'schen Reaction (S. 323, 3) und auf Rechtsdrehung. Bei nicht zu geringer Menge kann auch auf Glyko- und Taurocholsäure und Cholsäure in der dort angegebenen Weise geprüft werden.

Annähernde Bestimmung der Gallensäuren im Harne.

Um die Gallensäuren annähernd quantitativ zu bestimmen, nimmt man die Isolierung aus einer gemessenen Menge Harn (mindestens 400 ccm) vor, entfärbt die alkoholische Lösung des harzigen Rückstandes nötigenfalls durch etwas Tierkohle, engt auf ein kleines Volumen ein, misst

1) H.-S. **51**. 457. (1907.) 2) H.-S. **57**. 49. (1908.)

dasselbe und bestimmt die Drehung im Polarisationsapparat. Die specifische Drehung des glykocholsauren bezw. taurocholsauren Natrons in alkoholischer Lösung beträgt + 25,7° bezw. + 24,5° (§ 241 u. § 243).

Nachweis und Bestimmung der Homogentisinsäure im Harne bei Alkaptonurie.

603. Zeigt ein Harn die Eigenschaften, beim Stehen an der Luft, besonders auf Alkalizusatz, sich dunkler zu färben und alkalische Kupferlösung in der Wärme zu reducieren, so ist die Anwesenheit von Homogentisinsäure wahrscheinlich. Zum Nachweis isoliert man die Säure nach § 208.

Bestimmung von Homogentisinsäure im Harne.

Für die quantitative Bestimmung dient das Verfahren von Baumann[1]). 10 ccm des Alkaptonharns werden in einem Kölbchen mit 10 ccm Ammoniak von 8 pCt.*) versetzt. Zu dieser Mischung lässt man unverzüglich einige Cubikcentimeter $^n/_{10}$ Silberlösung hinzufliessen, schüttelt einmal um und lässt 5 Minuten stehen. Alsdann werden der Mischung 5 Tropfen Chlorcalciumlösung (1 : 10) und 10 Tropfen Ammoniumcarbonatlösung hinzugefügt. Nach dem Umschütteln wird filtriert. Das bräunlich gefärbte, aber immer ganz klare Filtrat wird mit Silbernitrat geprüft. Tritt dabei sofort wieder eine starke Abscheidung von Silber ein, so wird bei dem zweiten Versuch gleich eine grössere Menge (das doppelte bis dreifache) $^n/_{10}$ Silberlösung zu der Mischung von 10 ccm Harn und 10 ccm Ammoniak hinzugefügt. Kennt man schon annähernd die zur Oxydation erforderliche Menge der Silberlösung, so bedient man sich, um die Endreaction zu erkennen, nur noch der Prüfung mit Salzsäure. Die Nähe der Endreaction gibt sich dadurch zu erkennen, dass die tiefbraune Flüssigkeit auf Zusatz von Salzsäure eine lichtrote Farbe bekommt. Die Endreaction ist erreicht, wenn das Filtrat vom Silberniederschlag beim Ansäuern mit verdünnter Salzsäure (kein Ueberschuss) eine eben noch sichtbare Trübung von Chlorsilber liefert. Man findet diesen Punkt sehr scharf durch 4—6 malige Wiederholung des Versuchs. Sind mehr als 8 ccm $^n/_{10}$ Silberlösung auf 10 ccm Harn und 10 ccm Ammoniak erforderlich, so sind bei der Wiederholung des Versuchs 20 ccm (statt 10 ccm) Ammoniak zu verwenden.

1 g wasserfreie Homogentisinsäure reduciert unter den angegebenen Bedingungen eine Quantität Silberlösung, welche 2,60—2,65 g Silber enthält, d. h. 240—245 ccm der $^n/_{10}$ Silberlösung; danach werden durch 1 ccm $^n/_{10}$ Silberlösung 0,004124 g Homogentisinsäure angezeigt.

Nachweis von Eiter im Harne.

Zum makroskopischen Nachweis von Eiter im Harn ist von Donné ein Verfahren angegeben, dass nach Joh. Müller[3]) am besten in folgender Weise ausgeführt wird. Man fügt zu 5—10 ccm Harn tropfenweise officinelle Kalilauge und schüttelt nach jedem Tropfen kräftig durch. Dabei quellen die Eiterkörperchen auf und bilden eine gallertige Masse,

*) Baumann schrieb 3 pCt. vor, doch ist bei diesem Ammoniakgehalt nach Garrod u. Hurtley[2]) die Reduction in 5 Min. nicht vollständig.

1) H.-S. **16**. 270. (1892.) 2) J. of Ph. **33**. 206. (1905/06.)

3) Sitzb. d. physik. med. Ges. zu Würzburg. 1903. S. 61. M. m. W. 1903. S. 1360.

in Folge dessen die durch das Schütteln eingebrachten Luftblasen nur langsam aufsteigen können oder bei reichlicherem Eitergehalt sogar in der Flüssigkeit stehen bleiben. Ein Ueberschuss von Kalilauge ist zu vermeiden, auch ist die Reaction nicht beständig. Es lässt sich so ein mit dem Auge kaum wahrnehmbarer Eitergehalt mit Sicherheit nachweisen. Die Reaction fällt noch bei 1200 Leukocyten im Cubikmillimeter positiv aus.

Ueber die Nachweise der übrigen S. 563 aufgeführten Bestandteile des Harns siehe die 2. Abteilung dieses Buches.

Harnsedimente, Harnsteine, Nierensteine.

Allgemeines.

604. Harnsedimente, Harnsteine, Nierensteine können organisierte und nicht organisierte Körper enthalten. Auf die organisierten Teile derselben, Blutkörperchen, Eiterkörperchen, Cylinder, Mikroorganismen usw., die durch ihre mikroskopischen Formen zu erkennen sind, kann hier nicht Rücksicht genommen werden, aber auch die chemischen Ausscheidungen im Harne bieten schon grosse Mannigfaltigkeit. Von anorganischen Körpern sind besonders phosphorsaurer Kalk, phosphorsaure Ammoniak-Magnesia häufig; von organischen Oxalsäure, Harnsäure, erstere stets als Kalksalz, letztere frei oder an Kali, Natron, Ammoniak, Kalk gebunden; seltener erscheinen bei Menschen phosphorsaures Eisen, kohlensaurer Kalk, Xanthin, Cystin, Fette. Schwefelsaurer Kalk[1]) wurde einmal, Tyrosin äusserst selten als Sediment im menschlichen Harne gefunden.

Bei Pflanzenfressern tritt kohlensaurer Kalk häufig als Harnsediment, auch in Blasensteinen auf; oxalsaurer Kalk ist im Pferdeharn sehr häufig als Sediment gefunden worden und bildet zuweilen grosse, krystallinische Concremente bei Schweinen. Concremente von phosphorsaurer Ammoniak-Magnesia und phosphorsaurem Kalke sind bei Tieren nicht selten beobachtet worden, mehrmals bei Schafen auch kieselsäurereiche Steine.

Harnsteine. Nach dem Material, aus dem die Steine hauptsächlich oder ausschliesslich zusammengesetzt sind, unterscheidet man Phosphatsteine, Oxalatsteine usw. Die Phosphatsteine besitzen eine weisse Farbe und rauhe Oberfläche und blättern leicht ab. Die Oxalatsteine sind hart, die kleinen glatt und weiss, die grösseren höckerig (Maulbeersteine) und in Folge von Blutungen häufig oberflächlich dunkelbraun gefärbt. Die Uratsteine besitzen gleichfalls grosse Härte, gelbliche bis rotbraune Farbe und glatte oder höckerige Oberfläche. Die Cystinsteine sind weiss bis gelblichweiss, wenig hart, auf der Bruchfläche krystallinisch. Die Xanthinsteine meist gelbbraun von amorpher Structur, beim Reiben Wachsglanz annehmend. In der Regel bestehen indessen die Steine aus mehreren Substanzen, die oft schichtenweise übereinander gelagert sind (z. B. abwechselnd Phosphate und Urate). Nur die selten vorkommenden Cystin- und Xanthinsteine sind häufig frei von fremden Beimengungen; auch Steine, die fast ausschliesslich aus Calciumoxalat bestehen, werden häufiger beobachtet. Desgleichen be-

1) Valentiner, C. f. med. W. 1863. S. 913.

stehen die sehr selten vorkommenden Cholesterin- und Fettconcremente in der Hauptsache nur aus Cholesterin bezw. Fett und Fettsäuren.

Mikroskopische Untersuchung der Harnsedimente.

605. Man lässt den zu prüfenden trüben Harn in einem reinen Gefässe, am besten einem Spitzglase, einige Minuten bis Stunden an einem kühlen Orte stehen. Enthält er nur Fette, so kommt es nicht zur Bildung eines Niederschlags (ein durch Fett trüber Harn klärt sich beim Schütteln mit Aether), in allen andern Fällen werden sich bald die Sedimente am Boden abgesetzt haben, so dass man den grössten Teil der überstehenden Flüssigkeit klar abgiessen kann. Von dem Rest der Flüssigkeit, welcher das Sediment enthält, nimmt man mit einer kleinen Pipette eine Probe heraus, bringt einen Tropfen auf den Objectträger und untersucht nach Auflegung eines Deckglases mit dem Mikroskope bei 200—300facher Vergrösserung.

606. **Mikroskopische Formen.**

a) Farblose Krystalle können bestehen aus phosphorsaurem Kalk, schwefelsaurem Kalk, phosphorsaurer Ammoniak-Magnesia, oxalsaurem Kalk, Cystin, Xanthin, Tyrosin. Schwefelsaurer Kalk und Tyrosin bilden feine Nadeln, phosphorsaurer Kalk rhombische Prismen, Cystin sechsseitige oder rhombische, Xanthin sechsseitige Tafeln, oxalsaurer Kalk tetragonale Octaeder (Briefcouvertform), phosphorsaure Ammoniak-Magnesia drei- oder vier- oder sechsseitige grosse Prismen mit schrägen Endflächen. Wenn die Prismen kurz sind, ähneln diese sogen. Tripelphosphatkrystalle den Octaedern des oxalsauren Kalks, meist erscheint das Salz in der sogenannten Sargdeckelform (dreiseitiges Prisma, auf dessen einer Kante eine Fläche in gleicher Zone aufgesetzt ist und mit zwei gegen einander stark geneigten, schrägen Endflächen).

b) Farblose Kugeln, rundliche Knollen oder Dumbbells können aus kohlensaurem oder oxalsaurem Kalk bestehen.

c) Gelbe, rote oder braune Krystalle sind stets Harnsäure.

d) Gelbe oder rötlich braune Kugeln, Knollen, Stechapfel- oder Morgensternformen bilden harnsaure Salze, doch ist ihre Färbung in alkalischen Harnen oft kaum bemerkbar.

e) Feine Körnchen von nicht bestimmbarer Form können aus phosphorsaurem Kalk, harnsauren Salzen, Xanthin bestehen.

607. **Verhalten gegen Reagentien unter dem Mikroskop.**

a) Gegen Essigsäure. Gibt man einen Tropfen starker Essigsäure unter das Deckglas, so werden gelöst: Phosphorsaurer Kalk, kohlensaurer Kalk (meist mit erkennbarer Gasentwicklung), phosphorsaure Ammoniak-Magnesia; nicht gelöst: Schwefelsaurer Kalk, oxalsaurer Kalk, Harnsäure, Xanthin, Cystin. Harnsaure Salze wandeln sich unter vorausgehender teilweiser oder völliger Lösung durch die Essigsäure in Krystalle von Harn-

säure um. Man lässt die Probe für diesen Zweck mehrere Stunden stehen und prüft dann, ob sich gefärbte Harnsäurekrystalle abgeschieden haben.

b) Gegen Salzsäure. Wurden die Krystalle durch Essigsäure nicht gelöst, so lässt man zu einer andern Probe einen Tropfen Salzsäure fiiessen. Ungelöst bleibt dann nur Harnsäure und schwefelsaurer Kalk.

c) Gegen Wasser. Schwefelsaurer Kalk löst sich in viel Wasser auf, aber auch Tyrosin, Xanthin, Harnsäure und harnsaure Salze, selbst phosphorsaure Ammoniak-Magnesia sind nicht völlig unlöslich in Wasser.

d) Gegen Ammoniak. Durch einen Tropfen Ammoniak werden phosphorsaurer Kalk, schwefelsaurer Kalk, oxalsaurer Kalk, harnsaure Salze nicht verändert; Tyrosin, Cystin, Xanthin lösen sich leicht auf; Krystalle von freier Harnsäure werden allmählich oberflächlich arrodiert und mit Körnchen besetzt.

Kurze Charakterisierung der in Sedimenten und Steinen gefundenen Verbindungen.

608. Neutrales Calciumphosphat $Ca_3(PO_4)_2$ kann im alkalischen, neutralen oder sehr schwach sauren Harne als Sediment auftreten, im alkalischen ist es stets als Sediment enthalten und im zersetzten Harne stets mit phosphorsaurer Ammoniak-Magnesia, oft auch mit harnsauren Salzen gemengt. Die Unlöslichkeit in Ammoniak unterscheidet es von Xanthin, die Löslichkeit in Säuren ohne nachherige Ausscheidung von Krystallen sowie die Unlöslichkeit in warmem Wasser von harnsauren Salzen.

Saures Calciumphosphat $CaHPO_4 + 2\,H_2O$ wird zuweilen als rhombische Tafeln in stark saurem Harne gefunden. Wegen seiner Krystallform könnte es nur mit Harnsäure oder phosphorsaurer Ammoniak-Magnesia verwechselt werden. Die Löslichkeit in Säuren unterscheidet es von Harnsäure und sein Vorkommen im scharf sauren Harne lässt keine Verwechselung mit dem Ammoniummagnesiumphoshat zu, da dies nur im alkalischen Harne erscheint.

Calciumcarbonat ist hinreichend charakterisiert, wenn sich ein körnig kugeliges Sediment mit Aufbrausen in Säuren löst.

Calciumsulfat, dem Tyrosin in der Krystallform ähnlich, unterscheidet sich durch die Schwerlöslichkeit in Ammoniak sowie durch Feuerbeständigkeit von diesem.

Ammoniummagnesiumphosphat kommt nur im alkalischen Harne vor, ist stets gut krystallisiert, in Essigsäure leicht löslich und deshalb mit keinem anderen hier in Betracht kommenden Körper zu verwechseln. Die Krystalle sind stets farblos, auch im icterischen Harne.

Magnesiumphosphat $Mg_3(PO_4)_2 + 22\,H_2O$ wurde in alkalischem concentrierten Harne als cholesterinähnliche Tafeln gefunden. Zur Unterscheidung dieses Salzes, des Ammoniummagnesiumphosphats und Calcium-

phosphats empfehlen Tollens und Stein[1]) eine 20proc. wässerige Lösung von käuflichem Ammoniumcarbonat. Die Ammoniummagnesiumverbindung bleibt darin unverändert, die Magnesiumphosphatkrystalle werden rauh und zerfressen, Calciumphosphat verwandelt sich in Kügelchen, die am Glase haften.

Calciumoxalat, in seinen ausgebildeten Krystallen nur mit phosphorsaurer Ammoniak-Magnesia zu verwechseln, unterscheidet sich von diesem Salze durch die Unlöslichkeit in Essigsäure. Wenn es in Kugeln und Dumbbells den harnsauren Salzen und dem kohlensauren Kalke ähnlich erscheint, ist gleichfalls die Unveränderlichkeit in Essigsäure und Unlöslichkeit in warmem Wasser für dieses Salz charakteristisch.

Harnsäure bildet meist rhombische Tafeln; ihre gelbe bis braune Färbung, Unlöslichkeit in Salzsäure und in Ammoniak unterscheiden sie von allen anderen hier wichtigen Körpern. Ueber Reactionen siehe § 132.

Urate unterscheiden sich von den meisten anderen erwähnten Bestandteilen der Sedimente dadurch, dass sie sich beim Erwärmen mit dem Harne auf Bluttemperatur leicht auflösen, nur das Tyrosin löst sich auch und noch leichter in heissem Wasser, unterscheidet sich aber durch seine Krystallform. Nach Heintz enthalten die harnsauren Salze als Sedimente im Harne Kalk oder Kali, wenn sie feinkörnig erscheinen[2]).

Xanthin ist in Ammoniak löslich, schwerer in Salzsäure, noch schwerer in heissem Wasser. Beim Verdunsten der ammoniakalischen Lösung krystallisiert es wieder aus. Ueber Reactionen siehe § 134.

Cystin, stets in den § 606 geschilderten Krystallen sich darstellend, ist unlöslich in heissem Wasser, löslich in Mineralsäuren, leicht löslich in Ammoniak und krystallisiert ebenfalls beim Verdunsten der ammoniakalischen Lösung wieder aus. Ueber Reactionen siehe § 179.

Tyrosin löst sich leicht in Säuren und Ammoniak und krystallisiert in Nadeln. Ueber Reactionen siehe § 207.

Enthalten die Sedimente mehrere Körper gemengt, deren Unterscheidung im Gemenge nicht mit Sicherheit gelingt, und ist genügend Material vorhanden, so untersucht man sie nach § 610.

Qualitative Analyse der Sedimente*) und Concremente.

609. **Vorprobe.** Man erhitzt eine kleine Probe der Substanz vorsichtig auf dem Platinblech. Tritt dabei keine Dunkelfärbung ein, so geschieht die Untersuchung nach 1; verbrennt die Substanz völlig unter Hinterlassung keines oder eines ganz geringen Rückstandes, so untersucht

*) Das nach § 605 gewonnene Sediment wird abfiltriert und mit verdünntem Alkohol ein wenig gewaschen.

1) A. **187**. 79. (1877.)

2) Bence-Jones, C. C. 1862. S. 316.
Heintz, C. C. 1863. S. 524.

man nach 2; färbt sich die Substanz dunkler, und hinterbleibt nach völligem Verbrennen der Kohle ein Ascherückstand, so verfährt man nach 3.

610. **Ausführung der Untersuchung.**

1. Die Substanz besteht nach der Vorprobe nur aus anorganischen Bestandteilen.

Man stellt zunächst einen wässerigen und darauf einen salzsauren Auszug einer grösseren Menge des fein zerriebenen Materials her und untersucht diese beiden Auszüge nach den §§ 507 u. 508.

2. Die Substanz besteht nach der Vorprobe nur oder fast nur aus organischen Bestandteilen.

Es kann sich handeln um Cystin, Xanthin, Tyrosin, Harnsäure oder harnsaures Ammoniak. Wegen des Nachweises dieser Stoffe siehe § 608, wegen des Nachweises des Ammoniaks siehe unten (3 *A* a).

3. Die Substanz besteht nach der Vorprobe aus organischen und anorganischen Bestandteilen.

Eine grössere Menge des Sediments oder Concrements wird in einem kleinen Mörser möglichst fein zerrieben, mit kochendem Wasser einige Zeit digeriert, heiss filtriert und mit heissem Wasser ausgewaschen. Das Filtrat wird nach *A*, der Rückstand nach *B* untersucht.

A. Das Filtrat, welches harnsaures Alkali und kleine Mengen von freier Harnsäure, phosphorsaurer Ammoniak-Magnesia, schwefelsaurem Kalk, sowie auch Tyrosin*) enthalten kann, wird in einer Porzellanschale auf dem Wasserbade bis zu kleinem Volumen eingedampft**), mit Salzsäure versetzt (gleichgültig, ob sich Niederschläge gebildet haben oder nicht) und einige Stunden stehen gelassen***). Die krystallinischen Abscheidungen bestehen
Urate. aus Harnsäure†) (Prüfung mit der Murexidprobe S. 173, 2). Die filtrierte Flüssigkeit teilt man in zwei Teile und untersucht den einen nach a, den andern nach b.

a) Der eine Teil wird auf Ammoniak geprüft. Man benutzt dazu einen kleinen Uhrglasapparat, bestehend aus zwei, ihre concaven Seiten einander zukehrenden, auf einander passenden Uhrgläsern, die durch eine übergeschobene Klemme fest zusammengehalten werden. In dem oberen Uhr-

---

*) Tyrosin ist nie in Concrementen und nur äusserst selten als weiches Sediment gefunden worden.

**) Hat sich während des Abdampfens kein Niederschlag gebildet, so erhitzt man eine kleine Probe auf einem Platinblech und prüft, ob durch Verkohlung und Ascherückstand überhaupt gelöste Substanz nachweisbar ist. Wenn das nicht der Fall ist, fällt natürlich die Untersuchung des wässerigen Auszugs fort.

***) Hier sowie in den weiterhin angegebenen Fällen ist es zweckmässig, 24 Stunden stehen zu lassen; doch ist kürzere Zeit hinreichend, wenn es sich nicht um Spuren von Harnsäure handelt.

†) Findet sie sich reichlich, so ist das Sediment oder Concrement reich an harnsauren Alkalien; denn die freie Harnsäure löst sich auch in heissem Wasser nur schwer.

glas breitet man mit Hülfe eines Tröpfchens Wasser einen roten Lacmuspapierstreifen aus, in das untere giesst man die zu untersuchende Flüssigkeit, fügt Natronlauge bis zur stark alkalischen Reaction hinzu, legt das obere Uhrglas auf und schiebt die Klemme über. Eine nach einiger Zeit auftretende Blaufärbung des Lacmuspapiers zeigt die Anwesenheit von Ammoniak an. Ammoniak.

Statt dessen kann man auch die salzsaure Lösung mit Platinchlorid versetzen und den sofort oder nach einigem Stehen entstandenen gelben Niederschlag auf Platinsalmiak prüfen.

b) Der andere Teil der salzsauren Lösung wird im Wasserbade zur Trockne verdunstet und der Rückstand mit etwas Ammoniak extrahiert.

α) Die ammoniakalische Lösung, welche Chloralkalien und Tyrosin enthalten kann, wird verdunstet. Während sich etwa vorhandenes Tyrosin Tyrosin. dabei krystallinisch abscheidet und nach S. 288 erkannt werden kann, prüft man den Rückstand mit dem Spektralapparat auf Kalium (§ 37) und Kalium. Natrium (§ 38). Natrium.

β) Der etwa von Ammoniak nicht gelöste Rückstand, welcher aus schwefelsaurem Kalk und phosphorsaurer Ammoniak-Magnesia bestehen kann, wird zur Hälfte in Salzsäure gelöst und mit Chlorbarium auf Schwefelsäure (§ 49) geprüft. Die andere Hälfte untersucht man in Calciumsulfat. salpetersaurer Lösung mit molybdaensaurem Ammoniak auf Phosphor- Magnesiumammoniumphosphat. säure (§ 50).

B. Der in heissem Wasser unlösliche Rückstand wird in einem Becherglase mit verdünnter Salzsäure übergossen. Aufbrausen zeigt Kohlen- Carbonate. säure an. Man lässt kurze Zeit stehen, filtriert, wäscht mit Wasser aus und untersucht die Lösung nach 1, den Rückstand nach 2.

1. Die salzsaure Lösung, welche Kalk, Magnesia, Eisen, Ammoniak, Phosphorsäure, Oxalsäure, Cystin, Spuren von Schleim und Albuminstoffen enthalten kann, wird in zwei ungleiche Teile a und b geteilt.

a) Der kleinere Teil wird im Wasserbade möglichst concentriert, wenn nötig filtriert und das Filtrat, wie oben unter A a angegeben, auf Ammo- Ammoniak. niak geprüft (ursprünglich Ammonurat, Magnesiumammoniumphosphat).

b) Der grössere Teil wird mit kohlensäurefreiem Ammoniak bis zur stark alkalischen Reaction versetzt, bedeckt kurze Zeit stehen gelassen und ein entstandener Niederschlag schnell unter möglichstem Abschluss der Luft filtriert und mit ausgekochtem Wasser und etwas Ammoniak ausgewaschen.

Die Untersuchung des Filtrats geschieht nach *α*, die des Niederschlags nach *β*.

α) Die Hauptmenge des Filtrats wird mit oxalsaurem Ammoniak auf Kalk (§ 39) und nach Abfiltrieren des Calciumoxalats mit Natriumphosphat Calciumcarbonat. auf Magnesia (§ 40) geprüft. Calcium und Magnesium waren im Sedi- Magnesiumcarbonat. ment oder Concrement an Kohlensäure gebunden. Den Rest der ammoniakalischen Lösung prüft man nach § 179 auf Cystin. Cystin.

β) Der Niederschlag wird mit der Spritzflasche in ein Becherglas gespült, mit überschüssiger Essigsäure versetzt und erwärmt. Löst sich nicht Alles auf, so filtriert man, wäscht mit Wasser und prüft den Filterrückstand nach $\alpha\alpha$, das Filtrat nach $\beta\beta$. Entsteht eine klare Lösung, so wird diese nach $\beta\beta$ untersucht.

$\alpha\alpha$) Der Niederschlag wird in einen Porzellantiegel gespült, im Wasserbade getrocknet, geglüht und nach dem Erkalten mit Essigsäure übergossen. Findet völlige oder teilweise Lösung unter Aufbrausen statt und gibt die nötigenfalls filtrierte essigsaure Lösung mit Ammonoxalat
Calciumoxalat. einen weissen Niederschlag, so war im Untersuchungsmaterial oxalsaurer Kalk enthalten. Den durch Essigsäure nicht gelösten Glührückstand löst man in wenig Salzsäure, verdünnt mit Wasser und prüft mit Ferrocyan- oder Rhodankalium auf Eisen. Ein positiver Ausfall der Reaction beweist
Ferriphosphat. die Anwesenheit von phosphorsaurem Eisenoxyd (§ 41) im Untersuchungsmaterial.

$\beta\beta$) Die essigsaure Lösung wird mit Ammonoxalat versetzt. Ein ent-
Calciumphosphat. stehender Niederschlag zeigt die Gegenwart von phosphorsaurem Kalk an. Nach völliger Ausfällung der Lösung mit Ammonoxalat und Erhitzen filtriert man ab und macht das Filtrat mit Ammoniak alkalisch. Ein beim Stehen oder schneller beim Reiben der Glaswand mit einem Glasstabe ent-
Magnesiumphosphat. stehender Niederschlag zeigt an, dass das Untersuchungsmaterial Magnesia an Phosphorsäure gebunden enthielt.

Es bleibt unentschieden, ob phosphorsaure Magnesia oder phosphorsaure Ammoniak-Magnesia im Sediment oder Concrement vorhanden war. Letztere Verbindung ist auszuschliessen, wenn in B 1 a kein Ammoniak gefunden worden ist.

2. Die in Salzsäure unlöslichen Stoffe können nur aus Harnsäure, Xanthin, Schleim, Detritus von Epithelzellen und andern organisierten Stoffen, sowie aus Kieselsäure bestehen. Harnsäure und Xanthin trennt man durch Ammoniak und prüft das Ungelöste mit der Murexidprobe (S. 173, 2) auf
Harnsäure. Harnsäure, den Rückstand der ammoniakalischen Lösung nach S. 176
Xanthin. auf Xanthin. Beim Veraschen des durch Ammoniak nicht gelösten Rück-
Kieselsäure. standes erhält man die Kieselsäure (§ 51).

Kleine Concretionen in der Substanz der Niere, besonders in den Spitzen der Pyramiden, in den kleinen Gefässen und disseminiert in den Schleimhäuten usw. werden mikroskopisch (vergl. § 607) auf ihr Verhalten gegen Essigsäure, Salzsäure, Natronlauge, Ammoniak, schwache Jodlösung und Schwefelsäure nebst Jodlösung geprüft. Die in den Spitzen der Pyramiden so häufigen Infarkte phosphorsaurer Erden lösen sich in Essigsäure sehr langsam, viel schneller in Salzsäure unter Hinterlassung von etwas meist unregelmässig geformter organischer Substanz. Harnsaure Salze scheinen sich in Säuren zunächst meist völlig zu lösen, geben aber dann beim Stehen Krystalle von Harnsäure (Bestätigung durch Murexidprobe, Löslichkeit in Natronlauge, Unlöslichkeit in Ammoniak). Phosphorsaure Erden löse nsich nicht in Natronlauge oder Ammoniak, dagegen

lösen sich abgelagerte Farbstoffe in diesen Flüssigkeiten. Amyloid gibt sich durch sein Verhalten zu Jod zu erkennen (§ 471).

Quantitative Analyse der Sedimente und Concremente.

611. Dieselbe würde sehr mühsam sein, wenn wirklich alle Stoffe, auf welche bei der qualitativen Untersuchung (§ 610) Rücksicht genommen worden ist, jemals neben einander in demselben Sediment oder Concrement vorkämen. Dieses scheint aber nie der Fall zu sein und die Analyse vereinfacht sich daher bedeutend. Calciumsulfat, Tyrosin, Xanthin, Cystin, Cholesterin und Fett kommen in Sedimenten und Steinen so selten vor und dann gewöhnlich so frei von anderen Beimengungen, dass auf ihre Bestimmung bei der folgenden Beschreibung nicht Rücksicht genommen zu werden braucht.

Von dem möglichst fein pulverisierten und bei 100° im Luftbade oder besser (um das Entweichen von Ammoniak aus etwa vorhandener phosphorsaurer Ammoniak-Magnesia zu vermeiden) in der § 540 beschriebenen Weise getrockneten Material werden 3 Portionen abgewogen und nach 1, 2 und 3 untersucht. Die Analyse der ersten Portion geschieht im wesentlichen nach dem im § 610 angegebenen Gange, aber ohne Berücksichtigung von Ammoniak und Kohlensäure, für deren Bestimmung die Portionen 2 und 3 dienen.

1. Das trockene, abgewogene Pulver (1—2 g) wird mit heissem Wasser übergossen, einige Zeit mit Wasser gekocht, heiss filtriert und mit heissem Wasser nachgewaschen.

a) Das Filtrat (+ Waschwasser) wird eingeengt und mit Salzsäure stark sauer gemacht. Nach 12stündigem Stehen sammelt man die ausgeschiedene Harnsäure auf gewogenem Filter, wäscht mit kaltem Wasser nach, trocknet bei 120°, wägt wieder und erfährt so das Gewicht der Harnsäure. Das Filtrat wird stark eingeengt, in einem Becherglase mit Ammoniak stark alkalisch gemacht und die abgeschiedene phosphorsaure Ammoniak-Magnesia nach einigen Stunden auf kleinem, aschefreiem Filter gesammelt, mit verdünntem Ammoniak gewaschen und weiter nach § 510, b behandelt. Durch Rechnung findet man die dem gefundenen Magnesiumpyrophosphat entsprechende Menge phosphorsaure Ammoniak-Magnesia. Das Filtrat wird wieder eingeengt, in einen gewogenen Porzellantiegel gebracht, zur Trockne verdunstet, bis zur Verjagung des Chlorammoniums schwach geglüht und nach dem Erkalten gewogen. Man erfährt so die Quantität Alkali (als Chloralkali), welche an Harnsäure gebunden war. Ueber die Trennung von Kalium und Natrium siehe § 509.

b) Die in kochendem Wasser unlöslichen Bestandteile werden in einem Becherglase mit verdünnter Salzsäure behandelt und 12 Stunden stehen gelassen.

α) Die ausgeschiedene Harnsäure wird auf gewogenem, aschefreiem Filter gesammelt, mit kaltem Wasser gewaschen und bei 120° getrocknet. Nachdem das Gewicht festgestellt ist, verascht man, zieht die gefundene Aschemenge ab und erfährt so das Gewicht der Harnsäure. Die Asche wird in Salzsäure gelöst und dem salzsauren Filtrat (*β*) zugefügt.

β) Die Untersuchung des salzsauren Filtrats (event. + Aschelösung siehe *α*) geschieht in der § 610, B 1 beschriebenen Weise unter Benutzung der in §§ 509 ff. gegebenen Einzelvorschriften. Enthält der in Essigsäure unlösliche Niederschlag *αα* (S. 640) Calciumoxalat und Ferriphosphat nebeneinander, so kann man zweckmässig in folgender Weise verfahren: Der Niederschlag wird geglüht, mit etwas Ammoncarbonat versetzt, um beim Glühen ausgetriebene Kohlensäure zu ersetzen, wieder bis zur schwachen Rotglut erhitzt und gewogen. Man behandelt den Glührückstand, welcher jetzt statt des Calciumoxalats kohlensauren Kalk enthält, mit Essigsäure, filtriert durch ein aschefreies Filter, wäscht mit Wasser aus, glüht, wägt und erfährt so das Gewicht des Ferriphosphats. Durch Subtraction dieses Wertes von dem vorher erhaltenen erfährt man die Menge Calciumcarbonat, aus der durch Rechnung die entsprechende Menge Calciumoxalat gefunden wird.

2. Die zweite Portion des trockenen Pulvers dient zur Bestimmung des Kohlensäuregehaltes nach § 525.

3. In einer dritten Portion ermittelt man die Menge des Ammoniaks. Das trockene abgewogene Pulver wird mit verdünnter Salzsäure erwärmt und bei Anwesenheit von Harnsäure nach 12stündigem Stehen filtriert. Im Filtrat (+ Waschwasser) bestimmt man die Menge des Ammoniaks nach Schlösing (S. 578, 3).

2. Untersuchung von serösen Flüssigkeiten, Cystenflüssigkeiten, Synovia usw.

Allgemeines.

612. Das Blutplasma, das Blutserum, die Lymphe, die Transsudate (Pericardial-, Peritoneal-, Pleuraflüssigkeit, Hydrocelenflüssigkeit usw.), die Exsudate (Transsudate, bei deren Bildung entzündliche Vorgänge beteiligt sind), die Amniosflüssigkeit, die Cystenflüssigkeiten, die Synovia können im Allgemeinen nach denselben Verfahren untersucht werden.

Die Transsudate stimmen in ihrer Zusammensetzung qualitativ im wesentlichen mit dem Plasma, aus dem sie stammen, überein. Die Veränderungen, welche sie secundär durch Beimengung von Producten der Zelltätigkeit, von Blut, durch proteolytische Processe usw. erfahren können, kommen für den Gang der Untersuchung nicht in Betracht. Dasselbe gilt von den Exsudaten. Die Amniosflüssigkeit und die Flüssigkeiten der

serösen Cysten schliessen sich ebenfalls den Transsudaten an. Der Inhalt mancher anderer Cysten, z. B. vieler Ovarialcysten, sowie die Synovia, zeigen zwar grössere Abweichungen in der Zusammensetzung, doch lassen sich in den meisten Fällen dieselben Untersuchungsmethoden auf sie anwenden.

613. **Bestandteile.** Alle diese Flüssigkeiten enthalten Proteinstoffe u. z. mehrere, aber in sehr verschiedener Menge. Während sie im Blutserum 7—8 pCt. beträgt, schwankt sie in den Trans- und Exsudaten von 0,1 pCt. und noch weniger (in der Cerebrospinalflüssigkeit) bis zu 6 pCt. (wobei zu bemerken, dass im allgemeinen sich die höheren Werte in den Exsudaten finden), in der Synovia von 2—4 pCt., in den Cystenflüssigkeiten (abgesehen von den serösen Cysten) von 5—10 pCt. Alle enthalten kleine Mengen von sogen. Extractivstoffen, unter ihnen ist wohl regelmässig Harnstoff (reichlicher bei Urämie) gefunden worden, meist auch Traubenzucker, ferner Kreatin, Harnsäure, Hippursäure, Milchsäure, Inosit, gepaarte Glukuronsäure (im Plasma), Glycerin (im Plasma), gelegentlich auch Bernsteinsäure, Allantoin. Auch Aminosäuren und Diaminosäuren z. B. Leucin, Tyrosin, Lysin (im Plasma bei acuter, gelber Leberatrophie, in Transsudaten durch proteolytische Fermente) sind nachgewiesen worden, ferner Gallensäuren und Gallenfarbstoffe (bei Icterus), Blutfarbstoffe und deren Umwandlungsproducte usw. Fette, Phosphatide, Cholesterin sind ebenfalls stets vorhanden, hie und da auch Cholesterinester. Im Blutserum sind auch Fermente nachgewiesen, welche Stärke (Bial[1]), Röhmann[2]) spalten, ferner solche, welche Polypeptide (Abderhalden[3]) spalten und solche, welche Milch zur Gerinnung bringen (Fuld u. Spiro[4]), Bang[5]). Stets finden sich anorganische Salze, unter ihnen hauptsächlich Chlornatrium, ferner Natriumcarbonat, an Phosphorsäure gebundene alkalische Erden und Alkalien.

614. **Allgemeine Eigenschaften.** Das spec. Gewicht, welches beim Blutserum im Mittel 1028 beträgt, kann bei den verschiedenen hier in Betracht kommenden Flüssigkeiten zwischen 1005 und 1030 schwanken und ist im wesentlichen von dem Eiweissgehalt abhängig. Ueber die Bestimmung siehe § 22.

Die Reaction ist gegen Lacmus meist schwach alkalisch. Reaction.

Die Farbe ist, wenn kein Blut beigemengt ist, ein blasses oder gesättigteres Gelb oder gelbliches Grün. Beim Stehen an der Luft trüben sich die Flüssigkeiten und die Farbe nimmt einen mehr grünlichen Ton an. Hydroceleflüssigkeiten haben oft von vornherein eine dunklere, grünliche Farbe.

1) Pfl. A. **52.** 137. (1892.), **53.** 156. (1893.)
2) B. **25.** 3654. (1892.)
3) H.-S. **53.** 294. (1904.) **55.** 371. (1908.)
4) H.-S. **31.** 132. (1900/01.) 5) B. Ph. P. **5.** 395. (1904.)

Färbung. Beimengung von Blut kann eine dunkle, chokoladenbraune Farbe verursachen.

Consistenz. Die Consistenz ist in den meisten Fällen eine dünnflüssige, in anderen in Folge von Gehalt an Mucin oder Mukoiden eine zähe, so dass die Flüssigkeit beim Ausgiessen lange Fäden zieht, oder auch eine derb gallertige. Manche der Flüssigkeiten gerinnen spontan, andere erst auf Zusatz von Blut oder Serum.

Klarheit. 615. Klarheit. Häufig sind die Flüssigkeiten ganz klar durchsichtig, zeigen aber fast stets sehr deutlich weissliche Fluorescenz. Oft findet man sie durch rote Blutkörperchen und deren Umwandlungsproducte, durch Leukocyten, Epithelzellen, Fibrinausscheidungen, Cholesterinkrystalle getrübt. Alle diese trübenden Beimengungen und Niederschläge, mit Ausnahme der Blutkörperchen, lassen sich mittelst Filtration durch Papier entfernen. Die Blutkörperchen senken sich beim ruhigen Stehen während eines Tages und können so leicht abgetrennt werden, nur im defibrinierten Blut gelingt dies oft sehr schwer und unvollkommen, besser durch Centrifugieren. Milchähnliches Aussehen der Flüssigkeiten ist in der Regel durch fein verteiltes Fett bedingt (Blutplasma und Serum zeigen normaler Weise häufig während der Verdauung diese Beschaffenheit), kann aber auch durch Eiweiss (meist wohl eine Globulin-Phosphatidverbindung[1]), gelegentlich auch Globulin-Cholesterinölsäureesterverbindung[2]) verursacht sein. Solche Flüssigkeiten lassen sich durch Filtration nicht klären. Handelt es sich um Fett, so bewirkt Schütteln mit Aether nach vorausgegangenem Zusatz von etwas Natronlauge völlige Klärung. Eine nicht durch Fett bedingte milchige Beschaffenheit ist auf diese Weise nicht zu beseitigen. Die die Trübung verursachende Substanz fällt auf Zusatz des gleichen Volumens gesättigter Ammonsulfatlösung aus. Dem mit kaltem Alkohol und Aether behandelten Niederschlag kann durch heissen Alkohol Phosphatid (oder Cholesterinester) entzogen werden.

Die Echinococcenflüssigkeit, welche keine Eiweissstoffe, aber Traubenzucker, Bernsteinsäure, Inosit und viel Chlornatrium enthält, wird ebenfalls wie eine seröse Flüssigkeit untersucht.

Bestimmung des Trockenrückstandes in serösen Flüssigkeiten.

616. In einem gewogenen, mit eingeriebenem Glasstopfen versehenen, flachen Gefäss oder in einer Schale, welche in einem verschliessbaren Wägeglas Platz hat und mit diesem zusammen gewogen ist, misst oder wägt man 10—15 ccm ab, dampft auf dem Wasserbade ein und trocknet zunächst einige Tage im Vacuum über Schwefelsäure, dann bei 110 bis 120° und zuletzt bei fast 120° bis zum constanten Gewicht. Sind in der

1) siehe besonders Bernert, A. exp. P. u. Ph. **49**. 32. (1903), ferner Joachim, M. m. W. 1903. S. 1915.

2) Wolff, B. Ph. P. **5**. 208. (1904.)

Flüssigkeit Harnstoff oder andere in der Hitze leicht zersetzliche Substanzen zu vermuten, so erhitzt man nicht viel über 110°.

Nachweis und Bestimmung der anorganischen Salze in serösen Flüssigkeiten.

617. Für den Nachweis der anorganischen Bestandteile ist wegen des Eiweissgehaltes der Flüssigkeiten die vorherige Veraschung unvermeidlich. Die Veraschung würde nach § 502, die Untersuchung des wässerigen und salzsauren Auszuges der Asche nach §§ 507 und 508 zu geschehen haben. Indessen ist zu berücksichtigen, dass jedenfalls ein Teil der hierbei nachgewiesenen Schwefelsäure und Phosphorsäure nicht als anorganisches Salz in den Flüssigkeiten vorhanden war, sondern erst während der Veraschung aus dem organisch gebundenen Schwefel der Proteinstoffe entstanden bezw. aus den Phosphorsäure enthaltenden Phosphatiden und phosphorhaltigen Proteiden abgespalten worden ist; ferner dass Kohlensäure und Salzsäure während der Veraschung durch Schwefelsäure und Phosphorsäure ausgetrieben sein können. Die hieraus für die Feststellung der in den Flüssigkeiten präformiert vorhandenen anorganischen Salze sich ergebenden Ungenauigkeiten lassen sich einigermassen bei Benutzung folgender Methode vermeiden.

Man fällt die Flüssigkeiten mit überschüssigem Alkohol, filtriert durch ein aschefreies Filter und wäscht zunächst mit heissem Alkohol, dann mit heissem Wasser aus. Es werden auf diese Weise zwei Auszüge (ein alkoholischer und ein wässeriger) und ein Filterrückstand erhalten.

Auszüge. Um den alkoholischen Auszug von Phosphatiden zu befreien, verdunstet man ihn bei mässiger Wärme (nicht über 60°) auf dem Wasserbade, extrahiert den Rückstand mit warmem absolutem Alkohol, dampft das Filtrat wieder bei mässiger Wärme ein und nimmt den Rückstand mit wasser- und alkoholfreiem Aether auf. Derselbe löst Phosphatide, aber keine anorganischen Salze. Die in dem abs. Alkohol und dem Aether unlöslichen Rückstände werden mit dem wässerigen Auszuge vereinigt. Die Flüssigkeit wird eingedampft, getrocknet und nach § 502 verascht; die Untersuchung des wässerigen Aschenauszugs wird nach § 507 vorgenommen.

Filterrückstand. Derselbe enthält die Proteinstoffe und Phosphate der alkalischen Erden und event. Eisen und wird besonders verascht (§ 502) und der salzsaure Auszug nach § 508 untersucht. Sind in den Flüssigkeiten phosphorhaltige Proteide vorhanden, wie sie z. B. in Transsudaten von Paijkull[1]) nachgewiesen wurden, so wird ein Teil der in der Asche nachgewiesenen Phosphorsäure aus ihnen stammen; indessen ist diese Quantität in allen Fällen eine ausserordentlich geringe, welche gegenüber der als Phosphat vorhandenen nicht in Betracht kommt.

---

1) Maly's Jbr. 1892. S. 558.

Für die quantitative Bestimmung ergeben sich aus dem Gesagten die nötigen Anhaltspunkte. Für die quantitativen Einzelbestimmungen kommen die §§ 509 ff. in Betracht.

Qualitative Prüfung auf Proteinstoffe in serösen Flüssigkeiten.

618. Wohl in allen hierher gehörigen Flüssigkeiten sind Serumalbumin und Serumglobulin*) vorhanden, in einzelnen (Blutplasma, manchen Transsudaten) auch Fibrinogen. Albumosen scheinen im Plasma und Serum nur in ganz geringer Menge vorzukommen. Peptone fehlen ganz. In Transsudaten usw. sind Albumosen (entstanden durch proteolytische Fermente) wiederholt in grösserer Menge nachgewiesen. Glukoproteide und phosphorhaltige Proteide sind in denjenigen Flüssigkeiten gefunden worden, welche schleimige Beschaffenheit zeigen und beim Umgiessen von einem Gefässe in das andere Fäden ziehen; aber auch in ganz dünnflüssigen Lösungen, in Trans- und Exsudaten hat man Mukoide (§ 463) und in Exsudaten phosphorhaltige Proteide (S. 496) nachgewiesen.

Vorbereitung. Enthält die zu untersuchende Flüssigkeit Trübungen oder Niederschläge, so ist sie zunächst, wenn ihre physikalische Beschaffenheit es zulässt, zu filtrieren, bezw. von Blutkörperchen durch Absitzenlassen oder von Fett durch Behandeln mit Aether zu befreien (§ 615). Den Filterrückstand oder Bodensatz prüft man mikroskopisch. Im Niederschlage enthaltene Flocken und Fetzen können nach Schlemmen und Waschen mit Wasser gereinigt und auf Fibrin (§ 313) geprüft werden. Glasiges Aufquellen in 0,1 proc. Salzsäure und schnelle Lösung in künstlichem Magensaft (§ 483) sprechen für Fibrin.

619. **Glukoproteide, phosphorhaltige Proteide.**

1. Mucine (Mukoide), phosphorhaltige Proteide. Man versetzt eine grössere Menge, z. B. 100 ccm (nötigenfalls nach Verdünnen mit Wasser) mit Essigsäure, filtriert, wäscht mit essigsäurehaltigem Wasser aus, löst in schwach alkalihaltigem Wasser, wiederholt die Fällung mit Essigsäure und prüft den Niederschlag.

a) Mucine und Mukoide. Man kocht einen Teil des Niederschlags mit verd. Mineralsäure und stellt mit der Flüssigkeit die Trommer'sche Probe an. Ueber die Unterscheidung der Mucine von Mukoiden siehe § 459.

b) Phosphorhaltige Proteide. Man kocht einen Teil des Niederschlags mit Alkohol und Aether aus und untersucht ihn nach § 56 auf organisch gebundenen Phosphor. Dabei ist indessen zu bemerken, dass ein ganz schwacher Ausfall der Phosphorsäurereaction in der Schmelze nicht berücksichtigt werden darf, da die Entfernung von Phosphaten und Phosphatiden, welche dem Niederschlag stets beigemengt sind, meist nur unvollkommen gelingt (Salkowski).

*) In manchen auch Fibringlobulin (§ 305).

War organisch gebundener Phosphor nachgewiesen, so löst man einen weiteren Teil des Niederschlags in Natronlauge, fügt Salzsäure hinzu, kocht bis zur klaren Lösung, übersättigt mit Ammoniak und versetzt mit Silbernitrat. Eine flockige Fällung (Silberverbindungen der Nucleinbasen) zeigt Nucleoproteid (§ 418) an. Bei negativem Ausfall dieser Reaction gibt organisch gebundener Phosphor die Anwesenheit von Paranucleoproteid (§ 444) zu erkennen.

2. Pseudomucin. Der Nachweis geschieht in der § 466 für die Darstellung des Pseudomucins angegebenen Weise.

3. Mukoide, die nach 1 und 2 nicht abgeschieden werden. Die Flüssigkeit wird durch Erhitzen zum Sieden unter vorsichtigem Essigsäurezusatz enteiweisst, Filtrat und Waschwasser werden genau neutralisiert, auf dem Wasserbade stark eingeengt und mit Alkohol gefällt. Der Niederschlag wird in Wasser gelöst und durch Dialyse von Salzen befreit. Ein jetzt auf Zusatz von Essigsäure auftretender Niederschlag ist zu prüfen, ob er nach dem Kochen mit Mineralsäure reduciert (Hammarsten[1]).

620. **Serumalbumin, Serumglobulin, Fibrinogen.** Ein nicht zu kleiner Teil der Flüssigkeit*) z. B. 100 ccm wird entweder bei 30° vollständig mit pulverisiertem, krystallisiertem Magnesiumsulfat gesättigt oder mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt, filtriert, der Niederschlag mit gesättigter Magnesiumsulfatlösung resp. halb gesättigter Ammonsulfatlösung ausgewaschen und sowohl das Filtrat als auch der Niederschlag untersucht.

1. Das Filtrat wird zum Sieden erhitzt. Flockige Coagulation zeigt das Vorhandensein von Serumalbumin an.

2. Der Niederschlag wird zwischen Filtrierpapier ausgepresst, dann in nicht viel Wasser gelöst.

a) In einem Teil dieser Lösung werden nach § 24 die Coagulationstemperaturen bestimmt. Fibrinogen gerinnt bei 52—55°, Serumglobulin über 70°.

Ueber Euglobulin und Pseudoglobulin siehe S. 406.

b) Ein anderer Teil der Lösung, ebenso wie ein Teil der ursprünglichen serösen Flüssigkeit werden mit etwas frisch gelassenem, vom ausgeschiedenen Fibringerinnsel abgepresstem Blut versetzt und einige bis 24 Stunden bei 20—30° stehen gelassen. Tritt Gerinnung der ganzen Flüssigkeit oder Abscheidung gallertiger Flocken von den Eigenschaften des Fibrins (§ 313) ein, so enthielt die Flüssigkeit Fibrinogen.

---

*) Enthält die Flüssigkeit durch Essigsäure fällbare Stoffe (§ 619, 1), so wird sie zunächst durch mässigen Essigsäurezusatz und Filtration von diesen befreit, mit Natriumcarbonat neutralisiert und nun weiter, wie oben angegeben, behandelt. Durch Essigsäure nicht fällbare Mukoide (§ 619, 2 u. 3) können nur nach erfolgter Coagulation der Eiweissstoffe von diesen getrennt werden.

1) H.-S. **15**. 202. (1891.), Paijkull, Maly's Jbr. 1892. S. 558.

Das zur Reindarstellung von Fibrinogen von Hammarsten angegebene Verfahren (§ 304) ist zum Nachweis kleiner Mengen nicht geeignet. Zur Isolierung und Erkennung auch kleiner Fibrinogenmengen wird vermutlich das Verfahren von Reye (§ 304) brauchbar sein, doch ist seine Anwendbarkeit besonders auch im Hinblick auf die in den serösen Flüssigkeiten nachgewiesenen Proteide noch zu prüfen.

621. **Albumosen.** Der Prüfung auf Albumosen muss eine vollständige Entfernung des coagulierbaren Eiweisses vorausgehen. Man erreicht das mit folgender Methode (Hohlweg u. Meyer[1]), von der ausserdem festgestellt ist, dass sie zu keiner künstlichen Bildung von Albumosen aus Eiweiss führt. 50 ccm blutfarbstofffreies*) Serum wird mit 50 ccm einer Mischung von gleichen Teilen 1proc. Essigsäure und 5 proc. Monokaliumphosphatlösung versetzt und nach Verdünnung mit 300 ccm Wasser und Zusatz von 400 ccm gesättigter Kochsalzlösung durch Kochen coaguliert. Das Filtrat, welches keine Biuretreaction gibt, zeigt eine solche erst, nachdem es nach genauer Neutralisation bis auf $^1/_{10}$—$^1/_{20}$ eingeengt ist. Der Albumosengehalt des Blutserums kann also nur ein ganz geringer sein.

Die Prüfung anderer seröser Flüssigkeiten kann in derselben Weise erfolgen. Der Zusatz der Essigsäure-monokaliumphosphatlösung, dessen Menge sich nach der Alkalescenz richtet, erfolgt bis zur sauren Reaction gegen Lacmus, aber noch neutralen Reaction gegen Congo, der Grad der Verdünnung durch Wasserzusatz richtet sich nach dem Eiweissgehalt. Kochsalz wird bis zur Halbsättigung der Gesamtflüssigkeit zugesetzt.

Man kann auch die Entfernung des Eiweisses nach Michaelis u. Rona[2]) in folgender Weise bewirken**). 50 ccm Serum werden unverdünnt mit 500 ccm einer milchigen Mastixsuspension***) versetzt und mit Essigsäure (20 ccm einer 10proc. Essigsäure) schwach angesäuert. Nach einer halben Stunde fügt man die gleiche Menge Mastixsuspension portionsweise hinzu, säuert wieder mit 20—30 ccm der Essigsäure an, setzt in Portionen 20 bis 30 ccm 10 proc. Magnesiumsulfatlösung hinzu, bis eine deutliche Flockung auftritt und filtriert nach kurzer Zeit event. nach Digerieren in lauwarmem Wasser ab. Da ein kleiner Teil der etwa vorhandenen Albumosen bei diesem Verfahren zusammen mit dem Eiweiss im Niederschlag sich befindet,

*) Bei Anwesenheit von Blutfarbstoff kann aus diesem stammende biuretgebende Substanz in die Flüssigkeit gelangen (siehe bes. Morawitz u. Dietschy, A. exp. P. u. Ph. **54**. 88. (1906.)

**) Ueber die Widerlegung der von Freund[3]) gegen dieses Verfahren gemachten Einwände siehe Michaelis u. Rona[4]) sowie Abderhalden[5]).

***) Man stellt eine 10proc. alkoholische Lösung von Mastix her, lässt einige Tage stehen und giesst oder filtriert die überstehende klare Flüssigkeit ab. Von dieser haltbaren Lösung mischt man für jedesmaligen Gebrauch ein Volumen durch plötzliches Zusammengiessen mit der doppelten Menge Wasser. Es entsteht eine milchige Suspension.

1) B. Ph. P. **11**. 381. (1908.)
2) B. Z. **5**. 365. (1907.), **3**. 107. (1907.), **4**. 11. (1907.)
3) B. Z. **7**. 361. (1908.) 4) B. Z. **8**. 356. (1908.)
5) B. Z. **8**. 360. (1908.)

so muss man diesen Niederschlag nach dem Trocknen und gründlichen Extrahieren mit Aether im Soxhlet-Apparat (bis der Aether keinen Rückstand von Mastix mehr hinterlässt) mit Wasser auskochen. Der so erhaltene Wasserauszug, welcher den Rest der Albumosen enthält, wird mit dem obigen Filtrat vereinigt, eingeengt und mit der Biuretreaction geprüft. — Vorteilhaft lässt sich die Mastixmethode auch dann anwenden, wenn man vorher die Hauptmenge des Eiweisses mittelst Alkohol oder durch Coagulation in der Siedehitze entfernt hat.

Lässt der Ausfall der Biuretreaction im Filtrat auf eine reichliche Anwesenheit von Albumosen schliessen, so kann man die Enteiweissung in der gewöhnlichen Weise (§ 622) vornehmen und das Filtrat nach § 320 oder § 321 untersuchen.

Ueber die Darstellung der Mucinalbumose siehe S. 499.

Bestimmung der gerinnbaren Eiweissstoffe in serösen Flüssigkeiten.

622. **Albumin + Globuline.** Man erhitzt 50 bis 100 ccm Wasser in einer Porzellanschale zum Kochen und trägt eine kleine gemessene oder gewogene Menge der zu untersuchenden Flüssigkeit (etwa 15—20 ccm) in das siedende Wasser ein. Man erhält noch einige Minuten im Sieden, während man mittelst eines Glasstabes kleine Tropfen verdünnter Essigsäure hinzufügt, bis die Gerinnung grossflockig und die Flüssigkeit klar erscheint, filtriert durch ein gewogenes, aschefreies Filter, wäscht mit Wasser, kochendem Alkohol und mit Aether aus, trocknet bei 120° bis zum constanten Gewicht, verascht und bringt das Gewicht der Asche in Abzug. Die Resultate fallen gewöhnlich ein wenig zu niedrig aus, da etwas von den Eiweissstoffen in Lösung bleibt; man prüft das Filtrat mit etwas Ferrocyankalium + Essigsäure und wiederholt die Fällung in einer neuen Portion, wenn hierbei deutliche Trübung eintritt.

623. **Albumin, Globuline.** Man fügt zu einer gemessenen oder gewogenen Menge der Flüssigkeit (20—50 ccm) das gleiche Volumen gesättigter neutraler Ammonsulfatlösung, filtriert nach mindestens einstündigem Stehen durch ein gewogenes, aschefreies Filter und wäscht mit halbgesättigter Ammonsulfatlösung aus, bis das Filtrat keine Reaction mit Ferrocyankalium + Essigsäure mehr gibt.

a) Das Filtrat wird zum Kochen erhitzt, mit Essigsäure ganz schwach angesäuert, nochmals aufgekocht und durch ein gewogenes, aschefreies Filter filtriert. Der Niederschlag wird anhaltend mit heissem Wasser, zuletzt mit heissem Alkohol und mit Aether gewaschen und bei 120° bis zum constanten Gewicht getrocknet. Die Substanz wird verascht und das Gewicht der Asche in Abzug gebracht: Albumin.

b) Der Niederschlag wird einige Zeit bei 110° erhitzt, dann mit heissem Wasser, Alkohol und Aether ausgewaschen und in der gleichen Weise, wie unter a angegeben, weiter behandelt: Serumglobulin + Fibrinogen.

Hat man in einer besonderen Portion der Flüssigkeit die Summe der gerinnbaren Eiweissstoffe bestimmt, so dient diese Globulinbestimmung als Controlle.

Zur getrennten Bestimmung des sogenannten Eu- und Pseudoglobulins hat man zunächst durch Zufügen des halben Volumens gesättigter Ammonsulfatlösung das Euglobin und aus dem Filtrat durch Zusatz von Ammonsulfatlösung bis zur Halbsättigung das Pseudoglobulin abzuscheiden. Wallerstein[1]) fällt in einer Portion die Gesamtmenge des Globulins durch das gleiche Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung, in einer anderen das Euglobulin (+ Fibringlobulin) durch das gleiche Volumen gesättigter Kaliumacetatlösung und findet durch Subtraction der so erhaltenen Werte die Menge des Pseudoglobulins. Er empfiehlt die Flüssigkeit mit Wasser (4fache Menge) vor der Fällung zu verdünnen.

Eine quantitative Trennung und Bestimmung von Albumin und Globulinen ist indessen auf diese Weise nicht zu erreichen. Siehe darüber § 321.

624. **Fibrinogen.** Eine genaue Bestimmung des Fibrinogens ist noch nicht ausführbar. Ob sich das von Reye[2]) (§ 304) angegebene Isolierungsverfahren für diesen Zweck eignet, müssen weitere Untersuchungen lehren. Näherungswerte erhält man, wenn man eine abgemessene, nicht zu kleine Portion der Flüssigkeit (40—100 ccm) mit einer nicht zu geringen Menge des aus frisch geronnenem Blut ausgepressten, durch Leinwand filtrierten Serums versetzt (ein mässiger Gehalt des letzteren an roten Blutkörperchen schadet nicht weiter), 24 Stunden bei 20—30° stehen lässt, dann das gebildete Fibrin schlägt, auf einem gewogenen Filter sammelt, zuerst mit 1 proc. Chlornatriumlösung, dann mit Wasser, endlich mit heissem Alkohol wäscht, bei 120° trocknet und wägt. Das Gewicht des gebildeten Fibrins kann man als ungefähren Ausdruck des Gewichts vom Fibrinogen in der untersuchten Flüssigkeit gelten lassen. (Will man den Zweifel ausschliessen, ob auch das ganze Fibrinogen bei diesem Versuche zur Gerinnung gebracht sei, so stelle man zwei solche Bestimmungen an und setze vom frisch ausgepressten Serum zur einen Portion des Transsudats doppelt so viel als zur andern hinzu. Hat sich dann nach 24 Stunden in beiden Versuchen gleich viel Fibrin abgeschieden, so ist auch sicher das ganze Fibrinogen in Fibrin umgewandelt.)

Die Circumpolarisation kann zur Bestimmung der Eiweissstoffe nicht verwandt werden, da einerseits die Angaben über die spec. Drehung der einzelnen Eiweissstoffe schwanken, andererseits diese Eiweissstoffe in wechselnden Mengenverhältnissen in den serösen Flüssigkeiten vorkommen.

---

1) Diss. Strassburg 1902.

2) Diss. Strassburg 1898, siehe auch § 304.
Langstein u. Mayer, B. Ph. P. **5**. 69. (1904.)
Siehe auch Lewinski, Pfl. A. **100**. 611. (1903.)

Bestimmung des Gesamtstickstoffs und des Reststickstoffs in serösen Flüssigkeiten.

625. Der Gesamtstickstoff wird nach Kjeldahl bestimmt (§ 528, b).

Unter Reststickstoff versteht man denjenigen Stickstoff seröser Flüssigkeiten, welcher in anderer Form als in Form coagulierbarer Proteine vorhanden ist.

Zu seiner Bestimmung behandelt man die Flüssigkeit nach § 621 und bestimmt in dem eingeengten Filtrat den Stickstoff nach Kjeldahl (§ 528, b).

Näheres über den Reststickstoff, der in der Regel zum allergrössten Teil aus Harnstoff besteht, siehe bei Hohlweg und Meyer[1]).

Nachweis und Bestimmung des Ammoniaks in serösen Flüssigkeiten.

626. Der Nachweis des Ammoniaks geschieht nach § 52.

Für die Bestimmung in serösen Flüssigkeiten und ebenso im Blut benutzt man am besten das Vacuum-Destillationsverfahren unter Zusatz von Natriumcarbonat, Kochsalz und Alkohol (Folin[2]). Der Zusatz von Magnesiumoxyd, den Nencki[3]) und seine Mitarbeiter empfohlen haben, ist weniger empfehlenswert, da er, wenigstens unter Umständen, eine Abspaltung von Ammoniak aus leicht zersetzlichen stickstoffhaltigen Verbindungen bewirken kann (Folin[4]), Grafe[5]).

Man nimmt auf 50 ccm seröser Flüssigkeit oder Blut 16 g Natriumchlorid, 25 ccm Alkohol und 5 g krystallisierte Soda und verfährt im Uebrigen nach S. 576 unter Benutzung des dort beschriebenen Apparates.

Nachweis und Bestimmung des Harnstoffs in serösen Flüssigkeiten.

627. Um sehr geringe Mengen von Harnstoff aus serösen Flüssigkeiten oder Blut, Galle, Milch oder aus Organen zu isolieren und möglichst quantitativ zu bestimmen, verfährt man in folgender Weise:

Verfahren nach Hoppe-Seyler.

1. Verfahren nach Hoppe-Seyler. Die Flüssigkeit oder das zu untersuchende, frische, schnell zerkleinerte Organ oder frisches Blut werden mit dem drei- bis vierfachen Volumen starken Alkohols gut gemischt und 24 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen. Dann filtriert man ab, wäscht den Rückstand mehrmals mit Alkohol und engt die vereinigten Filtrate zur Entfernung der Hauptmenge des Alhohols bei mässiger Temperatur (ungefähr 50°) oder im Vacuum ein.

Nach dem Erkalten säuert man mit Essigsäure stark an, fügt Chloroform hinzu, schüttelt gut und trennt im Scheidetrichter beide Flüssigkeiten. Die Chloroformlösung wird mit Wasser gewaschen und die Waschflüssigkeit

1) B. Ph. P. **II**. 381. (1908.)
2) H.-S. **37**. 161. (1902/03.), Schittenhelm, H.-S. **39**. 73. (1903.)
3) H.-S. **33**. 193. (1901.), **35**. 246. (1902.)
4) H.-S. **37**. 166. (1902/03.) 5) H.-S. **48**. 312. (1906.)

mit der übrigen alkoholisch-wässerigen Lösung vereinigt. (Durch das Chloroform werden den Filtrationen sehr hinderliche Phosphatide, ferner Seifen, Fette und Cholesterin aufgenommen und entfernt.) Die wässerig-alkoholische Lösung wird nun durch Abdampfen bei mässiger Wärme von Alkohol befreit, mit Schwefelsäure nach dem Erkalten stark sauer gemacht und zur Entfernung von Pepton, Kreatinin und etwa vorhandenen Basen mit Phosphorwolframsäure gefällt, so lange ein Niederschlag entsteht. Den Niederschlag wäscht man einige Male mit schwefelsäurehaltigem Wasser, übersättigt die vereinigten Filtrate mit Barytwasser, entfernt den Ueberschuss durch Einleiten von Kohlensäure, filtriert, dampft auf kleineres Volumen bei mässiger Wärme ein und scheidet nun den Harnstoff mit salpetersaurem Quecksilberoxyd ab in der Weise der Harnstofftitrierung (§ 550), indem aber statt Natriumcarbonat zum Neutralisieren der freiwerdenden Salpetersäure Barytwasser dient und die Flüssigkeit bis zum Ende schwach sauer erhalten wird. Schliesslich wird mit ein paar Tropfen Barytwasser fast neutralisiert, aber nicht alkalisch gemacht, der Niederschlag abfiltriert, einige Male mit kleinen Mengen Wasser gewaschen, mit dem Filter in etwas Wasser zerteilt und mit Schwefelwasserstoff das Quecksilber abgetrennt. Die Lösung soll jetzt ausser vielleicht etwas salpetersaurem Baryt nur salpetersauren Harnstoff enthalten. Sie wird zur Austreibung des Schwefelwasserstoffs auf dem Wasserbade erwärmt und nach Zusatz von Bariumcarbonat bei mässiger Wärme zur Trockne verdampft, der Rückstand mit absolutem Alkohol extrahiert und filtriert. Um kleine Mengen von salpetersaurem Baryt, der sich möglicherweise im Alkohol gelöst hat, zu entfernen, fügt man das gleiche Vol. Essigäther hinzu, filtriert vom Niederschlag ab und verdunstet zur Trockne. Wiederholt man diese Operation (Lösen in Alkohol und Fällen mit Essigäther) mehrmals, so ist der salpetersaure Baryt völlig entfernt und beim Verdunsten krystallisiert Harnstoff aus. Aus Blut erhält man auf diese Weise schöne Krystalle, deren Menge durch die Wage direkt ermittelt werden kann; der aus Organen gewonnene Harnstoff ist meist nicht völlig von syrupösen Beimengungen zu trennen.

In diesem Falle empfiehlt Gottlieb[1]), die Masse in wenig Alkohol zu lösen, ätherische Oxalsäurelösung in einer etwas grösseren Menge als zur Ausfällung nötig ist, hinzuzufügen, die Flüssigkeit zu verdunsten, den Rückstand auf dem Filter mit alkohol- und wasserfreiem Aether zur Entfernung der überschüssigen Oxalsäure auszuwaschen, ihn dann in Wasser zu lösen und in der wässerigen Lösung die an Harnstoff gebundene Oxalsäure durch Titration mit $^n/_{20}$ Barytlösung zu ermitteln. 1 ccm dieser Barytlösung entspricht 3 mg Harnstoff. Da der oxalsaure Harnstoff in Aether etwas löslich ist, so ist dem erhaltenen Harnstoffwert für je 10 ccm Waschäther 0,1 mg zuzuaddieren.

Verfahren nach Salkowski.

2. Verfahren nach Salkowski[2]). Der wie unter 1 angegeben hergestellte Alkoholauszug wird bei gelinder Wärme verdunstet, der Rückstand

1) A. exp. P. u. Ph. **42**. 238. (1899.)

2) Arb. a. d. path. Inst. zu Berlin. Hirschwald 1906. S. 581.

mit Alkohol aufgenommen, das Filtrat wieder verdunstet und dies Verfahren wiederholt, bis der Rückstand sich klar in absolutem Alkohol löst. Der Verdunstungsrückstand wird nun stark abgekühlt und mit Salpetersäure (1,2 spec. Gew.) versetzt, der Niederschlag nach 24 stündigem Stehen in der Kälte auf (über Schwefelsäure getrocknetem) aschefreiem und glattem Filter gesammelt und kurz mit eiskalter Salpetersäure gewaschen. Man befreit das Filter durch Ausbreiten auf Filtrierpapier von überschüssiger Salpetersäure, bringt es in den Trichter zurück, wäscht mit absolutem Alkohol und mit Aether, trocknet und wägt.

An dem gefundenen Wert (Harnstoffnitrat) ist eine Correctur anzubringen, wenn die Prüfung eine Beimengung von Natriumnitrat und Hypoxanthinnitrat ergibt. Die Prüfungen geschehen in folgender Weise:

Prüfung auf Hypoxanthinnitrat (nur nötig bei Untersuchung von Organen). Man löst den gesamten Niederschlag in Wasser, macht mit Ammoniak alkalisch und fügt Silbernitrat hinzu. Bei Anwesenheit von Hypoxanthin entsteht ein gelatinöser Niederschlag. Er wird auf aschefreiem Filter gesammelt, ausgewaschen, in gewogenem Porzellantiegel getrocknet und geglüht. Man wägt und zieht das Gewicht (216 Tl. Silber entsprechen 217 Tl. Hypoxanthinnitrat) von dem Wert für Harnstoffnitrat ab.

Prüfung auf Natriumnitrat. Man befreit das Filtrat von Hypoxanthinsilber durch einige Tropfen Schwefelammonium und Filtration (ev. unter wiederholtem Abdampfen, wenn die Trennung durch Filtration nicht direct gelingt) vom Silber, dampft das Filtrat in einem gewogenen Platintiegel ein und erhitzt vorsichtig. (War die Prüfung auf Hypoxanthin unnötig, so bringt man das Filter mit Harnstoffnitrat direct in einen gewogenen Platintiegel und erhitzt vorsichtig.) Bleibt ein merklicher Rückstand (salpetersaures Natron), so dampft man ihn mit concentrierter Schwefelsäure ab, führt das zurückbleibende Mononatriumsulfat durch wiederholtes Erhitzen mit Ammoncarbonat in Natriumsulfat über und wägt. Das gefundene Natriumsulfat wird auf Natriumnitrat umgerechnet (71 Tl. Natriumsulfat entsprechen 85 Tl. Natriumnitrat) und dieser Wert von dem oben erhaltenen Wert für Harnstoffnitrat abgezogen.

Indirectes Bestimmungsverfahren.

3. Ein Verfahren zur indirecten Bestimmung des Harnstoffs ist von Schöndorff[1]) angegeben. Die Ausführung ist genau die gleiche, wie sie § 553 für die Bestimmung des Harnstoffs im Harne beschrieben worden ist. Für die Zerstörung durch Phosphorsäure nimmt man von dem Filtrat der mit Kalkpulver verriebenen Flüssigkeit eine Quantität, welche 5 oder 10 ccm der serösen Flüssigkeit entspricht.

Die Methode beruht ebenso wie im Harne darauf, dass nach den Ermittelungen von Schöndorff die Mengen Ammoniak und Kohlensäure, welche die mit Phosphorwolframsäure-Salzsäure ausgefällten Flüssigkeiten,

1) Pfl. A. **62**. 1. (1896.) **74**. 307. (1899.)

beim Erhitzen mit Phosphorsäure bezw. mit alkalischer Chlorbariumlösung auf 150° liefern, sich wie 2 : 1 verhalten und dass der Harnstoff der einzige bekannte Körperbestandteil ist, welcher Ammoniak und Kohlensäure in diesem Verhältnis liefert.

Nachweis des Kreatins (und Kreatinins) in serösen Flüssigkeiten.

628. Während Kreatin ein regelmässig vorkommender Bestandteil zu sein scheint und besonders bei Typhuskranken reichlich in serösen Flüssigkeiten auftritt, findet sich Kreatinin wahrscheinlich nicht.

Die Methode der Isolierung des Kreatins und der Nachweis sind § 124 angegeben. Wenn keine Krystallisation zu erreichen ist, so wird die Lösung mit Wasser verdünnt, mit soviel Salzsäure versetzt, dass der Procentgehalt an HCl 2,5—3 pCt. beträgt und zur Ueberführung des Kreatins in Kreatinin 3—4 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt. Nach dem Erkalten wird mit Phosphorwolframsäure ausgefällt und der Niederschlag weiter nach Hofmeister (S. 158) behandelt. Die dabei erhaltene Substanz wird mit Hülfe der Farbenreactionen (S. 161) auf Kreatinin geprüft oder als Pikrat oder Chlorzinkverbindung identificiert (S. 159 und S. 160).

Zur quantitativen Bestimmung sowohl von etwa vorhandenem Kreatinin als auch von Kreatin (nach Umwandlung in Kreatinin) hat man die § 556 beschriebene Methode von Folin zur Bestimmung des Kreatinin im Harn benutzt. Doch entbehren die Resultate der Zuverlässigkeit, da es bisher nicht möglich war, die Bedingungen, unter denen dieses Verfahren sich auf seröse Flüssigkeiten und Organe in einwandsfreier Weise anwenden lässt, besonders auch die Bedingungen für eine quantitative Umwandlung des Kreatins in Kreatinin genau festzustellen. Siehe darüber besonders Weber[1]), ferner Gottlieb und Stangassinger[2]), Mellanby[3]).

Nachweis der Harnsäure in serösen Flüssigkeiten.

Verfahren nach v. Schröder.

629. Verfahren nach v. Schröder[4]). Man verdünnt die Flüssigkeit mit Wasser (Blutserum auf sein fünffaches Volumen), erhitzt unter Zusatz von Essigsäure zum Kochen, filtriert, dampft zur Trockne ein und nimmt den Rückstand mit heissem Wasser auf. In der trüben Flüssigkeit erzeugt man durch Zusatz von etwas Magnesiumsulfat und Natriumcarbonat einen Niederschlag und erzielt dadurch eine schnelle Filtration. Das klare Filtrat wird nach § 559 mit Magnesiamischung und Silbernitrat gefällt, ausgeschiedenes Chlorsilber durch Ammoniak gelöst, der flockige Niederschlag filtriert, ausgewaschen und mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Man dampft jetzt, ohne zu filtrieren, nach Zusatz von etwas verdünnter Essigsäure ein, zerteilt den Rückstand in heissem Wasser, kocht die Flüssigkeit, versetzt

1) A. exp. P. Ph. **58**. 93. (1908.)
2) H.-S. **52**. 1. (1907.), **55**. 295 u. 322. (1908.)
3) J. of Ph. **36**. 447. (1907/08.)
4) Beitr. z. Physiol., C. Ludwig gewidmet 1887. S. 89.
Abeles, Wien. med. Jahrb. 1887. S. 479.

sie mit ein paar Tropfen Natronlauge oder Sodalösung und filtriert sofort in ein etwas Essigsäure enthaltendes Becherglas. Die essigsaure Lösung wird auf ein kleines Volumen eingedampft und an einem kühlen Ort der Krystallisation überlassen. Die Krystalle werden mikroskopisch und mit Hülfe der Murexidreaction auf Harnsäure geprüft.

Verfahren nach Brugsch und Schittenhelm.

Verfahren nach Brugsch und Schittenhelm[1]). Man giesst die Flüssigkeit (Plasma, Blut) in eine heisse wässerige etwa 2—5 proc. Kalilauge langsam ein, erhitzt zum Kochen und bewirkt die Coagulation durch allmähliches Zutröpfeln von Essigsäure. Nachdem das abfiltrierte Coagulum nochmals derselben Behandlung (Eintragen in etwa 5 proc. Kalilauge usw.) unterworfen worden ist, engt man die vereinigten Filtrate ein und fällt die Harnsäure nach Krüger u. Schmid (§ 561), wobei es sich aber empfiehlt, länger als 3 Minuten zu kochen. Ist der abgeschiedenen Harnsäure noch Eiweiss beigemengt, so behandelt man den Niederschlag in der Wärme mit Alkalilauge, filtriert und fällt nochmals mit Kupfersulfat-Bisulfit. Die ausgeschiedenen Krystalle werden mikroskopisch und mit der Murexidreaction auf Harnsäure geprüft.

Nachweis der Amino- und Diaminosäuren in serösen Flüssigkeiten.

630. Die Flüssigkeit wird nach § 622 von Eiweiss befreit und das Filtrat eingeengt. Vorhandenes Tyrosin scheidet sich zunächst ab, aus der Mutterlauge Leucin und andere Aminosäuren. Neuberg u. Richter[2]) konnten so aus dem Serum eines Kranken mit acuter gelber Leberatrophie Tyrosin, Leucin und aus der Mutterlauge nach Kossel u. Kutscher (§ 477) Lysin erhalten. Erfolgt die Krystallisation nicht, so kann man den Rückstand mit heissem Alkohol extrahieren und das alkoholische Filtrat einengen.

Ueber Versuche mit Hülfe von α-Naphthylisocyanat oder β-Naphthalinsulfochlorid Aminosäuren zu isolieren siehe Neuberg u. Strauss[3]), v. Bergmann[4]), über die Gewinnung von Glykocoll mit Hülfe von β-Naphthalinsulfochlorid aus normalem Blut siehe Bingel[5]).

Nachweis und Bestimmung des Zuckers in serösen Flüssigkeiten.

Entfernung von Eiweiss:

631. Dem Nachweis und der Bestimmung hat die Entfernung des Eiweiss vorauszugehen. Für diese sind eine ganze Anzahl von Methoden angegeben, von denen folgende zu empfehlen sind*).

nach Schenck.

1. nach Schenck[6]). 50 ccm seröse Flüssigkeit (oder Blut) werden mit 50 ccm Wasser vermischt und darauf mit 100 ccm 2 proc. Salzsäure und 100 ccm 5 proc. Sublimatlösung versetzt. Man filtriert am nächsten Tage, leitet Schwefelwasserstoff ein, filtriert wieder und stellt das Volumen

*) Die Verfahren werden mit Rücksicht auf die sich anschliessende quantitative Zuckerbestimmung beschrieben. Soll auf Zucker nur qualitativ geprüft werden, so fallen natürlich Feststellungen der Menge, schliessliches Auffüllen auf ein bestimmtes Volumen usw. fort. Es empfiehlt sich in diesem Fall ein Einengen auf ein kleines Volumen.

1) Z. exp. P. Th. **4**. 440. (1907.)
2) D. m. W. 1904. S. 499.
3) B. k. W. 1906. S. 258.
4) B. Ph. P. **6**. 40. (1905.)
5) H.-S. **57**. 382. (1908.)
6) Pfl. A. **55**. 203. (1894.)

des Filtrates fest. Nach Entfernung des Schwefelwasserstoffs durch Durchleiten von Luft, fügt man Natronlauge bis zur schwach sauren Reaction hinzu, engt im Vacuum ein, bringt die Flüssigkeit quantitativ in einen 50 ccm Masskolben und füllt bis zur Marke mit Wasser auf.

nach Michaelis und Rona. mit Eisenoxyd.

2. nach Michaelis und Rona.

a) mit Eisenoxyd[1]). 50 ccm Blutserum werden nach Verdünnen mit der 10—14fachen Menge destillierten Wassers und genauer Feststellung des Volumens tropfenweise oder in dünnem Strahl und unter lebhaftem Umschütteln mit 40 ccm Liquor ferri oxyd. dialys. (nicht Liquor ferri oxychlorati. Pharm. Germ.) versetzt und filtriert. Das wasserklare, eiweiss- und eisenfreie Filtrat, dessen Volumen wieder genau festgestellt wird, wird schwach mit Essigsäure angesäuert, im Vacuum oder auf dem Wasserbade vorsichtig eingeengt, quantitativ in einen Masskolben (z. B. für 50 ccm) überführt und bis zur Marke mit Wasser aufgefüllt.

Für das Blut lässt sich die Methode wie folgt anwenden[2]). Eine abgemessene oder abgewogene Blutmenge (30—40 ccm oder 30—40 g) wird mit destilliertem Wasser auf 1 Liter aufgefüllt und in dünnem Strahl unter Umschütteln mit der Eisenlösung versetzt. Auf je 1 g Hundeblut sind etwa 3 ccm, auf 1 g Kaninchenblut 2,5 ccm Eisenlösung zu verwenden. Ein Ueberschuss innerhalb gewisser Grenzen ist an sich unschädlich. Man kann auch mit Vorteil so verfahren, dass man das Blut nur zehnfach mit Wasser verdünnt, mit dem Rest des Wassers die Eisenlösung verdünnt und mit der verdünnten Eisenlösung enteiweisst. Die Blut-Eisenmischung bleibt nun unter zeitweiligem häufigem Schütteln etwa 10 Minuten stehen; während dieser Zeit erfolgt bereits eine reichliche flockige Ausscheidung der Eiweiss-Eisen-Verbindung. Jetzt setzt man 1—1,5 g fein gepulvertes Magnesiumsulfat auf einmal hinzu und schüttelt kräftig 1—2 Minuten lang. Damit ist die Enteiweissung vollendet. Ist sie gut gelungen, so erfolgt die totale Ausscheidung schnell und die darüber stehende klare farblose Flüssigkeit ist zur Filtration fertig. — In den Fällen, in denen die mehr oder weniger ausgesprochene Färbung des Filtrates eine unvollständige Fällung des Hämoglobins anzeigt, kann zu jeder Zeit eine nachträgliche Correctur stattfinden durch erneute Behandlung mit sehr kleinen Mengen (einige Tropfen bis einige Cubikcentimeter) der Eisenlösung. Ein weiterer Elektrolytzusatz ist unnötig und auch nicht vorteilhaft, da er beim nachfolgenden starken Einengen stören könnte. Als Elektrolyt kann man auch ein anderes Sulfat wählen und man wird natürlich überall, wo das Magnesium bei der nachträglichen Zuckerbestimmung stören könnte, statt des Magnesiumsalzes das

1) Rona u. Michaelis, B. Z. **7**. 332. (1908.), **14**. 479. (1908.)

2) Michaelis u. Rona, B. Z. **8**. 356. (1908.), Oppler u. Rona, B. Z. **13**. 122. (1908.) u. persönliche Mitteilung von Herrn Rona.

Natrium- oder Kaliumsalz oder das Sulfat eines leicht entfernbaren Kations (Zn, Cu) benutzen.

b) mit Kaolin[1]). 50 ccm Blutserum werden mit der 15fachen Menge Wasser verdünnt und mit Essigsäure schwach angesäuert (bis die anfänglich entstehende Trübung sich wieder aufzuhellen beginnt). Man stellt das Volumen fest, fügt auf je 100 ccm Flüssigkeit 20—25 g Kaolin in kleinen Portionen und unter beständigem Umschütteln hinzu und saugt alsbald ab. Die Flüssigkeit filtriert leicht und klar (vielleicht anfänglich durchgehende Spuren von Kaolin entfernt man durch Zurückgiessen der ersten Portionen oder erst später nach dem Einengen durch Filtration). Man saugt möglichst vollständig ab, stellt das Volumen fest, engt im Vacuum oder auf dem Wasserbad ein, führt quantitativ in einen Masskolben (z. B. für 50 ccm) über und füllt bis auf ein bestimmtes Volumen mit Wasser auf*). mit Kaolin.

3. nach Abeles[2]). Man lässt zu 50 ccm absol. Alkohol, in dem sich 2,5 g Zinkacetat (z. Tl. gelöst, z. Tl. suspendiert) befinden, 50 ccm seröse Flüssigkeit (oder Blut) fliessen, mischt schnell, filtriert nach einigen Minuten (bei Blut, wenn der Niederschlag eine gleichmässig schwarz-graue Farbe angenommen hat) durch ein mit Alkohol angefeuchtetes Faltenfilter, wäscht mit 90—95 proc. Alkohol nach, bringt den Rückstand auf Leinwand und presst mit der Handpresse scharf aus. Der Rückstand wird mit Alkohol in der Reibschale zerrieben, auf ein Filter gebracht, mit Alkohol nachgewaschen und wieder ausgepresst**). Die vereinigten Flüssigkeiten werden mit einer 20 proc. Sodalösung so lange unter Umrühren versetzt, bis das Zink als Carbonat ausgefällt ist und die Mischung deutlich alkalische Reaction gibt. Man filtriert, macht das Filtrat (welches bei 50 ccm Blut 250—300 ccm beträgt) mit Essigsäure schwach sauer und dampft auf etwa 20—30 ccm ein. Hierbei scheidet sich noch etwas Unlösliches ab. Man spült die Lösung in einen Masskolben für 50 ccm, setzt neuerdings 3—4 Tropfen einer conc. wässerigen Lösung von Zinkacetat oder Zinkchlorid hinzu, macht mit Natriumcarbonat eben alkalisch, füllt bis zur Marke auf und filtriert durch ein trockenes Filter. Vom beim Stehen sich noch abscheidenden Zinkcarbonat filtriert man ab. nach Abeles.

Der Nachweis des Zuckers in der eiweissfreien Flüssigkeit geschieht mit Hülfe der § 98 aufgeführten Reactionen. Nachweis des Zuckers.

Die Bestimmung erfolgt mittelst Polarisation oder Reduction. Bestimmung des Zuckers.

Es empfiehlt sich, wenn irgend möglich, beide Methoden anzuwenden und ausserdem die polarisierte Flüssigkeit zur Gärung durch Hefe anzusetzen und nachher abermals zu

---

*) Vgl. auch Bang, B. Z. **7**. 327. (1908.)

**) Bang empfiehlt, Fällung und Auswaschen im Centrifugiergefäss vorzunehmen (Hammarsten-Festschrift. No. 2. 1906).

1) B. Z. **7**. 330. (1908.). 2) H.-S. **15**. 498. (1891.)

polarisieren. Es wird sich so die Anwesenheit etwa vorhandener linksdrehender Substanzen (z. B. gepaarte Glukuronsäuren) feststellen lassen.

Polarimetrische Bestimmung.

1. Bestimmung durch Polarisation. Für sie ist ein noch weiteres Einengen der Lösung zweckmässig. Da das Filtrat der Eisenfällung (S. 656) sich bis auf 4—6 ccm concentrieren lässt, ohne dass Trübung oder Dunkelfärbung eintritt, so ist für die polarimetrische Bestimmung die Entfernung des Eiweiss mit Hülfe von Eisenoxyd besonders empfehlenswert. Man muss darauf achten, dass die eingeengte Flüssigkeit stets (schwach) saure Reaction hat. Schon bei ganz geringer alkalischer Reaction wird ein mehr oder weniger beträchtlicher Teil des Zuckers zerstört. Michaelis und Rona bedienen sich für die Polarisation eines sehr dickwandigen Rohres, welches bei einer Länge von 2 dcm nur etwa 5 ccm Inhalt hat. Die Benutzung dieser Röhre gestattet das Arbeiten mit stark eingeengten Flüssigkeiten, wodurch die polarimetrische Zuckerbestimmung auch bei sehr geringem Zuckergehalt ermöglicht wird.

Bestimmung durch Titration nach Bertrand.

2. Bestimmung durch Reduction. Sie kann nach § 576 z. B. nach Bang ausgeführt werden. Besonders geeignet für diesen Zweck ist die Methode von Bertrand[1]).

Princip. Das gebildete Kupferoxydul wird in einer Lösung von Ferrisulfat in Schwefelsäure gelöst. Das dabei nach der Gleichung $Cu_2O + Fe_2(SO_4)_3 + H_2SO_4 = 2\,CuSO_4 + 2\,FeSO_4 + H_2O$ entstehende Ferrosulfat wird mit Kaliumpermanganat titriert.

Erforderliche Lösungen. 1. Eine Lösung, welche in 1 Liter 40 g reines Kupfersulfat enthält. 2. Eine Lösung, welche in 1 Liter 200 g Seignettesalz und 150 g Aetznatron enthält. 3. Eine Lösung, welche in 1 Liter 50 g Ferrisulfat (es muss frei von Ferrosulfat sein, darf also Kaliumpermanganatlösung nicht entfärben) und 200 g Schwefelsäure enthält. 4. Eine Lösung, welche in 1 Liter 5 g Kaliumpermanganat enthält und in folgender Weise auf ihren Wirkungswert geprüft wird.

Man setzt zu 250 mg (oder einer naheliegenden, genau abgewogenen Menge) Ammonoxalat $(NH_4)_2C_2O_4 + H_2O$ in einem Becherglas 50 ccm Wasser und 2 ccm conc. Schwefelsäure, erwärmt auf 60—80° und fügt zu der Lösung unter Umrühren von der Permanganatlösung bis zur eben erkennbar bleibenden Rosafärbung hinzu (es werden etwa 22 ccm verbraucht). Durch Multiplication der für die Titration benutzten Milligramme Ammonoxalat mit 0,8951 erfährt man die Milligramme Kupfer, welche den für die Titration verbrauchten Cubikcentimetern Kaliumpermanganatlösung entsprechen.

Ausführung. In einem Erlenmeyer'schen Kölbchen von 125 bis 150 ccm Inhalt werden 20 ccm der Zuckerlösung (welche nicht mehr wie 100 mg, am besten 10—90 mg Zucker enthält) gebracht, dazu je 20 ccm der Lösungen 1 und 2. Man erwärmt bis zum Sieden und hält genau 3 Minuten in nicht zu heftigem Kochen, saugt die überstehende Flüssigkeit durch ein Asbestfilter*) (es soll möglichst wenig Kupferoxydul auf das Filter kommen), übergiesst den im Kolben zurückgebliebenen Niederschlag mit etwas lauwarmem Wasser und filtriert nach dem Absitzen

*) Ueber die Herstellung der Asbestfilter siehe bei der Glykogenbestimmung.

1) Bl. s. ch. de Paris [3] **35**. 1285. (1906.)

durch das Filter. Nachdem so hinreichend ausgewaschen ist, giesst man eine genügende Menge der Lösung 3 (5—20 ccm) in den Kolben und filtriert sie, nachdem sie den Niederschlag gelöst hat, durch das Filter, damit sich die geringen auf diesem befindliche Mengen von Kupferoxydul ebenfalls lösen. Man wäscht aus und titriert schnell mit Kaliumpermanganatlösung, bis die grüne Farbe in rosa übergeht.

Berechnung. Man rechnet zunächst unter Benutzung des oben erhaltenen Wertes die Anzahl Kupfermilligramme aus, welche den verbrauchten Cubikcentimetern Permanganatlösung entsprechen und erfährt weiter aus der Tabelle die entsprechende Menge Traubenzucker.

10	mg	Glukose	entsprechen	20,4	mg	Cu	49	mg	Glukose	entsprechen	93,6	mg	Cu
11	„	„	„	22,4	„	„	50	„	„	„	95,4	„	„
12	„	„	„	24,3	„	„	51	„	„	„	97,1	„	„
13	„	„	„	26,3	„	„	52	„	„	„	98,9	„	„
14	„	„	„	28,3	„	„	53	„	„	„	100,6	„	„
15	„	„	„	30,2	„	„	54	„	„	„	102,3	„	„
16	„	„	„	32,2	„	„	55	„	„	„	104,1	„	„
17	„	„	„	34,2	„	„	56	„	„	„	105,8	„	„
18	„	„	„	36,2	„	„	57	„	„	„	107,6	„	„
19	„	„	„	38,1	„	„	58	„	„	„	109,3	„	„
20	„	„	„	40,1	„	„	59	„	„	„	111,1	„	„
21	„	„	„	42,0	„	„	60	„	„	„	112,8	„	„
22	„	„	„	43,9	„	„	61	„	„	„	114,5	„	„
23	„	„	„	45,8	„	„	62	„	„	„	116,2	„	„
24	„	„	„	47,7	„	„	63	„	„	„	117,9	„	„
25	„	„	„	49,6	„	„	64	„	„	„	119,6	„	„
26	„	„	„	51,5	„	„	65	„	„	„	121,3	„	„
27	„	„	„	53,4	„	„	66	„	„	„	123,0	„	„
28	„	„	„	55,3	„	„	67	„	„	„	124,7	„	„
29	„	„	„	57,2	„	„	68	„	„	„	126,4	„	„
30	„	„	„	59,1	„	„	69	„	„	„	128,1	„	„
31	„	„	„	60,9	„	„	70	„	„	„	129,8	„	„
32	„	„	„	62,8	„	„	71	„	„	„	131,4	„	„
33	„	„	„	64,6	„	„	72	„	„	„	133,1	„	„
34	„	„	„	66,5	„	„	73	„	„	„	134,7	„	„
35	„	„	„	68,3	„	„	74	„	„	„	136,3	„	„
36	„	„	„	70,1	„	„	75	„	„	„	137,9	„	„
37	„	„	„	72,0	„	„	76	„	„	„	139,6	„	„
38	„	„	„	73,8	„	„	77	„	„	„	141,2	„	„
39	„	„	„	75,7	„	„	78	„	„	„	142,8	„	„
40	„	„	„	77,5	„	„	79	„	„	„	144,5	„	„
41	„	„	„	79,3	„	„	80	„	„	„	146,1	„	„
42	„	„	„	81,1	„	„	81	„	„	„	147,7	„	„
43	„	„	„	82,9	„	„	82	„	„	„	149,3	„	„
44	„	„	„	84,7	„	„	83	„	„	„	150,9	„	„
45	„	„	„	86,4	„	„	84	„	„	„	152,5	„	„
46	„	„	„	88,2	„	„	85	„	„	„	154,0	„	„
47	„	„	„	90,0	„	„	86	„	„	„	155,6	„	„
48	„	„	„	91,8	„	„	87	„	„	„	157,2	„	„

88	mg	Glukose	entsprechen	158,8	mg	Cu	95	mg	Glukose	entsprechen	169,9 mg Cu
89	„	„	„	160,4	„	„	96	„	„	„	171,5 „ „
90	„	„	„	162,0	„	„	97	„	„	„	173,1 „ „
91	„	„	„	163,6	„	„	98	„	„	„	174,6 „ „
92	„	„	„	165,2	„	„	99	„	„	„	176,2 „ „
93	„	„	„	166,7	„	„	100	„	„	„	177,8 „ „
94	„	„	„	168,3	„	„					

Nachweis und Bestimmung der ätherlöslichen Substanzen (Fett, Phosphatide, Cholesterin) in serösen Flüssigkeiten.

632. 20—50 g werden in einem Becherglase abgewogen oder abgemessen und in folgender Weise behandelt. Man mischt sie mit dem 3 bis 4fachen Volumen absoluten Alkohols, lässt bis zum nächsten Tage unter wiederholtem Umrühren bedeckt stehen, filtriert den Niederschlag ab, wäscht mit absolutem Alkohol nach und bringt ihn in das Extractionsgefäss eines Soxhlet'schen Apparates. Das alkoholische Filtrat wird bei einer Temperatur unter 60° und bei neutraler Reaction eingedampft, der Rückstand mit einer Mischung von Alkohol und Aether aufgenommen, das Filtrat wieder verdunstet und der Rückstand mit Aether aufgenommen. Diese ätherische Lösung bringt man in den Kolben des Soxhlet'schen Apparates, extrahiert nun stundenlang, verdunstet dann den Aether, nimmt den Rückstand mit wasserfreiem Aether auf, verdunstet die klare event. filtrierte Lösung in einem gewogenen Becherglase und trocknet im Vacuum über Schwefelsäure bis zum constanten Gewicht. Im Rückstand lassen sich Fett, Phosphatide, Cholesterin nach § 91 und § 94 einzeln nachweisen und nach § 636 B 3 b (aber höchstens annähernd) bestimmen.

Für den Nachweis der Cholesterinester, welche sich ebenfalls im Aetherrückstand finden, sind grössere Mengen Blutserum erforderlich; derselbe geschieht nach § 231.

Für den Nachweis von fein verteiltem Fett, welches eine Trübung seröser Flüssigkeiten bewirkt, dient ausser der mikroskopischen Prüfung die Behandlung mit Aether, indem beim Schütteln mit Aether (event. nach Zusatz von Kalilauge) eine Klärung eintritt. Im Aetherrückstand lässt sich das Fett nachweisen (§ 91).

Bestimmung des Glycerins in serösen Flüssigkeiten und Blut nach Tangl und Weiser[1]).

633. Sie beruht auf der Ueberführung des Glycerins durch kochende Jodwasserstoffsäure in Isopropyljodid, dessen Dampf, von begleitendem Jod und Jodwasserstoff durch Passieren einer Aufschwemmung von rotem Phosphor in 10proc. Natriumarsenitlösung befreit, in eine alkoholische Silbernitratlösung eingeleitet wird. Das dabei entstehende Jodsilber wird gewogen und aus seiner Menge die Menge des Glycerins berechnet (Jodidverfahren von Zeisel u. Fanto). In betreff der Vorbereitung des Blutes, das zunächst von Eiweiss,

1) Pfl. A. **115**. 152. (1906.)

Fett, Phosphatiden, Cholesterin, Sulfaten und Chloriden befreit und stark eingeengt werden muss, sowie in betreff der Ausführung des Jodidverfahrens siehe die Originalarbeit.

Nachweis von Farbstoffen in serösen Flüssigkeiten.

634. Die gelbe Farbe des Blutserums und der meisten serösen Flüssigkeiten scheint stets durch einen in Fetten besonders leicht löslichen, durch Alkalien nicht zersetzbaren Stoff hervorgerufen zu werden, der wohl in die Gruppe der Luteine (§ 285) gehört. Die Ursache der Grünfärbung, welche Blutserum und seröse Transsudate beim Stehen an der Luft annehmen, ist noch unbekannt.

Unter pathologischen Verhältnissen treten Gallenfarbstoffe (im Pferdeblutserum nach Hammarsten oft normalerweise vorhanden), Hämoglobin, Methämoglobin und Hämatin auf.

Der Nachweis der Gallenfarbstoffe geschieht direct mit der Gmelin'schen Probe (S. 372, 1). Hedenius[1]) empfiehlt 5 ccm mit der 2—3 fachen Menge Alkohol und tropfenweise mit soviel (10—25proc.) Salzsäure zu versetzen, dass der durch den Alkohol entstandene Niederschlag sich eben wieder löst, darauf ein- oder zweimal zum Sieden zu erhitzen. Es tritt sogleich oder nach einiger Zeit eine blaugrüne Farbe auf. Bei eiweissreichen Flüssigkeiten fügt man zu je 3—4 ccm 15—20 ccm Alkohol, schüttelt stark, filtriert, säuert das Filtrat vorsichtig mit Salzsäure an (bei mässig starker Färbung des Filtrats auf je 10 ccm Filtrat 5 Tropfen 25proc. Salzsäure) und erhitzt zum Kochen. Nachweis von Gallenfarbstoffen.

Bei Prüfung des Blutes auf Gallenfarbstoffe verfährt man in der zuletzt angegebenen Weise, fügt aber zu je 10 ccm Filtrat 5 Tropfen einer nur 10proc. Salzsäure hinzu.

Hämoglobin wird nach § 408, Methämoglobin nach § 412, Hämatin nach § 264 nachgewiesen.

Nachweis von verschiedenen Stoffen in serösen Flüssigkeiten.

635. Fettsäuren werden nach § 73, Milchsäure nach § 74, Bernsteinsäure nach § 78, Allantoin nach § 121, Kreatin nach § 124, Inosit nach § 195 isoliert und nachgewiesen.

Vor kurzem ist von Rosenberger[2]) ein anderes Verfahren zur Darstellung des Inosit, welches auf seiner Widerstandsfähigkeit gegen Barytwasser und Salpetersäure beruht, angegeben worden und von Jerusalem[3]) ein Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Milchsäure.

Zum Nachweis von Gallensäuren verfährt man nach S. 334.

Ueber die Darstellung mehrerer hochmolekularer, noch näher zu untersuchender Säuren, welche Letsche[4]) z. Tl. aus dem Gemenge der äther-

---

1) Maly's Jbr. 1894. S. 385.
2) H.-S. **56**. 373. (1908.).
3) B. Z. **12**. 361 u. 387. (1908.)
4) H.-S. **53**. 31. (1907.)

löslichen Substanzen (nach vorausgegangener Verseifung), z. Tl. aus dem Gemenge der alkohollöslichen Substanzen des Blutserums gewonnen hat, siehe die Originalarbeit.

Quantitative Analyse seröser Flüssigkeiten.

636. Die Bestimmung von Proteinstoffen, Extractivstoffen, Fett, Phosphatiden, Cholesterin und Salzen geschieht am besten in folgender Weise:

Man misst oder wägt eine Menge von 20—50 ccm der von körperlichen Elementen befreiten (§ 615) Flüssigkeit genau ab, mischt sie in einem Becherglase mit dem 3—4fachen Volumen Alkohol*), lässt einige Stunden stehen, bringt den entstandenen Niederschlag auf ein gewogenes aschefreies Filter und wäscht mit Alkohol aus (1. Filtrat). Darauf wäscht man mit heissem Alkohol, Aether und wieder mit Alkohol (2. Filtrat) und zuletzt mit kochendem Wasser (3. Filtrat) sorgfältig aus. Die einzelnen Filtrate werden gesondert aufgefangen. Man erhält auf diese Weise einen Filterrückstand (A) und drei Filtrate (B) (ein wässerig-alkoholisches, ein alkoholisch-ätherisches und ein wässeriges).

Bestimmung der Proteinstoffe und unlöslichen Salze.

A. Filterrückstand. Er enthält die Proteinstoffe (bis auf einen sehr kleinen Teil, welcher in den wässerig-alkoholischen Auszug übergegangen ist und später abgeschieden wird) und die in Wasser unlöslichen Salze. Etwa vorhandene Farbstoffe gehen nur in sehr geringer Menge in den Niederschlag über mit Ausnahme des Blutfarbstoffs, welcher als Proteinstoff völlig gefällt wird.

Der Filterrückstand wird zur Entfernung des Wassers noch einmal mit Alkohol gewaschen, im Luftbade (zuletzt bei 120°) bis zum constanten Gewicht getrocknet und dann nach Vereinigung mit dem unten erwähnten Filterrückstand (B 1) in einer gewogenen kleinen Schale verascht; die Asche wird darauf gewogen.

B. Filtrate. Man verdunstet den wässerig-alkoholischen Auszug (1. Filtrat) auf dem Wasserbade bei niedriger Temperatur (nicht über 60°), übergiesst den Rückstand mit dem alkoholisch-ätherischen Auszug (2. Filtrat), zerreibt ihn, filtriert die Lösung nach dem Absitzen durch ein kleines, gewogenes, aschefreies Filter und wäscht wiederholt durch Decantieren mit absol. Alkohol und dann mit Aether nach. Den in Alkohol und Aether

*) Enthält eine seröse Flüssigkeit viel Alkali, sodass gar keine oder eine sehr unvollkommene Gerinnung beim Kochen eintritt, so ist es zweckmässig, vor dem Zusatz des Alkohols mit Essigsäure zu neutralisieren, obwohl dadurch das Gewicht der in Alkohol löslichen Extractivstoffe um die Differenz der Aequivalentgewichte der Essigsäure und der Kohlensäure zu hoch gefunden werden muss.

Nach Bunge soll man stets mit Essigsäure ansäuern und ausserdem nach Zufügen des Alkohols einige Tage bei 60—70° stehen lassen, weil andernfalls der Niederschlag sich nicht filtrieren und auswaschen lässt. Z. f. B. **12**. 213. (1876.)

unlöslichen, in der Schale verbliebenen Rückstand übergiesst man nun mit dem wässerigen Auszug (3. Filtrat), zerreibt ihn, filtriert durch dasselbe Filter (aber in ein anderes Becherglas), sammelt alles Ungelöste mit Hülfe von Wasser auf dem Filter und wäscht mit Wasser aus. Man erhält so einen Filterrückstand (1), einen wässerigen (2) und einen alkoholisch-ätherischen (3) Auszug.

Bestimmung d. Restes der Proteinstoffe.

1. Der Filterrückstand, welcher aus dem Rest der Proteinstoffe besteht, gehört zu dem unter A besprochenen. Er wird wie dieser getrocknet und gewogen und dann mit ihm gemeinsam verascht (siehe oben unter A).

Bestimmung der in Alkohol unlöslichen Extractivstoffe u. der in Wasser löslichen Salze (1).

2. Der wässerige Auszug, welcher sämtliche in Wasser lösliche, in Alkohol und Aether unlösliche Bestandteile enthält, wird in kleiner, gewogener Porzellanschale auf dem Wasserbade verdunstet, der Rückstand bei 110—115° getrocknet, gewogen, bei sehr mässiger Glühhitze verascht und wieder gewogen.

Bestimmung der in Alkohol löslichen Extractivstoffe, der in Aether löslichen Stoffe und der in Wasser löslichen Salze (2).

3. Der alkoholisch-ätherische Auszug, welcher neben Harnstoff, Zucker, Seifen, Chlornatrium auch Fette, Phosphatide, Cholesterin, Cholesterinester enthalten kann, wird bei mässiger Temperatur (nicht über 60°) auf dem Wasserbade, zuletzt im Vacuum über Schwefelsäure verdunstet. Man behandelt den Rückstand mit Aether, filtriert durch ein kleines Filter in einen Kolben und wäscht wiederholt mit Aether nach.

a) Der Rückstand*) wird mit Wasser aus dem Becherglase und vom Filter in eine kleine, gewogene Porzellanschale gespült, auf dem Wasserbade zur Trockne verdunstet, bei 100—110° getrocknet, gewogen, bei mässiger Glühhitze verascht und wieder gewogen.

b) Das ätherische Filtrat wird bis auf ein kleines Volumen abdestilliert, dann in ein gewogenes Becherglas gegossen, mit Alkohol und Aether nachgespült, bei mässiger Wärme auf dem Wasserbade verdunstet und der Rückstand im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet und gewogen. Man löst ihn in Alkohol, fügt alkoholische Kalilauge hinzu, erhält die Mischung eine Stunde lang auf dem Wasserbade in schwachem Sieden, verdunstet, löst den Rückstand, welcher aus Seifen, Glycerin, Cholesterin, Cholin, glycerinphosphorsaurem Kali und Aetzkali besteht, in nicht zu wenig Wasser und schüttelt die alkalische Lösung mehrmals mit der ungefähr gleichen Menge Aether aus.

Bestimmung der Seifen.

*) Dieser Rückstand enthält ausser andern Extractivstoffen auch die Seifen. Zu ihrer Isolierung und Bestimmung fällt man eine besondere Portion der serösen Flüssigkeit mit Alkohol, dampft das Filtrat (nicht über 60°) ein, nimmt den Rückstand mit absolutem Alkohol auf, verdunstet wieder bei niedriger Temperatur und extrahiert den Rückstand mit reinem, wasserfreiem Petroläther. Der ungelöste Teil wird in Wasser gelöst, die Lösung mit Salzsäure angesäuert und mit Aether ausgeschüttelt. Die (aus den Seifen) stammenden Fettsäuren gehen in den Aether über und bleiben beim Verdunsten desselben zurück.

α) Der ätherische Auszug wird verdunstet, der Rückstand (zur Entfernung von Seifen) mit Petroläther aufgenommen und die filtrierte petrolätherische Lösung in einem kleinen, gewogenen Becherglase auf dem Wasserbade zur Trockne verdunstet: es bleibt Cholesterin zurück. Enthält es noch Seife, so geschieht deren Abtrennung am besten durch Behandlung der völlig getrockneten Masse mit mehreren, sehr kleinen Portionen kaltem Alkohol und 1 oder 2 Tropfen Salzsäure, da kalter Alkohol die Seifen leicht löst, Cholesterin dagegen ungelöst lässt. Das zurückbleibende Cholesterin wird bei 80° getrocknet und gewogen, die alkoholische Seifenlösung mit der wässerigen Lösung (*β*) vereinigt.

β) Die wässerige Lösung enthält die Gesamtmenge des Phosphatidphosphors in Form von glycerinphosphorsaurem Kali. Die Bestimmung des Phosphors geschieht am besten, indem man nach § 504 verascht und die Phosphorsäure nach § 523 alkalimetrisch ermittelt.

Will man gewichtsanalytisch verfahren, so wird die Lösung mit Salpeter im Ueberschuss versetzt und in einer Silber- oder Platinschale zur Trockne verdunstet, der Rückstand gerade bis zur Entfernung der Kohle geschmolzen und die Schmelze nach dem Erkalten in heissem Wasser gelöst. Die Lösung wird im bedeckten Becherglase mit starker reiner Salpetersäure bis zur stark sauren Reaction versetzt, einige Zeit im offenen Glase zur Entfernung der Untersalpetersäure auf dem Wasserbade digeriert und mit molybdänsaurem Ammoniak gefällt. Die weitere Behandlung geschieht nach § 522.

Berechnung. Berechnung. Aus A und B 1 ergibt sich die Menge der Proteinstoffe und die Menge der unlöslichen Salze*), aus B 2 die Menge der in Alkohol unlöslichen, aus B 3a die Menge der in Alkohol löslichen Extractivstoffe (unter ihnen befinden sich wohl immer Seifen), aus beiden zusammen ausserdem die Menge der löslichen Salze**). Aus B 3b erfährt man zunächst die Summe der festen Bestandteile des Aetherauszuges, dann die Menge des Cholesterins und die Menge des in Phosphatiden enthaltenen Phosphors. Unter der willkürlichen Annahme, dass alles Phosphatid Lecithin und zwar Distearyllecithin sei, erfährt man seine Menge durch Multiplication des erhaltenen Wertes für P_2O_5 mit 11,38. Zieht man die Summe der Gewichte des Cholesterins und des als Lecithin berechneten Phosphatides vom Gewicht des Aetherrückstandes ab, so erhält man die Menge der Fette, vorausgesetzt, dass, wie es gewöhnlich der Fall ist, weder freie fette Säuren noch Farbstoffe oder andere in Aether lösliche

*) Ueber kleine Fehler, welche die Anwesenheit phosphorhaltiger Proteide bedingt, vergl. S. 646 oben.

**) Genauer ist es freilich, die beiden Aschen nach Ausführung der Wägungen zu vereinigen, mit Wasser zu kochen, durch aschefreies Filter zu filtrieren, den ungelöst gebliebenen Teil mit dem Filter zu trocknen, zu glühen und zu wägen, und sein Gewicht den unlöslichen Salzen zuzurechnen.

Stoffe in wesentlicher Quantität vorhanden waren. (Die kleinen Mengen Cholesterinester sind bei dieser Bestimmung nicht berücksichtigt; das in ihnen enthaltene Cholesterin ist als solches, die in ihm erhaltenen Fettsäuren sind als Fett mitbestimmt.) Die Unkenntnis über die Zusammensetzung des Phosphatidgemenges macht natürlich auch die Berechnung der Fettmenge ungenau.

Es ist nicht zulässig, den Gang der Untersuchung dahin abzuändern, dass die Flüssigkeit eingedampft und der Rückstand getrocknet, pulverisiert und nun nacheinander mit Aether, Alkohol und Wasser extrahiert wird. Die hierbei erhaltenen Rückstände sind, besonders wenn es sich um Blut handelt, compact und zähe und schwer zu trocknen, pulverisieren und extrahieren; ausserdem werden dabei die Phosphatide zum grössten Teil zersetzt und unbestimmbar.

3. Untersuchung des Blutes.

Allgemeines.

637. **Bestandteile.** Das Blut der Wirbeltiere besteht aus dem Plasma und den in diesem Plasma suspendierten morphologischen Elementen (rote und weisse Blutkörperchen, Blutplättchen).

638. **Specifisches Gewicht.** Dasselbe beträgt beim erwachsenen Manne im Durchschnitt 1058, kann aber zwischen 1045 und 1075 schwanken. Zur Bestimmung benutzt man das Pyknometer (§ 23).

Bestimmung des specif. Gewichts nach Hammerschlag.

Steht nur sehr wenig Blut zur Verfügung, so verfährt man nach Hammerschlag[1]) und L. Zuntz[2]) in folgender Weise: Man füllt ein kleines Becherglas von 10 cm Höhe und 5 cm Weite mit einem Gemisch von Chloroform und Benzol, dessen spec. Gewicht mit dem vermuteten spec. Gewicht des Blutes möglichst übereinstimmt, und lässt einen Tropfen (z. B. direct aus einem Stich in die Fingerbeere) hineinfallen. Steigt er an die Oberfläche, so versetzt man unter leichtem Umschwenken tropfenweise mit Benzol, fällt er zu Boden, so fügt man Chloroform hinzu, bis er gerade schwimmt. Jetzt wird die Mischung durch Leinwand in einen Cylinder filtriert und das spec. Gewicht mit dem Aräometer ermittelt. Bis der Tropfen zum Schwimmen gebracht ist, dürfen nicht mehr wie 1 bis 2 Minuten verstreichen, da er allmählich durch Diffusionsvorgänge leichter wird (Zuntz).

639. **Farbe.** Die Farbe des arteriellen Blutes ist hellrot, die des venösen dunkelblaurot. Da der rote Blutfarbstoff (Hämoglobin) ausschliesslich den Körperchen angehört, zeigt das Blut die Eigenschaften der Deckfarben, d. h. es ist in dünnsten Schichten undurchsichtig.

640. **Reaction.** Das Blut ist im physikalisch-chemischen Sinne eine nahezu neutral reagierende Flüssigkeit (Friedenthal, Höber). Gegen manche Farbstoffe z. B. gegen Lacmus und Lacmoid reagiert es alkalisch (nicht gegen Phenolphthalein). Zum Nachweis zerreibt man Blut mit überschüssigem, gepulvertem Ammonsulfat, hält ein rotes

---

1) Z. f. k. M. **20**. 444. (1892.)
2) Pfl. A. **66**. 539. (1897.)

Lacmuspapier in den Brei und spritzt es mit Wasser ab. Es hinterbleibt ein blauer Fleck.

Bestimmung der Titrationsalkalescenz:

Die Bestimmung der Titrationsalkalescenz geschieht am Besten in lackfarbenem Blute (Loewy). Die Menge Säure, welche einer bestimmten Quantität Blut hinzugefügt werden muss, um eine (gegen Lacmus oder Lacmoid) neutrale Reaction zu erzielen, ist verschieden, je nachdem die Eiweissstoffe zuvor entfernt sind oder nicht. Im letzteren Falle braucht man mehr Säure.

nach Loewy.

Bestimmung ohne Entfernung der Eiweissstoffe nach Loewy[1]).

Man lässt Blut direct aus der Ader in ein 50 ccm fassendes Massgefäss, dessen enger Hals zwischen 49,5 und 50,5 ccm in $^1/_{10}$ ccm geteilt ist und in dem sich 45 ccm 0,1 proc. Kaliumoxalatlösung befinden, bis zum kalibrierten Teil fliessen und liest genau ab. Auf 9 Tl. Salzlösung kommt also ungefähr 1 Tl. Blut. Die Flüssigkeit wird gemischt, in ein Becherglas ausgegossen und mit $^n/_{25}$ Weinsäure titriert, bis ein Tropfen auf einem mit gesättigter Magnesiumsulfatlösung getränkten Lacmus- oder Lacmoidpapierstreifen eine eben deutlich erkennbare Rotfärbung hervorruft. Als Lacmuspapier verwendet man ein sehr empfindliches, mit Lacmustinctur gefärbtes, geleimtes Papier; den Tropfen lässt man stets gleich lange einwirken, tupft ihn dann mit Filtrierpapier ab und beobachtet die Färbung im Augenblick des Abhebens des Filtrierpapiers.

nach Hamburger.

Bestimmung nach Entfernung der Eiweissstoffe nach Hamburger (Bestimmung des sogen. diffusiblen Alkalis).

Kraus[2]), sowie Spiro und Pemsel[3]) entfernen die Eiweissstoffe mit Ammonsulfat; Hamburger[4]) benutzt Alkohol. Letzteres Verfahren scheint die gleichmässigsten Werte zu liefern und wird in folgender Weise ausgeführt: Man versetzt Blut mit dem doppelten Volumen 96 proc. Alkohols, filtriert, presst den Niederschlag in einem reinen Tuch aus, verteilt ihn in Alkohol, presst wieder aus und verfährt noch viermal in derselben Weise. Die ausgepressten trüben Filtrate werden durch ein mit Alkohol befeuchtetes Filter filtriert, die Filtrate zusammen mit dem ersten auf dem Wasserbade von Alkohol befreit und mit Wasser zum ursprünglichen Volumen aufgefüllt. Man titriert jetzt mit $^n/_{25}$ Weinsäure unter Benutzung von Lacmoidpapier als Indicator.

Jede Methode gibt bei einiger Uebung in Controllbestimmungen genügend übereinstimmende Resultate. Diese sind nur als Ausdruck des Verhaltens gegenüber dem benutzten Farbstoff (Lacmus oder Lacmoid) anzusehen.

---

1) Pfl. A. **58**. 462. (1894.)
2) Ueber die Verteilung der Kohlensäure im Blute. Festschrift. Graz 1898.
3) H.-S. **26**. 233. (1899.)
4) A. f. A. u. Ph. Ph. A. 1898. S. 1.

641. **Verhalten zu Salzlösungen.** Salzlösungen, welche dieselbe osmotische Spannung wie das Plasma haben, sogen. isotonische Lösungen, verändern das Volumen der roten Blutkörperchen nicht (z. B. eine 0,95 proc. Kochsalzlösung für Menschen- und Säugetierblut). Stärkere, sogen. hypertonische Salzlösungen rufen eine Schrumpfung hervor. Die Blutkörperchen werden zackig und die Farbe des Blutes erscheint im auffallenden Licht heller. Schwächere, sogen. hypotonische Salzlösungen bewirken eine Quellung und noch schwächere (für verschiedene Säugetiere verschieden, beim Hund z. B. bei 0,46 pCt., beim Hammel bei 0,73 pCt. Kochsalz) Austritt von Blutfarbstoff (Hämolyse).

642. **Hämolyse.** Auf Zusatz von Wasser (ebenso auf Zusatz von hypotonischen Salzlösungen § 641) quellen die roten Blutkörperchen unter Aufnahme von Wasser und werden kugelig. Blutfarbstoff geht in Lösung (Hämolyse). Infolgedessen wird das Blut im auffallenden Licht dunkler und zeigt die Eigenschaften der Lasurfarben d. h. es wird in dünnen Schichten durchsichtig.

Eine Hämolyse erfolgt auch durch Einwirkung von Aether, Chloroform, Gallensäuren, Alkalien, beim Wiederauftauen des Blutes nach dem Gefrieren, beim Evakuieren, durch elektrische Schläge. (Ist das austretende Oxyhämoglobin leicht krystallisierbar, so kann es hierbei zur Krystallbildung kommen).

Das Wiederauftauen nach dem Gefrieren wirkt wahrscheinlich nur dadurch, dass das krystallinisch sich ausscheidende Wasser beim Auftauen die Blutkörperchen in seiner Nähe löst; ebenso ist es beim Evakuieren der Gase unmöglich zu vermeiden, dass im leeren Raum verdunstendes Wasser von den Wandungen in das Blut zurückrinnt und am Ort des Einfliessens Blutkörperchen löst.

Hämolytisch wirken auch Saponinsubstanzen, Stoffwechselproducte von Bacterien (z. B. Tetanustoxin), von Tieren (z. B. Schlangengifte), ferner auch die Sera fremder Tierspecies.

Gerinnung des Blutes.

643. Das aus der Ader gelassene Blut gerinnt, indem das im Plasma gelöste Fibrinogen in Fibrin umgewandelt wird. Das die Umwandlung bewirkende Ferment ist im Blut als Zymogen vorhanden, zu dessen Activierung ausser Kalksalzen aus den Leukocyten oder Blutplättchen stammende Substanzen nötig zu sein scheinen. Die Gerinnung erfolgt gewöhnlich wenige Minuten nach dem Verlassen des Blutgefässes, bei manchen Tieren z. B. Pferden erheblich langsamer. Durch manche Massnahmen lässt sich der Eintritt der Gerinnung verzögern oder ganz verhindern, durch andere beschleunigen.

Verzögert wird sie durch Abkühlung des Blutes, durch Auffangen des Blutes in einem Gefäss, dessen Wandungen innen mit Vaselin über- Verzögerung der Gerinnung.

zogen sind, durch Zusatz von Salzlösungen, besonders salpetersauren Salzen, auch Magnesiumsulfat, durch Zusatz von Wasser.

Aufhebung der Gerinnung.

Ganz aufgehoben wird die Gerinnung durch reichlichen Salzzusatz, z. B. 1 Vol. gesättigte Magnesiumsulfatlösung auf 3 Vol. Blut. (Sie tritt dann meistens ein, wenn man das Gemisch mit Wasser verdünnt; nach Zusatz von viel Magnesiumsulfat geschieht dies nicht.) Ferner wird sie verhindert durch Zufügen von kalkfällenden Mitteln, z. B. Kaliumoxalatlösung (u. z. soviel, dass das Blut 0,1 pCt. Oxalat enthält) oder Fluornatriumlösung (bis zu 0,3 pCt. Fluornatrium im Blut), durch Zufügen von Hirudin, eine von Jacobj[1]) aus Blutegeln isolierte albumoseartige Substanz (1 mg machen 20 ccm Kaninchenblut dauernd ungerinnbar), durch Injection von Hirudin in das Gefässsystem von Tieren vor der Blutentnahme, durch Zusatz von ein wenig Aetzalkali oder von hinreichender Menge Essigsäure.

Beschleunigung der Gerinnung.

Beschleunigend wirkt Erhöhung der Temperatur, ferner Bewegung des Blutes durch Quirlen oder Schlagen, Einbringen von feingepulverter Kohle, Zufügen von Gewebsauszügen.

Zuweilen gerinnt das Blut in den Leichen binnen 12 Stunden nicht, gerinnt aber, sobald es aus der Ader gelassen wird, in anderen Fällen gerinnt es aus der Ader gelassen teilweise, kann filtriert werden, liefert dann nach einiger Zeit wieder eine Gerinnung usw. (Fibrin langsamer Gerinnung), in wieder anderen Fällen gerinnt es gar nicht, doch geschieht dies nur selten. Die Ursachen dieser Verschiedenheiten des Blutes bei verschiedenen Krankheiten sind noch nicht genügend untersucht, im Ganzen kann man jedoch so viel bis jetzt als ausgemacht ansehen:

1. Das Blut gerinnt, alles Uebrige gleich gesetzt, um so schneller, je verdünnter, wässeriger es ist, daher schnelle Gerinnung nach Blutverlusten und bei Hydrämischen.

2. Das Blut gerinnt um so langsamer, je ärmer an Sauerstoff und reicher an Kohlensäure es ist.

Die Gerinnung des Blutes ist ferner um so fester, elastisch zäher, je wasserreicher und je ärmer an Blutkörperchen, roten und farblosen, das Blut ist. Ein wasserarmes (Cholera), an roten Blutkörperchen (Plethora) oder farblosen Blutzellen (Leukämie) reiches Blut gibt lockere leicht zerdrückbare Gerinnung.

644. **Blutkuchen, Serum, defibriniertes Blut.** Gerinnt das Blut bei ruhigem Stehen, so wird es seiner ganzen Menge nach zur Gallerte,

1) D. m. W. 1904. S. 1786.
Franz, A. exp. P. u. Ph. **49**. 342. (1903.)
Bodong, A. exp. P. u. Ph. **52**. 242. (1905.)
Schittenhelm u. Bodong, A. exp. P. u. Ph. **54**. 217. (1906.)

diese zieht sich alsbald zusammen und presst eine klare Flüssigkeit aus und nach einigen Stunden sieht man eine ziemlich feste rote Masse von der verkleinerten Form des Gefässes, in dem die Gerinnung stattgefunden, den Blutkuchen, in einer klaren gelblichen Flüssigkeit, dem Serum. Der Blutkuchen besteht aus einem feinen Faser- und Maschenwerk von Fibrin, in dem die Blutkörperchen eingeschlossen sind.

Blutkuchen. Serum.

Erfolgt die Gerinnung langsam, haben also die roten Blutkörperchen Zeit sich zu senken, so besteht der obere Teil des Blutkuchens nur aus Fibrin und weissen Blutkörperchen und erscheint weiss (Speckhaut, crusta inflammatoria). Beim langsam gerinnenden Pferdeblut erhält man stets eine solche Speckhaut.

Speckhaut.

Wird das Blut während der Gerinnung in Bewegung erhalten z. B. durch Schlagen mit einem Stäbchen, so scheidet sich das Fibrin als elastische, zusammenhängende Masse um den Stab ab und die Blutkörperchen bleiben im Serum (defibriniertes Blut).

Defibriniertes Blut.

Trennung und Untersuchung von Plasma (oder Serum) und Blutkörperchen.

645. **Trennung.** Eine Trennung von Blutkörperchen und Plasma (z. B. im ungerinnbar gemachten Blut § 643) oder Serum (im defibrinierten Blut § 644) durch Filtration ist unausführbar, weil die grosse Weichheit und Elasticität der Blutkörperchen, vermöge derer sie durch Capillaren des Körpers, deren Durchmesser ein geringerer ist als ihr eigener, hindurchschlüpfen, sie auch die Poren des Filtrierpapiers passieren lässt. Zwar kann man die Starrheit der Körperchen sehr wesentlich durch Salzzusatz zum Blute erhöhen, aber auch dann geht noch ein Teil durchs Filter. Eine Trennung lässt sich nur durch freiwillige Senkung der Körperchen während ruhigen Stehens oder durch Centrifugieren erreichen. Besonders leicht gelingt das bei Pferdeblut.

646. **Isolierung von Plasma.** Schwer gerinnbares Blut, z. B. Pferdeblut, wird in hohen Cylindern aufgefangen und bei 0° stehen gelassen. Nach einiger Zeit haben sich die Körperchen gesenkt, so dass sich klares Plasma abgiessen lässt. Schneller gerinnendes Blut ist durch einen kleinen Zusatz von Oxalat (§ 643) ungerinnbar zu machen und dann derselben Behandlung zu unterwerfen. Auch durch stundenlanges Centrifugieren von ungerinnbar gemachtem Blut kann man Plasma gewinnen.

Die Untersuchung des Plasma geschieht nach § 612 ff.

647. **Isolierung von Serum.** Man lässt Blut gerinnen und giesst das nach einiger Zeit ausgepresste Serum ab oder man centrifugiert defibriniertes Blut längere Zeit.

Die Untersuchung des Serum geschieht nach § 612 ff.

Bei der Gewinnung von Plasma und Serum ist auf die leichte Löslichkeit des Blutfarbstoffs in Wasser Rücksicht zu nehmen (§ 642). Fällt ein Tröpfchen Wasser in eine

Vorsichtsmassregeln beim Auffangen des Blutes.

selbst grosse Quantität Blut, so wird das ganze Plasma oder Serum rot gefärbt und die zerstörten Blutkörperchen sind verloren. Die Farbe von Plasma oder Serum kann also nur dann richtig beurteilt werden, eine isolierte Untersuchung von Blutflüssigkeit und Blutkörperchen ist nur dann ausführbar, wenn jeder Tropfen Wasser vermieden wird. Dieses bietet aber praktisch einige Schwierigkeiten. Fängt man nämlich warmes Blut in einem kalten Gefässe auf, so beschlägt die Wandung des Gefässes mit Wassertröpfchen durch die Verdunstung aus dem Blute, das Wasser fliesst in das Blut und löst an der Stelle des Einfliessens Blutkörperchen auf. Um daher schon beim Auffangen des Blutes von Menschen oder warmblütigen Tieren eine Zerstörung einzelner Blutkörperchen zu vermeiden, muss man das Gefäss vorher auf Bluttemperatur erwärmen. Auch ist es nötig, das Gefäss völlig mit Blut zu füllen und zu schliessen, damit nicht auf dem sich schneller abkühlenden Teil des Gefässes über der Flüssigkeit eine Condensation von Wasser stattfindet.

648. **Isolierung der roten Körperchen.** Will man die Körperchen völlig frei von Plasma oder Serum erhalten, so mischt man das (durch Zusatz von 0,1 proc. Kaliumoxalat) ungerinnbar gemachte oder das defibrinierte Blut (von Menschen oder Säugetieren) mit dem zehnfachen Volumen einer 0,9 proc. Kochsalzlösung und centrifugiert (oder lässt in Schalen mit flachem Boden und senkrechten Wandungen absitzen). Wird der von der überstehenden Flüssigkeit befreite, schlammige Bodensatz wiederum mit derselben verdünnten Kochsalzlösung vermischt und die Mischung ebenso behandelt, so erhält man als Bodensatz die von Plasma oder Serum so gut wie ganz befreiten Blutkörperchen. Eine Abtrennung der weissen Blutkörperchen und Blutplättchen gelingt wenigstens bis zu einem gewissen Grade, wenn man die obere Schicht des Bodensatzes des Centrifugierglases, welche hauptsächlich aus ihnen besteht, entfernt. Eine Entfernung noch beigemengter weisser Blutkörperchen und Blutplättchen gelingt nach Abderhalden und Deetjen[1]) vermittelst (event. mehrmaligen) Durchsaugens durch eine längere, nicht zu fest gepresste Watteschicht, welche weisse Blutkörperchen und Blutplättchen zurückhält.

Bestandteile.

649. **Untersuchung der roten Blutkörperchen.** Sie enthalten ungefähr 60 pCt. Wasser. Die festen Bestandteile bestehen zum allergrössten Teil aus Blutfarbstoff, daneben finden sich in kleinen Mengen andere Proteinstoffe, Phosphatide, Cholesterin, ein sich wie ein Cerebrosid verhaltender Körper (Pascucci[2]), Polypeptide spaltende Fermente (Abderhalden[3]). Fette fehlen, ebenso Fettsäuren, Zucker (Abderhalden[4]), Cholesterinester (Hepner[5]). Von anorganischen Stoffen sind vorhanden Salzsäure, Phosphorsäure, Alkalien und zwar scheint im allgemeinen das Natrium zu überwiegen (bei Pferden, Schweinen und Kaninchen fehlt es auffallender Weise ganz), wenig Magnesium, kein Calcium (Abderhalden[6]).

1) H.-S. **53**. 280. (1907.) 2) B. Ph. P. **6**. 543. (1905.)
3) Abderhalden u. Deetjen, H.-S. **51**. 334. (1907.), **53**. 280. (1907.) Abderhalden u. Manwaring, H.-S. **55**. 377. (1908.)
4) H.-S. **25**. 65. (1898.)
5) Pfl. A. **73**. 595. (1898.) 6) H.-S. **25**. 65. (1898.)

Die Summe der festen Bestandteile mit Ausnahme von Blutfarbstoff und den andern wasserlöslichen Stoffen nennt man Stroma.

Ueber die Darstellung des Blutfarbstoffs siehe § 405.

Darstellung des Stroma.

Zur Darstellung des Stroma verfährt man nach Pascucci[1]) am besten in folgender Weise: Der aus defibriniertem Pferdeblut abgeschiedene Blutkörperbrei wird mit dem 15—20 fachen Volumen einer $^1/_5$ gesättigten Ammonsulfatlösung versetzt und centrifugiert. Man lässt den Bodensatz möglichst rasch in ganz dünner Schicht auf flachen Porzellantellern bei Zimmertemperatur eintrocknen, verteilt ihn in kaltem Wasser und lässt bei 0° stehen. Nach 24 Stunden wird die überstehende Flüssigkeit abgegossen und der Bodensatz durch wiederholtes Decantieren gewaschen, dann abfiltriert und auf dem Filter ausgewaschen.

Ein anderes, weniger einfaches Verfahren ist von Wooldridge[2]) angegeben worden.

Eigenschaften des Stroma.

Das Stroma löst sich frisch dargestellt in 0,2 proc. Salzsäure, nach längerem Stehen unter Wasser ist es nur noch teilweise löslich. Durch verdünnte Salzlösung lässt sich ihm ein globulinartiger Eiweissstoff entziehen, durch Aether Cholesterin, durch Alkohol Phosphatid (Wooldridge). Nach Pascucci enthält das Stroma etwa 30 pCt. in Aether, Chloroform und Alkohol lösliche Substanz und etwa 0,9 pCt. Asche.

Weiteres siehe bei Wooldridge und Pascucci.

Kernhaltige Blutkörperchen.

Die kernhaltigen roten Blutkörperchen der Vögel, Amphibien, Fische enthalten ausser den oben genannten Bestandteilen der kernlosen Erythrocyten noch die Bestandteile des Kernes (Histon, Nucleinsäure).

Darstellung der Kernmasse.

Zur Darstellung der Kernmasse der Vogelblutkörperchen werden die, wie oben (§ 648) beschrieben, wiederholt mit Kochsalzlösung centrifugierten Blutkörperchen im Scheidetrichter in 40° warmem Wasser unter Umschütteln gelöst. Nach einiger Zeit fügt man 3,6 proc. Kochsalzlösung (auf 3 Teile Lösung 1 Teil) hinzu, centrifugiert, suspendiert die abgesetzte Masse wieder in einem Scheidetrichter in 40° warmem Wasser unter Umschütteln, fügt dieselbe Kochsalzlösung in demselben Verhältnis hinzu und centrifugiert. Man wiederholt dieses Verfahren, bis die Masse ein farblos glasiges Aussehen ohne rote Streifen hat und keinen Blutfarbstoff mehr abgiebt. Jetzt bringt man sie wieder in Wasser zum Aufquellen, fügt das doppelte Volumen Alkohol hinzu, centrifugiert, bringt den Rückstand in 96 proc. Alkohol, saugt ab, verreibt noch einmal mit 96 proc. Alkohol, dann mit absolutem Alkohol und Aether. Die Darstellung bis zum Einbringen in Alkohol muss in drei Tagen geschehen sein. Ueber Nacht sind die Kernmassen nicht in Wasser, sondern in der Kochsalzlösung an einem kühlen Ort aufzuheben (Plenge[3]).

Ueber die Untersuchung der Kernmasse, welche im wesentlichen aus Nucleinsäure und Histon besteht, siehe Plosz[4]), Kossel[5]), Bang[6]), Ackermann[3]).

---

1) B. Ph. P. **6.** 543. (1905.)
2) A. f. A. u. Ph. Ph. A. 1881. S. 387.
3) Bei Ackermann, H.-S. **43.** 299. (1904/05.)
4) Med. chem. Unters. herausg. von Hoppe-Seyler. Heft 4. S. 461. (1871.)
5) H.-S. **8.** 511. (1883/84.), 6) B. Ph. P. **5.** 319. (1904.)

650. **Isolierung und Untersuchung der weissen Blutkörperchen (Leukocyten).** Die weissen Blutkörperchen sind specifisch leichter als die roten. Bei der Senkung im ungerinnbar gemachten Blut lagern sie sich deshalb als dünne weisse Schicht über dem aus roten Blutkörperchen bestehenden Bodensatz ab. Da es indessen bisher nicht gelang, sie in einer für die Untersuchung nötigen Menge zu isolieren, hat ihre Zusammensetzung noch nicht festgestellt werden können.

Nur auf indirectem Wege hat sich in dieser Beziehung Einiges ermitteln lassen. So beobachtete Kossel, dass ein mikroskopisch nachweisbar vermehrter Gehalt des Blutes an weissen Blutkörperchen Hand in Hand mit einer Vermehrung der Nucleoproteide geht und schloss daraus auf die Anwesenheit von diesen Proteinstoffen in den Leukocyten. Ferner müssen die Leukocyten Phosphatid enthalten, da man diese Substanz in reichlicher Menge in der Speckhaut (§ 644), die der mikroskopischen Untersuchung nach reich an weissen Blutkörperchen ist, fand. Auch die Untersuchung der bei Leukämikern während der Agonie im Herzen sich bildenden Fibringerinnsel, die wegen des Reichtums an Leukocyten milchig oder eitrig trübe erscheinen, würde einigen Aufschluss über die Zusammensetzung der weissen Blutkörperchen geben können.

Da die Eiterkörperchen zum allergrössten Teil mit den weissen Blutkörperchen identische Zellen (man fasst sie als ausgewanderte weisse Blutkörperchen auf) darstellen, so können die für jene gewonnenen Resultate (siehe „Untersuchung des Eiters“ S. 688) auf die Leukocyten des Blutes übertragen werden.

651. **Isolierung der Blutplättchen**[1]. Das Verfahren, welches mit sehr grossen Verlusten verbunden ist, beruht auf fractioniertem Centrifugieren.

Das in Fluornatriumlösung*) aufgefangene und mit ihr gut gemischte Blut wird etwa 1—1 $^1/_2$ Stunden centrifugiert bei einer Umdrehungszahl von etwa 1600 in der Minute. Genau lässt sich die Zeit nicht angeben, es ist Sache der Uebung, die richtige Zeit zu treffen. Ist es geglückt, so haben sich die roten Blutkörperchen völlig abgesetzt, über ihnen findet sich eine weisse Schicht aus Leukocyten und vielen Blutplättchen. Das darüberstehende Plasma, welches mehr oder weniger weisslich getrübt ist, aber auch fast klar sein kann, wird abgehebert, wobei eine etwa 2 cm hohe Schicht auf dem Bodensatz stehen bleibt, und nochmals 3—4 Stunden bei einer Umdrehungszahl von etwa 2000 in der Minute centrifugiert. Der nunmehr erhaltene Bodensatz besteht in günstigen Fällen ausschliesslich aus Plättchen. Er haftet ziemlich fest am Boden und kann durch Behandeln mit physiologischer Kochsalzlösung vom Plasma, wenn auch nicht vollständig, befreit werden.

Die Blutplättchen enthalten Fermente, welche Polypeptide spalten (Abderhalden[2]). Im Uebrigen sind sie noch nicht untersucht worden.

Nachweis und Bestimmung der einzelnen Bestandteile im Blute.

652. Die einzelnen Bestandteile des Blutes ausser Proteinstoffen werden nach den Angaben des vorigen Abschnittes („Untersuchung von

*) Die Menge des Fluornatrium in der Blutflüssigkeit soll etwa 0,3 pCt. betragen.

1) Morawitz, D. A. f. k. M. **79**. 224. (1904.)

2) Abderhalden u. Deetjen, H.-S. **53**, 280. (1907.)
Abderhalden u. Manwaring, H.-S. **55**. 377. (1908.)

serösen Flüssigkeiten" § 612 ff.) nachgewiesen und bestimmt. Die Bestimmung der Gesamt-Proteinstoffe geschieht nach § 636. Dabei ist zu bemerken, dass das dem Blutfarbstoff zugehörige Eisenoxyd, welches mit der Asche abgezogen worden ist, wieder hinzuaddiert werden muss. Zu diesem Zweck wird in einer besonderen Portion Blut eine Eisenbestimmung nach § 504 und § 512 ausgeführt. Der Blutfarbstoff wird nach § 653 nachgewiesen und nach § 654 ff. bestimmt, der Fibringehalt nach § 659 ermittelt. Zum Nachweis des Glykogens, welches sich in den weissen Blutkörperchen befindet, verfährt man nach Huppert[1]).

Nachweis des Blutfarbstoffs im Blute.

653. Der Nachweis geschieht auf spectroskopischem Wege. Bei allmählicher Verdünnung des mit Luft geschüttelten Blutes mit Wasser beobachtet man mit dem Spectroskop die § 408 beschriebenen Erscheinungen und nach hinreichendem Wasserzusatz treten die beiden charakteristischen Streifen des Oxyhämoglobins auf, die erst bei sehr grosser Verdünnung verschwinden. Die Umwandlung des Blutfarbstoffs in Hämoglobin, Kohlenoxydhämoglobin, Methämoglobin, die Zersetzung unter Bildung von Hämatin (Hämochromogen) und Hämatoporphyrin lässt sich im Blut ebenso gut wie in einer reinen Blutfarbstofflösung bewerkstelligen und bei passender Verdünnung spectroskopisch nachweisen (Spectraltafel).

1. Versetzt man eine verdünnte Blutlösung mit einem Reductionsmittel, z. B. Schwefelammonium oder Stokes'scher Lösung (Anh.), so zeigt sich im Spectrum der Streifen des Hämoglobins (§ 408), der beim Schütteln mit Luft den beiden Streifen des Oxyhämoglobins Platz macht, um bei ruhigem Stehen alsbald wieder zu erscheinen. Beim ruhigen Stehen geht die Umwandlung des Oxyhämoglobins in Hämoglobin auch spontan vor sich.

2. Leitet man durch eine verdünnte Blutlösung Kohlenoxyd (oder Leuchtgas), so erscheint das Spectrum des Kohlenoxydhämoglobins, das auf Zusatz von einem Reductionsmittel nicht verschwindet (§ 409).

3. Auf Zusatz von einigen Tropfen einer conc. frisch bereiteten Ferricyankaliumlösung zu einer nicht zu verdünnten Blutlösung erscheint das Spectrum des Methämoglobins (§ 412), das durch ein Reductionsmittel in das Spectrum des Hämoglobins verwandelt wird; letzteres geht beim Schütteln mit Luft in das Spectrum des Oxyhämoglobins über.

4. Beim Kochen von mit Wasser versetztem Blut mit Natronlauge erkennt man sofort oder nach weiterer Verdünnung mit Wasser das Spectrum des Hämatins (§ 264) in alkalischer Lösung, das auf Zusatz eines Reductionsmittels in das charakteristische Spectrum des Hämochromogens übergeht (§ 263).

---

1) H.-S. **18**. 151. (1894.)

5. Versetzt man conc. Schwefelsäure tropfenweise und unter Umschütteln mit Blut bis zur weinroten Färbung, so zeigt sich bei der Untersuchung das Spectrum des Hämatoporphyrins (§ 266).

6. Man trägt in auf dem Wasserbade erhitzten Eisessig allmählich unter Umschütteln etwa den 4. Teil seines Volumens Blut ein und erhitzt noch eine Stunde. Der bis zum nächsten Tage abgeschiedene Bodensatz besteht aus Häminkrystallen (§ 265).

Nachweis in eingetrocknetem Blut.

7. Eine nicht zu verdünnte Lösung von eingetrocknetem Blut zeigt das Spectrum des Methämoglobins (siehe 3). Behandelt man sie nach 4 und nach 5, so erhält man das Spectrum des Hämochromogens und des Hämatoporphyrins.

Aus sehr kleinen Mengen eingetrockneten Blutes lassen sich noch Häminkrystalle (siehe 6) erhalten, wenn man in folgender Weise verfährt: Man verreibt eine kleine (etwa stecknadelkopfgrosse) Menge eingetrockneten Blutes mit einer Spur Kochsalz auf dem Objectträger, fügt einen Tropfen Eisessig hinzu, legt das Deckglas auf und stellt durch Reiben des Deckglases auf dem Objectträger eine völlig homogene Masse her. Jetzt hält man den Objectträger dicht über eine kleine Flamme, bis der Eisessig eben Blasen wirft (aber nicht länger), ersetzt den verdunsteten Eisessig durch neuen und betrachtet das Präparat mikroskopisch (schmale, braune rhombische Blättchen). Diese von Teichmann angegebene Probe dient zum gerichtlichen Nachweis kleiner Mengen eingetrockneten Blutes.

Teichmann'sche Häminprobe.

Diese Probe, welche für an der Luft eingetrocknetes, unzersetztes und von anderen Bestandteilen freies Blut sehr zuverlässig ist, kann versagen oder zweifelhaft ausfallen, wenn das Blut bis zur Trockne eingedampft war, wenn das trockene Blut bis auf 140° oder höher erhitzt oder in dünner Schicht längere Zeit dem Sonnenlicht ausgesetzt war, wenn das Eintrocknen bei Gegenwart von Salz- oder Salpetersäure oder von Rost stattgefunden hatte und unter manchen anderen Bedingungen[1]).

Spectroskopischer Nachweis sehr kleiner Mengen eingetrockneten Blutes.

In diesen Fällen ist der spectroskopische Nachweis zu versuchen und zu dem Zweck ein wässeriger Auszug (a) des zu untersuchenden Materials herzustellen. Ist derselbe nicht gefärbt, so löst man in Alkali (b).

a) Ist die Menge des eingetrockneten Blutes keine zu geringe, so extrahiert man mit wenig Wasser, filtriert durch ein kleines Filter und untersucht spectroskopisch, ob das Spectrum des Methämoglobins sichtbar und ob die Umwandlung in Hämoglobin und Oxyhämoglobin (vergl. 3) und die weitere Umwandlung in Hämochromogen (durch Zufügen eines Tropfens starker Natronlauge und Stehenlassen oder mässiges Erwärmen und Zusatz von Schwefelammonium vergl. 4) gelingt. Bei Anwesenheit von sehr wenig Material bringt man die zu untersuchende Substanz in die Vertiefung eines hohlgeschliffenen Objectträgers, fügt ein wenig Wasser hinzu, umzieht die Vertiefung mit Vaselin und legt ein Deckglas auf. Der geschlossene Raum soll gar keine oder nur wenig Luft enthalten. Wenn jetzt bei der abspectroskopischen Prüfung des auf weissem Papier liegenden Präparates das Methämoglobinspectrum nicht deutlich zu erkennen ist, so überlässt man es längere Zeit bei warmer Temperatur der Fäulnis und prüft dann, ob das Spectrum des Hämoglobins und nach Lüftung des Deckglases das Spectrum des Oxyhämoglobins sichtbar ist, ferner

1) Vergl. Lewin u. Rosenstein, Virch. A. **142.** 134. (1895.)

auch, ob auf Zufügen kleiner Mengen Natronlauge und Schwefelammonium bei wieder aufgelegtem Deckglas nach einiger Zeit das Spectrum des Hämochromogens entsteht. Die Untersuchung auf weissem Untergrunde ist oft weniger zweckmässig als diejenige auf dem Tisch des Mikroskopes, wenn das Object von unten her mittels des Spiegels hell beleuchtet und (nach Entfernung von Tubus mit Ocular und Objectiven) von oben mit dem Browning'schen Spectroskop (§ 26) betrachtet wird.

b) Tritt mit Wasser keine Lösung von Farbstoff ein, so behandelt man mit verdünnter Natronlauge. Die rote, in dünner Schicht grüne Flüssigkeit wird auf Zusatz von Schwefelammonium bald schön hellrot und zeigt das Spectrum des Hämochromogens. Dasselbe verschwindet beim kurzen Schütteln mit Luft und erscheint beim ruhigen Stehen wieder.

Bestimmung des Blutfarbstoffs im Blute.

Die quantitative Bestimmung kann auf spectroskopischem und colorimetrischem Wege ausgeführt werden.

654. **Spectroskopische Bestimmung.** Dieselbe wurde zuerst von Vierordt angewendet und geschieht am besten mit Hülfe des Spectrophotometers von Hüfner[1]). Sie liefert sehr genaue Werte.

655. **Colorimetrische Bestimmung.**

Princip. Eine passend verdünnte wässerige Lösung krystallisierten Blutfarbstoffs von bekanntem Gehalt wird in geeigneter Dicke der Schicht mit der zu untersuchenden Flüssigkeit von derselben Schichtdicke colorimetrisch verglichen und eine der Flüssigkeiten so lange mit gemessenen Mengen Wasser verdünnt, bis beide die gleiche Farbenintensität zeigen. Für die Genauigkeit dieser Vergleichung ist es von grosser Bedeutung, dass beide Lösungen unmittelbar neben einander gesehen werden. Dieses ist erreicht in den beiden Instrumenten von Hoppe-Seyler[2]).

Erforderliche Apparate und Lösungen. 1. Hoppe-Seyler's colorimetrische Doppelpipette oder Hoppe-Seyler's colorimetrische Doppelpipette mit Albrecht'schem Glaswürfel. 2. Eine Normallösung von Kohlenoxydhämoglobin. Die Apparate und die Herstellung der Lösung werden im folgenden beschrieben.

Colorimetrische Doppelpipette.

a) Hoppe-Seyler's colorimetrische Doppelpipette. Fig. 15 stellt sie etwas von der Seite gesehen, Fig. 16 gerade von vorn dar, zwischen beiden eine Durchschnittsskizze.

Sie besteht im wesentlichen aus zwei Kammern, einer rechten und einer linken, deren lichte Weite (von vorn nach hinten) 5 mm beträgt. Die Kammer der einen Seite liegt hinter, die der andern Seite vor einem Glaskörper von 5 mm Dicke (siehe die mittlere Figur). Die Begrenzung der Kammern nach vorn und hinten geschieht durch drei planparallele,

---

1) Z. physik. Ch. **3**. 562. (1889.)
E. Albrecht, Anleitung z. Gebrauch des Hüfner'schen Spectrophotometers. Tübingen 1892.

2) H.-S. **16**. 505. (1892.). G. Hoppe-Seyler, H.-S. **21**. 461. (1896.), H. Winternitz, H.-S. **21**. 468. (1896.)
Die Apparate sind ausgeführt und werden angefertigt von Universitätsmechaniker Albrecht in Tübingen.

geschliffene und polierte Glasplatten, von denen die mittlere beiden Kammern gemeinsam ist, die Begrenzung nach der einen Seite durch den Glaskörper, nach der andern Seite und nach oben und unten durch zwei Messingrahmen, welche vermittels Schrauben und Muttern die Glasplatten und Glaskörper aneinander drücken. In jede Kammer mündet oben und unten je ein Rohr, über welche Kautschukschläuche gezogen sind. Die unteren engen Schläuche sind mit den Gläschen *a*, *a* verbunden, welche in am Apparat befestigte

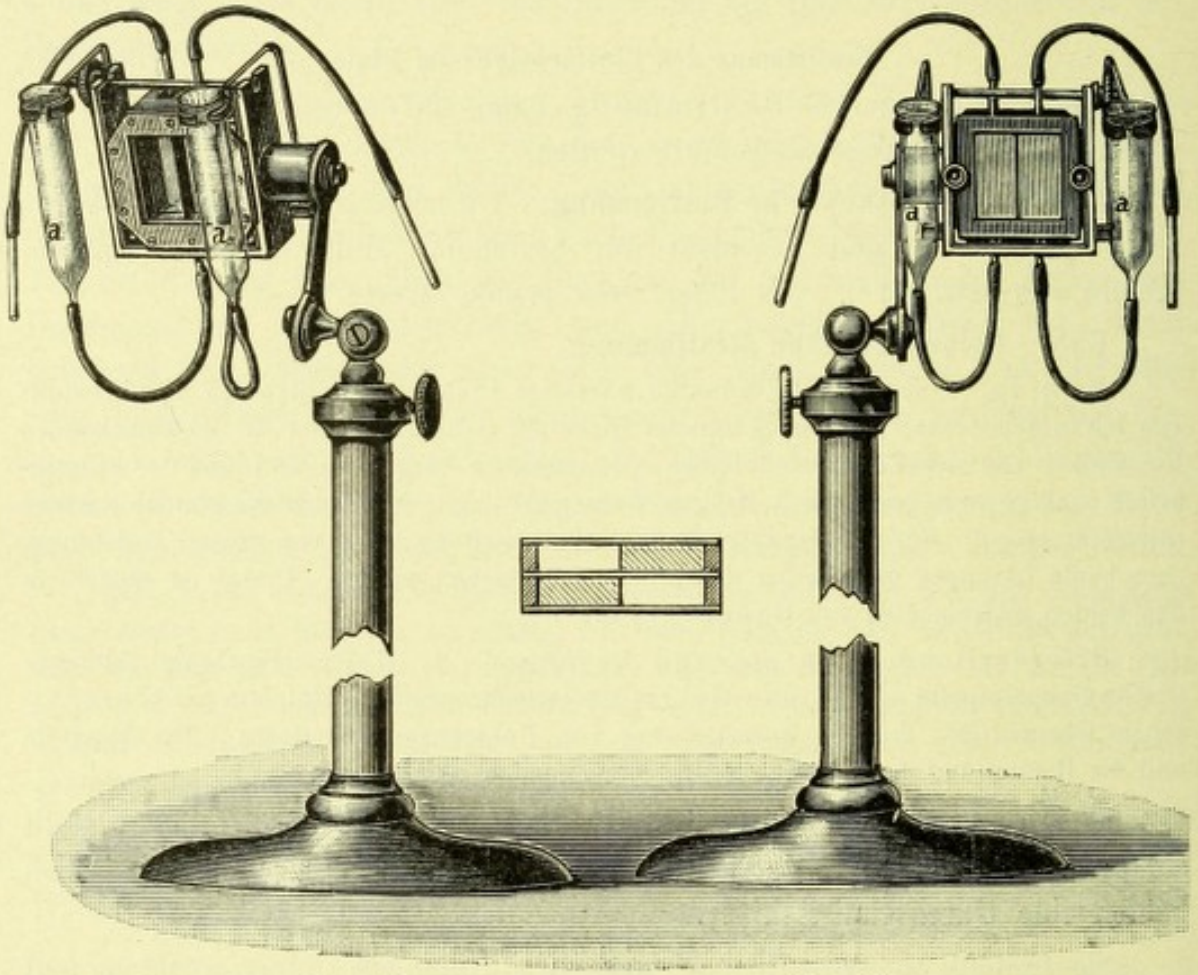


Fig. 15. Fig. 16.

Ringe eingehängt werden können (Fig. 15 u. 16). Die ganze Pipette ist an einem Stativ angebracht. Die beschriebene Einrichtung bringt es mit sich, dass zwei in den Kammern befindliche Flüssigkeiten neben einander, nur durch eine feine Linie voneinander getrennt, gesehen werden.

Colorimetrische Doppelpipette mit Albrecht'schem Würfel.

b) Hoppe-Seyler's colorimetrische Doppelpipette mit Albrecht'schem Würfel. Dieser Apparat besteht aus einer Combination einer Doppelpipette (Fig. 17, 3) mit dem Albrecht'schen Würfel (Fig. 17, 2), einem Collimator- und Fernrohr. Fig. 17, 1 stellt einen Vertikalschnitt des ganzen Instrumentes in $^1/_4$ natürlicher Grösse, Fig. 17, 3 die Doppelpipette und Fig. 17, 2 den Albrecht'schen Würfel in halber Grösse dar.

Das Fernrohr F und das Collimatorrohr C sind in messingener Hülse so verschraubt, dass sie ein gerades Rohr darstellen; dies Rohr ist auf einem starken gusseisernen Dreifuss montiert und um eine horizontale und eine verticale Achse drehbar. Am Collimatorrohr ist in einem geschwärzten messingenen Gehäuse ein auf 4 Seiten geschliffener Glaswürfel G (Fig. 17, 2) so befestigt, dass 2 diagonal gegenüberliegende Kanten desselben in der optischen Axe des Fernrohrs stehen und dass die dem Fernrohr zugekehrte Kante zugleich in der Brennweite der Collimatorlinse liegt.

Die Doppelpipette P ist aus einem rechteckigen, 5 mm dicken Messingstück hergestellt. Die eingebohrten Kammern sind durch einen 3,5 mm breiten Steg von einander getrennt; in jede dieser Kammern münden zwei

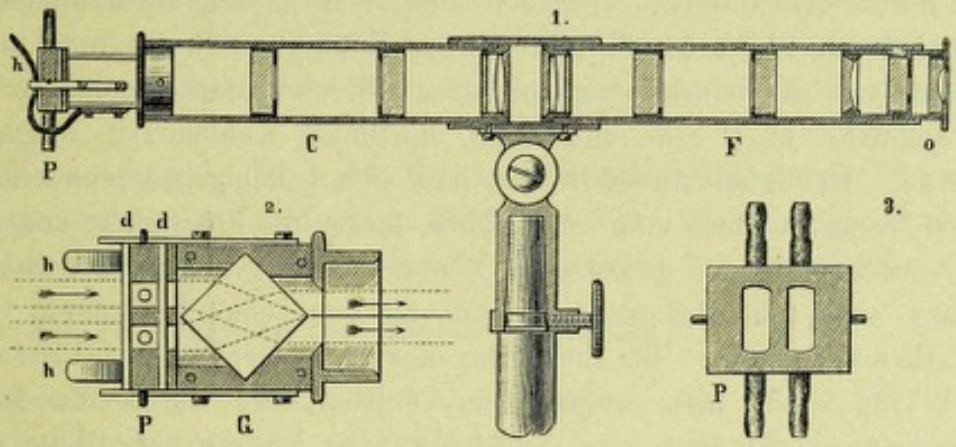


Fig. 17.

Schlauchansätze (Fig. 17, 3). Mit den unteren Ansatzstücken sind durch Gummischläuche Glasröhrchen verbunden; dieselben fehlen in der Abbildung, ihre Anordnung ist aber aus Fig. 15 u. 16 ersichtlich. Das Gehäuse des Flintglaswürfels G ist nach vorn mit einer genau eben geschliffenen Flansche abgeschlossen, in welcher sich zwei den Kammern der Doppelpipette entsprechende Oeffnungen befinden. Vor dieser Flansche wird die mit zwei planparallelen Gläsern *dd* (Fig. 17, 2) bedeckte Pipette mit den Federn *hh* angeklemmt und zugleich durch die am Würfelgehäuse angeschraubten messingenen Lamellen derart fixiert, dass sich die Kammern der Doppelpipette und die Oeffnungen in der Flansche genau decken. Das Licht, welches durch die beiden 3,5 mm von einander entfernten Kammern der Pipette einfällt, wird von dem Glaswürfel G, wie aus Fig. 17, 2 ersichtlich, so gebrochen, dass die Kante des Glaswürfels die Grenzen der beiden Kammern bildet. Das Ocular o des Fernrohrs F ist mit einer Blendung mit quadratischer Oeffnung abgeblendet. Wird nun das Fernrohr scharf auf die Kante des Würfels eingestellt, so erscheint das Quadrat der Ocularblendung durch eine feine Linie in 2 oblonge Hälften geteilt. Das Fernrohr kehrt die vom Glaswürfel gewendeten Bilder der Pipettenkammern

wieder um und es entspricht nun die rechte Hälfte des Ocularquadrats dem Lichte, welches durch die rechte Kammer der Pipette eingefallen ist und die linke Hälfte dem Lichte der linken Kammer.

Da die beiden Hälften des Ocularquadrats, wie bereits bemerkt, scharf zusammenstossen, so ist eine ausserordentlich genaue Vergleichung der Intensität des Lichtes, welches durch die beiden mit Farbstofflösungen gefüllten Kammern der Doppelpipette eingefallen ist, möglich.

Nach der Benutzung wird die Pipette vom Apparat entfernt, zerlegt, gereinigt und wieder eingeklemmt, um den Glaswürfel vor Staub zu schützen.

Herstellung der Normallösung.

656. Herstellung der Normallösung. Man bereitet eine concentrierte, wässerige Lösung der nach § 405 gewonnenen Oxyhämoglobinkrystalle, sättigt sie mit Kohlenoxyd und bestimmt in einigen Portionen von 15 bis 20 ccm durch Abdampfen, Trocknen und Wägen des Rückstandes den Procentgehalt an Blutfarbstoff. Von dieser Flüssigkeit bringt man in eine Reihe von auf der einen Seite ausgezogenen und zugeschmolzenen Glasröhren ungefähr je 6 ccm ein, leitet nochmals Kohlenoxyd durch und schmilzt zu. Der Inhalt dieser Röhren hält sich beliebig lange unverändert. Für einen Versuch öffnet man eine Röhre, giesst die Flüssigkeit aus, misst sie und verdünnt sie mit gemessener Menge kohlenoxydhaltigen Wassers so weit, dass eine 0,2—0,3 procentige Lösung von genau bekanntem Gehalt an Blutfarbstoff entsteht. Bei Benutzung der Doppelpipette mit Albrecht'schem Würfel stellt man wegen der Vergrösserung durch die Linsencombinationen zweckmässig eine 0,25—0,32 proc. Lösung her. Eine solche Normallösung reicht für zahlreiche Bestimmungen aus, ist aber nicht gut haltbar.

Ausführung der Bestimmung.

657. Ausführung. Man bringt in ein mit eingeriebenem Stopfen versehenes 10 ccm-Masskölbchen zunächst 1—2 ccm einer schwach alkalischen Salzlösung (z. B. 5 proc. Kochsalzlösung, die auf 100 ccm etwa 5 Tropfen einer $^{n}/_{10}$ Natronlauge enthält), wägt, fügt mit einer Pipette mehrere Tropfen des zu untersuchenden Blutes hinzu, verschliesst mit dem Stopfen und mischt gut durch leises Schwenken des Kölbchens. Nachdem man jetzt abermals gewogen hat, um das Gewicht des zugesetzten Blutes zu erfahren, füllt man bis zur Marke mit destilliertem Wasser auf, mischt gut, leitet Kohlenoxyd ein und filtriert. Steht nur sehr wenig Blut zur Verfügung z. B. aus einer Wunde am Finger, so nimmt man dasselbe mit graduiertem Capillarrohr auf, misst es hierin (0,04—0,06 ccm), bläst es in ein entsprechend kleines Masskölbchen ein, spült mit Wasser nach und verfährt wie oben angegeben. Jetzt kann man zur colorimetrischen Vergleichung übergehen.

Nachdem der Apparat so aufgestellt ist, dass das von einer ebenen, matten, weissen Papierfläche reflectierte Tageslicht in ihn hineinfällt, bringt man in das eine der Glasröhrchen *aa* (Fig. 15 und Fig. 16) die Normallösung, in das andere mit einer Pipette 2 ccm der zu bestimmenden Lösung,

lässt die Flüssigkeiten durch Heben der Glasröhrchen in die Kammern eintreten und vergleicht die Farbenintensität. Ist nun die Blutlösung dunkler gefärbt, als die Normallösung (so soll es sein), so fügt man aus einer in $^1/_{10}$ ccm geteilten Bürette eine kleine gemessene Menge Wasser, welches vorher in einer Flasche mit Kohlenoxyd geschüttelt wurde, hinzu, bewirkt durch wiederholtes Senken und Heben des Gläschens eine völlige Mischung der Flüssigkeit und vergleicht die Farbe mit der Normallösung. Ist die Lösung noch zu dunkel gefärbt, so fügt man aufs neue kohlenoxydhaltiges Wasser aus der Bürette hinzu, mischt, vergleicht und setzt das so lange fort, bis gleiche Farbenhelligkeit der Blut- und Normallösung erreicht ist. Glaubt man an diesem Punkt angekommen zu sein, so tut man gut, ihn durch Zusatz von 1—2 weiteren Wassertropfen nach der anderen Richtung zu überschreiten und durch Eintritt einer Differenz in der Intensität der Färbungen beider Lösungen die Richtigkeit der Beobachtung zu controllieren. Nun wird abgelesen, wie viel Wasser zur abgemessenen Blutlösung zugesetzt worden ist.

Berechnung. Ist p das Gewicht der Blutportion, c der Procentgehalt der verdünnten Normallösung an Blutfarbstoff, v das Volumen, zu welchem p verdünnt werden musste, um gleiche Intensität der Färbung zu erreichen, so ist der Procentgehalt des Blutes an Blutfarbstoff $= \frac{v \cdot c}{p}$.

Steht nur sehr wenig Blut zur Verfügung und ist dasselbe sehr arm an roten Blutkörperchen, so kann der Fall eintreten, dass die Verdünnung des Blutes bereits zu stark geworden ist und bei der Vergleichung in der Doppelpipette die Blutlösung heller erscheint als die verdünnte Normallösung. In diesem Falle wird eine Portion der letzteren abgemessen, mit kleinen gemessenen Mengen Wasser allmählich weiter verdünnt, bis bei der Vergleichung in der Doppelpipette die Farbenintensität derjenigen des verdünnten Blutes gleich geworden ist. Aus der stattgefundenen Verdünnung berechnet man dann den Procentgehalt dieser weiter verdünnten Normallösung an Kohlenoxydhämoglobin und dann in der obigen Weise den Gehalt des Blutes an diesem Farbstoff.

Die colorimetrische Doppelpipette liefert gute Resultate, sie leistet Alles, was ein colorimetrisches Verfahren überhaupt zu leisten vermag.

Bestimmung nach Fleischl-Miescher.

658. Colorimetrische Bestimmung nach Fleischl-Miescher. Der in der Klinik vielfach für die Zwecke der Oxyhämoglobinbestimmung gebrauchte Apparat von Fleischl-Miescher[1]) hat den Vorzug, dass er weder eine Normallösung noch eine Sättigung des Blutes mit Kohlenoxyd erfordert. Das Princip des Apparates ist folgendes: In der einen Hälfte einer durch eine senkrechte Scheidewand geteilten Kammer befindet sich eine Blutlösung von bekannter Verdünnung, in der andern

1) Veillon, A. exp. P. u. Ph. **39**. 385. (1897.)

destilliertes Wasser. Unter dem Wasser wird ein Keil von Rubinglas verschoben, bis bei der Betrachtung von oben nach unten Farbengleichheit erreicht ist. An einer Skala kann der Blutfarbstoff abgelesen werden.

Die Schwierigkeit besteht darin, dass eine völlige Farbenübereinstimmung beim Vergleich mit dem Rubinglaskeil nicht immer zu erreichen ist. Indessen liefert er im Allgemeinen für die Klinik ausreichend exacte Resultate. Dasselbe gilt von dem von Sahli angegebenen Hämometer, bei dem der Blutfarbstoff durch Salzsäure in Hämatin übergeführt wird und als Vergleichslösung eine salzsaure Hämatinlösung von bekanntem Gehalt dient.

Sahli's Hämometer.

Bestimmung des Fibringehaltes im Blute oder Plasma.

659. Für diesen Zweck benutzt man mit Vorteil ein kleines Becherglas, welches mit einer Kautschukkappe geschlossen ist (Fig. 18). Durch einen kleinen Röhrenansatz in der Mitte dieser Kappe steckt man den Stiel eines ruderförmigen Fischbeinstäbchens, so dass bei aufgesetzter Kappe der untere breite Teil desselben fast den Boden des Becherglases berührt.

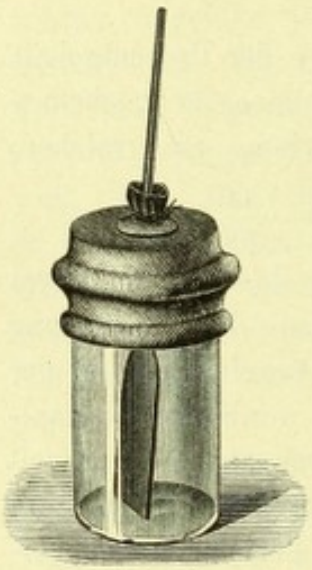


Fig. 18.

Man wägt den so vorbereiteten und getrockneten Apparat, nimmt den Kautschucküberzug ab, fängt eine Portion von 10—40 ccm des zu untersuchenden Blutes darin unmittelbar aus der Ader auf (zur Bestimmung im Plasma hebt man die entsprechende Portion aus dem im Eis stehenden Plasma mit einer Pipette hinein), zieht die Kautschukkappe über, schlägt nun das Blut etwa 10 Minuten lang und wägt nach dem völligen Erkalten. Man ist auf diese Weise im Stande, das Schlagen des Blutes ohne Verlust durch Verdunstung auszuführen. Nachdem das Gewicht des Blutes ermittelt ist, hebt man den Kautschuküberzug ab, füllt das Becherglas fast ganz mit Wasser, rührt stark um und lässt das Fibrin sich absetzen; die ziemlich klare Flüssigkeit wird darauf in ein anderes Becherglas abgegossen und die Behandlung mit Wasser wiederholt. Das Fibrin wird dann mit einer neuen Portion Wasser, dem einige Tropfen Kochsalzlösung zugesetzt sind, auf ein kleines gewogenes Filter gebracht und mit reinem Wasser so lange ausgewaschen, bis die ablaufende Flüssigkeit völlig farblos und das Fibrin selbst höchstens hellrosarot gefärbt erscheint. Mit einer reinen Pincette gelingt es leicht, Fibrinfasern, die am Fischbeinstäbchen haften, abzunehmen und den übrigen auf dem Filter zuzufügen. Schliesslich wäscht man das Fibrin noch einige Male mit siedendem Alkohol und mit Aether, um eingeschlossenes Fett,

Phosphatid, Cholesterin zu lösen und zu entfernen, trocknet dann bei 110 bis 120° im Luftbade und wägt nach dem Erkalten über Schwefelsäure.

Der Zusatz des Chlornatriums zu der zweiten oder dritten Portion des Waschwassers hat vor Allem den Zweck, die Flüssigkeit besser filtrierbar zu machen. Ausserdem bewirkt er auch die Lösung des grösstenteils aus den Blutkörperchen stammenden Globulins, wenn auch die Menge bei Säugetierblut eine so kleine ist, dass sie kaum Fehler bedingen kann.

Bei Vogel-, Amphibien- und Fischblut empfiehlt es sich, zum Auswaschen des Fibrins 1—3proc. Natriumsulfatlösung zu verwenden, bis die Blutkörperchen fast ganz entfernt sind, weil die Kerne sich sehr schwer durch Decantieren mit Wasser vom Fibrin trennen lassen. Erst zuletzt wendet man auch hier Wasser und endlich heissen Alkohol und Aether an.

Absolut genaue Resultate liefert die angegebene Bestimmungsmethode des Fibrins nicht, aber immerhin recht brauchbare. Es ist wichtig, dass man so lange wäscht und decantiert, bis die Flüssigkeit über dem Fibrin fast völlig klar bleibt und erst dann das Fibrin aufs Filter bringt und mit Wasser weiter wäscht. Bringt man das Fibrin zu früh auf das Filter, so filtriert die Flüssigkeit sehr langsam und es kann Fäulnis vor der Beendigung eintreten. Verfährt man nach diesen Vorschriften, so erhält man gleichmässige und befriedigende Resultate und jede Bestimmung ist in wenigen Stunden bis auf das Trocknen des Fibrins beendet.

Bestimmung des Plasmas, des Serums, der Blutkörperchen im Blute.

660. Für diese Bestimmung sind von Hoppe-Seyler folgende drei Verfahren I, II und III angegeben worden:

Verfahren I ist nur für Blut anwendbar, das langsam gerinnt und dessen Körperchen sich schnell senken, also z. B. für Pferdeblut oder für Blut von Menschen, welche an Entzündungskrankheiten leiden.

Verfahren II ist verhältnismässig leicht ausführbar und genau, aber nur dann anwendbar, wenn die Blutkörperchen sich in dem geschlagenen und mit verdünnter Salzlösung vermischten Blut beim Centrifugieren gut absetzen. Es eignet sich besonders für Vogel-, Amphibien- und Fischblut, meist auch für Menschenblut. Bunge[1]) und Abderhalden[2]) haben es mit gutem Erfolg beim Pferde-, Rinder-, Schweine-, Schaf-, Hunde-, Kaninchen-, Ziegen- und Katzenblut angewendet. Auch Erben[3]) hat es benutzt.

Verfahren III eignet sich auch für solche Blutarten, deren Blutkörperchen sich nicht gut absetzen, ist aber weniger genau als Verfahren II, da colorimetrische Bestimmungsmethoden zur Anwendung kommen.

---

1) Z. f. B. **12**. 191. (1876.)
2) H.-S. **23**. 521. (1897.) **25**. 65. (1898.)
3) Z. f. Heilk. **26**. 245 u. 303. (1905.)

661. **Verfahren I.**

Princip. Das Fibrin ist als ein Stoff anzusehen, welcher ausschliesslich oder so gut wie ausschliesslich aus dem Plasma stammt. Die Spuren, welche etwa von den Blutkörperchen geliefert werden, sind so gering, dass sie vernachlässigt werden können. Bestimmt man nun einerseits in einer gewogenen Menge Blut, andererseits in einer gewogenen Menge Plasma das Fibrin, so ist aus diesen beiden Werten der Gehalt des Blutes an Plasma, an Serum und an Körperchen leicht zu berechnen.

Ein Nachteil der Methode liegt darin, dass wegen des geringen Fibringehaltes des Blutes und des Plasmas in der Fibrinbestimmung gemachte Fehler bei der Berechnung verhundertfacht werden.

Ausführung. Man bestimmt in einer Portion Blut (10—40 ccm) den Fibringehalt nach § 659. Eine zweite grössere Portion wird in einem cylindrischen, in Eis stehenden Gefässe aufgefangen. Nachdem die Blutkörperchen sich hinreichend gesenkt haben, entnimmt man mit einer abgekühlten Pipette ungefähr dieselbe Menge des klaren Plasmas und ermittelt in ihm ebenfalls den Fibringehalt nach § 659.

Berechnung. Rechnet man die erhaltenen Werte auf 100 g Blut bezw. Plasma um und bezeichnet man mit:

a den Procentgehalt des Blutes an Fibrin
b „ „ „ Plasmas „ „
x „ „ „ Blutes „ Plasma
y „ „ „ „ „ Blutkörperchen
z „ „ „ „ „ Serum,

so ist $x = \frac{a \cdot 100}{b}$ $\quad y = 100 - x \quad z = x - a.$

662. **Verfahren II.**

Princip. Die Methode beruht auf der experimentell begründeten Annahme, dass bei der Trennung von Plasma und Blutkörperchen durch verdünnte Salzlösung in der § 648 angegebenen Weise keine Proteinstoffe aus den Körperchen austreten und besteht in der Ermittelung und rechnerischen Verwertung folgender Daten:

1. Gehalt des Blutes an Proteinstoffen.
2. Gehalt des von den Bestandteilen des Serums befreiten Blutes an Proteinstoffen.
3. Gehalt des Blutes an Fibrin.
4. Gehalt des zugehörigen Serums an Proteinstoffen.

Ausführung. Es werden vier einzelne Portionen Blut aufgefangen und getrennt von einander untersucht.

1. Portion. Man fängt 5—10 ccm in einem Becherglase, das zusammen mit einem Uhrglase vorher gewogen war, auf, wägt bei aufgelegtem Uhrglase nach dem Erkalten und bestimmt nach § 636 die Proteinstoffe*).

*) Unter der Asche, welche nach den Angaben des § 636 abgezogen wird, be-

2. Portion. Man fängt 5—10 ccm Blut in einem gewogenen und dann auf Körpertemperatur erwärmten Fibrinbestimmungsapparat (§ 659) auf, bringt das Blut durch Schlagen zur Gerinnung, wägt nach dem Erkalten und mischt die Flüssigkeit in einem grösseren Becherglase mit dem zehnfachen Volumen einer Mischung von 1 Tl. gesättigter Natriumchloridlösung und 9 Tl. Wasser. Man bringt jetzt die Flüssigkeit quantitativ in die Gläser einer Centrifuge, centrifugiert 1—2 Stunden, giesst die überstehende Flüssigkeit völlig klar ab, mischt den zurückbleibenden Blutkörperchenbrei mit derselben Salzlösung, centrifugiert wieder, giesst von neuem ab und verfährt nochmals in derselben Weise. Nachdem durch diese Behandlung die serösen Bestandteile völlig entfernt worden sind, werden die in den einzelnen Gläsern zurückbleibenden Massen, welche aus Blutkörperchen, Fibrin und den Resten der Waschflüssigkeit bestehen, mit Hülfe von (möglichst wenig) Wasser quantitativ in einem Becherglase vereinigt, durch Alkohol gefällt und zur Bestimmung der Proteinstoffe*) weiter nach § 636 behandelt.

3. Portion. Man fängt 10—40 ccm Blut in einem Fibrinbestimmungsapparat auf und ermittelt den Fibringehalt nach § 659.

4. Portion. Man fängt Blut in einer auf Körpertemperatur erwärmten Schale auf, bedeckt die Schale und lässt ruhig stehen. Von dem nach eingetretener Gerinnung allmählich aus dem Blutkuchen ausgetretenen Serum wägt man 5—10 ccm in einem Becherglase ab und bestimmt die Proteinstoffe nach § 636.

Berechnung. Berechnet man die in 1, 2 und 3 erhaltenen Werte auf 100 g Blut, den in 4 erhaltenen Wert auf 100 g Serum und bezeichnet man mit:

a	den	Procentgehalt	des	Blutes	an	Proteinstoffen	(Resultat von 1)	
b	„	„	„	„	„	Fibrin + Proteinstoffen der Blutkörperchen	(„	„ 2)
c	„	„	„	„	„	Fibrin	(„	„ 3)
d	„	„	„	Serums	„	Proteinstoffen	(„	„ 4)
x	„	„	„	Blutes	„	Serum		
y	„	„	„	„	„	Plasma		
z	„	„	„	„	„	Blutkörperchen,		

so ist $x = \frac{a-b}{d} \cdot 100$ $\quad y = x + c$ $\quad z = 100 - (x + c)$.

663. **Verfahren III.**

Princip. Die Methode stimmt im wesentlichen mit der vorhergehenden

---

findet sich auch das dem Blutfarbstoff zugehörige Eisenoxyd. Es ist nicht nöthig, dieses besonders zu bestimmen und dem Gewichte der Proteinstoffe wieder zuzuaddieren, da die in Portion 1 und 2 erhaltenen Gewichtsprocente nur für die Berechnung dienen sollen. Bei dieser findet aber eine Subtraction des einen Wertes vom andern statt, wobei das hinzuaddierte Eisenoxyd wieder herausfallen würde.

*) Siehe die *Note S. 682.

überein, nur sind die der Rechnung zu Grunde zu legenden Werte z. Tl. andere. Es wird festgestellt:

1. Der Gehalt des Blutes an Proteinstoffen.
2. Die relative Menge an Blutfarbstoff und Proteinstoffen in den Blutkörperchen.
3. Der Gehalt des Blutes an Fibrin und an Blutfarbstoff.
4. Der Gehalt des zugehörigen Serums an Proteinstoffen.

Die Bestimmung 2 des Verfahrens II, bei welchem eine völlige Abscheidung der Blutkörperchen durch die Centrifuge geschehen muss, ist durch die colorimetrische Bestimmung des Blutfarbstoffs im Blute und durch die Bestimmung der relativen Menge an Blutfarbstoff (auf colorimetrischem Wege) und Proteinstoffen in den Blutkörperchen ersetzt. Infolgedessen eignet sich die Methode auch für solches Blut, dessen Blutkörperchen durch Centrifugieren nicht quantitativ abgeschieden werden können.

Ausführung. Es werden 4 Portionen Blut aufgefangen und einzeln untersucht.

1. Portion. Man verfährt genau wie unter § 662, 1 angegeben.

2. Portion. 30—50 ccm Blut werden in einem auf Körpertemperatur erwärmten Gefässe aufgefangen, durch Schlagen zur Gerinnung gebracht, mit dem 10 fachen Volumen der verdünnten Salzlösung (siehe § 662, 2) vermischt, centrifugiert und weiter wie unter § 662, 2 angegeben zur Entfernung der Bestandteile des Serums behandelt, nur mit dem Unterschiede, dass ein Verlust an Blutkörperchen beim Abgiessen nicht vermieden zu werden braucht. Der vom Serum völlig befreite, aus Körperchen, Fibrin und Salzlösung bestehende Rückstand wird mit Wasser versetzt, die Flüssigkeit gut umgerührt und dann von dem Fibrin abgegossen. In einem nicht zu kleinen, genau abgemessenen Teile bestimmt man nach § 636 die Proteinstoffe*), in einem andern nach § 655 den Blutfarbstoff.

3. Portion. In 10—40 ccm Blut wird eine Fibrinbestimmung nach § 659 ausgeführt. Die abgegossenen und abfiltrierten wässerigen Waschflüssigkeiten werden gesammelt und zur Blutfarbstoffbestimmung nach § 655 benutzt.

4. Portion. Man verfährt genau wie unter § 662, 4 angegeben.

Berechnung. Man rechnet die in 1, 3 und 4 erhaltenen Werte auf 100 g Blut bezw. Serum um, und die in 2 erhaltenen auf ein bestimmtes Volumen der Flüssigkeit. Bezeichnet man nun mit:

a den Procentgehalt des Blutes an Proteinstoffen (Resultat von 1)
b „ „ „ „ „ Fibrin („ „ 3)
c „ „ „ „ „ Blutfarbstoff („ „ 3)
d „ „ „ Serums „ Proteinstoffen („ „ 4)
e das Verhältnis von Proteinstoffen zu Blutfarbstoff in den Blutkörperchen („ „ 2)

*) Siehe die *Note S. 682.

w den Procentgehalt des Blutes an Proteinstoffen der Blutkörperchen
x „ „ „ „ „ Serum
y „ „ „ „ „ Plasma
z „ „ „ „ „ Blutkörperchen,

so ist $w = c \cdot c$ $\qquad x = \frac{[a - (w + b)] \cdot 100}{d}$ $\qquad y = x + b$

$$z = 100 - (x + b).$$

Bestimmung der einzelnen Bestandteile des Blutes in ihrer Verteilung auf Serum und Körperchen (Gesamtblutanalyse).

664. 1. Man führt eine Analyse nach § 662 oder nach § 663 aus und berechnet den Procentgehalt des Blutes an Serum, an Blutkörperchen und an Fibrin.

Dabei wird der Procentgehalt des Serums an Proteinstoffen und der Procentgehalt des Blutes an Proteinstoffen der Blutkörperchen festgestellt, letzterer aber um diejenige Menge Eisenoxyd, welche dem in 100 g Blut enthaltenen Blutfarbstoff entspricht, zu klein. Der Procentgehalt des Blutes an Eisenoxyd ist deshalb in einer besonderen Portion Blut nach § 504 und § 512 zu ermitteln und hinzuzuaddieren.

Die so erhaltene Zahl gibt also an, wie viel Proteinstoffe in 100 g Blut auf die Blutkörperchen entfallen, während man durch Umrechnung des Procentgehaltes des Serums an Proteinstoffen auf diejenige Menge Serum, welche in 100 g Blut enthalten ist, erfährt, wie viel Proteinstoffe in 100 g Blut auf das Serum entfallen.

2. Man macht eine Blutfarbstoffbestimmung nach § 655. Da der Blutfarbstoff ausschliesslich in den Blutkörperchen vorkommt, so gibt der gefundene Procentgehalt gleichzeitig an, wie viel Blutfarbstoff in den in 100 g Blut enthaltenen Blutkörperchen enthalten ist. Zieht man ihn von der in den Blutkörperchen enthaltenen Menge Proteinstoffe (siehe oben) ab, so erfährt man, wie viel Proteinstoffe ausser dem Blutfarbstoff in den Blutkörperchen enthalten sind.

3. Man bestimmt in 30—50 ccm Blut nach § 636 Cholesterin, Phosphatide, lösliche und unlösliche Salze usw. mit Ausnahme der Proteinstoffe und rechnet alle diese Werte auf 100 g Blut um. Sodann führt man dieselbe Bestimmung im Serum aus. Rechnet man nun die für 100 g Serum erhaltenen Mengen der einzelnen Stoffe auf die in 100 g Blut enthaltene Serummenge um, so erfährt man, wie viel Cholesterin, Phosphatid usw. in 100 g Blut auf das Serum kommen, und zieht man diese einzelnen Werte von den für 100 g Blut gefundenen ab, so ergibt sich, wie viel Cholesterin, Phosphatid usw. in 100 g Blut auf die Blutkörperchen kommen.

4. Man bestimmt in 40—50 ccm Blut nach § 631 den Procentgehalt an Zucker. Dieser Wert gibt gleichzeitig an, wie viel Zucker in 100 g Blut auf das Serum kommt.

5. Man bestimmt in je einer Menge von 1—2 g nach § 616 den Procentgehalt des Blutes und des Serums an Trockensubstanz. Berechnet man diejenige Menge Trockenrückstand, welche dem in 100 g Blut enthaltenen Serum entspricht, so erhält man die Menge Trockensubstanz, welche in 100 g Blut auf das Serum entfällt und zieht man diesen Wert + dem Procentgehalt des Blutes an Fibrin von dem Procentgehalt des Blutes an Trockensubstanz ab, so erfährt man, wie viel Trockensubstanz in 100 g Blut auf die Blutkörperchen entfällt.

Bestimmung der Gesamtblut- und der Gesamtblutfarbstoffmenge eines Tieres.

Bestimmung der Gesamtblutmenge.

665. Bestimmung der Gesamtblutmenge im wesentlichen nach Welcker[1]).

Princip. Die Methode ist eine colorimetrische und beruht darauf, dass der Blutfarbstoff so gut wie ausschliesslich dem Blute angehört (die kleinen, in den Muskeln vorkommenden Mengen bedingen keine wesentliche Ungenauigkeit) und dass bei der Extraction der Organe mit Wasser keine anderen färbenden Substanzen in dieses übergehen. Man entnimmt dem Tier eine Portion Blut, stellt ihr Gewicht fest, entblutet dann das ganze Tier, erschöpft die zerkleinerten Organe mit Wasser, vereinigt Blut und Waschflüssigkeit, misst das Volumen und verdünnt die zuerst entnommene Probe so weit mit gemessenen Mengen Wasser, bis beide Flüssigkeiten bei der colorimetrischen Untersuchung gleich sind. Die Berechnung ist dann einfach.

Ausführung. Nachdem in die Art. carot. und in die Ven. jugul. Canülen eingebunden sind, fängt man am besten in einem Fibrinbestimmungsapparat (§ 659) 30—50 ccm Blut auf, bringt es durch Schlagen zur Gerinnung und wägt wieder. Die Hauptmenge des Blutes lässt man ohne Verlust in ein grösseres Gefäss fliessen und bringt es ebenfalls durch Schlagen zur Gerinnung. Das Gefässsystem wird von der Vene aus mit 0,9 proc. Kochsalzlösung ausgespült (Gscheidlen[2]), bis die Flüssigkeit ungefärbt ausläuft, und die Spülflüssigkeit mit dem Blute vereinigt. Nach Eröffnung des Tieres und Entfernung des Darminhaltes und der Gallenblase (oder wenigstens deren Inhalt) zerkleinert man den ganzen Körper, zerstösst die Knochen in einem eisernen Mörser und extrahiert so lange mit neuen Portionen kalten Wassers, als dies noch rötliche Färbung zeigt. Auch diese Waschflüssigkeit wird nach ihrer Filtration durch Leinwand mit der übrigen Flüssigkeitsmenge vereinigt und darauf das Gesamtvolumen der Mischung festgestellt. Ein kleiner Teil wird auf 0° abgekühlt, durch geeignetes Filtrierpapier völlig klar filtriert und in die eine Kammer der Doppelpipette (§ 655) gebracht. Das geschlagene Blut (siehe oben), dessen Gewicht festgestellt ist, wird mit 9 Gewichtsteilen Wasser

1) Prager Vierteljahrsschr. **4**. 11. 2) Pfl. A. **7**. 530. (1873.)

verdünnt, eine kleine gewogene Menge der klar filtrierten Lösung wird in die zweite Kammer der Doppelpipette gebracht und so lange mit gemessenen Mengen Wasser versetzt, bis die Färbung beider Flüssigkeiten in den Kammern des Apparates gleich erscheint.

Berechnung. Bei Farbengleichheit enthalten beide Flüssigkeiten gleichen Procentgehalt an Blut. Da sich dieser für die eine leicht berechnen lässt, da das Gewicht des Blutes und der zugefügten Wassermengen bekannt ist, so ergibt sich für die andere, deren Volum gemessen ist, leicht der Gehalt an Blut. Addiert man zu dem so gefundenen Wert das Gewicht der zuerst entnommenen Probe Blut hinzu, so erhält man das Gesamtgewicht des Blutes.

Die Bestimmung ist möglichst schnell und möglichst bei niedriger Temperatur zu Ende zu führen, um eine Zersetzung des Blutfarbstoffs zu vermeiden.

666. Bestimmung der Gesamtblutfarbstoffmenge.

Bestimmung der Gesamtblutfarbstoffmenge.

Man führt 1. eine Bestimmung des Gesamtblutgehaltes nach § 665 und 2. eine Blutfarbstoffbestimmung nach § 655 aus und berechnet aus beiden Werten den Gesamthämoglobingehalt.

667. Combinierte Bestimmung der Gesamtblut- und Gesamtblutfarbstoffmenge nach H. Winternitz[1]).

Bestimmung der Gesamtblut- und Gesamtblutfarbstoffmenge.

Princip. Es wird der procentische Blutfarbstoffgehalt des unverdünnten Blutes und der Blutfarbstoffgehalt des gesamten Blutes bestimmt und aus diesen beiden Werten die Gesamtblutmenge berechnet.

Ausführung. Nach Einführung von Canülen in die Art. carot. und in die Ven. jugul. wird eine gewogene Probe Blut für die Blutfarbstoffbestimmung nach § 655 entnommen und darauf nach den Angaben von § 665 eine wässerige Lösung, welche das gesamte Blut des Tieres enthält, hergestellt, nur mit dem Unterschied, dass man zum Auslaugen der zerkleinerten Organe eine ganz schwache Natronlauge (auf 1000 Tl. Wasser etwa 0,04 g Aetznatron) benutzt. Ein kleiner Teil der gemessenen Gesamtflüssigkeit wird mit Kohlenoxyd gesättigt, klar filtriert und in die eine Kammer der Doppelpipette (§ 655) gebracht; in die andere Kammer kommt eine gemessene Menge einer verdünnten (etwa 0,2 proc.) Kohlenoxydhämoglobinlösung von bekanntem Gehalt (§ 656). Dieser fügt man gemessene Mengen kohlenoxydhaltigen Wassers bis zur Farbengleichheit beider Lösungen hinzu (§ 657, vorletzten Absatz).

Berechnung. Da bei Farbengleichheit beide denselben Procentgehalt an Blutfarbstoff enthalten müssen, so lässt sich die Menge des Farbstoffs in der gemessenen wässerigen Blutlösung leicht berechnen. Zu dem gefundenen Wert ist noch diejenige Menge Blutfarbstoff, welche die für die Hämoglobinbestimmung entnommene Probe Blut enthält, zu addieren, um die Gesamtmenge an Blutfarbstoff zu erhalten. Aus diesem Wert (h) und

1) H.-S. **22**. 469. (1897.)

dem Procentgehalt des Blutes an Blutfarbstoff (p) lässt sich die Gesamtmenge des Blutes in Grammen (x) leicht berechnen: $x = \frac{100 \cdot h}{p}$.

Bestimmung der Gesamtblutmenge beim Lebenden.

668. Für diesen Zweck haben kürzlich Zuntz u. Plesch[1]) eine Methode angegeben, welche eine Verbesserung älterer Verfahren von Gréhant u. Quinquaud[2]) und Haldane u. Smith[3]) darstellt und im wesentlichen darin besteht, dass nach Einatmen einer gemessenen Menge Kohlenoxyd in einer gemessenen Menge mit der Spritze entnommenen Blutes das Kohlenoxyd bestimmt wird.

4. Untersuchung des Eiters.

669. Der Eiter[4]) stellt eine dünn- oder dickflüssige oder auch breiige Masse dar und besteht aus einer Flüssigkeit, dem Eiterserum, in dem morphologische Elemente, die Eiterkörperchen, suspendiert sind.

Das spec. Gewicht schwankt (durchschnittlich ungefähr 1030).

Die Reaction ist gegen Lacmus alkalisch.

Bestandteile. Das Serum ist von gelblicher oder grünlicher Farbe und enthält die Bestandteile des Blutserums, ausserdem gewöhnlich etwas Albumose (Hofmeister), auch Tyrosin, Leucin, Fettsäuren können besonders in länger bestehenden Eiteransammlungen vorhanden sein. Eine Blaufärbung kann von Pyocyanin (§ 289) herrühren. Die Körperchen enthalten in Wasser lösliche und unlösliche Proteinstoffe, darunter ein dem Kern zugehöriges Nucleoproteid (Miescher) und Albumosen (letztere viel reichlicher als das Serum, Hofmeister), Cholesterin, Phosphatide, sogen. Protagon (Hoppe-Seyler, Kossel u. Freitag), Fette, Glykogen (Huppert), proteolytisches Ferment, anorganische Salze (Kalium, Natrium, Calcium, Magnesium, Eisen, gebunden an Salzsäure und Phosphorsäure).

Trennung und Untersuchung von Eiterserum und Eiterkörperchen.

670. **Trennung.** Die Isolierung des Serums gelingt, wenn auch sehr langsam, durch Filtration oder auch durch Centrifugieren. Zur Isolierung

1) B. Z. **11**. 47. (1908.)
2) J. d. l'anat. et de la phys. **18**. 564. (1882.)
3) J. of Ph. **25**. 331. (1899/1900.)
4) Miescher, Verh. d. naturh. Ges. in Basel. **7**. 138.
Derselbe, Med.-chem. Unters. von Hoppe-Seyler. **4**. 441. (1870.)
Hoppe-Seyler, Med.-chem. Untersuchungen. **4**. 486. (1870.)
Kossel, H.-S. **7**. 7. (1883.)
Kossel u. Freytag, H.-S. **17**. 452. (1893.)
Hofmeister, H.-S. **4**. 274. (1880.)
Huppert, H.-S. **18**. 144. (1894).

der Körperchen verdünnt man den Eiter mit Natriumsulfatlösung (1 Tl. gesättigte Salzlösung und 9 Tl. Wasser) oder auch mit halbgesättigter Bariumnitratlösung, centrifugiert die Mischung und wäscht den Bodensatz mit derselben Salzlösung. Chlornatriumlösung ist nicht zu benutzen, da sie die Körperchen in eine zäh-schleimige Masse verwandelt.

671. **Untersuchung des Eiterserums.** Sie erfolgt genau wie die einer serösen Flüssigkeit (§ 612 ff.). Ueber Pyocyanin siehe § 289.

672. **Untersuchung der Eiterkörperchen.** Man behandelt zunächst mit Wasser, wobei kleine Mengen noch wenig untersuchter Eiweissstoffe in Lösung gehen, filtriert und kocht den Rückstand mit viel starkem Alkohol aus.

Alkoholisches Filtrat. Beim Abkühlen scheiden sich protagonartige Substanzen ab, aus denen durch Behandlung mit methylalkoholischer Barytlösung zwei Cerebroside, Pyosin und Pyogenin, erhalten worden sind (S. 351). Die Mutterlauge wird nach § 632 auf Cholesterin, Phosphatid und Fett untersucht.

Rückstand. Denselben verdaut man längere Zeit mit Pepsinsalzsäure (§ 483), filtriert und wäscht mit Wasser und warmem Alkohol aus. Von den ungelöst bleibenden Kernsubstanzen wird durch verdünnte Sodalösung oder sehr schwache Natronlauge Nuclein (§ 418) gelöst, das aus der alkalischen Lösung auf Zusatz einer Säure wieder ausfällt. Der in schwachem Alkali unlösliche Teil ist in starkem Alkali und auch in conc. Salzsäure löslich.

Ausser durch Verdauung gelingt die Isolierung der Kernsubstanz auch durch wochenlange Behandlung der Eiterzellen mit sehr verdünnter Salzsäure und nachheriges Schütteln des ungelösten Rückstandes mit Wasser und Aether. Dabei setzen sich die Kerne als feines Pulver am Boden der wässerigen Schicht ab.

5. Untersuchung der Secrete.

Die Secrete sind Producte der Tätigkeit der Drüsenzellen. Sie enthalten neben specifischen Stoffen, welche dem Blute fehlen, auch solche, welche in ihm vorkommen, aber in anderer procentischer Menge. Einige Secrete, z. B. Speichel, Magensaft, sind sehr arm, andere, z. B. Galle, Milch, reich an festen Bestandteilen.

Untersuchung des Speichels.

Allgemeines.

673. Der gemischte Speichel, wie er aus dem geöffneten Munde bei gesenktem Kopf und Vermeidung des Schlingens ausläuft, stellt ein ungleichförmiges, teils tropfbar-flüssiges, teils zäh-schleimiges Gemenge der Secrete der drei grossen Speicheldrüsen, Gland. parot., Gland. submaxill. und Gland. sublingual., und der zahlreichen kleinen Schleimdrüsen der Mundhöhle dar.

674. **Bestandteile.** Der gemischte Speichel enthält nur 0,5—1,0 pCt.

Trockensubstanz, darunter 0,3—0,4 pCt. organische Stoffe. Unter letzteren sind ausser den § 675 erwähnten organisierten Beimengungen Mucin, Eiweissstoffe, diastatisches Ferment (Ptyalin) (fehlt bei manchen Tieren, z. B. Hund und Katze), Maltase nachgewiesen worden. Schwefelcyansäure kommt bei Gesunden wohl stets vor (in vermehrter Menge bei Rauchern), sie fehlt dem Speichel von Pferden und Hunden. Harnstoff ist wiederholt bei Gesunden gefunden worden. Die anorganischen Stoffe bestehen aus Alkalien, Kalk und Magnesia, die an Salzsäure, Kohlensäure, Phosphorsäure und ein wenig Schwefelsäure gebunden sind. Ammoniak ist immer vorhanden, salpetrige Säure findet sich nach Wurster[1]) im frischen Speichel in der Regel nicht, wohl aber Wasserstoffhyperoxyd, welches alsbald aus dem Ammoniak salpetrige Säure bildet.

Specifisches Gewicht.

675. **Allgemeine Eigenschaften.** Das spec. Gewicht schwankt zwischen 1002 und 1008.

Reaction.

Die Reaction ist in der Regel (nach dem Essen stets) gegen Lacmus alkalisch, aber nicht gegen Phenolphtalein. Eine gegen Lacmus saure Reaction ist wohl in vielen, wenn auch nicht in allen Fällen auf bacterielle Zersetzungen zurückzuführen; sie wird nach längerem Nüchternsein und besonders bei vielem Sprechen beobachtet.

Klarheit.

Klarheit. Beimengungen von abgestossenen Epithelien der Mund- und Zungenschleimhaut und von kleineren rundlichen Gebilden, den sogen. Speichelkörperchen, bedingen eine etwas trübe Beschaffenheit. Beim Stehen an der Luft bildet sich ein feiner Niederschlag oder auch ein feines Häutchen an der Oberfläche: Calciumcarbonat (aus doppeltkohlensaurem Kalk abgeschieden) mit etwas organischer Beimengung.

676. **Pathologische Veränderungen.** In fieberhaften Krankheiten ist die Secretion vermindert, stockt, wie es scheint, oft gänzlich (Trockenheit des Mundes und Rachens, belegte Zunge, veränderter Geschmack usw.). Bei Jod- und bes. bei Quecksilbersalivation enthält der Speichel die Secrete der entzündeten Mund- und Rachenschleimhaut beigemengt und ist in Folge dessen reicher an Eiweiss und anorganischen Salzen (bis über 0,7 pCt.). Bei acuter und chronischer Nephritis ist in der Regel Harnstoff[2]) vorhanden, bei Urämie wurde Harnsäure[3]) (direct durch die Murexidprobe nachweisbar) gefunden. Leucin wurde einmal im Speichel einer Hysterischen nachgewiesen. Bei kachektischen Kranken kann Schwefelcyansäure fehlen. Bei Icterus tritt kein Gallenfarbstoff und bei Diabetes kein Zucker im Speichel auf (Fleckseder gibt an, ihn in seltenen Fällen bei Diabetes gefunden zu haben[4]), wohl aber ist bei dieser

1) B. **22**. 1901. (1889.)
2) Boucheron, C. r. **100**. 1308. (1885.)
3) Verh. d. 2. Congr. f. inn. Med. Wiesbaden 1883. S. 119.
4) C. f. inn. M. 1905. S. 41.

letzteren Krankheit oft saure Reaction, die in einem Fall nach Lehmann durch freie Milchsäure bedingt war, beobachtet worden. Bei fieberhaften Krankheiten, bei Digestionsstörungen und anderen pathologischen Zuständen ist die Reaction ebenfalls oft sauer. Auch hier dürften Mikroorganismen häufig die Ursache sein.

677. **Secrete der einzelnen Speicheldrüsen.**

Parotisspeichel. Das normale Secret der Parotis, wie man es durch Einführung einer Canüle in den Ausführungsgang oder aus einer Fistel erhält, stellt bei Menschen und Tieren, soweit die Untersuchungen reichen, eine wasserklare Flüssigkeit von völlig dünnflüssiger Beschaffenheit und gegen Lacmus alkalischer Reaction dar. Sie trübt sich beim Stehen unter Abscheidung von Calciumcarbonat. Der Trockenrückstand beträgt 0,7—1,6 pCt. und besteht ungefähr zu gleichen Teilen aus organischen und anorganischen Stoffen. Unter den organischen findet sich Eiweiss (beim Pferd besonders reichlich, beim Kaninchen fehlt es), kein Mucin, eine oder mehrere flüchtige Fettsäuren, Harnstoff, diastatisches Ferment (fehlt bei manchen Tieren, z. B. Hund), Schwefelcyansäure. Die anorganischen Salze sind dieselben wie im gemischten Speichel. Parotisspeichel.

Submaxillarisspeichel. Das Secret der Submaxillardrüse, ebenfalls mittelst eingeführter Canüle oder aus einer Fistel erhalten, ist eine schleimig-fadenziehende Flüssigkeit von gegen Lacmus alkalischer Reaction (ebenso beim Hunde). Im normalen Zustand enthält sie wenig Speichelkörperchen, bei Stagnation im Drüsengange wird sie reicher an diesen und trübe. Sie enthält 0,3 – 0,6 pCt. Trockenrückstand, darunter Mucin (ebenso bei Tieren ausser Kaninchen), Eiweiss, diastatisches Ferment (beim Hunde nicht oder sehr wenig), Schwefelcyansäure (fehlt beim Hunde), anorganische Salze. Submaxillarisspeichel.

Sublingualisspeichel. Das Secret der Sublingualdrüse ist noch zäher, schleimiger als der Submaxillarisspeichel, reagiert ebenfalls gegen Lacmus alkalisch. Mucin, diastatisches Ferment und Schwefelcyansäure sind nachgewiesen worden. Wegen seiner geringen Menge und schwierigen Gewinnung ist das Secret bisher wenig untersucht worden. Sublingualisspeichel.

Nachweis der Proteinstoffe im Speichel.

678. Man versetzt den Speichel mit Essigsäure. Ein entstehender Niederschlag, welcher aus Mucin besteht, wird abfiltriert und nach § 619 auf Mucin geprüft. Enthält der Speichel Eiweiss, so trübt sich das Filtrat beim Kochen, sowie auf Zusatz von Ferrocyankalium.

Nachweis der Fermente im Speichel.

679. Eine Reindarstellung des diastatischen Fermentes und der Maltase aus dem Speichel ist noch nicht gelungen. Ueber das Verfahren, das diastatische Ferment einigermassen zu isolieren, siehe § 492.

Ihr Nachweis besteht in dem Nachweis der Spaltungsproducte, welche durch ihre Einwirkung auf Amylum oder Glykogen entstehen. Das diastatische Ferment wandelt diese beiden Stoffe in Dextrine, Maltose und Isomaltose (§ 492), die Maltase wandelt die Maltose in Traubenzucker (§ 494) um.

Ueber die Anstellung eines diastatischen Verdauungsversuchs und die Prüfung auf Dextrine und Zucker siehe § 493. Zum getrennten Nachweis von Maltose, Isomaltose und Traubenzucker dient die Darstellung und Isolierung der Osazone S. 115, S. 116 und S. 108. Um Maltose und Traubenzucker quantitativ zu bestimmen, fällt man die Verdauungsflüssigkeit mit Alkohol, filtriert, verdunstet das Filtrat, extrahiert den Rückstand mit absol. Alkohol, verdunstet die filtrierte Lösung und löst den Rückstand in Wasser. Nachdem das Volumen der Lösung festgestellt ist, bestimmt man das Reductionsvermögen durch Titration (§ 576). Der Rest wird wieder gemessen, nach Zusatz von Salzsäure $^1/_4$ Stunde lang gekocht, nach dem Erkalten mit Sodalösung neutralisiert, auf das ursprüngliche Volumen gebracht und wieder titriert. Da 100 Gewichtsteile Traubenzucker und 66,8 Gewichtsteile Maltose das gleiche Reductionsvermögen haben, so wird das Ende der Titrierung jetzt mit weniger Flüssigkeit erreicht werden als vor dem Kochen mit Salzsäure, und aus der Anzahl der weniger verbrauchten Cubikcentimeter lässt sich berechnen, wie viel Glukose und wie viel Maltose die Lösung enthält. Die Isomaltose ist noch zu unbekannt, als dass auf sie hierbei Rücksicht genommen werden könnte.

Quantitative Bestimmung des durch d. Speichelfermente gebildeten Zuckers.

Nachweis und Bestimmung der Schwefelcyansäure im Speichel.

Nachweis.

680. Der Nachweis geschieht nach § 145 mit der Eisenchloridreaction (Rotfärbung auf Zusatz von etwas Salzsäure und verdünnter Eisenchloridlösung) oder in noch empfindlicherer Weise mit der Reaction von Solera (Blaufärbung eines Filtrierpapierstreifens, der mit einer 0,5 pCt. Stärke und etwas Jodsäure enthaltenden Lösung getränkt und nachher getrocknet worden ist). Für die Reaction von Colasanti (smaragdgrüne Färbung mit Kupfersulfat) ist der Speichel mit Alkohol auszufällen, das alkoholische Filtrat zu verdunsten und der Rückstand in Wasser zu lösen.

Quantitative Bestimmung.

Für die quantitative Bestimmung dient das Verfahren von Rupp (§ 563). Man wägt eine nicht zu kleine Menge Speichel ab, verdunstet bei mässiger Temperatur, zieht den Rückstand mit Alkohol aus, filtriert, verdunstet und fällt die wässerige Lösung des Rückstandes nach dem Ansäuern mit Salpetersäure mit Silbernitrat aus. Der abfiltrierte und ausgewaschene Niederschlag wird weiter nach § 563 behandelt.

Einfacher aber weniger genau lässt sich die Bestimmung auf colorimetrischem Wege ausführen. Man bringt in die eine Kammer der Doppelpipette (§ 655) eine gemessene Menge Speichel und fügt aus Büretten kleine gemessene Mengen von Salzsäure

und von Eisenchlorid, so lange die Rotfärbung zunimmt, hinzu. In die andere Kammer kommen einige (gemessene) Cubikcentimeter einer Lösung, die in 100 ccm eine bekannte Menge von Schwefelcyankalium (etwa 0,05 g) und Eisenchlorid bis zum Maximum der Färbung enthält. Man fügt jetzt so lange gemessene Mengen Wasser hinzu, bis die Farbe der Flüssigkeiten in beiden Kammern gleich ist. Die Rechnung ist einfach.

Nachweis der salpetrigen Säure im Speichel.

681. Zum Nachweis der salpetrigen Säure, welche, wie oben erwähnt, nach Wurster im ganz frischen Speichel in der Regel nicht vorhanden ist, prüft man mit Jodkaliumstärkekleister und verdünnter Schwefelsäure (Blaufärbung), mit Metaphenylendiamin und verdünnter Schwefelsäure (Gelbfärbung) oder einem anderen Reagens auf salpetrige Säure.

Nachweis anderer Stoffe im Speichel.

Ueber den Nachweis und event. über die Bestimmung von Ammoniak siehe § 626, von Harnstoff siehe § 627, von Harnsäure siehe § 629, Leucin siehe § 630, Milchsäure siehe § 74, anorganischen Salzen siehe § 617 u. § 636.

Speichelsteine, Zahnstein.

682. **Speichelsteine** werden oft in den Ausführungsgängen der Speicheldrüsen bei Menschen und Säugetieren gefunden. Sie sind, wenn nicht mehrere nebeneinander liegen und sich gegenseitig abgeschliffen haben, rundlich, meist hart und schwer, von weisslicher oder gelblicher Farbe und bestehen fast immer im wesentlichen aus Calciumcarbonat mit Beimengungen von etwas Calciumphosphat und wechselnder Menge organischer Substanz (Proteinstoffe u. a.).

Qualitative Analyse. Man behandelt einen Teil des zerriebenen Steins mit Salzsäure (Aufbrausen!), filtriert von der organischen Substanz ab und untersucht die Lösung nach § 508. Qualitative Analyse.

Quantitative Analyse. Man wägt eine Portion des zerriebenen Steins ab, behandelt das Pulver mit kochendem Wasser, filtriert durch ein gewogenes, aschefreies Filter, wägt nach dem Trocknen, verascht, fügt zur Asche etwas Ammoncarbonat, trocknet, erhitzt zum beginnenden Glühen und wägt nach dem Erkalten. Man erfährt auf diese Weise die Menge der wasserunlöslichen organischen und anorganischen Substanz, sowie die sehr geringe Quantität der wasserlöslichen Stoffe. In dem Glührückstand des wasserunlöslichen Teils kann die Kohlensäure nach § 525, in seiner salzsauren Lösung der Kalk nach § 510a, in dem Filtrat vom Kalkniederschlag die Phosphorsäure nach Zufügen von Ammoniak durch Fällung mit Magnesiamischung nach § 522 (Ende) bestimmt werden. Quantitative Analyse.

Zahnstein findet sich oft an Zähnen bei Menschen und alten Haustieren abgesetzt und besteht aus denselben Stoffen wie die Speichelsteine,

enthält aber mehr Calciumphosphat und schliesst viele Mikroorganismen ein. Die Untersuchung ist dieselbe wie die der Speichelsteine.

Untersuchung des Nasensecrets.

683. **Bestandteile.** Nach den Ergebnissen der bisherigen, allerdings spärlichen, Untersuchungen enthält das Nasensecret neben Schleimkörperchen und Epithelzellenresten verhältnismässig viel Mucin, 1—3 pCt. Extractivstoffe (darunter etwas Schwefelcyansäure), sehr wenig in Aether lösliche Stoffe und 0,5—0,6 pCt. anorganische Salze. Je mehr seröse Flüssigkeit sich beimengt, um so reicher an Eiweiss und anorganischen Salzen (bis gegen 1 pCt.) wird es, während der Gehalt an Mucin abnimmt. Bei eitriger Beschaffenheit des Secrets nimmt der Gehalt an ätherlöslichen Stoffen zu. — Die Reaction ist gegen Lacmus alkalisch.

Nachweis und Bestimmung der einzelnen Bestandteile des Nasensecrets.

Die Schwefelcyansäure wird nach § 680 nachgewiesen und bestimmt. Im Uebrigen geschieht die Untersuchung wie die einer serösen Flüssigkeit. Ueber die Abscheidung des Mucins vergl. auch § 688.

Nasensteine.

684. In der Nase abgelagerte Concremente, Nasensteine, enthalten hauptsächlich Calciumphosphat, ausserdem Calciumcarbonat und organische Substanz. Ihre Analyse geschieht in der § 682 angegebenen Weise.

Untersuchung der Tränen.

685. Das völlig wasserklare Secret enthält kleine Mengen von Proteinstoffen, Fett und anorganischen Salzen (darunter hauptsächlich Kochsalz) und reagiert gegen Lacmus alkalisch. Im Conjunctivalsecret ist Schwefelcyansäure (§ 680) nachgewiesen.

Es gerinnt beim Kochen und bildet in Wasser getropft einen Niederschlag, der wahrscheinlich aus Globulin besteht (Hoppe-Seyler[1]). Die weitere Untersuchung geschieht wie die einer serösen Flüssigkeit (§ 612 ff.).

Untersuchung der Sputa[2]).

Bei den verschiedenen krankhaften Zuständen der Schleimhaut der Luftwege und der Lunge werden ihrer äusseren Beschaffenheit und ihrer Zusammensetzung nach verschiedene Sputa ausgeworfen.

686. **Bestandteile.** Die rein schleimigen, glasig durchscheinenden oder auch rauchgrauen Sputa der chronischen Bronchitis und des

1) Physiol. Chemie. S. 701.

2) H. Kossel, Z. f. k. M. **13**. 149. (1887.)
Fr. Müller, Z. f. B. **42**. 468. (1901.)
Wanner, D. A. f. k. M. **75**. 347. (1903.)

Asthma bronchiale sind reich an Mucin, enthalten nur Spuren von Eiweiss, aber Nucleoproteide, vielleicht auch Paranucleoproteide, Albumosen (kein Pepton) und andere stickstoffhaltige Substanzen, ferner in Aether lösliche Stoffe (Phosphatide, Cholesterin, Fette), Protagon*), anorganische Salze.

Die gelben oder roten (rostfarbenen) Sputa der croupösen Pneumonie von zäh gallertig schleimiger Beschaffenheit sind reich an Eiweiss und Nucleoproteiden, enthalten Mucin und vielleicht auch Paranucleoproteide, Albumosen (kein Pepton) und andere stickstoffhaltige Substanzen, ferner ätherlösliche Stoffe und anorganische Salze.

Die serös-schleimigen und schleimig-eitrigen Sputa des gewöhnlichen Katarrhs und der Lungentuberculose enthalten Mucin, Eiweiss, phosphorhaltige Proteide, Albumosen (kein Pepton) und andere stickstoffhaltige Substanzen, ätherlösliche Substanzen u. z. diese entsprechend ihrem Gehalt an Eiter in reichlicherer Menge, anorganische Salze.

Die dünnflüssigen, rein serösen Sputa bei Lungenödem enthalten viel Eiweiss.

Die Sputa aus Bronchiectasien, tuberculösen Cavernen usw. enthalten ausser den genannten Stoffen die bacteriellen Zersetzungsproducte von Proteinstoffen, von Phosphatiden und von Fett: Ammoniak, Schwefelwasserstoff, niedere und höhere Fettsäuren usw. Man findet in ihnen die dünnen, breiten, biegsamen Nadeln von Palmitin- und Stearinsäure, Cholesterinkrystalle, Charcot'sche Krystalle (§ 162).

687. **Allgemeine Eigenschaften.** Die Reaction des frisch ausgeworfenen Sputums ist in der Regel gegen Lacmus alkalisch.

Das specifische Gewicht schwankt zwischen 1004 und 1037. Die rein schleimigen Sputa zeigen das niedrigste spec. Gewicht, die serösen das höchste. Zur Bestimmung verflüssigt man das Sputum in einem Kölbchen mit Steigrohr durch langsames Erwärmen auf dem Wasserbade und giesst es nach dem Abkühlen in ein Pyknometer (H. Kossel).

Nachweis und Bestimmung der einzelnen Bestandteile der Sputa.

688. Die Untersuchung geschieht nach den für die serösen Flüssigkeiten (§ 612 ff.) gemachten Angaben.

Um Mucin und andere durch Essigsäure fällbare Substanzen abzuscheiden, ist es zweckmässig, die dickschleimigen Massen in einem Kölbchen mit 3proc. Essigsäure stark zu schütteln und zu filtrieren. Mucin.

Zur quantitativen Bestimmung des Mucins hat Wanner[1]) dessen Eigenschaft, Bestimmung des Mucins.

*) Die sogen. Myelinformen, wie sie im bronchitischen Sputum und im Morgensputum Gesunder bei der mikroskopischen Untersuchung sich zeigen, sind in Alkohol löslich, in Aether unlöslich und bestehen aus sogen. Protagon (§ 259). A. Schmidt u. Fr. Müller, B. k. W. 1898. S. 73 u. S. 75.

1) D. A. f. k. M. **75**. 368. (1903.)

bei 3stünd. Kochen mit 10proc. Salzsäure 33,6 pCt. reducierende Substanz (auf Traubenzucker berechnet) abzuspalten benutzt. Das von stärkehaltigen*) Speiseresten befreite Sputum wird mit dem doppelten Vol. Alkohol geschüttelt, der Niederschlag (Mucin und Eiweiss) abfiltriert, mit Alkohol gewaschen und 3 Stunden mit 10proc. Salzsäure am Rückflusskühler gekocht. Nach dem Abkühlen fällt man die Eiweissstoffe mit Phosphorwolframsäure, filtriert, entfernt die überschüssige Phosphorwolframsäure mit Barytwasser, den überschüssigen Baryt mit Schwefelsäure und stellt das Reductionsvermögen durch Titration mit Fehling'scher Lösung (§ 576, a) fest. Die Mengen reducierender Substanz, welche bei der Hydrolyse aus anderen Proteinen entstehen, sind verhältnismässig gering, so dass man sie ohne wesentlichen Fehler vernachlässigen kann.

Auf niedrige und höhere Fettsäuren prüft man Sputa aus Bronchiectasien usw. nach § 73.

Farbstoffe. 689. Farbstoffe. Der färbende Bestandteil der rostfarbigen Sputa ist zum Teil unveränderter Blutfarbstoff, zum Teil ein unbekanntes, gelbliches Derivat desselben. Die gelben und grünen Färbungen, welche die eitrigen Sputa zeigen und die von beigemengtem gefärbten Eiter herrühren, sind noch nicht untersucht. Dasselbe gilt von dem Farbstoff, der die grauweissen Sputa bei gleichzeitig bestehendem Icterus oder auch ohne solchen gelegentlich grün färbt. Unter Umständen ist die grüne Farbe durch farbstoffbildende Bacterien hervorgerufen. Um zu entscheiden, ob die graue oder schwärzliche Farbe eines Sputums von eingeatmeten Kohlepartikelchen (Lampenruss oder dergl.) oder von einem im Körper entstandenen Farbstoff herrührt, löst man das Sputum in verdünnter Natronlauge und leitet einige Minuten Chlorgas hindurch. Kohle bleibt völlig unverändert, alle organischen Farbstoffe werden entfärbt. Die perlgraue Farbe der Sputa bei chronischer Bronchitis (siehe oben) ist durch pigmentierte Zellen bedingt, deren Farbstoff bei dieser Behandlung schnell gebleicht wird. Etwa vorhandenes Eisenoxyd würde erst beim Uebersättigen und Erwärmen mit Salzsäure entfärbt und gelöst werden.

Cholesterinkrystalle kommen in dem Sputum zuweilen bei Durchbruch von Empyemen in die Lunge vor, ebenso sind Hämatoidinkrystalle (§ 271) in solchen Fällen in dem Sputum beobachtet worden.

Loebisch und v. Rokitansky[1]) erhielten aus einem bronchiectatischen Sputum nach der Methode von Baumann und v. Udránszky (§ 163) Pentamethylendiamin (?) als Benzoylverbindung.

Untersuchung des Magensafts und des Mageninhalts.

Allgemeines über den Magensaft.

690. Der Magensaft, das Secret der Drüsen der Magenschleimhaut, zeichnet sich durch seine intensiv saure Reaction vor den übrigen Secreten aus.

*) Kleinere Stärkemengen, ebenso aus Eiter stammendes Glykogen werden in kurzer Zeit durch das diastatische Ferment in Zucker übergeführt, welcher durch die folgende Behandlung mit Alkohol entfernt wird.

1) C. f. k. M. **II.** 1.

Reiner Magensaft, frei von Nahrungsmitteln und Speichel, lässt sich leicht in grossen Mengen von ösophago- und gastrotomierten Hunden[1]) während der sogenannten Scheinfütterung (Pawlow) gewinnen. Auch von Menschen[2]) ist in einigen Fällen ganz reiner Magensaft erhalten worden. Von etwas Schleim durch Filtration befreit, stellt er eine völlig klare oder ein wenig opalescierende Flüssigkeit von stark saurer Reaction dar, welche die Xanthoprotein-, gelegentlich auch die Biuret- und Millon'sche Reaction gibt. Beim Erwärmen auf 58—60° gerinnt er. Er enthält freie Salzsäure, und zwar beim Menschen 0,4—0,5 pCt., beim Hunde 0,5—0,6 pCt., ferner Pepsin, Labferment und Lipase. Magensaft.

Vom Hundemagensaft, welcher genauer untersucht worden ist, liegen noch weitere Angaben vor:

Er zeigt Linksdrehung, er scheidet beim vorsichtigen Neutralisieren einen flockigen Niederschlag ab, welcher bei erreichter Neutralität sich wieder löst. Er wird durch Alkohol gefällt. Beim Abkühlen auf 0° und ebenso beim Centrifugieren des eine Zeit lang gegen destilliertes Wasser dialysierten Saftes scheidet sich ein Niederschlag ab (s. §481). Er enthält Schwefelcyansäure, die sich zuweilen direct, zuweilen erst nach sehr starker Concentration nachweisen lässt, und Ammoniak. Der Trockenrückstand beträgt 0,3 bis 0,6 pCt., die Asche (Kalium, Natrium, Calcium, Magnesium, Eisen, Salzsäure, Phosphorsäure, Schwefelsäure) 0,1—0,16 pCt. Die organischen Substanzen sind in der Hauptsache Proteine.

Der menschliche Magensaft bildet eigentlich nur als Bestandteil des **Mageninhalts** ein Object für die Untersuchung. Die Methoden, welche diesen Untersuchungen dienen, werden im Folgenden besprochen. Mageninhalt.

Nachweis der Säuren im Mageninhalt.

691. **Vorbemerkungen.** Die Flüssigkeit, welche sich durch eine elastische Sonde, die einige Zeit nach einer Mahlzeit in den Magen eingeführt wird, gewinnen lässt, stellt ein Gemisch von Magensaft und mehr oder weniger veränderten Nährstoffen dar. Dieses Gemisch reagiert gegen Lacmus sauer. An der sauren Reaction können ausser der nie fehlenden Salzsäure saure Phosphate, Milchsäure und flüchtige Fettsäuren beteiligt sein. Die Summe aller bedingt die „Gesamtacidität". Gesamtacidität.

Salzsäure ist als freie oder als gebundene Salzsäure vorhanden. Enthält das Gemisch Eiweissstoffe oder Verdauungsproducte derselben, so

---

1) Schoumow-Simanowsky, A. exp. P. u. Ph. **33**. 336. (1894.)
Nencki u. Sieber, H.-S. **32**. 291. (1901.)
Pekelharing, H.-S. **35**. 8. (1902.)
Rosemann, Pfl. A. **118**. 467. (1907.)

2) Sommerfeld, A. f. A. u. Ph. Ph. A. 1905. Supplb. S. 455, B. Z. **9**. 352. (1908.)
Bickel, D. m. W. 1906. S. 323.

Gebundene Salzsäure. binden diese Salzsäure des Magensaftes („gebundene Salzsäure") und nur, wenn mehr Salzsäure secerniert worden ist, als dem Bindungsvermögen jener Stoffe entspricht, findet sich auch „freie Salzsäure". Die Freie Salzsäure. Gesamtsalzsäure. gebundene und die freie Salzsäure machen die „Gesamtsalzsäure" aus. Unter letzterer versteht man also sämtliche nicht an Metalle gebundene Salzsäure.

In der ersten Zeit nach Aufnahme eiweisshaltiger Speisen findet sich keine freie Salzsäure im Mageninhalt, indem sämtliche secernierte Salzsäure an Eiweiss und seine Verdauungsproducte gebunden ist. Die Secretion des Magensaftes schreitet aber fort und unter gesunden Verhältnissen ist 100 Minuten nach einem „Probefrühstück" (300 ccm Tee und 40 g Weissbrot) oder 3—4 Stunden nach einer „Probemahlzeit" (ein grosser Teller Suppe, ungefähr 200 g Fleisch und 50 g Brot) freie Salzsäure vorhanden. Bei Carcinom, auch bei Magencatarrhen, bei fieberhaften Zuständen ist aber der Nachweis freier Salzsäure auch zu dieser Zeit nicht und ebensowenig später zu führen, weil die Menge der Verdauungsproducte mehr wie hinreichend ist, um die in geringerer Quantität secernierte Salzsäure zu binden[1]). Ein Sistieren der Salzsäureabsonderung findet auch unter den genannten pathologischen Verhältnissen nicht statt[2]).

Milchsäure und flüchtige Fettsäuren treten, wenn sie nicht präformiert mit der Nahrung eingeführt worden sind, nur unter pathologischen Verhältnissen infolge bacterieller Zersetzungen der Nährstoffe auf. Der Mageninhalt von Leichen enthält oft reichliche Mengen dieser Säuren, besonders bei kleinen Kindern.

Für die einzelnen Nachweise benutzt man Proben des filtrierten Mageninhaltes.

692. **Freie Salzsäure.** Zum Nachweise, welcher darauf beruht, dass eine Reihe von Farbstoffen gegenüber verdünnten organischen und an Eiweissstoffe gebundenen Mineralsäuren ein anderes Verhalten zeigt als gegen freie Mineralsäuren, dienen die unter 1—4 aufgeführten Reactionen.

Reoch[3]) wies zuerst darauf hin, dass in einer Mischung von Ferricitrat oder -tartrat und Schwefelcyanammonium die blutrote Färbung durch Bildung von Eisenrhodanid nur bei Gegenwart von Mineralsäuren, nicht bei Gegenwart von organischen Säuren auftritt. Szabó[4]) wandte diese Reaction zur Prüfung des Magensaftes auf Salzsäure an. Von den Velden[5]) empfahl zu dem gleichen Zweck einige Anilinfarbstoffe. Seitdem hat man noch andere, für diese Reaction geeignete Substanzen angegeben und festgestellt, dass die „gebundene Salzsäure" sich diesen Farbstoffen gegenüber wie organische Säure verhält, die Reagentien also zum Nachweis „freier Salzsäure" dienen können.

1. Congopapier nimmt eine intensiv blaue (blauschwarze) Färbung an. (Weniger intensive Blaufärbung kann auch durch Milchsäure hervorgerufen werden.)

2. Methylviolett. Auf Zusatz einiger Cubikcentimeter der Unter-

1) Honigmann u. v. Noorden, Z. f. k. M. **13**. 87. (1887.)
2) Cahn u. v. Mering, D. A. f. k. M. **39**. 233. (1886.)
3) Journ. of anat. and physiol. 1874. p. 274.
4) H.-S. **I**. 152. (1878.)
5) D. A. f. k. M. **23**. 31. (1879.) **27**. 389. (1880.)

suchungsflüssigkeit zu einer stark verdünnten, wässerigen, hellvioletten Lösung tritt Blaufärbung ein.

3. Tropäolin 00. Man erhält violette bis lilarote Spiegel, wenn man 4—5 Tropfen einer gesättigten alkoholischen Lösung von Tropäolin 00 auf einer Porzellanschale verteilt, ebenso viel Tropfen der zu untersuchenden Flüssigkeit hinzufügt, nach einigen Augenblicken die Mischung durch Schütteln sich auf der Schale ausbreiten lässt und nun vorsichtig durch Hin- und Herbewegen über kleiner Flamme erwärmt (Boas).

4. Phloroglucin-Vanillin. Man benutzt eine Lösung, welche in 30 Tl. Alkohol 2 Tl. Phloroglucin und 1 Tl. Vanillin enthält, und verfährt ebenso wie bei 3: Rotfärbung.

Diese letztere Reaction ist die empfindlichste, sie zeigt noch 0,1 pM. freie Salzsäure an. Sie fällt im Gegensatz zu den übrigen auch bei concentrierter Milchsäure negativ aus.

693. **Milchsäure.** Man schüttelt 5 ccm der Flüssigkeit in einem kleinen Scheidetrichter mit der mehrfachen Menge (etwa 30 ccm) reinem, alkoholfreiem Aether ordentlich durch, verdunstet den abgegossenen Aether, nimmt den Rückstand in wenig Wasser auf und versetzt die wässerige Lösung mit dem blauvioletten Uffelmann'schen Reagens[1]) (30 ccm einer 1proc. Carbollösung + einige Tropfen Eisenchloridlösung): zeisiggelbe Färbung.

Da Alkohol, Zucker, Phosphate diese Reaction auch geben, ist die Isolierung der Milchsäure in der angegebenen Weise erforderlich.

Andere Proben sind von Cröner u. Cronheim[2]) (Modification eines Verfahrens von Vournasos[3]) und von Thomas[4]) angegeben worden.

694. **Flüchtige Fettsäuren.** Dieselben geben sich meist schon durch den Geruch zu erkennen. Ist das nicht der Fall, so erhitzt man die Flüssigkeit zum Kochen und prüft die Dämpfe mittelst eines feuchten blauen Lacmuspapiers auf saure Reaction oder man destilliert und prüft das Destillat.

695. **Saure Phosphate.** Man fügt nach Leo[5]) in einem Uhrglase zu einigen Cubikcentimetern der Flüssigkeit etwas gepulvertes reines Calciumcarbonat, verrührt mit einem Glasstabe und prüft mit Lacmuspapier. Saure Reaction zeigt die Anwesenheit saurer Phosphate an.

Bestimmung der Säuren im Mageninhalt.

696. **Gesamtacidität.** Man titriert 10 ccm filtrierte Flüssigkeit mit $^n/_{10}$ Natronlauge unter Benutzung von Phenolphtalein als Indicator.

---

1) D. A. f. k. M. **26**. 441. (1880.)
2) B. k. W. 1905. S. 1080.
3) Z. f. angew. Ch. **15**. 172. (1902.)
4) H.-S. **50**. 540. (1906/07.)
5) C. f. med. W. 1889. S. 481.

Unter normalen Verhältnissen braucht man für 10 ccm Mageninhalt, der 60 Minut. nach Einnahme eines Probefrühstücks (§ 691) entnommen ist, 3—6 ccm $^n/_{10}$ Natronlauge.

Gesamtsäure nach Leo.

697. **Gesamtsäure** nach Leo[1]).

Princip. Die Methode beruht darauf, dass alle Säuren (incl. der gebundenen Salzsäure) durch Calciumcarbonat neutralisiert werden, während die Acidität etwa vorhandener saurer Phosphate und anderer alkalibindender Substanzen durch dieses Salz nicht verändert wird und besteht darin, dass man einen Teil der Flüssigkeit direct, einen anderen nach Behandlung mit Calciumcarbonat titriert.

Ausführung. Man versetzt 10 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit mit 5 ccm conc. Chlorcalciumlösung*) und titriert unter Benutzung von Phenolphtalein mit $^n/_{10}$ Natronlauge. Weitere 15 ccm verreibt man mit 1 g trockenem pulverisiertem Calciumcarbonat und filtriert durch ein aschefreies Filter. Von dem Filtrat werden 10 ccm durch Einleiten von Luft von Kohlensäure befreit und nach Zusatz von 5 ccm conc. Chlorcalciumlösung*) und Phenolphtalein titriert.

Berechnung. Die Differenz beider Resultate gibt die der Gesamtsäure entsprechende Acidität an.

Enthält die Flüssigkeit keine Milchsäure und flüchtige Fettsäuren oder sind diese durch Ausschütteln mit Aether vorher entfernt, so ist das Resultat auf Gesamtsalzsäure zu beziehen.

Gesamtsalzsäure nach Sjöqvist.

698. **Gesamtsalzsäure.** a) nach Sjöqvist[2]).

Princip. Die Methode beruht darauf, dass beim Eintrocknen einer Flüssigkeit, welche organische Säuren und Salzsäure enthält, mit Bariumcarbonat und Verkohlen des Rückstandes die organischen Säuren unlösliches Bariumcarbonat, die Salzsäure lösliches Bariumchlorid liefern. Um die Menge des gelösten Bariums zu erfahren, wird das Bariumchlorid in Bariumchromat umgewandelt, dieses mit Salzsäure und Jodkalium zusammengebracht und das nach der Gleichung $2\,BaCrO_4 + 16\,HCl + 6\,KJ = 2\,BaCl_2 + Cr_2Cl_6 + 8\,H_2O + 6\,KCl + 3\,J_2$ frei gemachte Jod durch Thiosulfatlösung titriert.

Erforderliche Lösungen. 1. Ammonacetatlösung, hergestellt durch Neutralisation von 25proc. Essigsäure mit 10proc. Ammoniak.

2. 25proc. Essigsäure. 3. 25proc. Salzsäure.

4. Etwa 6proc. Lösung von neutralem, schwefelsäurefreiem Ammonchromat.

5. Jodkaliumlösung (50 g in 100 ccm Wasser) in dunkler Flasche aufzubewahren.

6. Jodzinkstärke. 7. Natriumthiosulfatlösung, von der 1 ccm etwa 3 mg HCl entspricht (siehe folgenden Absatz).

---

*) Dieser Zusatz ist mit Rücksicht auf etwaige Anwesenheit saurer Phosphate nötig. Siehe bei Leo.

1) Diagnostik der Krankh. d. Verdauungsorg. 1890. S. 115.

2) H.-S. **13**. 1. (1889.), und Skand. A. Ph. **5**. 305. (1895.) oder Z. f. k. M. **32**. 451. (1897.)

Titerstellung der Natriumthiosulfatlösung. Es werden zwei Lösungen bereitet, von denen die eine im Liter 31 g umkrystallisiertes Natriumthiosulfat, die andere im Liter etwa 10 g (genau abgewogen) umkrystallisiertes und bis zum Schmelzen erhitztes, dann im Exsiccator abgekühltes Kaliumbichromat enthält. Von letzterer Lösung misst man genau 16 ccm ab, fügt 40 ccm Wasser, 2 ccm Jodkaliumlösung und 5 ccm Salzsäure hinzu und titriert vorsichtig und unter lebhaftem Umrühren mit der Thiosulfatlösung, bis die rote Jodfarbe abblasst. Jetzt fügt man 2 ccm Jodzinkstärke hinzu und darauf wieder Thiosulfatlösung, bis die intensiv blaue Farbe in die blassgrüne des Chromchlorids umschlägt. Waren z. B. 10,10 g Kaliumbichromat abgewogen und 16 ccm Thiosulfatlösung verbraucht, so entspricht, da 1 Mol. $K_2Cr_2O_7$ (294,5) 4 Mol. HCl (145,83) erfordern, 1 ccm Thiosulfatlösung $\frac{0{,}101 \cdot 145{,}8}{294{,}5 \cdot 16} = 3{,}125$ mg HCl. Der Titer muss bisweilen controlliert werden.

Ausführung. 10 ccm der Flüssigkeit werden in einer Platinschale mit etwa 0,5 g chlorfreiem Bariumcarbonat versetzt, fein zerrieben, auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft, bei aufgelegtem Deckel und gelinder Temperatur (kaum Rotglühhitze) bis zum Grauwerden der Asche verbrannt und nach dem Erkalten wiederholt mit kleinen Mengen heissen Wassers extrahiert bis zum Ausbleiben der Chlorreaction. Die Filtrate (etwa 50 ccm) werden mit 4 ccm Ammonacetatlösung und 1 ccm Essigsäure versetzt, eben aufgekocht und mit 15 ccm Ammonchromatlösung gefällt. Nach 2 Stunden befreit man den Niederschlag durch Decantation, Filtration und Waschen mit Wasser von Ammonchromat, bringt ihn dann mit dem Filter in das Becherglas, in dem die Fällung vorgenommen wurde, zurück, fügt 10 ccm Wasser und einige Tropfen Salzsäure hinzu und bewirkt durch Zerreiben des Filters mit dem Glasstab völlige Lösung des Niederschlags. Nun fügt man 30 ccm Wasser, 2 ccm Jodkaliumlösung und 5 ccm Salzsäure hinzu und titriert wie oben bei der Titerstellung beschrieben.

Statt dessen kann man auch in der vom Bariumcarbonat abfiltrierten Flüssigkeit das Barium mit Schwefelsäure ausfällen und das Bariumsulfat bestimmen. Die Menge des gefundenen Bariumsulfats multipliciert mit 0,3123 gibt die Menge der Salzsäure.

Gesamtsalzsäure nach Lüttke.

699. b) nach Lüttke[1]).

Princip. Man bestimmt in einer Probe die gesamte Chlormenge, in einer anderen die Chlormenge, welche nach dem Verbrennen der organischen Substanz zurückbleibt. Die Differenz beider Werte auf Salzsäure umgerechnet gibt die Gesamtsalzsäure.

Erforderliche Lösungen. Die bei der Volhard'schen Chlortitrierung (§544,2) aufgeführten.

1) D. m. W. 1891. S. 1325. Martius u. Lüttke, Die Magensäure des Menschen. Stuttgart. Enke. 1892. S. 101.

Ausführung. In 10 ccm der Flüssigkeit wird eine Chlorbestimmung nach Volhard (§ 544, 2) ausgeführt. In den seltenen Fällen, in denen die Flüssigkeit stark gefärbt ist, fügt man nach dem Silberzusatz 5—10 Tropfen Permanganatlösung hinzu.

Weitere 10 ccm werden in einer Platinschale zur Trockne verdampft. Den Rückstand verbrennt man über freier Flamme, aber vorsichtig und nur so lange, bis die Kohle nicht mehr mit leuchtender Flamme brennt. Die Kohle wird angefeuchtet, zerrieben und mit 100 ccm warmem Wasser extrahiert. In dem Filtrat bestimmt man wieder den Chlorgehalt nach Volhard.

Berechnung. Die Differenz der in beiden Bestimmungen erhaltenen Chlormengen multipliciert mit 1,0284 ergibt die Menge der Gesamtsalzsäure.

Diese Methode gibt etwas höhere Werte als die vorige.

700. **Freie Salzsäure.** Man titriert 10 ccm filtrierte Flüssigkeit unter Benutzung von Congorot als Indicator mit $^n/_{10}$ Natronlauge bis zur deutlich ziegelroten Farbe.

Nachweis der Fermente im Mageninhalt.

701. **Pepsin.** Um zu untersuchen, ob eine Flüssigkeit, die aus dem Magen stammt, Eiweiss zu verdauen vermag, prüft man am besten ihr Verhalten zu ausgewaschenem Fibrin. Man übergiesst eine kleine Fibrinflocke in einem Reagensglase mit einer kleinen Menge der filtrierten Flüssigkeit und bringt das Glas in den Brutschrank (37—40°). Unter normalen Verhältnissen ist die Fibrinflocke spätestens in einer halben Stunde so gut wie völlig gelöst. Da das Fibrin in Säure nicht ganz unlöslich ist, so muss stets ein Controllversuch mit Säure allein (8 Tl. conc. Salzsäure auf 1000 Tl. Wasser) angestellt werden. Ist die Lösung ungenügend und tritt sie auch in den nächsten Stunden nicht ein, so darf man daraus noch nicht auf Abwesenheit oder Verminderung des Pepsins schliessen. Der Grund kann vielmehr allein in mangelnder freier Salzsäure liegen. Um das zu entscheiden, setzt man der zu prüfenden Flüssigkeit vor Anstellung des Verdauungsversuchs auf 20 ccm etwa 1 ccm einer 2,5 proc. Salzsäure hinzu.

Statt des Fibrins kann man auch in feinste Scheibchen geschnittenes gekochtes Hühnereiweiss benutzen. Dasselbe wird schwerer als Fibrin gelöst. Unter normalen Verhältnissen ist nach halbstündigem Aufenthalt im Brutschrank eine Abrundung der Kanten und eine deutliche Verkleinerung des Scheibchens nachweisbar.

Ein Fehlen des Pepsins ist selten, es wird beobachtet bei Atrophie der Magenschleimhaut, auch bei Carcinom.

Quantitative Schätzung d. verdauenden Kraft.

Die beschriebene Methode lässt natürlich auch eine quantitative Schätzung der verdauenden Kraft zu, indem diese ihren Ausdruck in der Geschwindigkeit der Lösung des Fibrins findet.

Grützner empfiehlt für diese Versuche die Benutzung von Fibrin, das mit einer conc. neutralen Carminlösung getränkt und dann völlig mit

Wasser ausgewaschen ist. Bei seiner Verdauung nimmt die Flüssigkeit eine mit der Lösung zunehmende Rotfärbung an.

Grünhagen[1]) hat für diese Zwecke folgende vergleichende Methode angegeben: Man lässt ausgewaschenes Fibrin in 0,2 proc. Salzsäure zur steifen Gallerte quellen, presst gut ab und bringt gleiche Mengen auf Filter, die sich auf Trichtern über kleinen Masscylindern befinden. Man giesst die zu prüfenden Lösungen darauf und stellt die Cylinder in den Brutschrank. Die in der Zeiteinheit ablaufende Tropfenzahl kann als Mass für die Intensität der Pepsinwirkung dienen.

Ueber genauere Methoden zur Bestimmung der relativen eiweissverdauenden Kraft siehe § 482. Im Anschluss an die dortige Besprechung sei noch das Verfahren von Fuld u. Levison[2]) erwähnt, dessen Princip darauf beruht, dass saure Lösungen von Edestin durch Kochsalz gefällt, die Lösungen seiner peptischen Verdauungsproducte durch Kochsalz nicht gefällt werden und dessen Ausführung darin besteht, dass man das Minimum der pepsinhaltigen Flüssigkeit ermittelt, welches bei halbstündiger Einwirkung genügt, eine bestimmte Menge Edestinlösung so zu verändern, dass sie durch Kochsalz nicht gefällt wird.

Das Verfahren zur Isolierung der peptischen Verdauungsproducte ist § 484 angegeben.

702. **Labferment.** Man versetzt 10 ccm frischer Milch mit 1—2 ccm des filtrierten und genau neutralisierten Mageninhaltes. Bei Gegenwart von Lab soll die Milch bei Körpertemperatur in 10—20 Min. ohne Aenderung der Reaction gerinnen (§§ 490 u. 491).

Das Labferment scheint unter pathologischen Verhältnissen häufiger als das Pepsin zu fehlen, z. B. bei Carcinom.

703. **Lipase.** Man bringt filtrierten und neutralisierten Mageninhalt mit einer natürlichen Emulsion (Eigelb, Rahm, Milch) zusammen und untersucht nach 5—15 Min. in der § 496 angegebenen Weise auf abgespaltene Fettsäuren.

Nachweis fremder Beimengungen im Mageninhalt.

704. **Galle** findet sich häufig im Erbrochenen nach Eingabe von Vomitiven, bei Puerperalfieber, bei der Urämie usw. Der Nachweis der Gallensäuren geschieht nach S. 323, 3, der Nachweis der Gallenfarbstoffe nach S. 372, 1.

705. **Blut** ist gleichfalls oft in erbrochenen Massen vorhanden, aber in unzersetztem Zustande nur bei ganz aufgehobener Verdauung oder sehr reichlichen Magenblutungen. Meist ist es durch die Einwirkung der freien Säure des Magensaftes in eine kaffeesatzartige Masse verwandelt, welche Hämatin enthält. Zum Nachweis löst man die Masse in etwas Soda

---

1) Pfl. A. **5**. 203. (1872.) 2) B. Z. **6**. 473. (1907.)

oder Natronlauge, filtriert, fügt Schwefelammonium hinzu und prüft mit dem Spectroscop auf Hämochromogen (§ 263). Enthalten die erbrochenen Massen andere aus den Speisen stammende Farbstoffe oder Galle in reichlicherer Menge, so entfernt man diese störenden Substanzen zunächst, indem man die Flüssigkeit mit etwas verdünnter Salpetersäure erwärmt und filtriert. Der Niederschlag wird in sehr verdünnter Natronlauge gelöst, die Lösung mit Schwefelammonium versetzt und geprüft.

706. **Eiweiss** in grösseren Mengen kommt sehr häufig in ausgebrochenen Massen bei Magenkatarrh, Cholera usw. vor, ohne dass es mit der Nahrung eingeführt war. Es kann durch die Kochprobe (§ 293, 2), durch Salpetersäure (§ 293, 3) oder eine der anderen Reactionen nachgewiesen werden.

Nachweis und Bestimmung von Harnstoff, Ammoniak, Zucker im Mageninhalt oder im Erbrochenen geschehen nach § 627, § 626, § 631.

Untersuchung des Pancreassaftes.

707. Der normale Pancreassaft des Hundes (aus einer Fistel gewonnen) stellt eine klare, dickliche, alkalische Flüssigkeit mit wechselndem Trockenrückstand dar. Der (höchst wahrscheinlich) normale, von Glaessner[1]) untersuchte menschliche Pancreassaft war ebenfalls wasserklar, leicht schäumend und stark alkalisch (gegen Lacmus und gegen Phenolphthalein).

Bestandteile. Die festen Bestandteile sind zum grössten Teil Proteinstoffe (Albumin, Globulin, Albumosen, Peptone, bei der Hydrolyse Purinbasen liefernde Substanzen in geringer Menge[2]). Der Eiweissgehalt kann so reichlich sein, dass beim Kochen nach Ansäuern mit Essigsäure völlige Gerinnung erfolgt. Ausserdem sind Fette, Seifen, Cholesterin, und ein wenig Leucin nachgewiesen worden, ferner mehrere Enzyme: Trypsinogen, Labferment, diastatisches Ferment, Maltase (in dem von Glaessner untersuchten menschlichen Pancreassaft fehlten Labferment und Maltase), Lipase und ungefähr 0,9 pCt. anorganische Salze (hauptsächlich Kochsalz und Alkalicarbonat, ferner Phosphorsäure, Calcium, Magnesium und Eisen).

Die Analyse des oben erwähnten menschlichen Pancreassaftes ergab 1,25—1,27 pCt. Trockensubstanz, darunter 0,13—0,17 pCt. coagulables Eiweiss, 0,4—0,5 pCt. in Alkohol lösliche organische Stoffe und 0,57 bis 0,7 pCt. anorganische Salze.

Nachweis der Fermente im Pancreassaft.

708. Trypsinogen. Man bringt in einem Reagensglase zu dem Saft einige Tropfen Darmsaft oder durch Auspressen vom Dünndarm erhaltenen

---

1) H.-S. **40.** 465. (1903/04.)
2) Schittenhelm, D. A. f. k. M. **81.** 450. (1904.)

Saft (dessen Kinase aus dem Trypsinogen wirksames Trypsin macht), eine Fibrinflocke und etwas Toluol und beobachtet, ob bei Bruttemperatur alsbald Lösung erfolgt. Ueber das Trypsin und die Isolierung der Verdauungsproducte aus einer tryptischen Verdauungsflüssigkeit siehe § 485 bis § 487.

Labferment. Vergl. § 490, § 491 und § 702.

Diastatisches Ferment und Maltase. Vergl. § 492 bis § 494 und § 679.

Lipase. Vergl. § 495 und § 496.

Nachweis und Bestimmung der übrigen Stoffe im Pancreassaft.

709. Man verfährt nach den Vorschriften des Abschnittes, welcher von der „Untersuchung der serösen Flüssigkeiten" handelt (§ 612 ff.).

Pancreassteine.

710. Concremente finden sich in seltenen Fällen im Ductus Wirsungianus. Sie bestehen in der Regel aus Calciumcarbonat, Calciumphosphat und organischer stickstoffhaltiger Materie, aber in sehr wechselnden Verhältnissen. Die Untersuchung geschieht in derselben Weise wie die der Speichelsteine (§ 682). Es kommen aber auch Steine vor, welche viel Cholesterin, Fett, Fettsäuren und Seifen enthalten. Literatur über Pancreassteine bei Scheunert u. Bergholz[1]).

Untersuchung des Darmsaftes.

711. Der Darmsaft, im Wesentlichen das Secret der Lieberkühnschen Drüsen, ist gelegentlich von Menschen mit Darmfisteln erhalten worden, siehe z. B. Demant[2]), Hekma[3]). Man gewinnt ihn in einfacher Weise von Tieren, denen eine Thiry-Vella'sche Fistel angelegt ist. Er stellt eine dünn- oder mehr dickflüssige, gegen Lacmus alkalisch reagierende Flüssigkeit dar und ist mit mehr oder weniger gallertigen Klumpen oder Flocken durchsetzt.

Bestandteile. Es sind in ihm nachgewiesen Eiweiss, Mucin, Erepsin[4]) (§ 488), diastatisches Ferment in geringer Menge, Invertin, Maltase, Lactase, Lipase, Enterokinase, anorganische Salze, darunter Kochsalz und so viel Natriumcarbonat, dass der Saft beim Uebergiessen mit Salzsäure aufbraust.

Die Untersuchung geschieht wie die des Pancreassaftes (§ 708 und § 709).

Um auf Erepsin zu prüfen, versetzt man den Darmsaft mit einer

1) H.-S. **52**. 338. (1907.) 2) Virch. A. **75**. 419. (1879.)
3) Ref. Maly's Jbr. 1902. S. 468.
4) Salaskin, H.-S. **35**. 419. (1902.)
Kutscher u. Seemann, H.-S. **35**. 442. (1902.)
Hekma, a. a. O.

Lösung von Deuteroalbumose und etwas Chloroform und prüft nach 24stündigem oder mehrtägigem Aufenthalt im Brutschrank auf Leucin und Tyrosin in der § 487 angegebenen Weise.

Untersuchung der Galle.

712. Die Galle stellt im normalen Zustande bei Menschen und Tieren eine schleimige, völlig klare, braune, gelbbraune, grüne oder bläulich-grüne, bitter schmeckende und eigentümlich aromatisch riechende Flüssigkeit von neutraler oder (gegen Lacmus) schwach alkalischer Reaction dar. Man unterscheidet die Lebergalle, das unmittelbare Secret der Leber und die Blasengalle, welche in der Gallenblase durch Resorption von Wasser und Beimengung von Schleim eine Concentration erfahren hat. Die frische menschliche Lebergalle scheint stets rotgelb oder gelbbraun gefärbt zu sein.

713. **Bestandteile.** Die menschliche Lebergalle enthält ungefähr 2—3 pCt. feste Stoffe, darunter 0,7—0,8 pCt. anorganische Salze, die Blasengalle ungefähr 10—17 pCt. feste Stoffe, darunter ebenfalls gegen 1 pCt. anorganische Salze. Die Galle ist frei von Eiweiss (keine Gerinnung beim Kochen) und normaler Weise nach Schittenhelm[1]) auch frei von Nucleoproteiden. Sie enthält neben wenig Gallenschleim, welcher aus Paranucleoproteid und Mucin besteht (in der Rindergalle überwiegt das Paranucleoproteid) in der Hauptsache eigentümliche, fast immer grösstenteils an Natron gebundene Säuren (gepaarte Gallensäuren § 241 ff.), die sich ausser in Galle und Darminhalt im normalen Zustande im ganzen Körper nicht finden.

Gallensäuren.

In der menschlichen Galle überwiegt die Glykocholsäure (+ Glykocholeinsäure) über die Taurocholsäure (2—14 : 1), letztere kann auch ganz fehlen (Hammarsten[2]).

In der Rindergalle findet sich Glykocholsäure (+ Glykocholeinsäure) und Taurocholsäure (+ Taurocholeinsäure) in wechselndem Verhältnis, zuweilen enthält sie fast ausschliesslich Glykocholsäure.

Die Gallen vom Kaninchen, Hasen, Känguruh, Nilpferd, Orang-Utang enthalten überwiegend, die des Schweines fast ausschliesslich Glykocholsäure (Hammarsten[3]).

In der Galle von Fleischfressern, Vögeln, Schlangen und Fischen, Schafen und Ziegen überwiegt die Taurocholsäure*) (Hammarsten[3]).

*) Indessen bedürfen diese Resultate, welche durch Berechnung der Taurocholsäure aus dem Schwefelgehalt gewonnen worden sind, der Bestätigung, da in verschiedenen Gallen Aetherschwefelsäure und andere schwefelhaltige organische Substanzen aufgefunden worden sind (Hammarsten[3]).

1) D. A. f. k. M. **81**. 449. (1904.)

2) Zur Kenntnis der Lebergalle des Menschen. Mitgeteilt d. Kgl. Ges. d. Wiss. zu Upsala am 15. Juni 1893. Oerum, Skand. A. Ph. **16**. 273. (1904.)

3) Ergebnisse der Physiologie. **4**. 7. (1905.)

In der Haifischgalle findet sich gepaarte Schwefelsäure (Scymnol-schwefelsäure § 248), keine Taurocholsäure. Eine ähnliche gepaarte Schwefelsäure findet sich in der Galle einer Roche (Raja batis), während sie bei andern bisher untersuchten Fischen (Makrele, Dorsch, Seewolf) nicht vorkommt (Hammarsten[1 u. 2]). Gepaarte Schwefelsäure.

In der menschlichen Galle (nicht regelmässig und vielleicht im Zusammenhang mit der Darmfäulnis) und in der Nilpferdgalle sind gepaarte Schwefelsäuren anderer Art (vielleicht dieselben wie im Harn) gefunden worden (Hammarsten[1 u. 3]). Die Hundegalle enthält keine gepaarte Schwefelsäure (v. Bergmann[4]).

Weitere Bestandteile der Galle sind Cholesterin, gepaarte Glukuronsäuren, geringe Mengen von Fett und Seifen, in sehr geringer Menge Harnstoff (reichlich in der Haifischgalle). Cholesterin und andere Stoffe.

Ferner finden sich Lecithin und andere Phosphatide. Die Menge der in Alkohol löslichen phosphorhaltigen Verbindungen schwankt bei verschiedenen Tieren sehr; am reichlichsten finden sie sich in der Eisbärengalle (etwa 1 pCt. P) und Hundegalle (0,7 pCt.P), in der menschlichen Lebergalle ist 0,1—0,6 pCt. P gefunden (Hammarsten[5]). Phosphatide.

Eine schwefel- und phosphorhaltige jecorin- oder protagonartige Substanz*) wurde von Hammarsten[6]) zuerst in der Eisbärengalle nachgewiesen, findet sich aber auch in der Galle vom Menschen[7 u. 8]), Moschusochsen[9]), Walross[7]).

Von Fermenten sind diastatische und proteolytische nachgewiesen. Fermente.

Was die Gallenfarbstoffe betrifft, so ist beim Menschen, ebenso bei den meisten Fleischfressern, wie es scheint, das Bilirubin der hauptsächlich färbende Bestandteil; in manchen Gallen, sehr häufig auch in der menschlichen, findet sich auch Urobilin und Urobilinogen. Im Hungerzustand zeigt sich stets grüne Färbung der Galle durch Biliverdin. Gallenfarbstoffe.

Von anorganischen Stoffen enthält die Galle stets Salzsäure, Phosphorsäure, auch wohl Schwefelsäure, gebunden an Natrium, Kalium, Calcium, Magnesium, Eisen, oft auch Spuren von Kupfer; in grösster Menge finden sich Salzsäure und Natrium. Anorganische Stoffe.

---

*) Eine nähere Beschreibung dieser noch nicht ganz rein erhaltenen Substanz siehe Hammarsten, H.-S. **32**. 447. (1901.) u. Ergebn. der Physiol. **4**. 13. (1905.)

1) Ergebnisse d. Physiol. **4**. 7. (1905.)

2) H.-S. **24**. 322. (1898.)

3) Zur Kenntnis der Lebergalle des Menschen. Mitgeteilt d. Kgl. Ges. d. Wiss. zu Upsala am 15. Juni 1893.
Oerum, Skand. A. Ph. **16**. 273. (1904.)

4) B. Ph. P. **4**. 196. (1904.)

5) Ergebn. d. Physiol. **4**. 15. (1905.)

6) H.-S. **32**. 435. (1901.)

7) Hammarsten, Ergebnisse d. Physiol. **4**. 13. (1905.)

8) Oerum, Skand. A. Ph. **16**. 273. (1904.)

9) Hammarsten, H.-S. **43**. 109. (1904/05.)

Pathologische Bestandteile.

Pathologische Bestandteile. Eiweiss, veränderter Blutfarbstoff, Zucker kommen öfters vor, auch Aminosäuren (Leucin und Tyrosin) sind nachgewiesen worden. Durch Entzündung der Gallenblase und behinderten Abfluss kann eine Ansammlung von Flüssigkeit in der Gallenblase zustande kommen, die gar keine Galle mehr enthält. Ueber Concremente in der Gallenblase siehe § 729ff.

714. **Verhalten verschiedenen Einwirkungen gegenüber.** Verdampft man Galle auf dem Wasserbade zur Trockne, so hinterbleibt ein harziger, spröder, beim Erwärmen erweichender, sehr hygroskopischer Rückstand, der bei der trockenen Destillation in reichlicher Menge ein stark aromatisch riechendes Oel liefert.

Verhalten zu:

Alkohol.

Die Galle ist mit Wasser in jedem Verhältnis mischbar, gibt dagegen mit Alkohol einen reichlichen, flockigen, beim Trocknen sehr schwindenden Niederschlag von Gallenschleim mit etwas Farbstoff und Spuren von diastatischem Ferment; derselbe löst sich in Wasser nur schwer und unvollständig wieder auf.

Ammonsulfat.

Natriumchlorid.

Durch Ammonsulfat werden nach Méhu[1]) Gallensäuren, Gallenfarbstoff und Schleim quantitativ ausgefällt. Durch Kochsalz bis zur Sättigung eingetragen wird Rindergalle und Hundegalle nicht, Dorschgalle reichlich gefällt (Tengström[2]). Da Lösungen von glykochol- und taurocholsauren Salzen durch Sättigung mit Kochsalz gefällt werden, so muss in manchen Gallen eine Substanz (oder Substanzen) vorhanden sein, welche diese Fällung verhindert. Ein solcher Stoff, welcher in bestimmter relativer Menge diese Wirkung ausübt, ist ölsaures Natrium (Tengström). Mit

Natriumsulfat.

krystallisiertem Natriumsulfat in hinreichender Quantität versetzt gibt die Schweinegalle einen flockigen Niederschlag von hyoglykocholsaurem Alkali, der Niederschlag ist in Wasser wieder leicht löslich; andere Gallensäuren geben diesen Niederschlag nicht, so dass man Schweinegalle auf diese Weise von anderer Galle unterscheiden kann.

Alkalien.

Säuren.

Alkalien verändern die Farbe der Galle, bewirken aber keine Niederschläge, während diese durch Säuren reichlich entstehen. Fügt man wenig Essigsäure zur Galle, so wird zunächst nur der Schleim gefällt, ebenso beim Zusatz von einigen Tropfen sehr verdünnter Mineralsäure; durch Zusatz von grossen Säuremengen entstehen Niederschläge von Glykocholsäure zunächst in Flocken, die bald zur harzigen Masse zusammenbacken, sich aber in conc. Schwefelsäure mit bräunlicher Farbe und allmählich auftretender starker grünlicher Fluorescenz wieder lösen (Fluorescenzreaction auf Gallensäure S. 323, 2).

andern Salzen.

Chlorbarium bringt in der frischen Galle keinen Niederschlag hervor, dagegen geben Bleizuckerlösung und Bleiessig und überhaupt viele

1) J. de Ph. Ch. Août 1878.
2) H.-S. **41**. 217. (1904.)

Salze schwerer Metalle unlösliche Niederschläge, die aus Verbindungen der Gallensäuren mit diesen Metallen bestehen. Durch diese Fällungen kann man Glykochol- und Taurocholsäure bis zu einem gewissen Grade von einander trennen.

Fällt man Rindergalle nach Entfernung des Schleimes durch Alkohol und Entfärbung durch Tierkohle nach einander mit Bleizucker, Bleiessig und Bleiessig + Ammoniak, so enthält die erste Fällung etwa 34, die zweite etwa 66 und die dritte etwa 73 pCt. der Gallensäuren als Taurocholat. Fällt man mit Eisenchlorid, so findet sich im Niederschlag etwa 49, im Filtrat etwa 84 pCt. der Gallensäuren als Taurocholat (Tengström[1]).

Beim Stehen an der Luft unterliegt Galle leicht der Fäulnis unter Zunahme der alkalischen Reaction und Abspaltung der in frischer Galle nicht vorhandenen Cholsäure aus Taurocholsäure. Diese grosse Fäulnisfähigkeit hängt mit der Anwesenheit des Gallenschleimes zusammen, denn sobald dieser durch Alkohol ausgefällt ist, zeigt die Flüssigkeit, auch nach Verdunsten des Alkohols, keine Neigung zur Zersetzung mehr. Auch die Farbstoffe erfahren bei der Fäulnis der Galle Veränderungen, doch bleiben sie auch in fauler Galle noch lange Zeit durch die Gmelin'sche Reaction (S. 372, 1) nachweisbar. Fäulnis.

Nachweis normaler Bestandteile der Galle.

715. **Anorganische Bestandteile.** Da die Galle schwefel- und phosphorhaltige organische Substanzen (Taurocholsäure, Phosphatide, Gallenschleim) enthält, so ist eine directe Veraschung aus den § 617 angeführten Gründen unstatthaft, vielmehr in folgender Weise zu verfahren. Man verdunstet die Galle bei niedriger Temperatur zur Trockne, zieht den Rückstand mit absolutem Alkohol aus und erhält so einen in Alkohol unlöslichen Rückstand und einen alkoholischen Auszug.

Der Rückstand, welcher den Schleimstoff der Galle, die Phosphate und Sulfate, sowie auch einen Teil der Chloride enthält, wird mit verd. Essigsäure behandelt. Die essigsaure Lösung wird verdunstet, der Rückstand nach § 502 verascht und der wässerige und salzsaure Auszug nach § 507 und § 508 untersucht. Der in verdünnter Essigsäure unlösliche Teil, welcher den Schleimstoff und an Phosphorsäure gebundenes Eisen enthält, wird ebenfalls nach § 502 verascht und die Asche auf Eisen untersucht.

Der alkoholische Auszug, welcher die gallensauren Natronsalze, Phosphatide sowie kleine Mengen von Chloralkalien enthalten kann, wird bei niedriger Temperatur eingedampft und nach Entfernung der Phosphatide durch Aether nach § 502 verascht und der wässerige Auszug nach § 507 auf Salzsäure und Alkalien geprüft.

Da die Galle oft Kupfer enthält, ist bei der Untersuchung auf dieses zu achten (vergl. S. 542 † Anm.).

1) H.-S. **41.** 210. (1904.), Gullbring, H.-S. **45.** 448. (1905.)

716. **Gallenschleim.** Man fällt die Galle mit Alkohol, löst den Niederschlag in ganz verdünntem Alkali, fällt wieder und wiederholt Lösung und Fällung. Der Niederschlag wird nach § 619, 1 a auf Mucin, nach § 619, 1 b auf Paranucleoproteid geprüft.

717. **Gallensäuren.** Zum Nachweis dienen die Fluorescenz- und die Pettenkofer'sche Reaction (S. 323, 2 u. 3), die beide direct mit der Galle angestellt werden können.

In den seltenen Fällen, in denen diese Reactionen bei menschlichen Blasengallen versagen, enthalten diese Flüssigkeiten auch keine Gallensäuren mehr.

Zur Isolierung benutzt man das S. 330, 2 beschriebene Verfahren. Die dabei erhaltenen krystallisierten Salze (Plattner's krystallisierte Galle) stellen in den meisten Fällen Gemenge verschiedener gallensaurer Salze dar und die Gemenge sind wieder bei verschiedenen Tieren verschieden (§ 713).

Die wässerigen Lösungen der auf diese Weise aus verschiedenen menschlichen Gallen isolierten Gemenge gallensaurer Salze verhalten sich nach Hammarsten[1]) verschieden: die einen werden durch wenig Essigsäure, sowie durch Chlorbarium und Chlorcalcium gefällt, die andern nicht oder nur erst durch einen grossen Ueberschuss von Essigsäure. Durch Mineralsäuren, Kupfersulfat, Silbernitrat, Eisenchlorid und Bleizucker werden sie alle gefällt.

Ueber die Isolierung der Glykocholsäure, Glykocholeinsäure, Taurocholsäure und Taurocholeinsäure siehe §§ 241—244.

718. **Cholesterin, Phosphatide, Fett.** Die alkoholisch-ätherische Lösung, aus der sich die gallensauren Natronsalze krystallinisch abgeschieden haben (siehe S. 330, 2), hinterlässt beim Verdunsten Cholesterin, Phosphatid und Fett (zum Teil krystallisiert). Man nimmt den Rückstand nochmals mit Aether auf, filtriert und verdunstet. Zum Nachweis der Phosphatide prüft man einen Teil des Rückstandes auf Phosphor nach § 56, zum Nachweis des Cholesterins verseift man den Rest nach § 94, schüttelt die Seifenlösung mit Aether aus und prüft den Aetherrückstand nach § 225.

Ueber Isolierung von typischem Lecithin und anderen Phosphatiden aus Eisbärengalle siehe Hammarsten[2]).

Eine in der Galle etwa vorhandene jecorin- oder protagonartige Substanz findet sich auch in jenem Aetherrückstande neben Cholesterin, Phosphatid und Fett. Ihr Nachweis gelang Hammarsten[3]) in der Eisbärengalle in folgender Weise. Man löst den Rückstand in möglichst wenig absolutem Alkohol, fällt mit überschüssigem Aceton, löst den abfiltrierten Niederschlag in Alkohol und verdünnt die filtrierte Lösung mit viel Alkohol. Ein hierbei sich abscheidender Niederschlag wird abfiltriert, mit Alkohol ausgewaschen und in möglichst wenig Wasser gelöst. Den aus der Lösung auf Zusatz von Alkohol ausfallenden Niederschlag prüft man auf Schwefel- und Phos-

---

1) Zur Kenntnis der Lebergalle des Menschen. Mitgeteilt der Kgl. Ges. d. Wiss. zu Upsala am 15. Juni 1893.
Oerum, Skand. A. Ph. **16**. 322. (1904.)

2) H.-S. **36**. 528. (1902.) 3) H.-S. **32**. 446. (1901.)

phorgehalt und auf sein Vermögen Kupferoxyd in alkalischer Lösung beim Erwärmen zu reducieren.

Aus Eisbären-[1]) und Menschengalle[2]) wurde sie auch in der S. 715 beschriebenen Weise gewonnen.

719. **Harnstoff.** Man fällt die Galle mit überschüssigem Alkohol, lässt bis zum nächsten Tage stehen, filtriert, dampft bei gelinder Temperatur ab, nimmt den Rückstand mit wenig Alkohol auf und fällt den alkoholischen Auszug mit grossem Ueberschuss von Aether. Die nach einiger Zeit klar abgegossene Lösung wird bei niedriger Temperatur verdunstet, der Rückstand in wenig Wasser aufgenommen und die filtrierte Flüssigkeit weiter nach § 627 behandelt.

720. **Gallenfarbstoff.** Der Nachweis lässt sich in der mit Wasser verdünnten Galle direct mit der Gmelin'schen Probe (S. 372, 1) führen.

Schüttelt man die Galle von Menschen oder fleischfressenden Tieren mit Chloroform, so geht ein Teil des Bilirubins und Cholesterins in Lösung und scheidet sich beim Verdunsten der abgehobenen Chloroformlösung krystallinisch aus. Man löst in ganz verdünntem Alkali und stellt mit der Lösung die Gmelin'sche Reaction (S. 372, 1) oder Hammarsten'sche Reaction (372, 2) an. Eine quantitative Bestimmung hat bisher nicht ausgeführt werden können. Weder die colorimetrische noch die spectrophotometrische Methode ist dazu geeignet, da die Galle, auch die frisch secernierte, neben Bilirubin auch Biliverdin und sehr häufig auch Urobilin oder einen ähnlichen Farbstoff enthält und eine quantitative Trennung dieser Farbstoffe von einander nicht möglich ist.

721. **Urobilin.** Man entfärbt die Galle nach Hammarsten mit Tierkohle (welche das Bilirubin leicht, aber das Urobilin nur schwer zurückhält) und untersucht, ob das Filtrat direct oder nach genügender Concentration den Streifen zwischen den Linien b und F und auf Zusatz von Chlorzink und Ammoniak die Fluorescenzerscheinung zeigt (§ 278).

Man kann auch die event. mit Wasser verdünnte Galle mit dem gleichen bis dreifachen Volumen abs. Alkohol, welcher 10 pCt. Zinkacetat enthält und vorher durchgeschüttelt ist (Schlesinger) versetzen, filtrieren und das Filtrat auf Absorptionsstreifen und Fluorescenz prüfen. Ist die Galle zu reich an Gallenfarbstoff, entfärbt man sie vorher durch Zufügen von Calciumchlorid und Ammoniak bis zur schwach sauren Reaction und Filtration.

Nachweis pathologischer Bestandteile der Galle.

722. **Eiweiss.** Man säuert die Galle mit sehr stark verdünnter Essigsäure an, aber so schwach, dass noch keine Fällung von Gallenschleim entsteht, fügt einige Tropfen Kochsalzlösung hinzu und kocht. Auch bei geringem Gehalt an Eiweiss tritt Trübung oder Niederschlag ein. Fügt man mehr Essigsäure hinzu, so fällt ausser dem Gallenschleim auch mehr oder weniger Eiweiss als Gallensäureeiweissverbindung in der Kälte aus und entzieht sich so dem Nachweis (Brauer[3]).

---

1) Hammarsten, H.-S. **32**. 439. (1901.)
2) Oerum, Skand. A. Ph. **16**. 275. (1904.)
3) H.-S. **40**. 203. (1903/04).

723. **Zucker.** Man fällt die Galle mit Alkohol und wenig Essigsäure (bis zur sauren Reaction), filtriert, dampft ein, nimmt den Rückstand mit Wasser auf und prüft die mit Tierkohle möglichst entfärbte wässerige Lösung mit der Trommer'schen Probe (§ 98, 4).

724. **Aminosäuren.** Man fällt die Galle mit Bleiessig und etwas Ammoniak völlig aus, filtriert, entfernt aus dem Filtrat das Blei durch Schwefelwasserstoff, dampft ein und untersucht den Rückstand nach § 593 und § 630.

725. **Blut.** Da die Galle bei Bluttemperatur binnen kürzester Zeit nicht allein Blutkörperchen auflöst, sondern auch das Oxyhämoglobin in Hämatin und Proteinstoff spaltet und die Spaltungsproducte zum grössten Teil als unlöslichen Niederschlag abscheidet, so ist Blut nur dann in der Gallenblase zu finden, wenn diese keine Galle enthält. In obiger Weise verändertes Blut findet sich nicht allzu selten. Die Lösung dieser krümligen Niederschläge in verdünnter Natronlauge lässt auf Zusatz von Schwefelammonium das Spectrum des Hämochromogens erkennen (§ 263).

Bestimmung des Trockenrückstandes in der Galle.

726. Man wägt eine Menge, die bei Lebergalle 10—20 ccm, bei Blasengalle weniger beträgt, in einem mit eingeriebenem Glasdeckel versehenen flachen Glasgefäss, dessen Gewicht bekannt ist, ab (oder auch in einem Schälchen, welches in einem verschliessbaren Wägegefäss Platz hat und mit diesem zusammen gewogen ist), dampft bei 40—45° ein, trocknet bei 100 bis höchstens 105° bis zum constanten Gewicht und wägt in verschlossenem Gefäss.

Eine Veraschung und Wägung des Glührückstandes anzuschliessen, hat keinen Zweck, da sich auf diese Weise die Menge der anorganischen Salze nicht genau bestimmen lässt (vergl. § 715.)

Bestimmung des Gesamtstickstoffs, des Ammoniaks und einzelner Aschenbestandteile in der Galle.

727. Man bestimmt den Gesamtstickstoff nach Kjeldahl (§ 528 b), das Ammoniak nach § 626, die einzelnen Aschenbestandteile nach § 509 ff.

Quantitative Analyse der Galle.

728. Diese Bestimmung geschah früher nach einem von Hoppe-Seyler angegebenen, von Hammarsten[1]) modificierten Verfahren etwa in folgender Weise:

Ungefähr 50 g der von etwa vorhandenen zusammenhängenden zähen Massen oder Klümpchen durch Centrifuge befreiten Blasengalle*) werden genau gewogen und mit der annähernd zehnfachen Menge Alkohol gefällt. Nach längerem Stehen wird der

*) Von der sehr viel weniger concentrierten Lebergalle nimmt man je nach dem spec. Gewicht 400—800 ccm.

1) Zur Kenntnis der Lebergalle des Menschen. Mitgeteilt der Kgl. Ges. d. Wiss. zu Upsala am 15. Juni 1893.

Niederschlag auf ein gewogenes aschefreies Filter gebracht, mit kaltem und dann mit warmem Alkohol gewaschen, mit Alkohol in das Becherglas zurückgespritzt, eine Zeit lang auf dem Wasserbade bei 40—45° erwärmt, auf dasselbe Filter gebracht und noch einige Male in dieser Weise behandelt*). Man erhält so einen Filterrückstand (A) und ein alkoholisches Filtrat (B) (+ Waschalkohol).

A. Filterrückstand (Gallenschleim mit etwas anhaftendem Farbstoff und anorganische Salze). Man wäscht mit Essigsäure und essigsäurehaltigem Wasser aus, um anorganische Salze zu entfernen, trocknet bei 100—105°, wägt, verascht, wägt den Ascherückstand und erfährt auf diese Weise die Menge von Gallenschleim (+ etwas Farbstoff) und von Ferriphosphat. Ueber das essigsaure Filtrat, welches Phosphate, Sulfate und Chloride enthalten kann, siehe weiter unten (B 1).

Gallenschleim.

Ferriphosphat.

Erweist sich das Auswaschen des Gallenschleimes mit Essigsäure wegen starken Aufquellens als unausführbar, so stellt man das Trockengewicht fest, verascht, wägt wieder und erfährt so die Menge von Gallenschleim und von dem Salzgemenge (Phosphate, Sulfate, Chloride).

B. Alkoholisches Filtrat. Filtrat (+ Waschalkohol) wird bei 40—45° zur Trockne verdunstet, der Rückstand mit absolutem Alkohol behandelt. Man filtriert und wäscht aus.

1. Der Filterrückstand wird mit dem essigsauren Auszug von A vereinigt, getrocknet und verascht, die Asche gewogen. Man erfährt so die Menge der in Alkohol unlöslichen anorganischen Salze mit Ausnahme des schon bestimmten Ferriphosphats (Phosphate, Sulfate, auch wohl ein Teil der Chloride).

Phosphate, Sulfate, Chloride (1).

2. Das Filtrat wird auf ein kleines Volumen eingeengt und mit überschüssigem Aether gefällt. Nach mehrtägigem Stehen filtriert man ab und wäscht mit Aether aus.

a) Filtrat. Es wird bei 40—45° völlig verdunstet und der Rückstand mit wasserfreiem Aether aufgenommen. Der in Aether unlösliche Teil wird abfiltriert, in Alkohol gelöst und die Lösung der alkoholischen Lösung von b zugefügt. Das ätherische Filtrat, welches Cholesterin, Phosphatide (Lecithin), Fett enthält, wird nach § 636 B 3b verarbeitet. Man erfährt auf diese Weise die Menge von Cholesterin, Lecithin und Fett.

Cholesterin, Lecithin, Fett.

b) Niederschlag. Er wird in Alkohol gelöst und die Lösung mit der unter a erwähnten vereinigt. Diese Lösung, welche gallensaure Alkalien, ätherschwefelsaures Alkali, Seifen, Harnstoff, anorganische Salze (Chloride) enthält, wird genau gemessen und in vier, gleichfalls genau gemessene Portionen geteilt.

1. Portion. Man dampft ein, trocknet bei 100—105°, wägt bei aufgelegtem Uhrglase, verascht und wägt wieder. In der Asche wird die Salzsäure nach § 517 oder § 518 bestimmt und auf Chlornatrium berechnet. Zieht man diesen Wert von dem gefundenen Trockengewicht ab, so bleibt als Rest die Summe von gallensauren Salzen, ätherschwefelsaurem Salz, Seifen und Harnstoff.

Chloride (2).

Summe von gallensauren Salzen, ätherschwefelsaurem Salz, Seifen u. Harnstoff.

2. Portion. Man dampft ein und bestimmt den Schwefel nach § 520: Gesamtschwefel als Bariumsulfat.

Gesamtschwefel als Bariumsulfat.

3. Portion. Sie wird auf dem Wasserbade eingedampft und in so viel Wasser gelöst, dass eine etwa 2 proc. Lösung entsteht. Diese Lösung wird mit Chlorbarium versetzt (auf je 50 ccm etwa 10 ccm einer 5 proc. Chlorbariumlösung), nach längerem Stehen von einem event. entstandenen Niederschlage abfiltriert, das klare Filtrat mit 5 proc. Salzsäure versetzt, einige Stunden im Wasserbade erwärmt und zur Trockne verdunstet. Den Rückstand behandelt man wiederholt mit Alkohol und Wasser, sammelt ihn auf dem Filter, wäscht mit heissem Wasser, verdünnter Salzsäure, Wasser, Alkohol und Aether aus, glüht und wägt: Schwefel der Aetherschwefelsäure als Bariumsulfat.

Schwefel der Aetherschwefelsäure.

*) Ein Teil des Farbstoffs haftet fest am Mucin und lässt sich auch durch wiederholte Alkoholbehandlung nicht entfernen.

4. Portion. Man verdunstet und bringt die wässerige Lösung des Rückstandes mittelst eines langen Trichterrohres in ein Einschmelzrohr, in dem sich mindestens 5 g krystallisierter Aetzbaryt befinden, spült mit kleinen Mengen Wasser nach, schmilzt etwa 10 cm über dem Flüssigkeitsniveau zu, schüttelt nach dem Erkalten gut um und erhitzt 10—12 Stunden bei 110—120°. Man öffnet nach dem Erkalten vorsichtig, giesst die Flüssigkeit in ein Becherglas aus, spült mit warmem Wasser nach, sättigt die warme Lösung mit Kohlensäure, erhitzt zum Kochen, filtriert siedend heiss im Heisswassertrichter und wäscht so lange mit heissem Wasser nach, als sich noch Barium im Filtrat nachweisen lässt.

Der Rückstand, welcher die Barytsalze der Fettsäuren enthält, wird mit Salzsäure zerlegt und mit Aether ausgeschüttelt, die ätherische Lösung abgetrennt und der
Fettsäuren. nach dem Verdunsten des Aethers hinterbleibende Rückstand gewogen: Fettsäuren (Palmitinsäure, Stearinsäure, Oelsäure).

Das Filtrat wird mit der Waschflüssigkeit eingedampft. Im Rückstand wird nach
Taurinschwefel. § 520 der Schwefel bestimmt: Taurinschwefel als Bariumsulfat.

Berechnung. Ausser den oben bestimmten Werten findet man durch Rechnung noch folgende:

1. Die Summe der anorganischen Salze (ausser Ferriphosphat) nach B 1 und B 2b Portion 1.

2. Den Gehalt an Taurocholsäure*) durch Multiplication des dem Taurinschwefel entsprechenden Bariumsulfats (B 2b Portion 4) mit 2,2089. Die dem Taurinschwefel entsprechende Menge Bariumsulfat erhält man auch, wenn man das Bariumsulfat, welches der Aetherschwefelsäure (B 2b Portion 3) entspricht, von dem Bariumsulfat, welches dem Gesamtschwefel entspricht (B 2b Portion 2), abzieht. (Diese Bestimmung dient zur Controlle der directen).

3. Den Gehalt an glykocholsaurem**) (+ätherschwefelsaurem) Alkali. Man erhält ihn, indem man die berechnete Menge Taurocholsäure durch Multiplication mit 1,043 auf taurocholsaures Natron und die erhaltene Menge Fettsäuren (B 2b Portion 4) durch Multiplication mit 1,10 auf Seifen umrechnet und diese beiden Werte sowie den Gehalt der Galle an Harnstoff***) von dem Wert für gallensaure Salze + ätherschwefelsaures Salz + Seifen + Harnstoff (B 2b Portion 1) abzieht. Da die Aetherschwefelsäure noch unbekannt ist, so lässt sie sich nicht aus dem ihr entsprechenden Bariumsulfat berechnen und in Abzug bringen. Der für glykocholsaures Alkali gefundene Wert wird also um so ungenauer ausfallen, je mehr Aetherschwefelsäure in der Galle vorhanden ist.

Hoppe-Seyler empfahl für die Bestimmung der Gallensäuren die Polarisation zu benutzen. Da aber in den Gallen ein Gemenge optisch activer Gallensäuren vorliegt und nur für die Glyko- und Taurocholsäure die specifische Drehung bekannt ist, so lässt sich dieses Verfahren nicht anwenden.

Die umfassenden Untersuchungen von Hammarsten und seinen Schülern, welche sich auf menschliche Galle und die Gallen vieler Tierarten erstrecken, haben zu folgenden Resultaten geführt, welche die Un-

*) Taurocholsäure ist nicht die einzige schwefelhaltige gepaarte Gallensäure, aber die am besten bekannte. Deshalb ist ihre Zusammensetzung der Rechnung zu Grunde gelegt.

**) Darunter sind glykocholsaures Natron + Natronsalze der anderen schwefelfreien gepaarten Gallensäuren verstanden.

***) Die kleinen Mengen Harnstoff können mit Rücksicht auf die Ungenauigkeit der Methode im allgemeinen vernachlässigt werden.

zulänglichkeit des beschriebenen Verfahrens nach verschiedenen Richtungen ergeben[1]):

1. In vielen Gallen, auch in der menschlichen, findet sich eine organische schwefel- und phosphorhaltige Substanz, auf welche das Verfahren keine Rücksicht nimmt. Ein Teil dieser Substanz ist in B 1 enthalten und man kann weitere Mengen von ihr gewinnen, wenn man das Filtrat B 2 wieder vorsichtig zur Trockne verdunstet, mit absolutem Alkohol behandelt, vom Ungelösten abfiltriert und in der Weise fortfährt, bis das alkoholische Filtrat nach dem Einengen sich vollständig oder nahezu vollständig in absolutem Alkohol löst. Die einzelnen so gewonnenen alkoholunlöslichen Teile werden in Wasser gelöst, die Lösung wird filtriert, verdunstet, der Rückstand getrocknet und gewogen. Er besteht aus der schwefel- und phosphorhaltigen Substanz und anorganischen Salzen (Hammarsten[2]), Örum[3]). Ein Verfahren zur quantitativen Abtrennung und Bestimmung ist aber bisher nicht bekannt.

2. Eine vollständige Scheidung der Phosphatide von den gallensauren Salzen, mit Hülfe von Aether (B 2 a u. b), wie sie der Untersuchungsgang annimmt, ist nicht ausführbar. Immer enthalten einerseits die gallensauren Salze Beimengungen von Phosphatiden, andererseits die Phosphatide Beimengungen gallensaurer Salze.

Wir besitzen zur Zeit keine brauchbare Methode für die Bestimmung der einzelnen Gallenbestandteile.

Gallensteine, Gallensedimente.

729. Man kann drei Gruppen von Concrementen in der Gallenblase unterscheiden.

1. Cholesterinsteine. Sie sind die beim Menschen am häufigsten vorkommenden. Farbe, Form und Grösse sind wechselnd. Alle grösseren Gallensteine gehören in diese Gruppe. Sie zeichnen sich durch krystallinisch glänzende Bruchflächen, Weichheit und niedriges specifisches Gewicht aus. Sie bestehen in der Hauptsache aus krystallisiertem Cholesterin, dem mehr oder weniger Gallenfarbstoff (in Verbindung mit Kalk) und Calciumcarbonat beigemengt ist. Im Centrum der meist concentrisch geschichteten Steine findet sich viel mehr Gallenfarbstoff als in den peripherischen Teilen. Cholesterinsteine.

2. Pigmentsteine. Sie sind die bei Rindern am häufigsten vorkommenden, werden aber auch in der menschlichen Blasengalle oft gefunden. Sie haben gewöhnlich unregelmässige Formen, schwarze Farbe, sind klein und enthalten neben wenig Cholesterin reichlich Farbstoff in Verbindung mit Kalk und gewöhnlich auch etwas Kupfer und Eisen. Der Pigmentsteine.

---

1) Siehe darüber Hammarsten, Ergebn. d. Physiol. **4**. 1. (1905.)
2) H.-S. **32**. 439. (1901.)
3) Skand. A. Ph. **16**. 275. (1904.)

Farbstoff ist in der Regel hauptsächlich Bilirubin, doch sind auch Pigmentsteine, die wesentlich andere Gallenfarbstoffe enthalten, beobachtet worden.

3. Hauptsächlich aus Calciumcarbonat bestehende kleine rundliche Steinchen von gelber oder brauner Farbe. Sie finden sich selten (in Form von Sand und Gries) in der menschlichen Galle, häufiger (auch noch etwas Calciumphosphat enthaltend) bei Rindern.

4. Es werden in der Galle zuweilen flockige, weiche Niederschläge, welche meist amorph, seltener krystallisiert sind und Bilirubin enthalten, beobachtet. (Auch Schleimmassen, gewöhnlich dunkelgrün oder braun gefärbt, sind nicht selten).

730. **Qualitative Untersuchung.** Man erschöpft die fein gepulverten und (zur Entfernung von Gallenresten) mit Wasser ausgekochten und wieder getrockneten Massen mit einer Mischung von gleichen Teilen Alkohol und Aether, filtriert und wäscht mit derselben Mischung aus, übergiesst darauf nach Wechseln des Becherglases mit Salzsäure (bei Anwesenheit von Calciumcarbonat entsteht Aufbrausen) und wäscht mit Wasser gut aus. Man erhält so einen alkoholisch-ätherischen (1) und einen salzsauren Auszug (2) und einen Filterrückstand (3).

1. Der alkoholisch-ätherische Auszug wird verdunstet und das
Cholesterin. zurückbleibende Cholesterin durch seine Reactionen (S. 314) erkannt.

2. Der salzsaure Auszug wird zur Trockne verdunstet, der Rückstand geglüht, in verdünnter Salzsäure gelöst und die Lösung nach § 508
Anorganische Salze. auf anorganische Salze untersucht. Man achte auf Kupfer (§ 542 † Anm.).

3. Der Filterrückstand wird zwischen Filtrierpapier trocken gepresst und in heissem Chloroform gelöst. Der beim Verdunsten der Chloroformlösung hinterbleibende Rückstand wird in ganz verdünnter Natronlauge ge-
Bilirubin. löst und die Lösung nach S. 372 auf Bilirubin geprüft. Auf etwa gleich-
Urobilin. zeitig vorhandenes Urobilin ist nach § 721 zu prüfen.

731. **Quantitative Untersuchung.** Man geht von einer getrockneten und gewogenen Portion des mit Wasser ausgekochten Steinpulvers aus und verfährt im Ganzen nach den Angaben des vorigen Paragraphen. Im einzelnen ist noch Folgendes zu bemerken:

Das Cholesterin (1) wird bei 110° getrocknet und gewogen.

Die in 2. erhaltene salzsaure Lösung des Glührückstandes wird durch Schwefelwasserstoff von event. vorhandenem Kupfer befreit. Im Filtrat bestimmt man nach § 510 ff. Kalk, Magnesia, Eisen und Phosphorsäure. Vorhandenes Schwefelkupfer wird mit dem Filter in einem gewogenen Platintiegel bei gutem Luftzutritt bis zur Verkohlung des Filters erhitzt und dann mit Salpeter und etwas Soda geschmolzen. Man behandelt die Schmelze mit Wasser, sammelt das ungelöste Kupferoxyd auf aschefreiem Filter, wäscht aus, trocknet, glüht in demselben Platintiegel und wägt.

Der Filterrückstand (3) (das Gewicht des Filters muss bekannt sein) wird bei 110° getrocknet und gewogen: Gallenfarbstoff.

Untersuchung des Schweisses.

Der Schweiss stellt eine klare wasserhelle Flüssigkeit dar, die von beigemengten Epithelzellen durch Filtration befreit werden kann.

732. **Bestandteile.** Spuren von Eiweiss, Harnstoff, Kreatinin, Fett, niedere Fettsäuren und fettsaure Alkalien, Cholesterin, Alkalisalze, gepaarte Schwefelsäuren und aromatische Oxysäuren[1]), anorganische Salze (besonders Chloralkalien, ausserdem schwefelsaure und phosphorsaure Alkalien). Nach Einnahme von Benzoesäure soll der Schweiss Hippursäure enthalten. Normale Bestandteile.

Unter pathologischen Verhältnissen findet sich Zucker bei Diabetes, Harnstoff bei Urämie und Cholera. Im urämischen Stadium der Cholera beim Aufhören der Nierensecretion findet sich die Körperoberfläche zuweilen mit Krystallen von Harnstoff bedeckt. Die Ursache der Klebrigkeit gewisser pathologischer Schweisse ist noch nicht bekannt. Pathologische Bestandteile.

Bei unreiner Haut unterliegt der mit Schmutz, Epithelzellen und Talgdrüsensecret vermischte Schweiss alsbald nach seiner Secretion einer lebhaften bacteriellen Zersetzung. Ein solcher zersetzter Schweiss enthält in reichlicher Menge flüchtige Fettsäuren und andere übelriechende Stoffe (stinkende Fussschweisse), Leucin, Tyrosin, Ammoniak usw. Zersetzung.

733. **Allgemeine Eigenschaften.** Das spec. Gewicht schwankt zwischen 1003 und 1005 und der Gehalt an festen Stoffen beträgt im Durchschnitt 1 pCt.

Die Reaction des menschlichen Schweisses ist gewöhnlich sauer, kann aber besonders nach reichlichem Schwitzen (Pilokarpin, Schwitzbäder) neutral und alkalisch gefunden werden. Die Vermutung, dass der reine, frisch secernierte Schweiss stets alkalisch reagiert und die saure Reaction nur durch Beimengung des Secrets der Talgdrüsen oder durch Zersetzungsvorgänge bedingt sei, erscheint unbegründet.

734. **Untersuchung.** Sie geschieht wie diejenige einer serösen Flüssigkeit (§ 612ff.). Für den Nachweis der aromatischen Oxysäuren verfährt man nach § 570, für Nachweis und Bestimmung der gepaarten Schwefelsäuren nach § 538 und § 545.

Den für die Untersuchung zu benutzenden Schweiss sammelt man am Besten während eines Heissluftbades nach sorgfältiger Reinigung der Körperoberfläche und unter antiseptischen Cautelen. Kann die Verarbeitung nicht gleich angeschlossen werden, so ist das Secret sofort mit dem dreifachen Volumen Alkohol zu mischen, um jede Zersetzung auszuschliessen.

---

1) Kast, H.-S. II. 501. (1887.)

Untersuchung der Milch.

Allgemeines.

Die Milch stellt ein in seinen physikalischen Eigenschaften jedem bekanntes Secret dar und besteht aus einer schwach gefärbten Flüssigkeit, dem Milchplasma, in der runde Körperchen von sehr verschiedener, aber stets mikroskopischer Grösse, die Milchkügelchen, suspendiert sind.

Bestandteile der Milchkügelchen.

735. **Bestandteile.** Die Milchkügelchen (Fettkügelchen) bestehen aus einem bei gewöhnlicher Temperatur nicht völlig flüssigen, gelbgefärbten Fett und sind von einer sehr dünnen Caseinhülle umgeben. Das Fett ist ein Gemisch von Tripalmitin, Tristearin und Triolein, dem in kleinen Mengen Triglyceride der Myristin-, Laurin- und Arachinsäure und der Butter-, Capron-, Capryl- und Caprinsäure beigemengt sind. Stets finden sich in den Fettkügelchen auch Cholesterin und Phosphatid.

Bestandteile des Milchplasmas.

In dem Milchplasma sind nachgewiesen: Casein, Lactalbumin, Globulin, Opalisin (?), Nucleon (?), Milchzucker, Extractivstoffe (kleine Mengen von Harnstoff, Kreatinin, Orotsäure, Schwefelcyansäure[1]), Citronensäure, Fettsäuren), Cholesterin, Phosphatide, proteolytische Fermente[2]) (?), diastatisches Ferment (siehe Zaitschek[2]), anorganische Salze (Kalium, Natrium, Calcium, Magnesium, Eisen gebunden an Phosphorsäure, Salzsäure, Kohlensäure). Unter den Salzen findet sich reichlich Calciumphosphat, ferner mehr Kalium als Natrium und mehr Phosphorsäure als Salzsäure. Albumosen und Peptone kommen in der frischen Milch nicht vor. Die in grösster Menge in der Milch enthaltenen Bestandteile sind Proteinstoffe (unter ihnen überwiegt das Casein), Fette, Milchzucker und Salze. Der Procentgehalt an diesen Stoffen ist bei verschiedenen Tierarten verschieden, aber auch innerhalb derselben Art kommen Schwankungen vor, die von der Rasse, der Individualität, der Lactationszeit usw., auch von der Ernährung abhängen.

Zusammensetzung.

Folgende Procentzahlen sind lediglich als Mittelwerte anzusehen:

	Frauenmilch	Kuhmilch	Eselinmilch[3])
Wasser	86,4	88,0	91,23
Trockensubstanz . .	13,6	12,0	8,77
Casein	1,0	3,0	0,94
Albumin + Globulin	0,5	0,3	0,53
Fett	4,8	3,5	1,15
Milchzucker . . .	6,6	4,5	6,0
Salze	0,25	0,75	0,4

1) Musso, Maly's Jbr. 1877. S. 168.

2) Zaitschek, Pfl. A. **104**. 539. (1904.)
Vandevelde, de Waele u. Sugg, B. Ph. P. **5**. 571. (1904.)

3) Ellenberger, Seeliger u. Klimmer, Arch. f. wiss. u. prakt. Tierh. **28**. Heft 3 u. 4. (1902.)

Die Ziegenmilch ist der Kuhmilch ähnlich zusammengesetzt. Die Stutenmilch zeigt einen ähnlich niedrigen Fettgehalt wie die Eselinmilch. Die Hundemilch ist sehr reich an Fett (9—10 pCt.) und Proteinstoffen, ärmer an Milchzucker (3—4 pCt.). Eine Zusammenstellung der procentischen Zusammensetzung der Milch verschiedener Tiere siehe bei Pröscher[1]).

Die zu Beginn der Lactation abgesonderte Milch, das sog. Colostrum, enthält zahlreiche Colostrumkörperchen und ist wohl etwas ärmer an Casein, Fett und Milchzucker, vor allem aber sehr viel reicher an gerinnbarem Eiweiss (Albumin und Globulin). Eine eingehende Untersuchung des Colostrums ist von Winterstein u. Strickler[2]) ausgeführt werden. Colostrum.

736. Das **spec. Gewicht** der Frauenmilch und ebenso der Kuh- und Eselinmilch schwankt zwischen 1028 und 1034. In der abgerahmten Milch ist es höher; in abgerahmter Kuhmilch 1032—1036. Da die Milch keine homogene Flüssigkeit darstellt, so lässt sich ihr spec. Gewicht nur mit Hülfe des Pyknometers genau ermitteln; aber auch die weniger genaue Bestimmung mit dem Aräometer gibt für die Beurteilung der Güte der Marktmilch wertvolle Anhaltspunkte. Es sind für diesen Zweck besondere Aräometerspindeln, auf deren Scala nur die spec. Gewichte von 1015 bis 1040 berücksichtigt sind und die nächste Decimalstelle noch abgelesen werden kann, in Gebrauch (Lactodensimeter). In jedem Falle muss die Milch vor der Bestimmung des spec. Gewichts sorgfältig gemischt werden, damit sich das Fett gleichmässig in der Flüssigkeit verteilt.

737. **Reaction.** Die Frauenmilch und die Milch der Pflanzenfresser zeigt gegen Lacmus eine alkalische oder amphotere und gegen Phenolphtalein eine saure Reaction u. z. ist die Kuhmilch stärker alkalisch (gegen Lacmus) und stärker sauer (gegen Phenolphtalein) als die Frauenmilch. Die Eselinmilch steht zwischen beiden. Die Milch der Fleischfresser scheint gegen Lacmus stets sauer zu sein.

738. **Verhalten verschiedenen Einwirkungen gegenüber.** Mit Hülfe der Centrifuge lässt sich eine (wenn auch nicht vollständige) Trennung der Fettkügelchen vom Plasma erreichen; auch schon beim ruhigen Stehen steigt ein grosser Teil der Kügelchen an die Oberfläche. (Aus diesem Grunde ist es nötig, die Milch vor der Entnahme einer Probe für die quantitative Bestimmung sorgfältig zu mischen.) Beim Schütteln mit Aether wird ein grosser Teil des Fettes von diesem aufgenommen, ohne dass die weisse Farbe der Milch sich ändert; die Milch wird aber hell und durchsichtig, sobald ein wenig Natronlauge oder Säure hinzugefügt wird, indem diese sofort eine die Fetttröpfchen umgebende Hülle lösen und so ein völliges Uebergehen des Fettes in den Aether ermöglichen. Eintragen von Salz in die Milch hat eine Abscheidung der Eiweissstoffe (+ Fett) zur

1) H.-S. **24**. 285. (1898.) 2) H.-S. **47**. 58. (1906.)

Folge u. z. wird durch Sättigen der Milch mit Ammonsulfat Casein, Albumin und Globulin, durch Sättigen mit Magnesiumsulfat Casein und Globulin und durch Sättigen mit Natriumchlorid Casein ausgefällt. Vorsichtiger Zusatz einer Säure, z. B. Essigsäure, Milchsäure oder Salzsäure bewirkt die Bildung eines Niederschlags, welcher aus Casein (+ Fett) besteht. Versetzt man Milch mit Natronlauge, so nimmt das Gemisch allmählich, schneller beim Erwärmen bis auf 50° eine gelbe, rötliche und dann schön rote*) Farbe an. Beim Kochen coaguliert frische Milch gewöhnlich nicht (auch wenn vorher Kohlensäure eingeleitet war § 739); eine Coagulation findet nur ausnahmsweise statt, regelmässig im Beginn der Lactation wegen des reichen Gehaltes des Colostrums an Albumin.

Gerinnung der Milch.

Gerinnung durch Mikroorganismen.

739. a) durch Mikroorganismen. Die Milch verändert sich beim Stehen (in der Wärme bis zu Bruttemperatur schneller als bei niedrigerer Temperatur) unter der Einwirkung von Mikroorganismen (bes. des Bac. acid. lact.), welche aus Milchzucker Säuren (hauptsächlich Milchsäure, auch Bernsteinsäure) bilden. Die Reaction wird mehr und mehr sauer und bei einem bestimmten Säuregrad scheidet sich das Casein (+ Fett) aus, indem die ganze Flüssigkeit zur gallertigen Masse wird. Die Gallerte zieht sich allmählich zusammen und presst eine leicht trübe Flüssigkeit aus, das Milchserum oder die sauren Molken. Die Tätigkeit der Mikroorganismen geht weiter und hört erst auf, wenn die Flüssigkeit ungefähr 4 pCt. Milchsäure enthält. Um die Milchsäure zu isolieren, dampft man das abfiltrierte Milchserum auf dem Wasserbade ein, schüttelt den mit Phosphorsäure angesäuerten dünnflüssigen Syrup mit Aether aus und verfährt weiter nach S. 75.

Schon lange vor der spontanen Gerinnung lässt sich die Zunahme der Säure daran erkennen, dass das Casein durch einen Strom Kohlensäure und nachheriges Erhitzen zum Kochen fällbar wird. Es folgt dann ein Stadium bei dem Kochen allein (ohne Kohlensäure) das Casein zur Abscheidung bringt und bei weiterer Säurezunahme genügt Kohlensäure allein, bis schliesslich die Gerinnung freiwillig erfolgt.

Ein beim Kochen einer Milch von normaler Reaction entstehendes Coagulum kann nur aus Albumin (+ Globulin) bestehen. Ist aber die Reaction sauer, so versetzt man zur Entscheidung der Frage, ob der beim Erhitzen entstehende Niederschlag Casein oder Albumin ist, die Milch mit einigen Tropfen einer Lösung von Natriumphosphat bis zur schwach sauren Reaction, schüttelt um und kocht auf. Eine durch Anwesenheit von viel Albumin bedingte Gerinnung erfolgt auch jetzt, während Casein sich nicht mehr abscheidet.

*) Siehe darüber bei Krüger, H.-S. **50**. 293. (1906/07.)

b) durch Labferment (§ 445 u. §§ 490, 491). Die Gerinnung der Kuhmilch auf Zusatz von Labferment erfolgt ohne Aenderung der Reaction, sehr schnell bei Körpertemperatur. Das Gerinnsel besteht aus Paracasein (+ Fett). Das ausgepresste Milchserum enthält noch die ganze Menge des Milchzuckers und wird im Gegensatz zu den sauren Molken (vergl. a) süsse Molken genannt. Gerinnung durch Labferment.

Die Gerinnung der Frauenmilch durch Labferment erfolgt nur unvollkommen in Form zarter dünner Flöckchen oder auch gar nicht. Nach Fuld u. Wohlgemuth[1]) gerinnt sie aber auf Zusatz von Lab, nachdem sie dreimal 24 Stunden in gefrorenem Zustande gehalten worden und dann wieder aufgetaut ist.

Qualitative Untersuchung der Milch.

740. a) in der Kuhmilch und der Milch anderer Tiere (mit Ausnahme der Eselinmilch*). Etwa 100 ccm Milch werden mit der 5fachen Menge Wasser verdünnt, vorsichtig mit verdünnter Essigsäure ausgefällt und weiter nach den Prinzipien behandelt, wie sie § 745 für die quantitative Bestimmung angegeben sind. Man erhält auf diese Weise 1. einen durch Essigsäure hervorgerufenen und mittelst Alkohol und Aether extrahierten Niederschlag (Casein), 2. einen durch Kochen hervorgerufenen Niederschlag (Albumin + Globulin), 3. einen Aetherextract (Fett, Phosphatide, Cholesterin) und 4. eine wässerige Lösung (Milchzucker, Salze). Die Untersuchung geschieht in folgender Weise:

1. **Casein.** Man verreibt es mit ganz verdünnter Natronlauge, filtriert und fällt das Filtrat mit Essigsäure vorsichtig aus. Der abfiltrierte und ausgewaschene Niederschlag wird nach § 54 auf Stickstoff, nach § 56 auf Phosphor, nach § 55 auf Schwefel geprüft und event. weiter nach den Angaben von § 445 untersucht.

2. **Albumin + Globulin.** Die Probe auf Stickstoff (§ 54), auf Schwefel (§ 55) und die Farbenreactionen (§ 293 B) fallen positiv, die Probe auf Phosphor (§ 56) negativ aus.

3. **Fett, Phosphatide, Cholesterin.** Man prüft zunächst eine kleine Menge nach § 56 auf Phosphor (positiver Ausfall dient als Nachweis für Phosphatid), dann eine andere nach S. 97 auf Fettsäuren. Nach ihrer Entfernung in der S. 97 angegebenen Weise wird die ganze Menge des Fettes nach S. 103 verseift und die Seifenlösung weiter in der dort angegebenen Weise behandelt.

---

*) Ueber die Untersuchung der Eselinmilch siehe Ellenberger, Seeliger und Klimmer a. a. O.

1) B. Z. **5**. 118. (1907.)

4. **Milchzucker, Salze.** Der Nachweis des Milchzuckers geschieht nach § 103. Um die anorganischen Salze nachzuweisen, dampft man die Flüssigkeit ein (während dessen scheidet sich schon Calciumphosphat ab), verascht den Rückstand nach § 502 und stellt einen wässerigen und einen salzsauren Auszug her, deren Untersuchung nach § 507 und § 508 ausgeführt wird.

In dieser Lösung findet sich auch die Orotsäure (§ 130) und nach Siegfried auch das Nucleon, dessen Isolierung als Eisenverbindung nach S. 496 oben geschieht.

b) in der Frauenmilch. Das Verfahren ist dasselbe, nur muss die Ausfällung des Caseins durch Essigsäure und Kohlensäure in der Wärme vorgenommen werden (vergl. § 745 b) oder nachdem die Milch nach Fuld und Wohlgemuth[1]) dreimal 24 Stunden in gefrorenem Zustande gehalten worden ist.

Bestimmung des Trockenrückstandes in der Milch.

741. Man misst oder wägt 5—10 g der gut gemischten Milch in einem mit eingeriebenem Glasdeckel versehenen flachen Gefäss von bekanntem Gewicht (oder in einem Schälchen, welches in einem verschliessbaren Wägeglas Platz hat und mit diesem zusammen gewogen worden ist) genau ab, dampft bei 50—60° ein und trocknet zunächst im Vacuum über Schwefelsäure, dann bei einer Temperatur, die 100° nicht übersteigt (am besten im Vacuum bei 95—100°) bis zum constanten Gewicht. Wegen der stark hygroskopischen Eigenschaften des Rückstandes ist im verschlossenen Gefäss zu wägen.

Sobald die Milch zu trocknen beginnt, färbt sie sich in Folge einer geringen Zersetzung des Milchzuckers bräunlich. Will man den dadurch bedingten Fehler, der allerdings so unbedeutend ist, dass er vernachlässigt werden kann, vermeiden, so ist das Trocknen im Vacuum über Schwefelsäure bis zum constanten Gewicht fortzusetzen. Das erfordert natürlich lange Zeit.

Bestimmung des Gesamtstickstoffs und einzelner anorganischer Bestandteile in der Milch.

742. Der Gesamtstickstoff wird nach § 528 b, der Gesamtschwefel nach § 520, das Gesamteisen nach § 512, die Gesamtphosphorsäure nach § 523, Kalium und Natrium nach § 509, Calcium und Magnesium nach § 510, Salzsäure nach § 516 bestimmt. Man benutzt 5 ccm Milch, um den Stickstoff, 200 ccm, um Eisen, 15 bis 25 ccm, um die übrigen Stoffe zu bestimmen.

Bestimmung des Gesamtproteinstoffgehaltes in der Kuh- und Frauenmilch.

nach Sebelien. 743. Verfahren nach Sebelien[2]). 5 oder 10 ccm Milch werden mit mindestens dem neunfachen Vol. Wasser verdünnt, mit etwas Kochsalzlösung

1) B. Z. **5**. 118. (1907.)
2) H.-S. **13**. 157. (1889.)
J. Munk, Virch. A. **134**. 501. (1893.)

versetzt und in der Kälte mit Almén'scher Gerbsäurelösung (Anh.) im Ueberschuss (etwa $1^1/_2$ fache Menge der Milch) gefällt. Der Niederschlag wird abfiltriert (man bringe zuerst die überstehende Flüssigkeit und zuletzt erst den Niederschlag auf das Filter), mit kaltem Wasser ausgewaschen und samt Filter nach Kjeldahl (§ 528 b) behandelt. Multiplication des erhaltenen Stickstoffwertes mit 6,37 gibt den Proteinstoffgehalt.

744. Verfahren nach Ritthausen[1])-Munk[2]). 10 ccm Milch werden in einem 250 ccm fassenden Becherglase mit Wasser auf 100 ccm verdünnt (bei Frauenmilch genügt schon Verdünnung auf 60 ccm), falls die Reaction deutlich alkalisch ist, neutralisiert, erhitzt, zuerst 1—2 ccm Alaunlösung, dann, wenn die Flüssigkeit eben ins Sieden gerät, 2—5 ccm von aufgeschwemmtem Kupferoxydhydratbrei*) hinzugefügt und einige Minuten im Sieden erhalten. Der zumeist feinflockige Niederschlag, welcher sich, sobald die Mischung vom Feuer genommen ist, schnell absetzt, wird noch warm abfiltriert, auf dem Filter mit heissem Wasser ausgewaschen und samt Filter noch feucht nach Kjeldahl (§ 528b) behandelt. Umrechnung auf Proteinstoff wie beim vorstehenden Verfahren. nach Ritthausen-Munk.

Beide Methoden geben die gleichen Werte.

Bestimmung von Casein, Albumin + Globulin, Milchzucker und Fett (d. h. ätherlösliche Substanzen) in der Milch.

745. a) in der Kuh- und Ziegenmilch und der Milch anderer Tiere (ausser Eselinmilch). Man misst von der gut gemischten Milch 20 ccm ab oder wägt eine entsprechende Menge, vermischt sie in einem Becherglase mit etwa 380 ccm Wasser, fügt unter Umrühren sehr verdünnte Essigsäure tropfenweise hinzu, bis ein flockiger Niederschlag sich zeigt, leitet dann $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde Kohlensäure hindurch und lässt bis zum nächsten Tage stehen. Es ist zweckmässig, drei Portionen in dieser Weise zu behandeln und diejenige, bei der die Abscheidung am besten gelungen ist, weiter zu verarbeiten. Man bringt zuerst die klare Flüssigkeit, dann den Niederschlag (zuletzt mit Hülfe kleiner Mengen des Filtrats) auf ein stickstofffreies Filter und wäscht mit Wasser nach. Man erhält so einen Filterrückstand (1) und ein Filtrat (2). in tierischer Milch.

*) Man stellt denselben nach Stutzer so dar: 100 g krystallisiertes Kupfersulfat werden in 5 Liter Wasser gelöst und mit 2,5 g Glycerin versetzt. Aus dieser Lösung wird durch Zusatz verdünnter Natronlauge bis zur alkalischen Reaction das Kupfer als Hydrat ausgefällt. Es wird abfiltriert und durch Anreiben mit 0,5 pCt. Glycerin enthaltendem Wasser aufgeschlemmt, durch wiederholtes Decantieren und Filtrieren von den letzten Spuren Alkali befreit, der Filterrückstand mit 10 pCt. Glycerin enthaltendem Wasser verrieben und zu einer solchen Verdünnung gebracht, dass eine gleichmässige mit der Pipette aufsaugbare Masse entsteht. Diese ist, in dunkler Flasche aufbewahrt, haltbar.

1) J. f. pr. Ch. N. F. **15**. 329. (1877.)

2) Virch. A. **134**. 501. (1893.)

1. Der Filterrückstand, welcher Casein und Fett enthält, wird mit starkem Alkohol übergossen, das Filtrat in einem Becherglase aufgefangen, so lange zurückgegossen, bis es klar abläuft und dann bei niedriger Temperatur (unter 60°) verdunstet. Jetzt nimmt man den Rückstand mit Aether auf, bringt die ätherische Lösung in den Kolben eines Soxhlet-schen Extractionsapparates, spült mit Aether nach, bringt andererseits den alkoholfeuchten Niederschlag in das Extractionsgefäss desselben Apparates und extrahiert längere Zeit. Der das Fett enthaltende Aether (+ Waschäther) wird nun in einem gewogenen Becherglase verdunstet, im Exsiccator
Fett. oder im Vacuumexsiccator getrocknet und gewogen: Fett (+ Phosphatide + Cholesterin). Das Casein (mit dem Filter) wird nach Kjeldahl (§ 528b) behandelt (man bringe in die Vorlage 100 ccm $^n/_{10}$ Säure!). Der gefundene
Casein. Stickstoffwert ergibt, mit 6,37 multipliciert, das Casein.

Das ausgefällte Casein (+ Fett) kann auch auf aschefreiem, bei 120° getrocknetem und gewogenem Filter gesammelt und nach der Entfettung wieder bei 120° bis zum constanten Gewicht getrocknet und gewogen werden. In diesem Falle ist es nötig, Filter + Casein im Platintiegel mit kleiner gewogener Menge Eisenoxyd zu veraschen und das Gewicht der Asche in Abzug zu bringen. Ebenso lässt sich auch das Albumin + Globulin (siehe 2) gewichtsanalytisch bestimmen. Eine Veraschung ist dabei nicht nötig.

2. Das Filtrat, welches Albumin + Globulin, Milchzucker und etwas gelöste Proteinsubstanz enthält, wird in einer Porzellanschale zum Kochen erhitzt und einige Minuten im Sieden erhalten. Man sammelt den entstandenen Niederschlag auf stickstofffreiem Filter, wäscht mehrmals mit kaltem Wasser und behandelt Filter und Niederschlag nach Kjeldahl.
Albumin + Globulin. Der gefundene Stickstoffwert mit 6,37 multipliciert ergibt Albumin + Globulin. Das Filtrat (+ Waschwasser) wird nach dem Erkalten gut gemischt und gemessen. Man füllt mit der Flüssigkeit eine Bürette und benutzt sie zur Titration von 20 ccm Fehling'scher Lösung, die mit 80 ccm Wasser verdünnt sind, in der § 576 a angegebenen Weise. Da 20 ccm
Milchzucker. Fehling'sche Lösung 0,134 g Milchzucker entsprechen, ist der Gehalt der ganzen Flüssigkeitsmenge an Milchzucker leicht zu berechnen.

Der für die Titration nicht gebrauchte Rest wird gemessen und bei mässiger Wärme zum dünnen Syrup eingedampft. Dabei scheidet sich noch etwas Proteinstoff ab. Hoppe-Seyler hält ihn für Casein und schreibt vor, ihn in derselben Weise wie die Hauptmenge des Caseins zu bestimmen und diesem hinzuzurechnen. Es könnte sich aber auch um erst nachträglich abgeschiedenes Albumin oder Globulin oder um einen Körper eigener Art handeln. In letzterer Beziehung wäre an das Nucleon von Siegfried zu denken, welches nach Siegfried aus der mit Wasser verdünnten, durch Essigsäure und Kohlensäure von Casein und durch Aufkochen von Albumin und Globulin befreiten Milch als Eisenverbindung isoliert wird (S. 496). Die Entscheidung dieser Frage ist besonders mit Rücksicht auf die Auffassung des Nucleons als eines individuellen Körpers von Bedeutung.

b) in der Frauenmilch. In der beschriebenen Ausführung eignet sich diese Methode für menschliche Milch nicht, weil das Frauenmilchcasein durch Essigsäure und Kohlensäure nur unvollkommen gefällt wird (Hoppe-Seyler). Nach J. Schmidt[1]) und meiner eigenen Erfahrung kann aber das Verfahren auch für diese Milch benutzt werden, wenn die Milch-Wassermischung während des Ansäuerns mit Essigsäure und während des halbstündigen Einleitens der Kohlensäure auf 40° gehalten wird. in der Frauenmilch.

Bestimmung von Casein, der Summe der übrigen Proteinstoffe und Fett (d. h. ätherlösliche Substanzen) in tierischer Milch*) nach Schlossmann[2]).

746. Man verdünnt 10 ccm gut gemischter Milch (abgemessen oder abgewogen) mit 30—50 ccm Wasser, erwärmt vorsichtig auf dem Wasserbade auf 40°, fügt 1 ccm einer conc. Kalialaunlösung hinzu und wartet unter Umrühren ab, ob eine mittelflockige Coagulation und rasches Absitzen der Coagula erfolgt. Ist das nicht der Fall, so fügt man weiter $^1/_2$ ccm der Alaunlösung hinzu, rührt um, wartet $^1/_2$ Min. und fährt in dieser Weise fort, bis Coagulation und Abscheidung erfolgt. Die Temperatur soll andauernd 40° betragen, ein kleiner Ueberschuss von Alaunlösung (bis 1 ccm) schadet nichts. Man wartet nun noch einige Minuten und filtriert dann durch ein stickstofffreies Filter. Läuft die Flüssigkeit trübe durch, so muss das Filtrat zurückgegossen werden, bis es völlig klar ist. Zuletzt wird mehrmals mit Wasser gewaschen.

Der Filterrückstand, welcher Casein und Fett enthält, wird nach § 745 a 1 weiter behandelt. Soll keine Fettbestimmung ausgeführt werden, so schliesst man direct das Kjeldahlverfahren an (§ 528 b). Casein. Fett.

Die nach diesem Verfahren gefundenen Werte für Casein stimmen mit den durch Essigsäure- und Kohlensäurefällung (§ 745) erhaltenen überein (Simon[3]).

Das Filtrat wird mit 10 ccm Almén'scher Lösung (Anh.) versetzt, der entstehende voluminöse Niederschlag abfiltriert, mit Wasser gewaschen und nach Kjeldahl verbrannt. Der gefundene Stickstoff mit 6,34 multipliciert ergibt die Menge Proteinstoffe, welche ausser dem Casein in der Milch enthalten ist. die übrigen Proteinstoffe.

Bestimmung von Casein (+ Globulin) und Albumin in menschlicher und tierischer Milch.

747. Man misst oder wägt 10 ccm der gut gemischten Milch ab, fügt 30—40 ccm gesättigte Magnesiumsulfatlösung und etwas mehr pulverisiertes Magnesiumsulfat, als sich zu lösen vermag, hinzu, lässt unter häufigem Umrühren einige Stunden stehen, filtriert dann durch ein stickstofffreies Filter ab und wäscht mehrmals mit gesättigter Magnesiumsulfat-

---

*) Nach Schlossmann Kuh-, Ziegen-, Schweine- und Eselinmilch.

1) Maly's Jbr. 1884. S. 175.

2) H.-S. **22**. 221. (1897.)

3) H.-S. **33**. 498. (1901.)

lösung nach. Die Filtration geht nur langsam von statten, die Anwendung der Wasserstrahlpumpe bietet eher Nachteil als Vorteil.

Der Niederschlag, welcher Casein, Globulin und Fett enthält, wird direct oder nach Entfernung des Fettes (§ 745 a 1) nach Kjeldahl (§ 528 b) behandelt und der gefundene Stickstoffwert mit 6,37 multipliciert: Casein + Globulin.

Casein + Globulin.

Das Filtrat (+ Waschwasser) wird mit etwas Wasser verdünnt, mit Essigsäure angesäuert, zum Kochen erhitzt und einige Minuten im Sieden erhalten. Der durch ein stickstofffreies Filter abfiltrierte und mit Wasser gewaschene Niederschlag wird nach Kjeldahl behandelt und der gefundene Stickstoff mit 6,37 multipliciert: Albumin.

Albumin.

Bestimmung des Fettes (d. h. ätherlösliche Substanzen) in der Milch.

748. Die in den §§ 745—747 beschriebenen Methoden gestatten auch eine genaue Bestimmung des Fettes in der § 745 a 1 angegebenen Weise. Diese Verfahren sind indessen zu umständlich, wenn es sich lediglich um eine Ermittelung des Fettgehaltes handelt.

Von den vielen speciell für die Zwecke der Fettbestimmung vorgeschlagenen Verfahren sollen die drei folgenden beschrieben werden; die beiden ersten sind gewichtsanalytische, das dritte ist ein aräometrisches.

Bestimmung: im Soxhlet'schen Extractionsapparat.

a) Man bringt 5—10 ccm der gut gemischten Milch tropfenweise auf reinen ausgeglühten Sand, der sich in der Papierhülse des Soxhlet'schen Extractionsapparats befindet, trocknet längere Zeit bei 100° und extrahiert nun mit Aether. Die ätherische Lösung wird dann unter Nachspülen mit Aether in ein gewogenes Becherglas übergeführt und verdunstet; der Rückstand wird im Exsiccator getrocknet und gewogen.

nach Hoppe-Seyler.

b) nach Hoppe-Seyler. Man bringt 30 ccm Milch in einer gut verschliessbaren Flasche mit etwa 1,5 ccm starker Kalilauge (1,27 spec. Gew.) und etwa 100 ccm Aether zusammen und bewirkt durch vorsichtige drehende Bewegungen während längerer Zeit eine ausgedehnte Berührung beider Flüssigkeiten. Ein starkes Schütteln ist wegen der dabei leicht eintretenden Emulsionsbildung zu vermeiden. Nach guter Trennung beider Schichten giesst man die klare ätherische Lösung durch ein trockenes Filter in einen geräumigen Kolben, bringt eine neue Aetherportion zu der Milch hinzu, mischt wieder in derselben Weise, filtriert durch das gleiche Filter in denselben Kolben und wiederholt das so lange, bis eine Probe der abgegossenen Aetherlösung beim Verdunsten in einem Becherglase keinen beachtenswerten Fettrückstand hinterlässt. Man destilliert jetzt einen grossen Teil des Aethers ab, bringt den Rest in ein gewogenes Becherglas, spült mit kleinen Mengen Aether nach, verdunstet den Aether, trocknet im Exsiccator oder Vacuumexsiccator und wägt.

nach Soxhlet.

c) nach Soxhlet.

Princip. Man führt das Fett in ätherische Lösung über, bestimmt das specifische Gewicht und die Temperatur dieser Lösung und liest aus einer Tabelle den Fettgehalt ab.

Erforderliche Lösungen und Apparate. 1. Kalilauge vom spec. Gewicht 1,27.

2. Mit Wasser gesättigter Aether.

3. Ein grosses Gefäss mit etwa 4 Liter Wasser von 17—18° gefüllt und zum Einstellen der Milchflasche *(G)* bestimmt.

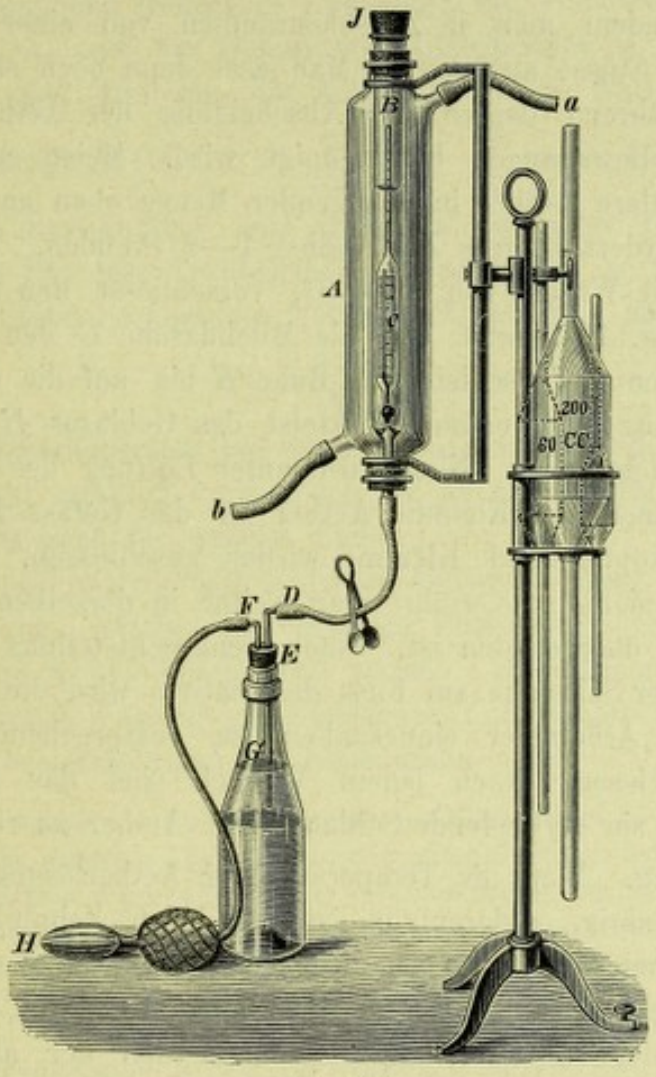


Fig. 19.

4. Der in Fig. 19 abgebildete Apparat*): Je eine Pipette zu 200, 60 und 10 ccm. Das Gefäss B, welches, von einem Wassermantel A umgeben, oben durch einen Stopfen J verschlossen ist und sich nach unten verjüngt. Ueber diese Verjüngung ist ein Gummischlauch gezogen, welcher das Gefäss mit dem rechtwinklig gebogenen Glasrohr D verbindet. Dieses Rohr steckt in der einen Bohrung des die Flasche G (von 300 ccm Inhalt) verschliessenden Stopfens E, die andere Bohrung füllt ein unter dem Stopfen abschneidendes Rohr F aus, das mit dem Gebläse H verbunden ist. In dem Gefäss B befindet sich das feine mit Thermometer versehene Aräometer c. Dasselbe ist sehr zerbrechlich

*) Derselbe wird von Johannes Greiner in München hergestellt.

und vorsichtig einzuführen u. z. nachdem man das Gefäss (durch Verstellen des um seine horizontale Achse drehbaren Trägers) in eine ziemlich wagerechte Lage gebracht hat.

Ausführung. Man bringt 200 ccm der 17—18° warmen und gut gemischten Milch in die Flasche *G*, fügt 10 ccm Kalilauge und nach Umschütteln 60 ccm Aether von 17,5—18,5° hinzu, verschliesst sofort mit einem soliden Kautschukstopfen und schüttelt $^1/_2$ Minute lang gut durch. Jetzt wird die Flasche in das Wasser von 17—18° eingesetzt und $^1/_4$ Stunde darin gelassen, indem man in Zwischenräumen von einer halben Minute 3—4 senkrechte Stösse ausführt*). Man lässt dann noch eine Viertelstunde ruhig stehen, während dessen die Abscheidung der Aetherschicht durch einige drehende Bewegungen beschleunigt wird. Meist sammelt sich in dieser Zeit der klare Aether in genügender Menge oben an; nur sehr fettreiche Milch erfordert längere Zeit, selbst 1—2 Stunden. Jetzt füllt man das Gefäss *A* mit Wasser von 17—18°, verschliesst den Schlauch durch eine Klemme (Fig. 19), setzt auf die Milchflasche *G* den mit Glasröhren versehenen Stopfen auf, schiebt das Rohr *E* bis auf die unterste Schicht reiner Aetherlösung und erzeugt mittelst des Gebläses *H* einen positiven Druck in der Milchflasche. Nun wird unter Lüftung des Stopfens *J* und vorsichtigem Oeffnen der Klemme Aether in das Gefäss *B* getrieben und darauf sofort Stopfen und Klemme wieder geschlossen. Schwimmt das Aräometer noch nicht, so verfährt man weiter in derselben Weise, bis genügend Aether übergetreten ist. Nach Senkrechtstellung des Apparates (durch Drehen der Schraube am Fuss des Stativs) wird die dem Teilstrich, bis zu der das Aräometer eingesunken ist, entsprechende Zahl und die Temperatur abgelesen. Nach jedem Versuch sind das Gefäss *B*, das Rohr *D* und der sie verbindende Schlauch mit Aether zu reinigen.

Berechnung. War die Temperatur der Aetherlösung 17,5°, so ist keine Correctur nötig, anderenfalls ist für jeden Zehntelgrad, den das Thermometer höher steht, 0,1 zur Angabe des Aräometers hinzuzufügen und für jeden Zehntelgrad, den es tiefer steht, 0,1 von der Angabe abzuziehen. Aus der Tabelle (Anh.) liest man den der abgelesenen bzw. corrigierten Zahl entsprechenden Procentgehalt an Fett ab. Die Zahlen, welche in der Tabelle als spec. Gewichte angegeben sind, sind die Ergänzungen für 0,7000 in der zweiten bis vierten Decimalstelle. 43,0 entspricht also dem spec. Gewicht 0,7430.

Bestimmung des Milchzuckers in der Milch.

durch Polarisation.

749. 1. durch Polarisation. Man bringt 50 ccm der gut gemischten Milch in einen Kolben von etwa 150 ccm Inhalt, fügt 25 ccm einer Lösung

*) Diese Vorschriften sind genau zu befolgen.

von neutralem Bleiacetat hinzu, verschliesst mit einem Stopfen, in dessen Durchbohrung das untere Ende eines geraden, ungefähr 30 cm langen Glasrohres steckt, und erhitzt nach gutem Umschütteln mit kleiner Flamme zum einmaligen Aufkochen. Nach völligem Erkalten, während dessen der entwickelte und im Glasrohr verdichtete Dampf wieder zurückgeflossen ist, wird durch ein trockenes Filter in ein trockenes Gefäss filtriert und das klare (event. mehrfach auf das Filter zurückgegossene) Filtrat polarisiert. Betrug die Länge des Rohres 2 Decimeter, die Temperatur 20°, der abgelesene Winkel a und der Gehalt des Milchzuckers in 100 ccm Milch x, so ist, da die spec. Drehung des Milchzuckers bei Natriumlicht und bei 20° + 52,53 beträgt (§ 102), $x = \frac{a \,.\, 100}{52{,}53 \,.\, 2} \cdot \frac{3}{2} = a \,.\, 1{,}4277$ (§ 32).

Wurde die Bestimmung mit einem Saccharimeter (§ 34) ausgeführt und wurden die Procente Traubenzucker p abgelesen, so ist (die specifische Drehung des Traubenzuckers bei Natriumlicht zu 52,6 angenommen):

$$x = \frac{p \,.\, 52{,}6}{52{,}53} \cdot \frac{3}{2}$$

Da die Farbendispersion bei der Circumpolarisation durch Trauben- und Milchzucker nicht merklich verschieden ist, so gilt der für Natriumlicht gefundene Quotient auch für weisses Licht.

2. durch Titration mit Fehling'scher Lösung. Die Ausführung dieser Bestimmung, welche die vorherige Entfernung der Proteinstoffe erfordert, ist schon § 745 beschrieben worden. Die kleinen Mengen Proteinkörper, welche nach Fällung mit Essigsäure, Kohlensäure und Kochen noch gelöst bleiben, beeinträchtigen die Genauigkeit nicht. durch Titration nach Fehling.

Sebelien[1]) erhielt bei der Bestimmung des Milchzuckers in der Milch mit Hülfe von Fehling'scher Lösung (Wägung des reducierten Kupferoxyduls als Kupfer) immer um 1—3 pM. niedrigere Werte als bei der polarimetrischen Bestimmung. Er schliesst daraus auf die Anwesenheit anderer reducierender Substanzen, welche stärker rechtsdrehend sind, als Milchzucker und meint, dass eine dieser Substanzen eine Pentose sei.

3) durch Titration mit Pavy'scher Flüssigkeit nach Shimidzu[2]). 10 ccm Milch werden nach § 744 von Proteinen befreit, das Filtrat (+ Waschwasser) wird auf 200 ccm aufgefüllt. Man bringt 50 ccm in ein Becherglas, fügt 6,9 ccm 36 proc. Salzsäure (spec. G. 1,18) hinzu (sodass die Flüssigkeit 5 pCt. HCl. enthält) und erhitzt $^1/_2$—1 St. im Dampfbad zum Kochen. Nach dem Abkühlen fügt man 18 ccm 15 proc. Natronlauge (spec. G. 1,17) hinzu, so dass die Reaction ganz schwach sauer wird, führt in einen Masskolben von 100 ccm über und füllt mit Wasser bis zur Marke auf. Nun titriert man nach Pavy (§ 576 b). Der Procentgehalt der Milch an Milch- durch Titration nach Pavy.

1) Hammarsten-Festschrift No. 17. (1906.)
2) B. Z. **13**. 243. (1908.)

zucker (p) ergibt sich aus folgender Formel, worin V die Menge der bis zur Endreaction verbrauchten Cubikcentimeter bedeutet

$$p = \frac{0{,}0109 \,.\, 100 \,.\, 40}{V}$$

Bestimmung des Stickstoffs der Extractivstoffe in der Milch.

750. Man erfährt die Menge des Stickstoffs der Extractivstoffe (des sogen. Reststickstoffs) durch Subtraction des nach § 743 ermittelten Stickstoffs der Gesamtproteinstoffe von dem nach Kjeldahl (§ 528 b) ermittelten Gesamtstickstoff der Milch oder auch in der Weise, dass man die gesamten Filtrate der nach § 743 erhaltenen Niederschläge auf ein kleines Volumen einengt und in diesem den Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt.

Quantitative Analyse der Milch.

Dieselbe wird ausgeführt nach den für die quantitative Analyse der serösen Flüssigkeiten angegebenen Vorschriften (§ 636).

Bestimmung der Citronensäure in der Milch nach A. Scheibe[1]).

751. Abscheidung. 400 ccm Milch werden mit 4 ccm 2,5 n-Schwefelsäure versetzt, aufgekocht, nach Zufügen von 10 g spanischer Klärerde, die mit Wasser zu einem dicken Schleim angerührt sind, nochmals aufgekocht und nach dem Erkalten quantitativ in einen Halblitermasskolben unter Nachspülen mit Wasser übergeführt. Man füllt bis zur Marke mit Wasser auf, mischt und filtriert. (Ist das Filtrat nicht klar, so muss nochmals spanische Klärerde angewendet werden.) Man misst jetzt 100 ccm des Filtrates ab, fügt so viel Barytwasser hinzu, dass die zugefügte Schwefelsäure gerade gesättigt und die ursprüngliche Reaction der Milch wieder hergestellt ist, dampft zum Syrup ein und fügt 3,2 ccm 2,5 n. Schwefelsäure (eine Menge, die genügt, um die Citronensäure frei zu machen), darauf allmählich 20 ccm abs. Alkohol und nach kurzem Absitzenlassen 60 ccm Aether hinzu. Dadurch wird aller Milchzucker ausgefällt, während die Citronensäure in Lösung bleibt. Die Mischung wird durch Baumwolle in einen Destillationskolben filtriert, das Filtrat mit alkoholischem Ammoniak (100 ccm conc. Ammoniak, 900 ccm Alkohol) bis zur bleibenden Trübung versetzt und bis auf etwa 20 ccm abdestilliert. Aus dem Rückstande scheidet man durch Zufügen von 60 ccm absolutem Alkohol und 10 ccm alkoholischem Ammoniak die Citronensäure als Triammoniumverbindung völlig ab. Der beim Stehen sich abscheidende Niederschlag enthält ausserdem noch etwas schwefelsaures, phosphorsaures und salzsaures Ammoniak und ein wenig organische Substanz, die durch Wiederholung der Fällung mit alkoholischem Ammoniak entfernt werden muss.

Ein Gehalt der Milch an Milchsäure ist ohne Nachteil, da diese Säure durch alkoholisches Ammoniak nicht gefällt wird.

Bestimmung.

Princip. Die Citronensäure wird mit einer bestimmten Menge Kaliumbichromat versetzt und das zur Oxydation der Citronensäure nicht gebrauchte Bichromat durch Titration mit Ferroammonsulfat zurückgemessen.

---

1) Die landwirtschaftlichen Versuchsstationen. **39**. 153. (1891.)

Erforderliche Lösungen. 1. Eine 4,61 proc. Lösung von Kaliumbichromat. 1 ccm derselben sollte nach der Gleichung $C_6H_8O_7 + 6\,CrO_3 = 6\,CO_2 + 3\,Cr_2O_3 + 4\,H_2O$ 0,01 g Citronensäure entsprechen; nach den ausgeführten Titrierungen entspricht er aber 0,0102 g. 2. Eine Lösung, die in 1000 ccm 150 g Ferroammonsulfat und 100 ccm conc. Schwefelsäure enthält. Um den Wirkungswert dieser Lösungen zu einander festzustellen, misst man 20 ccm der letzteren ab, fügt 80 ccm Wasser hinzu und lässt aus einer Bürette die Kaliumbichromatlösung hinzufliessen, bis ein Tropfen der Mischung mit Ferrocyankalium keine Blaufärbung mehr gibt. 20 ccm der Eisenlösung verbrauchen 7,7—8 ccm der Bichromatlösung.

Ausführung. Das citronensaure Ammoniak wird in Wasser gelöst. Die auf 20 ccm concentrierte Lösung wird mit 20—30 ccm (genau gemessen) der Bichromatlösung und 20—25 ccm conc. Schwefelsäure vorsichtig unter Umrühren versetzt und darauf etwa $^1/_4$ Stunde erhitzt (aber nicht bis zum Sieden). Die Oxydation ist dann zu Ende, die Kohlensäureentwickelung hat aufgehört. Man verdünnt jetzt mit 50 ccm Wasser, setzt (gemessene Mengen) Ferroammonsulfatlösung im Ueberschuss hinzu, bis die braune Farbe in eine grüne übergegangen ist, und titriert nun mit Bichromat zurück.

Die Berechnung ist einfach.

Untersuchung des Secretes der Talgdrüsen und der diesem ähnlich zusammengesetzten Secrete.

752. Hierher gehören ausser dem Hauttalg[1]) die Vernix caseosa[2]), der Wollschweiss der Schafe[3]), das Secret der Bürzeldrüse der Vögel[4]), das Smegma[5]), das Ohrenschmalz[6]), der Inhalt der Balggeschwülste und Dermoidcysten[7]).

753. **Bestandteile.** Diese Massen haben eine salbenförmige oder dünn-

---

1) Hoppe-Seyler, Physiol. Chem. S. 760.
Linser, D. A. f. k. M. **80**. 201. (1904.)
Röhmann, Ref. C. f. Ph. **19**. 317. (1906.)

2) Liebreich, Virch. A. **121**. 383. (1890.)
Ruppel, H.-S. **21**. 122. (1896.)

3) Hartmann, Diss. Göttingen 1868.
E. Schulze, B. **5**. 1075. (1872.) **6**. 251. (1873.)
Liebreich, a. a. O.
Darmstaedter u. Lifschütz, B. **29**. (1896.) u. **31**. (1898.) mehrere Arbeiten.
Röhmann, Ref. C. f. Ph. **19**. 317. (1906.)

4) de Jonge, H.-S. **3**. 225. (1879.)
Röhmann, B. Ph. P. **5**. 110. (1904.)

5) C. G. Lehmann, L. Gmelin, Handb. d. Chem. **8**. 295.
Linser, a. a. O.

6) Petrequin, C. r. **68**. 940. (1869.) **69**. 987. (1869.)
Lamois u. Martz, Ref. Maly's Jbr. 1897. S. 40.
Linser, a. a. O.

7) Sotnitschewsky, H.-S. **4**. 345. (1880.)
v. Zeynek, H.-S. **23**. 40. (1897.)
Linser, a. a. O. Ameseder, H.-S. **52**. 121. (1907.)

breiige Consistenz und enthalten mehr oder weniger Epithelzellen, manche auch Fetttröpfchen und Cholesterinkrystalle beigemengt.

Alle zeichnen sich durch einen reichen Fettgehalt aus u. z. enthalten manche z. B. die Vernix caseosa neben dem gewöhnlichen Fett noch Cholesterin- und Isocholesterinfett (§§ 231 und 228). Der Wollschweiss der Schafe enthält ebenfalls diese beiden letzteren Fette, ferner Lanocerin (S. 81). Das Fett der Bürzeldrüse besteht zum grösseren Teil aus Octadekylalkohol-, zum kleineren Teil aus Glycerinestern höherer Fettsäuren (Röhmann). Ester des Octadekyl- und des Eikosylalkohols sind wahrscheinlich auch in dem Fett der Dermoidcysten (Ameseder) vorhanden. Auch im Secret der Hauttalgdrüsen scheinen neben wenig echtem Fett Ester des Eikosylalkohols sich zu finden. Die Atherombälge enthalten viel Cholesterin (Linser). Im Secret der Blattlaus wurde Psyllaalkohol in Verbindung mit Psyllasäure nachgewiesen. Was die Säurecomponenten der Fette betrifft, so handelt es sich in der Hauptsache um höhere Fettsäuren. Im Dermoidcystenfett sind nachgewiesen Palmitinsäure, Stearinsäure, Oelsäure, Myristinsäure, Arachinsäure neben wenig Ameisensäure und Buttersäure (v. Zeynek). Ueber die Fettsäuren aus dem Bürzeldrüsenfett siehe Röhmann.

Ausser dem Fett kommen in diesen Secreten Phosphatide, Cholesterin (im Secret der Bürzeldrüsen fehlt es nach Röhmann), Proteinstoffe und anorganische Salze vor. Unter den Proteinstoffen fand sich im Hauttalg und in der Bürzeldrüse ein proteid-(casein-)artiger Stoff (de Jonge). Zucker ist nicht vorhanden. In Atherombälgen sind auch Leucin und Tyrosin enthalten.

754. Die **Untersuchung** dieser Massen geschieht wie die seröser Flüssigkeiten (§ 612 ff.); nur in Betreff der Proteinstoffe und der unverseifbaren ätherlöslichen Stoffe ist noch einiges zu bemerken.

Proteinstoffe. Proteinstoffe. Da alle diese Secrete keine Flüssigkeiten darstellen, so sind die Proteinstoffe, soweit sie löslich sind, zunächst in wässerige Lösung zu bringen. Das geschieht, indem man die salbenförmigen oder breiigen Massen mit Wasser zerreibt oder schüttelt und dann filtriert. Die Filtrate werden nach § 619 untersucht.

In der auf diese Weise aus dem Secret der Bürzeldrüse und aus dem Hauttalg erhaltenen wässerigen Lösung rief Kohlensäure einen flockigen Niederschlag hervor, der in 7proc. Kochsalzlösung unlöslich, in Natriumcarbonat und verd. Salzsäure löslich war. Im Filtrat von diesem Niederschlag entstand durch Kochen eine weitere Fällung.

Unverseifbare, ätherlösliche Stoffe. Unverseifbare ätherlösliche Stoffe. Sie werden isoliert, indem man den nach § 632 gewonnenen Aetherextract nach § 94 verseift, die verseifte Masse mit Aether extrahiert und den Aetherauszug verdunstet, und können aus Cholesterin, Isocholesterin, anderen noch unbekannten cholesterinartigen Alkoholen und Octadekyl- und Eikosylalkohol bestehen. Man löst den Aetherrückstand in heissem absolutem Alkohol. Beim Erkalten scheidet sich Cholesterin, Isocholesterin, Octadekyl- und Eikosylalkohol aus,

während cholesterinartige Alkohole, wie sie sich nach v. Zeynek in den Dermoidcysten finden, in Lösung bleiben. Zur Trennung der aliphatischen Alkohole von Cholesterin benutzt man fractionierte Krystallisation aus Alkohol, zur Trennung von Cholesterin und Isocholesterin (Wollschweiss, Vernix caseosa) verfährt man nach § 228. Cholesterin wird nach § 225, Isocholesterin nach § 228, Octadekyl- und Eikosylalkohol nach § 88 identificiert.

Ueber die noch wenig bekannten cholesterinartigen Alkohole, welche in den Dermoidcysten gefunden wurden, siehe bei v. Zeynek. Sie sind auch von Linser gefunden worden (Dermoolein von Röhmann).

Untersuchung des Spermas.

755. Das menschliche Sperma, ein Secret von dickflüssiger Beschaffenheit, weisslicher bis gelblicher Farbe und milchigem Aussehen, besteht aus der sogen. Zwischenzellenflüssigkeit und den Spermatozoen. Es reagiert alkalisch und enthält etwa 10 pCt. Trockenrückstand, darunter sehr wenig ätherlösliche Substanzen, anorganische Salze (etwa 0,9 pCt. hauptsächlich Natriumchlorid und Calciumphosphat) und Proteinstoffe (etwa 2 pCt.) u. z. sowohl durch Essigsäure schon in der Kälte als auch erst beim Erhitzen nach Ansäuern mit Essigsäure fällbare, ferner Albumosen*). Unter den durch Essigsäure in der Kälte fällbaren Proteinstoffen findet sich ein Nucleoproteid, welches den Spermatozoen angehört, und wohl auch Glukoproteid (Slowtzoff[1]).

Während das menschliche Sperma noch nicht genauer untersucht worden ist, sind eingehende Arbeiten über das Sperma von Fischen, besonders über das Lachssperma ausgeführt worden (Miescher[2]). Auf dieses beziehen sich die folgenden Angaben.

Untersuchung des Lachsspermas.

756. **Trennung in Zwischenzellenflüssigkeit und Spermatozoen.** Dieselbe geschieht durch Centrifugieren des ganz frischen Spermas, noch vollständiger, wenn das ganz frische Secret vorher mit einer Glaubersalzlösung (1,02 spec. Gew.) vermischt wird.

757. **Trennung der Spermatozoen in Köpfe und Schwänze.** Dieselbe gelingt durch wiederholtes Centrifugieren der Spermatozoen mit immer erneutem Wasser, bis die centrifugierte Flüssigkeit ganz klar ist. Die Köpfe bleiben als Sediment zurück, während die Schwänze unter Quellung und Trübung der Flüssigkeit in diese übergehen.

---

*) Nach Posner, welcher Abumosen zuerst fand (B. k. W. 1888. S. 417), stammen sie aus accessorischen Drüsen (C. f. med. W. 1892. S. 225.)

1) H.-S. **35**. 358. (1902.)

2) Verhandl. d. naturh. Gesellsch. in Basel. **6**. Heft 1. S. 138. (1874.) A. exp. P. u. Ph. **37**. 100. (1896.)

758. **Untersuchung.** 1. der Zwischenzellenflüssigkeit. Sie ist völlig klar, wasserhell, alkalisch und enthält anorganische Salze (Natrium, Kalium, Salzsäure, Schwefelsäure, Kohlensäure), Spuren von Eiweiss (ganz geringe Abscheidung auf Zusatz von Ferrocyankalium + Essigsäure), kein Pepton.

2. der die Schwänze enthaltenden Flüssigkeit. Durch Zufügen von überschüssigem Ammonacetat und einigen Tropfen Salzsäure entsteht ein Niederschlag, welcher durch Behandeln mit Alkohol und Aether in einen in diesen Flüssigkeiten löslichen und einen darin unlöslichen Teil getrennt werden kann. Der erstere besteht aus Cholesterin, Phosphatid, Fett und wird nach § 718 untersucht, der letztere aus Proteinsubstanz.

3. der Köpfe. Dieselben bestehen zum allergrössten Teil aus nucleinsaurem Salmin. Man extrahiert sie mit Alkohol und Aether (wobei äusserst wenig in Lösung geht, darunter kein Lecithin) und darauf bei niedriger Temperatur mit 0,25—0,5 proc. Salzsäure. Dabei wird Salmin gelöst, während Nucleinsäure ungelöst bleibt. Aus dem Filtrat lässt sich Salmin mittelst Platinchlorid ausfällen.

Das unreife Sperma von Fischen (bei manchen auch das reife Sperma) enthält statt der Protamine Histone. Im Sperma von Fisch, Hahn, Stier (Miescher), von Stier und Eber (Mathews[1]) konnte keine protamin- oder histonartige Substanz nachgewiesen werden.

Ueber die Darstellung der Protamine aus Sperma vergl. § 375, der Histone aus Sperma § 367 ff. und über die Darstellung der Nucleinsäuren aus Sperma § 437.

6. Untersuchung des Darminhaltes.

Untersuchung des Dünndarminhaltes.

759. **Bestandteile.** Der Chymus, wie er in einem Fall einer Darmfistel beim Menschen aus dem untersten Ende des Dünndarms nach gemischter Ernährung ausfloss, stellte eine dünnbreiige, gelb bis gelbbraun gefärbte, fast geruchlose Masse von saurer Reaction dar. Es fanden sich in ihm in der Hitze gerinnendes Eiweiss, Pepton, Mucin, Stärke, Dextrin, Zucker, Milchsäure, flüchtige Fettsäuren, besonders Essigsäure, Gallensäuren, Bilirubin, aber kein Leucin und Tyrosin und keine Endproducte der Fäulnis oder höchstens Spuren (Nencki[2]).

Im Dünndarminhalt mit Fleisch gefütterter Hunde fanden Kutscher und Seemann[3]) weder Albumosen noch Peptone in nennenswerter Menge. Dagegen in Uebereinstimmung mit älteren Angaben Aminosäuren (Leucin

1) H.-S. **23.** 410. (1897.)
2) Macfadyen, Nencki u. Sieber, A. exp. P. u. Ph. **28.** 311. (1891.)
3) H.-S. **34.** 528. (1902.)

und Tyrosin) und ferner Diaminosäuren, unter denen Lysin und Arginin isoliert wurden. Die Reaction ist neutral oder sauer, niemals alkalisch (J. Munk[1]).

760. Die **Untersuchung** des Dünndarminhaltes geschieht wie die der Fäces (§ 763 ff.). Ueber den Nachweis der Mono- und Diaminosäuren siehe bei Kutscher und Seemann sowie bei Abderhalden[2]).

Nachweis von Bilirubin u. Urobilin nebeneinander.

Zum Nachweis von Bilirubin und Urobilin nebeneinander empfiehlt Salkowski[3]) folgendes Verfahren: Der Dünndarminhalt (oder die aus einer Fistel fliessende Flüssigkeit) wird auf dem Wasserbad eingeengt und mit Alkohol ausgezogen, der filtrierte Auszug eingeengt, die dabei erhaltene wässerige trübe (bei reichlicher Fettausscheidung mit Aether auszuschüttelnde) Flüssigkeit mit Natriumcarbonat leicht alkalisch gemacht, mit Calciumchlorid versetzt und filtriert. Den ausgewaschenen Niederschlag prüft man mit der modificierten Gmelin'schen Probe (§ 598, 1). auf Bilirubin (die Huppert-Salkowski'sche Probe, § 598, 4, fällt auch bei Gegenwart von Bilirubin meist nicht typisch aus, sondern die Farbe bleibt gelb, nimmt höchstens einen leicht grünlichen Ton an. Um sie zu erhalten ist es nötig, einen Tropfen einer 0,5proc. Kaliumnitritlösung zuzufügen). Das Filtrat dient zur Prüfung auf Urobilin. Man macht es mit Salzsäure sauer, schüttelt im Scheidetrichter mit Chloroform, reinigt die Chloroformlösung durch Schütteln mit Wasser und filtriert sie. Nach Beseitigung etwaiger Trübung durch gelindes Erwärmen oder Zufügung von Alkohol fügt man Chlorzinklösung hinzu: bei Anwesenheit von Urobilin färbt sich das Chloroform rosenrot mit grüner Fluorescenz und bei der spectroskopischen Untersuchung zeigt sich der Streifen (Spectraltafel).

Untersuchung der Fäces.

Allgemeines.

Die Fäces sind ebenso sehr ein Object für die mikroskopische Untersuchung wie für die chemische. Im Folgenden wird nur von der letzteren die Rede sein.

761. **Bestandteile.** Menge und Zusammensetzung der menschlichen Fäces sind vor allem abhängig von der Art der Nahrung. Bei reiner Fleischkost ist ihre Quantität am geringsten und kaum grösser als beim Hungern, bei vegetabilischer am grössten. Die Bestandteile lassen sich in folgende vier Gruppen einteilen.

Reste der Nahrung.

1. Reste der Nahrung (z. Tl. unverdauliche, z. Tl. unverdaute): Keratinhaltige Substanzen, Reste von elastischem Gewebe und von Binde-

1) C. f. Ph. **16**. 33. (1903.)
2) Abderhalden, Kautzsch u. London, H.-S. **48**. 553. (1906.)
Abderhalden, Körösy u. London, H.-S. **53**. 151 ff. (1907.)
3) Arb. aus dem pathol. Inst. zu Berlin. S. 583. Hirschwald. 1906.

gewebe, Casein und Paranuclein (nach reichlicher Milchzufuhr), Hämatin, Cellulose, Amylum, Fett, Phosphatide[1]), Kalkseifen (aus Fett stammend), Harze, Chlorophyllan, anorganische Stoffe (Calcium, Magnesium, Kalium, Natrium, Eisen, gebunden an Phosphorsäure, Schwefelsäure, Kohlensäure) und zwar überwiegen im allgemeinen unter den Basen die alkalischen Erden und unter den Säuren Phosphorsäure, während Schwefelsäure und Salzsäure in geringer Menge sich finden. Sand ist meist ziemlich reichlich vorhanden; dazu unter pathologischen Verhältnissen: lösliche Eiweissstoffe, Leucin und Tyrosin (aus dem Eiweiss stammend), Zucker.

Reste der Verdauungssäfte.

2. Reste der Verdauungssäfte: Mucine, Nucleoproteide und Nucleinbasen (die Purinkörper stammen unter normalen Verhältnissen im wesentlichen aus den Verdauungssäften[2]), sich abstossenden Epithelien[3]) und aus Bakterien[4]), unter Umständen aber zum Teil auch aus den Nahrungspurinen[3]), ferner Fermente (Diastase, Invertin) und manche der unter 1 genannten Stoffe. Dazu unter pathologischen Verhältnissen: Glyko- und Taurocholsäure.

Producte bacterieller Einwirkung.

3. Producte bacterieller Einwirkung. Wasserstoff, Ammoniak, Schwefelwasserstoff, Sumpfgas, flüchtige Fettsäuren, Methylmercaptan, Hydro-p-cumarsäure, p-Oxy-phenylessigsäure, Phenole, Skatol, Indol, Cholsäure, Koprosterin, Urobilinogen, Urobilin und dazu unter pathologischen Verhältnissen Milchsäure, Cadaverin und Putrescin (häufig bei Cystinurie).

Organisierte Elemente.

4. Organisierte Elemente: Epithelzellen, Mikroorganismen usw.; unter pathologischen Verhältnissen auch Eiterkörperchen und Blutkörperchen. Unveränderte Blutkörperchen finden sich nur bei Blutungen in den Darm, und zwar (abgesehen von den Fällen völliger Functionsstörung des Darms, wie bei Cholera, oder von ausserordentlich reichlichen Blutungen) nur bei solchen Blutungen, welche in den untersten Teil des Dickdarms erfolgen. Unter normalen Verhältnissen erfährt das Blut im Darm eine Zersetzung, und der Blutfarbstoff erscheint als Hämatin in den Fäces.

762. **Allgemeine Eigenschaften.** Die Consistenz ist von dem Wassergehalt abhängig. Die normalen menschlichen Fäces sind geformt oder breiig.

Die Farbe ist bei gemischter Nahrung bräunlich, bei reiner Fleischkost dunkler (bis schwarz), bei vegetabilischer heller, bei Milchkost gelblich.

Die Reaction ist bei gemischter Nahrung gegen Lacmus neutral oder schwach alkalisch oder schwach sauer. Eine stärker saure Reaction ist meist durch lebhaftere Gärung von Kohlehydraten, eine stärker alkalische

---

1) Long u. Johnson, J. A. Ch. S. **28**. 1499. (1906.), **29**. 1214. (1907.)

2) Weintraud, C. f. inn. M. **16**. 433. (1895.), Verhandl. d. 14. Congr. f. inn. Med. S. 190. (1896.)
Krüger u. Schittenhelm, H.-S. **35**. 153. (1902.)

3) Schittenhelm, D. A. f. k. M. **81**. 423. (1904.)

4) Schittenhelm u. Tollens, C. f. inn. M. 1904. S. 761.

durch vermehrte Eiweissfäulnis im Darm bedingt. Zur Prüfung der Reaction zerreibt man die Fäces mit etwas Wasser, befeuchtet mit der Masse ein Reagenspapier und spritzt es ab.

Der Geruch ist der bekannte, als fäcalartig bezeichnete.

Nachweis von anorganischen Salzen in den Fäces.

763. Eine directe Veraschung ist aus den § 617 entwickelten Gründen unzulässig. Um die Fehlerquellen, zu denen in diesem Falle noch der Gehalt an eisenhaltigem Hämatin und an Kieselsäure hinzukommt, nach Möglichkeit zu vermeiden, verrührt man die Fäces mit einem grossen Ueberschuss von Alkohol, filtriert und zieht den Rückstand zunächst mit verdünnter Essigsäure und darauf mit verdünnter Salzsäure aus. Es werden auf diese Weise eine alkoholische, eine essigsaure und eine salzsaure Lösung erhalten.

1. Die alkoholische und essigsaure Lösung. Man vereinigt sie, dampft ein*), verascht nach § 502 und untersucht den wässerigen und den salzsauren Auszug nach § 507 und § 508. (Etwa gefundenes Eisen zeigt Hämatin an, welches den Fäces durch Alkohol entzogen worden ist.)

2. Die salzsaure Lösung. Man verdampft und verascht ebenfalls, nimmt die Asche mit Salzsäure auf und untersucht die Lösung nach § 508 auf Phosphorsäure und auf Eisen. An dieser Stelle gefundenes Eisen war in den Fäces als Phosphat oder als Oxyd vorhanden.

Nachweis von Proteinstoffen in den Fäces.

764. Man zerreibt die Fäces mit schwach essigsäurehaltigem Wasser, filtriert, zerreibt den Rückstand mit ganz verdünnter Natronlauge oder Kalkwasser und filtriert abermals. Das erste Filtrat wird nach § 589 auf Eiweiss untersucht, das zweite Filtrat nach § 619 auf phosphorhaltige Proteide und Glukoproteide.

Nachweis von Nucleinbasen in den Fäces[1]).

765. Zum Nachweis der Nucleinbasen (u. z. der freien sowie der durch Spaltung der Nucleoproteide erhaltenen) erhitzt man die Tagesmenge Fäces mit 2 Litern Wasser und 15 ccm conc. Schwefelsäure 2—3 Stunden, filtriert, macht mit Natronlauge alkalisch, mit Essigsäure stark sauer, kocht noch einmal auf und filtriert. In der heissen Lösung entsteht auf Zusatz

---

*) Da Taurin (Taurocholsäure) und Sulfat sich neben einander in diesem Rückstand befinden können, eine Trennung beider aber nicht ausführbar erscheint, so ist es nötig, die Prüfung auf Sulfat vor der Veraschung vorzunehmen und zu dem Zweck eine Probe des Rückstandes in verdünnter Salzsäure zu lösen und das klare Filtrat mit Chlorbarium zu versetzen.

1) Krüger u. Schittenhelm, H.-S. **35**. 153. (1902).

von Kupfersulfat und Natriumbisulfit ein Niederschlag, welcher die Kupferoxydulverbindungen der Nucleinbasen enthält.

Um die einzelnen Basen zu isolieren und nachzuweisen verfährt man nach § 810.

Nachweis von aromatischen Substanzen, Koprosterin, Fett, Fettsäuren, Kohlehydraten in den Fäces.

766. Die mit Wasser zum dünnen Brei verriebenen Fäces werden destilliert, bis etwa ein Drittel des Volumens übergegangen ist. Man erhält so ein Destillat (A) und einen Rückstand (B).

A. **Destillat*).** Man übersättigt mit Natriumcarbonat und destilliert wieder etwa ein Drittel der Flüssigkeit über.

1. Rückstand. Man säuert mit Schwefelsäure an, destilliert, vereinigt
Flüchtige Fettsäuren. das Destillat mit B 1 bα und untersucht nach S. 69, Abs. 2, auf flüchtige Fettsäuren.

2. Destillat. Man übersättigt mit Natronlauge und destilliert wieder den dritten Teil über.

a) Rückstand. Er wird nach Uebersättigen mit Schwefelsäure destil-
Phenole. liert und das Destillat nach § 191 auf Phenole geprüft.

Indol u. Skatol. b) Destillat. Wegen Prüfung auf Indol und Skatol siehe § 211 u. § 212. Nach Herter u. Foster[1]) macht man mit Natronlauge schwach alkalisch und fügt β-Naphthochinon-monosulfosaures Natrium (2 proc. Lösung) in geringem Ueberschuss hinzu. Eine blaue Fällung oder blaue oder grünblaue Farbe zeigt Indol an. Man säuert nun an und destilliert. Dabei geht Skatol über (Indol nur in sehr kleiner Menge), welches mit Hilfe der Ehrlichschen Reaction (S. 296, 3) nachgewiesen wird.

Herter u. Foster haben auf dieses Trennungsverfahren auch eine colorimetrische Bestimmungsmethode von Indol und Skatol gegründet.

Handelt es sich nur um Nachweis von Indol und Skatol, so destilliert man etwa 25 g Fäces mit 20 ccm Wasser und 1—2 ccm 10 proc. Natronlauge im Dampfstrom, bis im Destillat die Ehrlich'sche Reaction (S. 294, 2) negativ ausfällt und prüft wie oben angegeben.

B. **Rückstand.** Man dampft etwas ein, säuert nach dem Erkalten mit Schwefelsäure stark an, extrahiert nacheinander mit Alkohol und mit Aether und vereinigt die abfiltrierten Auszüge. Man erhält so alkoholisch-ätherische Auszüge (1) und einen Rückstand (2).

1. Alkoholisch-ätherische Auszüge. Man übersättigt mit Natriumcarbonat, destilliert Alkohol und Aether ab, zerteilt den Rückstand in viel Wasser, schüttelt mit Aether aus und trennt die ätherische (a) und wässerige (b) Lösung im Scheidetrichter.

---

*) Dieses Destillat, welches Phenole, Indol, Skatol und flüchtige Fettsäuren enthalten kann, lässt sich auch nach § 221 A untersuchen.

1) J. B. C. **1**. 257. (1906.), **2**. 267. (1907).

a) Aetherische Lösung. Man verdunstet den Aether, verseift den Rückstand nach § 94, zieht die Seifenlösung mit Aether aus und untersucht den Aetherrückstand nach § 226 auf Koprosterin (etwa gleichzeitig vorhandenes Cholesterin lässt sich durch seine Unlöslichkeit in kaltem Alkohol von Koprosterin abtrennen). Darauf wird die Seifenlösung mit Schwefelsäure stark angesäuert, mit Aether ausgeschüttelt und zur Untersuchung auf höhere und niedere Fettsäuren weiter nach S. 103 unten verfahren. Die Fettsäuren stammen aus den Fetten. Koprosterin. Cholesterin. Fett.

b) Wässerige Lösung. Nach Verdunsten des Aetherrestes säuert man mit Schwefelsäure an und destilliert die Hälfte der Flüssigkeit ab.

α) Destillat. Es kann noch flüchtige Fettsäuren enthalten und wird mit dem Destillat von A 1 vereinigt.

β) Kolbeninhalt. Derselbe wird nach dem Erkalten filtriert.

$\alpha\alpha$) Filterrückstand. Man löst ihn in Aether und untersucht die klare ätherische Lösung nach S. 70 auf Palmitinsäure, Stearinsäure und Oelsäure. Höhere Fettsäuren.

$\beta\beta$) Filtrat. Ein kleiner Teil wird mit der Trommer'schen Reaction (S. 110) auf Zucker geprüft. Die Hauptmenge schüttelt man mit Aether aus, verdunstet die abgegossene Aetherlösung und prüft die wässerige Lösung des Rückstandes auf p-Oxyphenylpropionsäure und Hydro-p-cumarsäure (Rotfärbung mit Millon's Reagens §§ 203 und 204). Zucker. Aromatische Oxysäuren.

2. Rückstand. Er wird mit Wasser verdünnt, längere Zeit gekocht und filtriert.

a) Filtrat. Man prüft es auf Amylum und Dextrine: Amylum färbt sich mit Jod blau, Erythrodextrin rot (§ 105). Beide werden durch Kochen mit verdünnter Salzsäure in Traubenzucker umgewandelt, der mit der Trommer'schen Probe (S. 110) nachgewiesen werden kann. Amylum, Dextrine.

b) Filterrückstand. Man erwärmt ihn mit verdünnter Natronlauge, filtriert nach Wasserzusatz durch Asbest, trocknet und zerreibt ihn (incl. Asbest) mit conc. Schwefelsäure in der Reibschale. Die Lösung wird in die 20 fache Menge siedenden Wassers gegossen, noch eine halbe Stunde am Rückflusskühler gekocht und dann mit der Trommer'schen Reaction geprüft. Ein positiver Ausfall zeigt Cellulose an. Cellulose.

Nachweis von Gallensäuren (gepaarte Säuren und Cholsäure) in den Fäces[1]).

767. Man extrahiert die Fäces mit Alkohol, filtriert, entfernt den grössten Teil des Alkohols durch Eindampfen, macht mit Salzsäure sauer, dann mit Barytwasser stark alkalisch, leitet Kohlensäure ein, erhitzt zum Kochen, filtriert heiss und kocht den Rückstand noch mehrmals mit Wasser aus.

1) Ury, Arb. aus dem pathol. Institut zu Berlin. S. 634. Hirschwald 1906.

Die vereinigten Filtrate werden eingedampft, der Rückstand wird (um vorhandene Tauro- und Glykocholsäure zu spalten) mit 25 ccm 33 proc. Natronlauge 3 Stunden gekocht, indem nach erfolgter starker Concentration immer wieder das verdampfte Wasser durch heisses ersetzt wird. Man säuert dann mit Schwefelsäure an, schüttelt mit Aether aus, löst den Aetherrückstand in wenig verdünnter Natronlauge und prüft mit der Pettenkofer'schen Probe (S. 323, 3) auf Cholsäure. Da die Rotfärbung allein nicht beweisend ist, so giesst man die Lösung in Eisessig und sieht, ob die Flüssigkeit rot gefärbt ist und einen deutlichen Streifen im Grünen zeigt.

Darstellung der Cholsäure.

Zur Darstellung der Cholsäure extrahiert man die Fäces nach Hoppe-Seyler mit Alkohol, filtriert, dampft unter Zusatz von etwas Essigsäure auf dem Wasserbade zum Syrup ein und zieht den Rückstand mit kaltem Wasser aus. Das Ungelöste wird mit Barytwasser übergossen und nach Zufügen von etwas Wasser erwärmt. Man leitet jetzt Kohlensäure ein, erhitzt zum Sieden, filtriert heiss, erschöpft den Rückstand durch Auskochen mit heissem Wasser und dampft die vereinigten heiss filtrierten Auszüge auf ein kleines Volumen ein. Nach dem Erkalten wird etwas Aether und dann Salzsäure hinzugefügt, gut umgerührt und eine Zeit lang stehen gelassen. Man filtriert die ausgeschiedene Cholsäure ab, wäscht mit Wasser, löst in Alkohol, dampft die alkoholische, nötigenfalls mit Tierkohle entfärbte Lösung auf ein kleineres Volumen ein und lässt zur Krystallisation stehen. Die ausgeschiedenen Krystalle werden nach § 232 auf Cholsäure geprüft.

Nachweis von Farbstoffen in den Fäces.

768. **Urobilin.** 1. Probe von A. Schmidt[1]). Man verreibt frische Fäces in einer kleinen Porzellanschale mit wässeriger gesättigter Sublimatlösung, bringt die Masse in ein Uhrschälchen, lässt bedeckt stehen und prüft nach 24 Stunden (oder auch früher) makroskopisch und mikroskopisch. Die urobilinhaltigen Teile der Fäces sind rosa- bis tiefrosenrot, die bilirubinhaltigen dagegen grün gefärbt.

2. Probe von Schlesinger[2]). Man verreibt frische Fäces mit Wasser, fügt das gleiche Volumen des durchgeschüttelten Reagens (10 pCt. Zinkacetat enthaltender Alkohol) hinzu und filtriert: Das Filtrat zeigt grüne Fluorescenz und den charakteristischen Streifen (Spectraltafel). Filtriert man erst nach 24 Stunden, so zeigt ein positiver Ausfall auch Urobilinogen an, das in dieser Zeit in Urobilin umgewandelt ist.

769. **Urobilinogen.** Man verreibt die Fäces wiederholt sorgfältig mit Ligroin, bis alles Indol und Skatol entfernt ist, zieht den Rückstand mit Alkohol aus, filtriert und prüft das Filtrat mit der Ehrlich'schen Reaction (§ 279). Es tritt sofort oder nach einigen Minuten schöne Rotfärbung auf

---

1) Verhandlungen des 13. Congr. f. inn. Med. S. 320.
Schorlemmer, M. m. W. 1900. S. 458.

2) D. m. W. 1903. S. 561.

und bei der spectroskopischen Prüfung sieht man den Streifen im Orange (daneben auch den Urobilinstreifen).

770. **Bilirubin.** 1. Probe von A. Schmidt siehe § 768.

2. Probe von Steensma[1]), welche wesentlich empfindlicher ist, als die vorige. Man reibt etwa 5 g Fäces in einer Reibschale mit 95 proc. Alkohol zusammen, erhitzt die Mischung in einem Kolben auf dem Wasserbad, giesst nach einiger Zeit den Alkohol ab, ersetzt ihn durch neuen und fährt in der Weise fort, bis der Alkohol fast keinen Farbstoff mehr aufnimmt. Der Rückstand wird nun in der Reibschale nach Zusatz von etwas verdünnter Kalilauge mit Alkohol verrieben, die Flüssigkeit filtriert, das Filtrat mit wenig salzsäurehaltigem Alkohol (5 Vol.-pCt. conc. Salzsäure enthaltenden 95 proc. Alkohol) angesäuert und gekocht. Entsteht dabei keine grüne Farbe, so setzt man noch einen Tropfen einer 0,5 proc. Natriumnitritlösung hinzu.

3. Probe von Huppert-Salkowski. Man verreibt Fäces mit Wasser und verfährt, wie § 598, 4 angegeben. Tritt keine Grün- oder Blaufärbung ein, so fügt man noch einen Tropfen einer 0,5proc. Natriumnitritlösung hinzu (Steensma[2]).

771. **Blutfarbstoff.** Hämatin. Reichliche Mengen erkennt man, indem man die mit etwas Schwefelsäure versetzten Fäces mit Aether oder Alkohol extrahiert, das Filtrat mit Natronlauge und Schwefelammonium versetzt und spectroskopisch auf Hämochromogen prüft (Spectraltafel). Auch der Nachweis reichlicher Mengen von Eisen in dem alkoholischen Auszug der Fäces nach § 57 ist für die Erkennung zu verwenden.

Zum Nachweis kleiner Mengen von Blutfarbstoff oder Hämatin dienen folgende Proben, von denen die zweite empfindlicher ist, als die erste.

1. Probe von Schumm[3]). Spectroskopischer Nachweis.

Man reinigt die Fäces mit Alkoholäther (siehe 2.), extrahiert den Rückstand mit Eisessig, verdünnt das Filtrat mit der 2—3fachen Menge Aether, setzt dem Gemisch ein halbes Volumen Wasser zu und schüttelt tüchtig durch, trennt die Aetherlösung ab, schüttelt sie nochmals mit wenigen Cubikcentimetern Wasser aus, macht sie unter Kühlung durch Schütteln mit Ammoniak alkalisch, lässt die ammoniakalische Lösung nebst ein wenig des Aethers in ein Glasgefäss fliessen, fügt Schwefelammonium hinzu und prüft spectroskopisch auf Hämochromogen (Spectraltafel).

2. Probe von Weber[4]) in der Ausführung von Schumm[5]). Guajakprobe.

---

1) Ref. B. C. **7**. 834. (1908.) 2) B. Z. **8**. 209. (1908.)
3) C. f. d. ges. Physiol. u. Pathol. des Stoffw. 1908.
4) B. k. W. 1893. S. 441.
5) C. f. d. ges. Physiol. u. Pathol. des Stoffwechsels. 1908.

Eine etwa wallnussgrosse Durchschnittsprobe*) (4 g) wird mit 30 ccm einer Mischung gleicher Teile Alkohol und Aether fein zerrieben, filtriert, der Filterrückstand einmal mit Alkoholäther, dann ein oder mehrere Male mit Aether unter Aufrühren nachgewaschen. Das zuletzt Abfliessende soll nahezu ungefärbt sein. Der Rückstand wird auf dem Filter mit 4 ccm Eisessig vorsichtig gemischt und, nachdem ein Teil der Flüssigkeit filtriert ist, nochmals mit 4 ccm Eisessig übergossen. Ist der grössere Teil filtriert, giesst man das Filtrat nochmals auf das Filter zurück und lockert gleichzeitig den Filterinhalt mit einem Glasstabe. Das Filtrat wird in einem Scheidetrichter von etwa 100 ccm mit der zwei- bis dreifachen Menge Aether verdünnt, der Mischung ihr halbes Volumen destilliertes Wasser zugefügt und gut geschüttelt. Tritt nicht schnell Schichtenbildung ein, so gibt man etwas Alkohol (vielleicht auch etwas Wasser oder Aether) hinzu. Man lässt dann die wässerige Schicht abfliessen, schüttelt die ätherische nochmals mit etwas Wasser aus und lässt auch dieses ablaufen. Einen kleinen Teil der Aetherlösung (die Hauptmenge kann man nach 1 zur spectroskopischen Prüfung benutzen) wird mit etwa 5—10 Tropfen frisch bereiteter schwacher Guajaktinctur und etwa 20 Tropfen guten verharzten Terpentinöls (siehe S. 630) versetzt. Bei Anwesenheit von Blutfarbstoff tritt innerhalb 2—3 Min. ein starker Farbenwechsel ein, indem die Flüssigkeit mehr oder weniger reine und kräftige Blau-, Violett- auch wohl Grünblau- oder Purpurfärbung annimmt. Bei reichlichem Blutgehalt kann die Aetherlösung so dunkel und die Farbenreaction so intensiv sein, dass eine Verdünnung erforderlich ist, um den Farbenwechsel gut beobachten zu können.

772. **Chlorophyllan.** Man säuert die Fäces an, extrahiert mit Aether und schüttelt die genügend concentrierte ätherische Lösung mit dem gleichen Volumen conc. Salzsäure: Blaufärbung der Salzsäurelösung (durch Bildung von Chlorophyllansäure) und Beobachtung eines Streifens zwischen B und C bei der spectroskopischen Prüfung zeigen Chlorophyllan an.

Nachweis verschiedener Bestandteile in den Fäces.

773. **Milchsäure.** Man fällt die mit Wasser verrührten Fäces mit Barytwasser, befreit das Filtrat mittelst Kohlensäure von überschüssigem Baryt, filtriert, dampft ein und verfährt weiter wie S. 75 angegeben.

Leucin und **Tyrosin.** Der Nachweis geschieht nach § 630 u. § 593.

Phosphatide. Man extrahiert die Fäces mit Alkohol, dampft das Filtrat bei niedriger Temperatur (unterhalb 50°) ein, zieht den Rückstand mit Aether aus und prüft das Aetherextract nach § 56 auf Phosphor.

Cadaverin und **Putrescin.** Man verfährt nach den Angaben von § 163.

*) Bei dünnen Stühlen nimmt man etwas mehr und verreibt mit der vierfachen Menge Alkoholäther, bei sauren Stühlen verreibt man zunächst mit mehreren Tropfen conc. Sodalösung und dann erst mit Alkoholäther.

Ammoniak wird nach § 52, **Schwefelwasserstoff** nach § 48 nachgewiesen.

Herstellung lufttrockener Fäces für quantitative Bestimmungen.

774. **Vorbemerkung.** Die für quantitative Bestimmungen notwendige gleichmässige Mischung wird am besten durch Trocknen und Pulverisieren erreicht. Um Zersetzungen und Verlust an Ammoniak zu vermeiden, ist es nötig alkalisch reagierende Fäces vor dem Eintrocknen mit ein wenig Schwefelsäure zu verrühren*).

775. **Ausführung nach Poda**[1]). Die frischen Fäces (eine Tagesmenge) werden in einer Porzellanschale, deren Gewicht incl. Glasstab bekannt ist, abgewogen und auf schwach siedendem und durch eine kleine Flamme erhitztem Wasserbade eingedampft. Wenn die Consistenz zähflüssig geworden ist (nach 4—6 Stunden), wird das an den Wandungen Haftende mit einem Messer zusammengekratzt und das Ganze mit etwa 50 ccm absol. Alkohol zusammengerührt. Nach weiterem etwa einstündigem Erwärmen wird aufs neue Alkohol zugefügt, wieder verdunstet und mit dem Zusatz von Alkohol und dem Erwärmen fortgefahren, bis die Fäces nach dem Abkühlen pulverisierbar geworden sind. Jetzt stellt man das Gewicht fest, zerreibt zu einem feinen Pulver und bringt dasselbe in ein verschliessbares Gefäss. Es dient für die folgenden Bestimmungen.

Bestimmung des Trockenrückstandes.

776. Man wägt 2—3 g des nach § 775 erhaltenen Pulvers ab und trocknet bei 100° bis zum constanten Gewicht. Zum Abwägen, Trocknen und Wägen benutzt man am Besten einen Uhrglasapparat (§ 9).

Bestimmung der Gesamtmenge an Stickstoff und einzelnen Aschebestandteilen in den Fäces.

777. Man bestimmt den Gesamtstickstoff nach Kjeldahl (§ 528 b) und die einzelnen Aschebestandteile nach § 509 ff. Für die Bestimmung des Gesamtphosphors nach A. Neumann (§ 523) benutzt man ca. 1 g, für den Gesamtschwefel (§ 520) 2 g, für das Gesamteisen nach A. Neumann (§ 512) 3—4 g des nach § 775 hergestellten Pulvers.

Bestimmung des Nucleinbasenstickstoffs**) in den Fäces nach Krüger u. Schittenhelm[2]).

778. Erforderliche Lösungen. Die § 561 unter 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8 u. 9 aufgeführten.

---

*) Nach Zaitschek[3]) findet auch trotz des Zusatzes der Schwefelsäure beim Trocknen ein allerdings nur geringer Verlust an Stickstoff statt.

**) Und zwar des Stickstoffs der freien Nucleinbasen und der durch Spaltung der Nucleoproteide und Nucleinsäure entstehenden.

1) H.-S. **25**. 355. (1898.) 2) H.-S. **45**. 21. (1905.)

3) Pfl. A. **98**. 595. (1903.)

Die Fäces (ganz frische*) gewogene Tagesmenge oder ein abgewogener Teil) werden mit 1—2 Liter Wasser, dem 10—20 ccm conc. Schwefelsäure zugesetzt sind, mehrere Stunden über freiem Feuer am Rückflusskühler erhitzt. Die Lösung wird mit Natronlauge deutlich alkalisch, dann durch Zufügen von 10 oder 20 ccm Eisessig sauer gemacht und nach Zufügen von 5 oder 10 g Oxalsäure (zur Ausfällung des Kalkes) kurze Zeit auf dem Wasserbad erhitzt. Nach dem Erkalten wird auf 1500 oder 3000 ccm aufgefüllt und durch ein trockenes Faltenfilter filtriert. (Erscheint indessen der Niederschlag sehr gross, empfiehlt es sich, ihn mit heissem Wasser vom Filter zu spritzen, nochmals mit Natriumacetat und essigsäurehaltigem Wasser zu digerieren, zu filtrieren und die Filtrate zu vereinigen). Ein gemessener Teil des essigsauren Filtrates, mindestens 500 ccm, wird in einem Rundkolben zunächst mit Natronlauge schwach alkalisch gemacht, dann mit Natriumbisulfitlösung (auf 100 ccm 10 ccm) versetzt und zum Kochen erhitzt. Man fügt Kupfersulfatlösung (auf 100 ccm 10 ccm) hinzu und erhält noch wenigstens 3 Min. im Sieden. Der flockige Niederschlag wird sofort durch ein Faltenfilter filtriert, mit heissem Wasser ausgewaschen und mitsamt dem Filter in den Fällungskolben zurückgebracht. Man fügt Wasser hinzu, schüttelt den Kolbeninhalt kräftig durch, erhitzt zum Sieden und gibt soviel Natriumsulfidlösung hinzu, bis 1 Tropfen der Flüssigkeit Bleiacetatpapier deutlich braun färbt. Man kocht noch mehrere Minuten, säuert mit 10proc. Essigsäure an, setzt das Sieden fort, bis das Kupfersulfid sich leicht in Flocken zusammenballt und die überstehende Flüssigkeit möglichst klar ist. Der Niederschlag wird nun abgesaugt und mit heissem Wasser ausgewaschen, das Filtrat unter Zusatz von 10 ccm 10proc. Salzsäure zur Trockne eingedampft und der Rückstand mit 5 ccm Salzsäure und etwas Wasser auf dem Wasserbad digeriert.

Nach dem Erkalten filtriert man von dem geringen Rückstand ab, wäscht mehrmals mit Wasser aus und bestimmt in dem etwa 80 ccm betragenden Filtrat die Basen mit Hülfe der Kupfer- oder Silberfällung.

a) Mit Hülfe der Kupferfällung. Das Filtrat wird zum Sieden erhitzt und mit Ammoniak schwach alkalisch gemacht. Man fügt nun 10 ccm Natriumbisulfitlösung, dann 5—10 ccm der Kupfersulfatlösung hinzu, erhält noch 3 Minuten im Sieden, filtriert durch ein Faltenfilter aus schwedischem Papier (z. B. Munktell No. 1), wäscht mit heissem Wasser aus und bestimmt den Stickstoff nach Kjeldahl (§ 528 b).

b) Mit Hülfe der Silberfällung. Das Filtrat wird mit Ammoniak schwach alkalisch gemacht und mit 10 ccm ammoniakalischer Silberlösung und 20 ccm 10proc. Ammoniak versetzt. Um das Absitzen usw. S. 592 Zeile 9 von oben.

---

*) Die Nucleinbasen unterliegen alsbald der bacteriellen Zersetzung (Schittenhelm[1]).

1) H.-S. **39**. 199. (1903.)

Isolierung u. Bestimmung der einzelnen Nucleinbasen.

Zur Isolierung und quantitativen Bestimmung der einzelnen Nucleinbasen sind die Fäces täglich in der oben beschriebenen Weise bis zur Herstellung der Kupferfällung (S. 744 Mitte der Seite) zu verarbeiten, die im Laufe einiger Wochen gesammelten Kupferniederschläge zu vereinigen und nach § 810 zu untersuchen.

Bestimmung des Fettes (ätherlösl. Substanz) des Fettes + der Fettsäuren in den Fäces.

779. a) **Fett.** Man wägt 5—6 g des nach § 775 erhaltenen Pulvers ab, bringt sie in eine Papierhülse des Soxhlet'schen Apparates und extrahiert völlig mit Aether. Der Aether wird verdunstet, der Rückstand wieder mit Aether aufgenommen, die ätherische Lösung (zur Entfernung von freien Fettsäuren) mit einer verdünnten Sodalösung geschüttelt, verdunstet, der Rückstand mit Petroläther aufgenommen und die Lösung weiter nach § 636 B 3 b behandelt. Nur die Befreiung des Cholesterins von beigemengten Seifen kann nicht in der angegebenen Weise erreicht werden, da das Cholesterin der Fäces, das Koprosterin, in kaltem Alkohol auch leicht löslich ist. Es empfiehlt sich statt dessen, den gut getrockneten Rückstand nochmals mit wenig wasserfreiem Petroläther aufzunehmen, wobei die Seifen wenigstens zum grössten Teil ungelöst bleiben werden.

b) **Fett + Fettsäuren.** Man verreibt die abgewogene Menge des nach § 775 gewonnenen Pulvers mit ein wenig Schwefelsäure oder schwefelsäurehaltigem Alkohol, trocknet und verfährt nun genau wie unter a angegeben, nur mit dem Unterschied, dass das Ausschütteln der ätherischen Lösung mit Sodalösung unterbleibt.

Bestimmung des Amylum (+ Dextrin) in den Fäces.

780. Princip. Stärke und Dextrin werden durch Kochen mit verdünnter Säure in Traubenzucker übergeführt und dieser titrimetrisch bestimmt.

Bei Anwesenheit von Mucin gibt das Verfahren keine genauen Werte, da Mucin bei der hydrolytischen Spaltung auch ein reducierendes Kohlehydrat liefert. Durch mechanische Entfernung grösserer Schleimflocken vor dem Eintrocknen der Fäces lässt sich diese Fehlerquelle wohl verkleinern, aber nicht ganz beseitigen. Cellulose bedingt keine Fehler; etwa vorhandener Zucker wird mitbestimmt. Bei pentosanreicher Kost ist eine Correctur anzubringen (Weiser u. Zaitschek[1]).

Ausführung. Man benutzt nach Strassburger[2]) eine Combination der Methoden von Liebermann[3]) und von Pflüger-Volhard (§ 814) und verfährt in folgender Weise: Man erhitzt 2—3 g des nach § 775 erhaltenen lufttrockenen Pulvers in einem Kolben mit 100 ccm 2 proc. Salzsäure $1^1/_2$ Stunden am Rückflusskühler (L. Liebermann), neutralisiert

1) Pfl. A. **93**. 98. (1902.)
2) Pfl. A. **84**. 173. (1901.)
3) Maly's Jbr. 1886. S. 55.

nach dem Erkalten nahezu mit Natronlauge, filtriert durch ein Asbestfilter unter Druck, wäscht mit Wasser nach und bringt das Filtrat auf 200 ccm. Von der event. noch einmal filtrierten Flüssigkeit werden 50 ccm in einem etwa 300 ccm fassenden Becherglase mit 30 ccm Allihn'scher Lauge, 30 ccm Kupfersulfatlösung und 35 ccm Wasser zusammengebracht und weiter genau nach § 814 behandelt. Durch Multiplication der gefundenen Menge Traubenzucker mit 0,94 erfährt man die Menge Stärke.

Zur Bestimmung der Cellulose ist von Simon und Lohrisch[1]) ein Verfahren angegeben worden.

Darmconcremente, Darmsteine.

781. Sowohl bei Menschen als bei Pflanzenfressern finden sich in den Fäces häufig Incrustationen von Speiseresten mit anorganischen Salzen oder Concretionen von Haaren, harzigen Massen und Fasern genossener Stengel und Blätter. Ausserdem kommen auch Steine vor: Gallensteine (§ 729), Pancreassteine (§ 710) sowie im Darm selbst entstandene Steine. Letztere und die Incrustationen bestehen fast ausschliesslich aus phosphorsaurer Ammoniak-Magnesia ($NH_4MgPO_4 + 6H_2O$) mit etwas Calciumphosphat; an menschlichen Darmsteinen sieht man zuweilen*) grosse, wohl ausgebildete Krystalle des ersteren Salzes. Die Darmsteine des Pferdes, welche ein Gewicht von über 5 kg erreichen können, enthalten nur Spuren von phosphorsaurem Kalk.

Die **Untersuchung** der Darmsteine und Incrustationen wird wie die der Harnsteine ausgeführt (§ 609 ff.). Die Prüfung auf Harnsäure, Cystin, Xanthin usw. fällt fort.

Im Darminhalt von Leichen sind zuweilen Abscheidungen von blauen Vivianitkörnchen beobachtet worden (§ 41).

Bezoare. Die Bezoare, wahrscheinlich Darmsteine von Antilopa Dorcas und Capra Aegagrus, sind olivenfarbig, concentrisch geschichtet und auf dem Bruch wachsglänzend, schmelzen beim Erhitzen und bestehen fast ganz aus Lithofellinsäure (§ 240) neben Spuren von grünem Farbstoff, wahrscheinlich Gallenfarbstoff, und etwas Schleim. Andere Bezoare sind dunkler gefärbt, schmelzen beim Erhitzen nicht und enthalten wohl Ellagsäure $C_{14}H_6O_8$.

Untersuchung des Meconiums.

782. Das Meconium stellt eine pechähnliche Masse dar und enthält Schleim, Epithel der Darmschleimhaut, Nucleoproteide, Harnsäure[2]) (im extrauterinen Leben sind

*) Ein schöner Fall von Virchow beschrieben und abgebildet. Virch. A. **20**. 403. (1860.)

1) H.-S. **42**. 55. (1904.)

2) Weintraud, Verhandl. d. 14. Congr. f. inn. Med. S. 190. (1896.) Schittenhelm, D. A. f. k. M. **81**. 444. (1904.)

die Fäces frei von Harnsäure), Gallensäuren, Gallenfarbstoffe, Cholesterin, Fett, anorganische Salze, aber keinerlei Fäulnisproducte.

Dampft man den alkoholischen Auszug mit Natriumcarbonat zur Trockne und zieht den Rückstand zunächst mit Aether und dann mit Alkohol aus, so erhält man beim Verdunsten des Aetherauszugs Cholesterin in strahligen Krystallen (§ 225), während der Rückstand des alkoholischen Auszugs die Fluorescenz- und die Pettenkofer'sche Reaction der Gallensäuren (S. 323, 2 u. 3) gibt.

Bei Extraction des Meconiums mit Chloroform geht Bilirubin in dieses über. Im übrigen geschieht die Untersuchung wie die der Fäces.

7. Untersuchung der Stützgewebe.

Untersuchung der Knochen, Zahnsubstanzen und Verkalkungen.

783. **Bestandteile.** Die Grundsubstanz des Knochengewebes und des Dentins der Zähne, welche von den die Zellen enthaltenden und miteinander verbundenen Knochenhöhlen, bzw. von den Zahncanälchen durchsetzt wird, ist zusammengesetzt aus Collagen (mit kleinen nur einige Zehntel Procent des frischen Knochens betragenden Beimengungen von Osseomucoid und Osseoalbumoid) und anorganischen Salzen. Diese, die sog. Knochenerde, bestehen zum grössten Teil aus Calcium und Phosphorsäure, in geringerer Menge findet sich Magnesium und Kohlensäure, in noch geringerer Natrium und Kalium und in Spuren Chlor- und Fluorwasserstoff.

Ausserdem finden sich in Wasser und in Alkohol und in Aether lösliche Substanzen in geringer Menge (unter ihnen auch Glykogen[1]), die vermutlich den (aus der Grundsubstanz nicht zu entfernenden) Zellen angehören.

Der Cement der Zähne ist echtes Knochengewebe, der Zahnschmelz ist frei von organischer Substanz.

Frische, gut gereinigte Knochen scheinen nie Eisen zu enthalten; dasselbe findet sich dagegen als Phosphat nicht selten in fossilen Zähnen, zuweilen sogar in erheblicher Quantität. Knochen, welche längere Zeit in der Erde gelegen haben, sind oft von Vivianit (§ 41) blau gefärbt.

Nachweis der einzelnen Bestandteile in Knochen, Zähnen, Verkalkungen.

784. Die frischen, möglichst gereinigten und vom Mark befreiten Knochen werden 24 Stunden in fliessendem Wasser liegen gelassen, nochmals gründlich abgeschabt und durch Zerstossen, Zerreiben und Zermahlen zerkleinert. Zähne bzw. die einzelnen Zahnsubstanzen sowie Verkalkungen werden ebenfalls gründlich gereinigt und dann zerkleinert. Herstellung des Untersuchungsmaterials.

Kohlensäure. Man übergiesst einen Teil des Pulvers mit verd. Salzsäure und weist die frei gemachte Kohlensäure nach § 117 Schluss nach.

1) Händel, Pfl. A. **92**. 104. (1902.)

Fluorwasserstoff. Zum Nachweis dient das in § 47, 1 angegebene Verfahren. Man nehme nicht zu wenig (mindestens 5 g) der Asche, da Hauchbilder allein, welche auch schon bei Benutzung von 1 g Asche auftreten, auch andere Ursachen der Entstehung haben können (Fresenius[1]).

Die übrigen Bestandteile. Das Knochenpulver wird mit Wasser ausgewaschen (Kaltwasserauszug) und dann mit Alkohol und Aether extrahiert (Alkohol-Aetherauszug). Man behandelt die Massen jetzt mit verdünnter (0,2—0,5 proc.), mehrfach gewechselter Salzsäure, um die Salze in Lösung zu bringen und nach Filtration (Salzsäureauszug) und Entfernung der Salzsäure durch langes Auswaschen in fliessendem, zuletzt in destilliertem Wasser mit halbgesättigtem Kalkwasser (2—5 ccm auf je 1 g der feuchten Substanz), um das Osseomukoid auszuziehen[2]). Diese Extraction ist nach 48 stündigem Stehen und häufigem Umschütteln in verschlossenem Gefäss beendet. Jetzt wird filtriert (Kalkwasserauszug) und die zurückbleibende Masse mit Salzsäure übergossen und von dieser und dem gebildeten Calciumchlorid durch Auswaschen mit Wasser (wie oben) völlig befreit. Man kocht nun mit einzelnen Wasserportionen je einige Stunden aus, so lange noch Collagen (als Glutin) gelöst wird (Heisswasserauszug). Auf diese Weise werden erhalten ein Kaltwasserauszug (1), ein Alkohol-Aetherauszug (2), ein Salzsäure- (3), ein Kalkwasser- (4), ein Heisswasserauszug (5) und ein Rückstand (6).

1. Kaltwasserauszug. Er enthält sehr geringe Mengen nicht weiter untersuchter Substanzen, unter denen sich jedenfalls aus den Zellen stammende lösliche Eiweissstoffe und Extractivstoffe finden werden. In osteomalacischen Knochen fand C. Schmidt Milchsäure und durch diese bedingte saure Reaction der Knochenflüssigkeit. Indessen erscheint die Richtigkeit dieser Angabe zweifelhaft (Levy[3]). Die Untersuchung auf Milchsäure würde nach S. 78 zu geschehen haben.

Lösliche Eiweissstoffe, Extractivstoffe.

2. Alkohol-Aetherauszug. Die Untersuchung auf Fett, Cholesterin, Phosphatid erfolgt nach § 718.

Fett, Cholesterin, Phosphatid.

3. Salzsäureauszug. Derselbe enthält die anorganischen Bestandteile mit Ausnahme der Kohlensäure. Man engt ihn ein und untersucht ihn nach § 508 auf Calcium, Magnesium, Phosphorsäure, sowie nach § 507, 5 u. 6 auf Kalium und Natrium. Für die Prüfung auf Salzsäure ist ein Teil des, wie oben beschrieben, gereinigten Knochenpulvers statt mit Salzsäure mit Salpetersäure zu extrahieren und der Nachweis nach § 507, 2 zu führen.

Anorganische Salze.

---

1) Qualit. Analyse. S. 283. (1895.)
2) Hawk u. Gies, A. J. of Ph. **5**. 387. (1901.)
3) H.-S. **19**. 239. (1894.)

4. Kalkwasserauszug. Ueber die Darstellung des in ihm enthaltenen Osseomukoids siehe S. 505. Osseomukoid.

5. Heisswasserauszug. Die einzelnen, Glutin enthaltenden Auszüge werden vereinigt und eingeengt: beim Erkalten gelatiniert die Flüssigkeit, deren weitere Untersuchung nach § 390 geschieht. Glutin.

6. Rückstand. Er stellt das Osseoalbumoid (§ 394) dar, aber verunreinigt mit sehr viel Asche (70—80 pCt.). Um es aschefreier (2 bis 3 pCt. Asche) zu erhalten, behandelt man die Knochenmasse nach der Entfernung des Mukoids mit Kalkwasser, drei Wochen lang mit häufig gewechselter 0,3 proc. Salzsäure, wäscht dann gründlich mit kaltem und warmem Wasser und kocht nun (zur Entfernung des Collagens) mit grossen Mengen häufig erneuerten Wassers tagelang (etwa 100 Stunden) aus. Zuletzt wird es mit Alkohol und Wasser behandelt (Hawk u. Gies[1]). Osseoalbumoid.

Bestimmung des Gesamtstickstoffs, der einzelnen Aschebestandteile, der Gesamtasche in Knochen usw.

785. Für diese Bestimmungen benutzt man Proben der in der § 784 angegebenen Weise gereinigten, pulverisierten Substanz, nachdem man sie bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet hat.

786. **Gesamtstickstoff, einzelne Aschebestandteile.** Man bestimmt den Gesamtstickstoff nach Kjeldahl (§ 528 b) unter Benutzung von 0,5 g, die einzelnen Aschebestandteile nach § 509 ff.

Die Ermittelung des Kohlensäuregehaltes geschieht nach § 525, indem man 5 g oder mehr des Pulvers verwendet. Man hat dabei nicht zu befürchten, dass die organische Substanz mit der verd. Salzsäure Kohlensäure entwickelt, während dagegen die Bestimmung der Kohlensäure nach dem Veraschen durch Glühen ein zu niedriges Resultat gibt (Wibel). Kohlensäure.

787. **Gesamtasche.** Man extrahiert einige Gramm mit Alkohol und Aether, verascht, befeuchtet den Rückstand nach dem Erkalten (zur Restituierung der ausgetriebenen Kohlensäure*) mit Ammoncarbonat, trocknet, erhitzt wieder bis zum gelinden Glühen und wägt nach dem Erkalten. Man löst nun die Asche in einem Becherglase in verdünnter Salzsäure, filtriert etwa vorhandene Kohle durch ein gewogenes aschefreies Filter ab, wäscht mit Wasser gut aus, trocknet, wägt Filter und Kohle und zieht das Gewicht der Kohle von dem der Asche ab.

Quantitative Analyse der Asche von Knochen usw.

788. Herstellung der Asche nach S. Gabriel[2]). Man erhitzt in einem etwa 250 ccm fassenden Kölbchen etwa 10—15 g der Substanz mit Herstellung der Asche nach S. Gabriel.

*) Die Restitution ist aber nur teilweise. Wibel, B. **7**. 220. (1874.) J. f. pr. Ch. N. F. **9**. 113. (1874.)

1) A. J. of Ph. **7**. 340. (1902.) 2) H.-S. **18**. 275. (1894.)

75 ccm Glycerinlauge (30 g Aetzkali in 1000 ccm Glycerin) unter häufigem Umschütteln allmählich bis auf 200° und erhält ungefähr 1 Stunde bei dieser Temperatur. Die Einwirkungsdauer hängt im wesentlichen von der Festigkeit des Gewebes und dem Feinheitsgrade des Pulvers ab. Die bis auf 150° erkaltete Masse giesst man in eine Schale, in der sich 500 ccm kochendes Wasser befinden, rührt um, lässt absitzen, zieht die überstehende Flüssigkeit mit einem mit Leinwand überspannten Heber ab, übergiesst wieder mit Wasser und wiederholt diese Operationen so oft, bis das Waschwasser keine Spur alkalischer Reaction mehr zeigt. Der auf ein Filter gebrachte und getrocknete Rückstand darf beim Glühen keine Spur einer Bräunung zeigen. Ist das der Fall, so muss das Erhitzen mit Glycerinlauge wiederholt werden.

Ausführung. Von dieser Asche benutzt man einzelne Portionen für die unter 1 bis 6 aufgeführten Bestimmungen. Da sie sehr hygroskopisch ist, so wägt man sie am besten lufttrocken ab, bestimmt in einer besonderen Portion den Wassergehalt durch Trocknen bei 130° bis zum constanten Gewicht und berechnet die Analysenwerte auf Trockengewicht.

1. Calcium, Magnesium, Phosphorsäure. Man löst die abgewogene Menge (3—4 g) in Salzsäure, macht mit Ammoniak alkalisch und fügt Essigsäure hinzu, so lange sich noch etwas vom Niederschlage auflöst. Die klare, event. filtrierte*) Lösung wird mit Ammonoxalat ausgefällt und der Kalk nach § 510 a bestimmt. Gesamtmenge des im
Calcium. Knochen vorhandenen Calciums.

Filtrat (+ Waschwasser) wird auf ein kleines Volumen eingeengt, mit Ammoniak stark übersättigt und 12 Stunden in der Kälte stehen gelassen. Man verfährt weiter nach § 510 b: Magnesium, welches im Knochen als
Magnesiumphosphat. Magnesiumphosphat vorhanden war.

Filtrat (+ Waschwasser) wird event. wieder eingeengt, mit Magnesiamischung (Anh.) gefällt und weiter nach § 510 b behandelt. Das gefundene Magnesiumpyrophosphat wird auf P_2O_5 umgerechnet (Anh.). Diese Phosphor-
Calciumphosphat. säuremenge war im Knochen als Calciumphosphat vorhanden.

Kalium, Natrium. 2. Kalium, Natrium. Man löst die abgewogene Menge (5 g oder mehr) in Salzsäure und verfährt nach § 509.

Kohlensäure. 3. Kohlensäure. Die Bestimmung, zu der man mindestens 3 g zu nehmen hat, geschieht nach § 525.

Salzsäure. 4. Salzsäure. Die Menge ist sehr gering, zu ihrer Bestimmung löst man eine abgewogene Menge in Salpetersäure und verfährt nach § 517.

---

*) Bei frischen und gut gereinigten Knochen und Zähnen tritt völlige Lösung ein; bei fossilen Zähnen hinterbleibt nicht selten ein unlöslicher Rückstand von Ferriphosphat. Derselbe wird auf einem kleinen, aschefreien Filter gesammelt, ausgewaschen, getrocknet, geglüht und gewogen.

5. Fluorwasserstoff. Die sehr kleinen Mengen von Fluorwasserstoff genau zu bestimmen, macht Schwierigkeiten. Die Methode von Carnot[1]) (Wägung als Kaliumsiliciumfluorid) scheint brauchbar zu sein. Von Jodlbauer[2]) wird die gasanalytische Methode von Hempel empfohlen. Sie beruht im wesentlichen darauf, dass man das Volumen des aus der (vollständig kohlefreien) Asche gemeinsam entwickelten Kohlendioxyds und Siliciumfluorids bestimmt, das letztere durch Wasser zersetzt, das Gasvolumen wieder bestimmt und aus der Differenz das Fluor berechnet. Das Fresenius'sche Verfahren in der Modification von Brandl[3]), welches auf der Abscheidung von Kieselsäure aus Siliciumfluorid beruht, liefert nach Jodlbauer zu niedrige Werte. Fluorwasserstoff.

6. Wasser[4]). a) Krystallwasser. Dasselbe entweicht erst bei etwa 350°. Da bei dieser Temperatur auch Kohlensäure ausgetrieben wird, so muss die Bestimmung in der Weise geschehen, dass man die Substanz wie bei der Elementaranalyse im Platinschiffchen mit übergeleitetem trockenen Luftstrom erhitzt und das Wasser in einem vorgelegten Chlorcalciumrohr auffängt. Krystallwasser.

b) Constitutionswasser. Dasselbe entweicht erst beim Glühen mit wasserfreier Kieselsäure. Constitutionswasser.

Wenn es an der erforderlichen Substanz mangelt, so kann man in der Asche die Kohlensäure nach § 525 bestimmen, indem man dieselbe statt mit Salzsäure mit Salpetersäure austreibt. In der salpetersauren Lösung bestimmt man dann das Chlor als Chlorsilber, entfernt das überschüssige Silber durch Salzsäure und ermittelt im Filtrat den Gehalt an Calcium, Magnesium und Phosphorsäure nach 1. Analyse bei geringen Substanzmengen.

Bestimmung des Collagens in Knochen und Zähnen.

789. Man extrahiert das nach § 784 hergestellte und bei 110° getrocknete und gewogene Pulver nacheinander mit Alkohol und Aether, mit verdünnter Salzsäure und halbgesättigtem Kalkwasser in der § 784 beschriebenen Weise und wäscht zunächst mit verdünnter Salzsäure, dann mit Wasser bis zum Verschwinden der sauren Reaction des Waschwassers. Die Masse wird jetzt mit Wasser in ein Glasrohr eingeschmolzen und etwa 24 Stunden bei 100° im Wasserbade oder bei 105—110° im Oelbade erhitzt. Man filtriert dann kochend heiss durch ein Faltenfilter, wäscht mit kochendem Wasser aus, verdunstet, trocknet bei 110° und wägt.

Untersuchung des Knochenmarks.

790. Das Knochenmark besteht zum allergrössten Teil aus Fett. Es sind ausserdem in kleinen Mengen in ihm Proteine, Phosphatide, Cholesterin, Inosit, Milchsäure, Harn-

1) C. r. **114**. 750. (1892.)
2) Z. f. B. **41**. 486. (1901.), **44**. 259. (1903.)
3) Harms, Z. f. B. **38**. 487. (1899.)
4) Gabriel, H.-S. **18**. 276 u. 296. (1894.)

säure, Nucleinbasen, Kreatin, Glykogen[1]) ferner anorganische Salze nachgewiesen worden.

Man extrahiert nacheinander das fein zerkleinerte Mark mit 0,5 proc. Kaliumoxalatlösung und ganz verdünnter Sodalösung und prüft den ersteren Auszug nach § 620 u. § 619 auf Albumin, Globulin, Fibrinogen[2]) und Nucleoproteid, den zweiten nach § 619 auf Mucin und Nucleoproteid.

Ein aus mehreren Hundert Gramm Mark hergestellter Wasserauszug dient zur Untersuchung auf Extractivstoffe nach § 801.

Isolierung und Nachweis der ätherlöslichen Stoffe (Fett, Cholesterin, Phosphatide) geschieht nach § 632. Für die Untersuchung der Fette behandelt man das Mark direct mit Aether, filtriert und verdunstet.

Eingehende Untersuchungen über die Zusammensetzung des Markes sind neuerdings von Nerking[3]) ausgeführt worden. Ein Verfahren zur Darstellung von Lecithin aus Knochenmark ist von Otolski[4]) angegeben, doch ist der isolierte Körper kein reines Lecithin, sondern jedenfalls ein Gemenge von Phosphatiden.

Untersuchung des Knorpelgewebes.

791. **Bestandteile.** Der Knorpel besteht aus der Intercellularsubstanz und den in sie eingelagerten Zellen. Beim hyalinen Knorpel ist sie frei von faserigen Beimischungen, beim elastischen wird sie von elastischen, beim Bindegewebsknorpel von fibrillären Fasern durchzogen. Die Intercellularsubstanz enthält Chondromukoid, Chondroitinschwefelsäure, Collagen und Albumoid (C. Th. Mörner[5]), ferner etwas durch verdünnte Kochsalzlösung ausziehbare Globulinsubstanz (Hoppe-Seyler), ätherlösliche Stoffe und anorganische Salze (Calcium, wenig Magnesium und Natrium, kein Kalium oder nur Spuren davon, Phosphorsäure, Salzsäure und Schwefelsäure). Eine Trennung der Intercellularsubstanz von den Zellen ist unausführbar. Der Knorpel enthält auch in verhältnismässig reichlicher Menge (0,2 pCt.) Glykogen (Pflüger[6]).

792. **Untersuchung.** a) Durch Erhitzen mit Wasser bei 110—120° werden dem Knorpel Chondromukoid, Chondroitinschwefelsäure und Leim entzogen (Chondrinlösung § 391), während Albumoid, Knorpelzellen und, bei elastischem Knorpel, auch Elastin (Hoppe-Seyler) zurückbleiben.

b) Zur Isolierung der einzelnen organischen Bestandteile behandelt man grosse Mengen des möglichst gereinigten und fein zerkleinerten hyalinen Knorpels in einzelnen Portionen in folgender Weise:

1. Chondromukoid. Vergl. § 470.

---

1) Händel, Pfl. A. **92**. 104. (1902.)

2) P. Th. Müller, B. Ph. P. **6**. 454. (1905.)

3) B. Z. **10**. 167. (1908.) 4) B. Z. **4**. 124. (1907.)

5) Skand. A. Ph. **1**. 210. (1889.) Ueber Albumoid siehe auch Hawk u. Gies, A. J. of Ph. **7**. 354. (1902.)

6) Pfl. A. **92**. 102. (1902.), Händel, Pfl. A. **92**. 104. (1902.)

2. Chondromukoid und Albumoid. Man digeriert die Masse 1 bis 2 Wochen bei 40° mit 0,1—0,2 proc. Salzsäure, bis sämtliches Collagen in Leim umgewandelt und ausgezogen worden ist, wäscht dann mit Wasser vollständig säurefrei, extrahiert mit 0,05—0,1 proc. Kalilauge und filtriert. Auf dem Filter bleibt zusammen mit Knorpelzellen das Albumoid (§ 393), aus dem Filtrat fällt auf Zusatz von verdünnter Säure das Chondromukoid, dessen Reinigung weiter nach § 470 erfolgt (C. Th. Mörner).

3. Glutin und Albumoid. Man behandelt den Knorpel zur Entfernung von Chondromukoid und Chondroitinschwefelsäure mit 0,2—0,5 proc. Kalilauge, wäscht mit Wasser alkalifrei, kocht im Papin'schen Topf und filtriert. Auf dem Filter bleibt das mit Knorpelzellen verunreinigte Albumoid (§ 393), aus dem Filtrat scheidet sich beim Sättigen mit Natriumsulfat der Leim (aus dem Collagen während des Kochens entstanden) ab, dessen wässerige Lösung durch Dialyse von Salz befreit werden kann (C. Th. Mörner).

4. Chondroitinschwefelsäure. Vergl. § 257.

5. Glykogen. Die Isolierung und Bestimmung geschieht in der bei der Untersuchung der Organe angegebenen Weise.

c) Was die anorganischen Salze betrifft, so ist man auf die Untersuchung des Ascherückstandes angewiesen. Diese liefert aber insofern kein richtiges Bild, als auch die aus der Chondroitinschwefelsäure stammende Schwefelsäure sich in der Asche befindet.

Untersuchung des Bindegewebes.

793. **Bestandteile.** Die Grundsubstanz des Bindegewebes, in die wenig zahlreiche Zellen eingelagert sind, besteht aus collagenen und elastischen Fasern. Ueberwiegen die collagenen, so spricht man von fibrillärem Bindegewebe, überwiegen die elastischen von elastischem Gewebe. Ausser Collagen und Elastin finden sich in kleinen Mengen gerinnbare Eiweissstoffe, Glukoproteid (im Bindegewebe), Nucleoproteid (im elastischen Gewebe), ätherlösliche Substanzen, Extractivstoffe z. B. Kreatin, Nucleinbasen, Glykogen[1]), anorganische Salze (Salzsäure, Phosphorsäure, Schwefelsäure, Kieselsäure[2]), Natrium, Kalium, Calcium, Magnesium, Eisen).

794. **Untersuchung**[3]). Zur Isolierung der Bestandteile behandelt man einzelne Portionen des von anhaftendem Gewebe befreiten und gut zerkleinerten Materials*) in folgender Weise:

*) Als fibrilläres Bindegewebe benutzt man am besten die Achillessehne vom Rind, als elastisches Gewebe das Lig. nuchae vom Rind.

1) Händel, Pfl. A. **92**. 104. (1902.)
2) H. Schulz, Pfl. A. **84**. 67. (1901.) u. **89**. 112. (1902.)
3) Vandergrift u. Gies, A. J. of Ph. **5**. 287. (1901.)
Buerger u. Gies, A. J. of Ph. **6**. 219. (1902.)
Richards u. Gies, A. J. of Ph. **7**. 92. (1902.)

a) Eiweissstoffe. Man extrahiert mehrere Tage mit verdünnter Kochsalzlösung unter Thymolzusatz, filtriert und prüft nach § 619, 1 auf Nucleoproteid und Glukoproteid, nach § 620 auf Albumine und Globuline.

b) Glukoproteid und Collagen. Man extrahiert zunächst mit Wasser, dann mehrere Tage mit halbgesättigtem Kalkwasser und filtriert. Aus dem Filtrat scheidet sich auf vorsichtigen Zusatz von Salzsäure Glukoproteid ab (§ 470). Der Rückstand wird mit Wasser kalkfrei gewaschen, mit Alkohol und Aether ausgezogen und darauf mit einzelnen Wasserportionen je einige Stunden ausgekocht: Das Collagen geht als Glutin in Lösung (§ 390).

c) Elastin siehe § 389.

d) Aetherlösliche Substanzen. Man extrahiert die getrocknete und fein pulverisierte Substanz mit Aether und untersucht den Aetherrückstand auf Cholesterin, Phosphatide und Fett.

e) Extractivstoffe. Die Untersuchung des wässerigen Auszugs auf Kreatin u. s. w. geschieht wie es für seröse Flüssigkeiten (§ 628 ff.) angegeben ist.

f) Anorganische Salze. Für die Untersuchung der anorganischen Salze verascht man nach § 502 und prüft die Auszüge nach § 507 und § 508; doch ist dabei zu berücksichtigen, dass die Schwefelsäure wenigstens zum Teil aus organischen Bestandteilen des Gewebes stammen kann.

8. Untersuchung der Organe.

Allgemeines.

Reinigen der Organe.

795. Die Organe sind möglichst frisch, für manche Zwecke z. B. für Glykogenbestimmungen unmittelbar nach dem Tode in Arbeit zu nehmen und möglichst vollständig von anhaftenden bindegewebigen Bestandteilen, Blutgefässen, Nerven usw. frei zu präparieren. Je blutfreier ein Organ zur Untersuchung kommt, um so besser ist es. Der Verblutungstod schafft in dieser Beziehung die günstigsten Verhältnisse; auch Muskeln von menschlichen Extremitäten, die vor der Amputation mit der Esmarch'schen Binde behandelt waren, sind verhältnismässig blutarm. Bei Tieren kann eine völlige Entfernung des Blutes durch Verblutenlassen und Ausspülen des ganzen Gefässsystems oder nur der Gefässe des einzelnen Organs mit 0,9 proc. Kochsalzlösung erreicht werden; indessen werden dabei gleichzeitig wasserlösliche Substanzen der Gewebe selbst mit fortgeschafft, so dass dieses Verfahren nur unter bestimmten Umständen zur Anwendung gelangen kann.

Ein gelegentlich brauchbares, allerdings sehr umständliches Hülfsmittel, um die durch die Anwesenheit des Blutes in den Organen für qualitative und quantitative Untersuchungen bedingten Unsicherheiten zu vermeiden, ist folgendes: Man bestimmt in einer abgewogenen Menge des Organs colorimetrisch durch Vergleichung mit einer gewogenen Menge des Blutes desselben Individuums nach § 665 ff. den Blutgehalt und ermittelt

andererseits sowohl im Blut als im Organ den Procentgehalt der Substanz, um die es sich handelt. Durch Rechnung lässt sich dann leicht ermitteln, ob und in welcher Menge die Substanz sich im (blutfreien) Organ findet.

Zerkleinern der Organe.

Stets ist es nötig, das Organ vor der Untersuchung zu zerkleinern und in einen möglichst gleichmässigen und möglichst feinen Brei zu verwandeln. Es geschieht das durch Zerschneiden mit Messer und Schere und Zerreiben in der Reibschale, wenn es sich um kleine Mengen oder mit der Fleischhackmaschine oder dem Hackmesser, wenn es sich um grössere Quantitäten handelt. Das Zerreissen und Zerschneiden in der Hackmaschine ist sehr schnell ausführbar, aber gleichmässiger und in beliebiger Feinheit gelingt die Zerkleinerung mit schwerem Wiegemesser auf einem Brett aus hartem Holz. Dieses letztere Verfahren bietet auch grössere Sicherheit dafür, dass die einzelnen Fasern und Zellen zerschnitten und nicht bloss zerrissen werden. Das Zerreiben der grob zerstückelten Masse mit Glasstücken oder Sand gelingt ziemlich schnell und gut; es geht aber leicht der abgeriebene Kiesel- oder Glasstaub als Trübung durchs Filter, wenn eine Filtration der wässerigen Auszüge des Organbreies angeschlossen wird. Ueber einen Apparat, der die Organe in hartgefrorenem Zustande in eine schneeartige Masse zu zerkleinern gestattet, siehe Kossel[1]).

Isolierung der Zellen.

Eine Isolierung der Zellen der Organe gelingt in manchen Fällen, z. B. bei der Leber, Milz, Thymus, indem man das entblutete, mit Kochsalzlösung ausgespülte Organ durch Leinwand knetet. Bindegewebe, Gefässe usw. bleiben zurück. Der durchgepresste Brei besteht zum grössten Teil aus unbeschädigten Zellen (Plósz[2]), Krüger[3]).

Untersuchung der Muskeln.

796. **Bestandteile.** Der Muskel ist zusammengesetzt aus Muskelfasern, die durch fibrilläres Bindegewebe zusammengehalten werden. Er enthält ungefähr 75 pCt. Wasser und 25 pCt. feste Stoffe. Die festen Bestandteile der Muskelfasern sind zum grössten Teil (80 pCt.) Proteinstoffe u. z. hauptsächlich Eiweissstoffe, daneben in kleiner Menge Nucleoproteid und Oxyhämoglobin. Die Eiweissstoffe des frischen nicht geronnenen Muskels*) (Muskelplasma) sind nach v. Fürth[4]) Myogen (§ 301), Myosin (§ 303) und zuweilen ein wenig lösliches Myogenfibrin (§ 301). Die Eiweissstoffe des abgestorbenen Muskels sind noch ungenügend bekannt; der am reichlichsten vorkommende wird ebenfalls Myosin genannt, ist aber in seinen Beziehungen zum Myosin des Plasmas noch nicht genügend auf-

*) Das Fischmuskelplasma enthält ausserdem noch Myoproteid (v. Fürth[4]). Ueber die Eiweissstoffe der längsgestreiften Muskeln und der Wirbellosen siehe die S. 402 und S. 404 citierten Arbeiten.

1) H.-S. **33**. 5. (1901.)
2) Pfl. A. **7**. 371. (1873.)
3) Z. f. B. **27**. 448. (1890.)
4) A. exp. P. u. Ph. **36**. 231. (1895.)

geklärt. Serumalbumin und Serumglobulin, die sich ebenfalls finden, gehören vielleicht dem Blut an. Ferner sind in den Muskelfasern nachgewiesen: Inosinsäure, Nucleinbasen, Carnin, Carnosin, Carnitin, Phosphorfleischsäure, Ammoniak, Harnstoff (reichlich bei Haifischen und Rochen), Methylguanidin, Kreatin, Kreatinin (beide fehlen den Octopodenmuskeln), Spuren von Harnsäure (reichlicher bei Alligatoren) und von Taurin (reichlicher bei Cephalopoden), Glykokoll (bei Gastropoden), Glykogen, Dextrin (?), Traubenzucker, Maltose, Milchsäure, flüchtige Fettsäuren, Seifen, Fett, Phosphatide, Cholesterin, Inosit, proteolytische und andere Fermente, anorganische Stoffe (etwa 5 pCt.) u. z. Kalium, Natrium, Calcium, Magnesium, Eisen, gebunden an Phosphorsäure und Salzsäure. Unter den Basen überwiegt das Kalium und unter den Säuren die Phosphorsäure bei weitem, Magnesium findet sich meist mehr als Calcium. Salzsäure ist nur in sehr geringer Menge vorhanden und Schwefelsäure in noch geringerer. Etwas Kieselsäure ist auch nachgewiesen.

Nachweis und Bestimmung der anorganischen Salze in den Muskeln.

797. Die Untersuchung geschieht nach § 617, wobei nur zu bemerken, dass in dem wässerigen Auszug ausser den wasserlöslichen anorganischen Phosphaten auch die phosphorsäurehaltige Inosinsäure und Phosphorfleischsäure enthalten sind.

Nachweis der Proteinstoffe in den Muskeln.

im frischen Muskel.

798. a) im frischen (quergestreiften) Muskel. Ueber die Darstellung des Myogens und Myosins aus Muskelplasma siehe § 301 und § 303 und die dort citierte Arbeit von v. Fürth.

Extrahiert man frische quergestreifte Muskeln, welche durch Eiskühlung dauernd vor dem Eintritt der Totenstarre möglichst geschützt werden, mit 10 proc. Salmiaklösung u. z. in wiederholter Einzelextraction, so gelingt es bis zu 90 pCt. der Eiweissstoffe in Lösung zu bringen, so dass die Menge der unlöslichen Eiweissstoffe (das sogenannte Stroma) nur 11—12 pCt. beträgt. Aus totenstarren quergestreiften Muskeln lässt sich nur gegen 30 pCt. der Eiweissstoffe extrahieren. Aus frischer Herzmusculatur erhält man nur etwa 43 pCt. und aus frischer glatter Musculatur nur etwa 28 pCt. Der Eintritt der Totenstarre hat einen nur unbedeutenden oder gar keinen Einfluss (Saxl[1]).

im abgestorbenen Muskel.

b) im abgestorbenen (quergestreiften) Muskel. Man rührt den Muskelbrei (etwa 100 g) in der Reibschale mit der ungefähr doppelten Menge eiskalten Wassers zusammen, lässt unter Umrühren einige Stunden bei niedriger Temperatur stehen und filtriert durch lockere Leinwand (Wasserauszug). Der Rückstand wird ausgepresst und noch wiederholt in gleicher Weise mit grösseren Wassermengen behandelt, darauf mit der

1) B. Ph. P. **9**. 1. (1907.) Siehe auch Grindley, J. A. Ch. S. **26**. 1082. (1904.), **27**. 658. (1905.), **28**. 469. (1906.)

doppelten Menge 0,15proc. Sodalösung verrührt, ausgepresst, mit der gleichen Menge Wasser verrührt und nach einigen Stunden filtriert und ausgepresst (Sodaauszug). Man behandelt jetzt in der gleichen Weise mehrmals mit 12—15proc. Salmiaklösung, indem man jedesmal unter häufigem Umrühren einige Stunden stehen lässt (Salmiakauszug) und darauf (nach Entfernung des Salmiaks aus der rückständigen Masse durch viel Wasser) mit 0,1proc. Salzsäure (4 ccm conc. Salzsäure auf 1 Liter Wasser) so oft, bis eine Probe der salzsauren Lösung beim Neutralisieren mit Soda oder auf Zusatz von Ferrocyankalium nicht mehr wie Spuren eines Niederschlages gibt (Salzsäureauszug). Jetzt wird die wiederum ausgepresste und mit Wasser gewaschene Masse mit verdünnter Kalilauge (1—2 g Aetzkali auf 1 Liter Wasser) zusammengerieben und nach einigem Stehen ebenfalls filtriert (Alkaliauszug). Man erhält auf diese Weise einen Wasser- (1), Soda- (2), Salmiak- (3), Säure- (4) und Alkaliauszug (5) sowie einen Rückstand (6). Von allen Auszügen wird eine für die Untersuchung geeignete Menge durch Papier klar filtriert (event. unter Druck durch einen Papierbrei).

1. Wässeriger Auszug. Bestimmt man die Coagulationspunkte in der § 24 beschriebenen Weise, so wird man mehrere durch ihre Gerinnungstemperatur sich unterscheidende Eiweissstoffe nachweisen können. Bestimmte Angaben über die Natur der einzelnen Albuminstoffe können bei dem jetzigen Stande unserer Kenntnisse nicht gemacht werden. Beim langsamen Erwärmen erscheint Trübung und flockiger Niederschlag bei 45—48°. Alles, was bis etwa 55° ausfällt, scheint dem Myosin (§ 303) zuzugehören. Myosin. Zwischen 60 und 70° erfolgt wieder Trübung und bei 72—75° flockige Fällung. Diese beiden Abscheidungen bestehen wohl aus Serumalbumin Serumalbumin. (§ 296) und Serumglobulin (§ 306). Ist Blutfarbstoff zugegen, so gibt Serumglobulin. Blutfarbstoff. derselbe gleichfalls bei dieser Temperatur Coagula, scheidet sich aber erst beim Sieden vollständig aus. Der Rest des wässerigen Auszugs wird zum Kochen erhitzt und filtriert, das eiweissfreie Filtrat nach S. 496 unten auf Phosphorfleischsäure*) verarbeitet. Phosphorfleischsäure.

2. Sodaauszug. Er gibt auf Zusatz von Essigsäure einen erst in reichlichem Ueberschuss der Essigsäure löslichen Niederschlag. Man trennt ihn durch Centrifugieren, löst ihn in sehr verdünntem Ammoniak, fällt die Lösung wieder mit Essigsäure, centrifugiert und wäscht mit Wasser: Nucleoproteid (§ 432), das man nach § 619, 1b prüfen kann. Nucleoproteid.

3. Salmiakauszug. Er enthält die Hauptmenge des Myosins Myosin. (§ 303) und gibt infolge dessen einen Niederschlag beim Eintropfen der Lösung in Wasser und eine Ausscheidung bei ihrer Sättigung mit Kochsalz. Die Sättigung lässt sich am besten erreichen durch Einstellen eines über

*) Für den Nachweis dieser Säure ist es zweckmässiger, von einer grösseren Menge Fleisch (500—1000 g) auszugehen.

die Oberfläche hinausragenden Steinsalzkrystalls in die Flüssigkeit; die Ausscheidung des Myosins erfolgt als schleimiger Ueberzug um den Krystall. Die Lösung des abfiltrierten Niederschlags in wenig Wasser gerinnt bei etwa 55°.

4. Salzsäureauszug. Das in dieser Lösung enthaltene und durch Neutralisation mit Soda sowie durch Sättigen mit Kochsalz ausfallende
Acidalbumin. Acidalbumin ist als ein Umwandlungsproduct des Myosins, dessen Extraction durch Salmiaklösung niemals völlig gelingt, anzusehen.

5. Alkaliauszug. Auf Zusatz von Säuren fällt eine Substanz aus, die sich leicht in verdünntem Alkali (aber nicht bei Gegenwart von Salmiak) löst. Sie gehört weder den Nucleoproteiden noch den Glukoproteiden zu[1]).

6. Rückstand. Mit Wasser und schwach essigsaurem Wasser gewaschen geht er bei anhaltendem Kochen zum Teil in Lösung. Das Filtrat
Glutin. enthält das aus dem Collagen entstandene Glutin und erstarrt nach genügender Concentration auf dem Wasserbade beim Erkalten. Der auf dem Filter bleibende Rückstand besteht aus Sarkolemmschläuchen, elastischen Fasern, welche in ihrer mikroskopischen Structur kaum verändert sind.

Nachweis und Bestimmung von Harnstoff, Milchsäure, flüchtigen Fettsäuren, Inosit in den Muskeln.

799. Harnstoff wird nach § 627, Milchsäure nach S. 74, flüchtige Fettsäuren nach § 73, Inosit nach § 195 isoliert.

Bestimmung der Milchsäure. Bei der Bestimmung der in frischen Muskeln (von Amphibien) enthaltenen Milchsäure ist zu berücksichtigen, dass nach den Feststellungen von Fletcher u. Hopkins[2]) mechanische Verletzungen, Erwärmen, chemische Reagentien, z. B. warmer Alkohol, zu einer beträchtlichen Vermehrung führen. Fletcher u. Hopkins beschreiben genau, wie man diese Fehlerquellen am besten vermeidet.

Isolierung von Carnosin, Carnitin, Methylguanidin aus Muskeln nach Gulewitsch und Krimberg[3]).

800. Ganz frisches Fleisch (4—5 kg) wird fein zerkleinert und wiederholt mit grösseren Mengen Wasser gekocht. Die Auszüge werden durch Colieren und Abpressen vom Fleisch getrennt, vereinigt, eingedampft und mit 20 proc. Bleizuckerlösung ausgefällt, der Niederschlag wird abgesaugt und gewaschen, das Filtrat mit Schwefelwasserstoff entbleit, auf etwa 1 Liter eingeengt, mit Schwefelsäure bis zu 4 Vol.-pCt. versetzt und mit concentrierter Phosphorwolframsäure unter Vermeidung eines grösseren Ueberschusses ausgefällt. Nach ein- bis zweitägigem Stehen an kühlem Orte wird der Niederschlag abgesaugt, mit 4 Vol.-proc. Schwefelsäure sorgfältig

1) Holmgren, Maly's Jbr. 1893. S. 360.
Goodmann, A. J. of Ph. **4**. 260. (1900.)
2) J. of Ph. **35**. 247. (1907.)
3) Nach einer persönlichen Mitteilung von Herrn R. Krimberg.

gewaschen und durch Zerreiben mit krystallinischem Aetzbaryt und Wasser bei Zimmertemperatur zerlegt, das Filtrat durch Kohlensäure vom überschüssigen Baryt sofort befreit, mit Salpetersäure neutralisiert, bis auf etwa $^1/_2$ Liter eingeengt und mit 20 proc. Silbernitratlösung versetzt, bis kein Niederschlag mehr entsteht. Nach Absaugen des Niederschlags fährt man mit dem Zusatz der Silbernitratlösung fort, bis eine kleine Probe der Flüssigkeit, auf einem Uhrglase mit Barytwasser gemischt, einen in der Hauptmasse noch weissen Niederschlag gibt, in welchem aber schon deutlich braune, bald schwarz werdende Teilchen sichtbar sind. Nun fügt man eine warme gesättigte Aetzbarytlösung hinzu, bis kein Niederschlag mehr entsteht, saugt sofort ab und wäscht sorgfältig aus (Niederschlag A, Filtrat B).

A. Der Niederschlag wird mit Schwefelwasserstoff zerlegt, das Filtrat mittelst verdünnter Schwefelsäure von den letzten Spuren Baryt vorsichtig befreit, mit concentrierter Salpetersäure neutralisiert und stark eingeengt. Beim Stehen erstarrt die Flüssigkeit strahlig krystallinisch. Die Krystalle, welche aus Carnosinnitrat[1]) bestehen, werden scharf abgesaugt und mit verdünntem Alkohol gewaschen. Aus der eingeengten Mutterlauge erhält man auf dieselbe Art weitere Mengen des Salzes. Die letzte stark eingeengte und noch heisse Mutterlauge versetzt man mit Alkohol bis zur bleibenden Trübung; bei langsamem Erkalten eventuell durch Reiben der Gefässwand mit einem Glasstabe erhält man oft noch etwas Carnosinnitrat. Das umkrystallisierte reine Salz zersetzt sich bei 212,5—213,5° und besitzt die specifische Drehung $[\alpha]_D = +22{,}53°$ (bei p = 8,097 pCt. und t = 19°). Carnosin.

B. Das Filtrat wird mit Schwefelwasserstoff entsilbert, abermals filtriert, mit Schwefelsäure neutralisiert, mit Magnesiumoxyd gemischt und bis zur Syrupdicke eingeengt. Nach Hinzufügung von Barytwasser wird der Niederschlag abgesaugt, das Filtrat mit Kohlensäure behandelt, nochmals filtriert, mit Salpetersäure neutralisiert, eingeengt und mit 20 proc. Silbernitratlösung versetzt. Nach Entfernung des gewöhnlich geringen Niederschlags fährt man mit dem Zusatz des Silbernitrats fort, bis wiederum eine kleine Probe der Flüssigkeit mit Barytwasser gemischt einen braunen Niederschlag gibt. Zuletzt wird die Flüssigkeit mit Aetzbarytlösung ausgefällt (Niederschlag a, Filtrat b).

a) Der Niederschlag wird gewaschen und mit Schwefelwasserstoff zerlegt, das Filtrat mittelst verdünnter Schwefelsäure von den letzten Spuren Baryt vorsichtig befreit, mit Salpetersäure neutralisiert, mit Tierkohle gekocht, abermals filtriert und eingeengt. Es scheidet sich das Methylguanidinnitrat[2]) in Form glänzender Täfelchen ab. Die Methylguanidin.

1) Gulewitsch und Amiradzibi, H.-S. **30**. 565. (1900.)
2) Gulewitsch, H.-S. **47**. 471. (1906.)

Krystalle werden abgesaugt und mit kaltem Wasser gewaschen. Nach einmaligem Umkrystallisieren aus heissem Wasser eventuell unter Zusatz von Tierkohle ist das Methylguanidinnitrat vollständig rein und schmilzt dann genau bei 150°.

b. Das Filtrat wird mit Salzsäure neutralisiert, das neue Filtrat bis etwa $^1/_4$ Liter eingeengt und mit Kaliumwismuthjodidlösung*) ausgefällt[1]). Der zuerst flockig ausfallende Niederschlag ballt sich nachher zusammen und bildet zuletzt einen harten zusammenhängenden Klumpen. Die Flüssigkeit wird abgegossen, der Niederschlag mit Wasser oberflächlich gewaschen, zerkleinert und mit frischgefälltem Bleihydroxyd bei gewöhnlicher Temperatur zerrieben. Der neue Niederschlag wird abgesaugt und gewaschen, das Filtrat mit Schwefelwasserstoff entbleit, abermals filtriert und die alkalisch reagierende Flüssigkeit, welche kein Jod mehr enthalten darf, bis zur Syrupdicke eingedampft**). Der Syrup wird in Alkohol gelöst, der Rückstand noch zwei Mal mit frischem Alkohol extrahiert, die Auszüge werden vereinigt, eingeengt***), der Rückstand wird mit absolutem Alkohol extrahiert und der zuletzt erhaltene alkoholische Auszug mit einer heissen concentrierten alkoholischen Lösung von Quecksilberchlorid ausgefällt. Man hört mit dem Hinzufügen der heissen Quecksilberchloridlösung auf, wenn die auszufällende Flüssigkeit nach dem Versetzen mit kaltgesättigter alkoholischer Sublimatlösung längere Zeit klar bleibt. Den Niederschlag, welcher beim Reiben mit einem Glasstabe sehr bald krystallisiert, lässt man einige Stunden an kühlem Orte stehen, zerreibt in einem Mörser, saugt ab und wäscht mit Alkohol aus. Der Niederschlag, welcher die Sublimatverbindung des Carnitins
Carnitin. $C_7H_{15}NO_3 . 2HgCl_2$ enthält, wird vom anhaftenden Alkohol befreit und unter Zusatz von Tierkohle wiederholt mit heissem Wasser extrahiert. Diese

*) Die Kaliumwismuthjodidlösung wird nach Kraut dargestellt. Man löst einerseits 80 g basisches Wismuthnitrat in 200 ccm reiner Salpetersäure von 1,18 spec. Gew., andererseits 272 g Jodkalium in wenig Wasser, und giesst die Wismuthlösung langsam und unter Umschütteln in die Jodkaliumlösung, wobei sich der anfangs entstehende braune Niederschlag zu gelbroter Flüssigkeit löst. Aus dieser lässt man durch starkes Abkühlen den gebildeten Salpeter möglichst auskrystallisieren, beseitigt die Krystalle und füllt die Flüssigkeit zu einem Liter auf. Die Lösung ist im Dunkeln aufzubewahren, weil am Licht sich allmählich Wismuthjodid ausscheidet (E. Schmidt, Lehrbuch der pharmaceutischen Chemie. Bd. II. 1901. S. 1368).

**) R. Krimberg, Ueber die stickstoffhaltigen Extractivstoffe der Muskeln. S. 140. Wissenschaftliche Abhandlungen der Universität Moskau. J. 1907. (Russisch). Es ist allerdings besser, wenn das alkalische Filtrat zusammen mit dem ersten Waschwasser im Vacuum bei etwa 40° eingeengt wird; die weiteren Waschwässer dampft man in jedem Fall zuerst auf dem Wasserbade stark ein. Nach dem Einengen im Vacuum giesst man den syrupösen Rückstand in Alkohol.

***) Auch dieses Einengen führt man besser im Vacuum aus.

1) Gulewitsch und Krimberg, H.-S. **45**. 326. (1905.)

Operation führt man zweckmässig in der Weise aus, dass man den Kolben längere Zeit in einem kochenden Wasserbade hält und öfters umschüttelt. Aus den heiss filtrierten und vereinigten Auszügen scheidet sich beim Erkalten gewöhnlich ein geringer Niederschlag ab. Man entfernt den letzteren und engt das Filtrat recht stark ein. Es scheidet sich beim Stehen das Quecksilbersalz des Carnitins in nadelförmigen meistenteils sphärisch gruppierten Krystallen aus. Die Krystalle werden abgesaugt und mit kaltem Wasser gewaschen. Aus der Mutterlauge erhält man durch Eingengen weitere Mengen des Salzes. Zuletzt scheidet die eingeengte Mutterlauge auch bei längerem Stehen keine Krystalle mehr aus, obwohl sie gewöhnlich noch Carnitin enthält. Um auch diesen Rest des Carnitins zu isolieren, zerlegt man die Mutterlauge mit Schwefelwasserstoff, neutralisiert das Filtrat mit Soda, engt ein, säuert mit Schwefelsäure an und fällt mit Phosphorwolframsäure. Aus dem gewaschenen Niederschlage stellt man auf die übliche Weise durch Zersetzen mit Baryt und Behandeln des Filtrates mit Kohlensäure die freie Base dar, engt deren Lösung bis zur Syrupdicke ein, extrahiert den Rückstand mit absolutem Alkohol, fällt den alkoholischen Auszug abermals mit alkoholischer Sublimatlösung aus und isoliert aus dem Niederschlag auf die schon beschriebene Weise die Sublimatverbindung des Carnitins. Die erhaltenen Fractionen des Carnitinsalzes werden aus heissem Wasser unter Anwendung von Tierkohle umkrystallisiert. Das reine Salz $C_7H_{15}NO_3 . 2HgCl_2$ schmilzt bei 204—205° unter Zersetzung.

Nachweis von Kreatin, Kreatinin, Nucleinbasen, Milchsäure, Taurin, Inosit in den Muskeln*).

801. **Kreatin, Nucleinbasen**[1]). 200—500 g oder mehr vom Muskelbrei werden mit dem ungefähr gleichen Gewicht Wasser gründlich verrührt und auf dem Wasserbade unter stetem Umrühren auf 55—60° erwärmt. Die Flüssigkeit wird coliert, der Rückstand mit der Hand in kleinen Portionen ausgepresst, wieder mit 60—80 ccm Wasser angerührt und zum zweiten Male gründlich ausgepresst. Die vereinigten Flüssigkeiten werden über freiem Feuer unter Umrühren zum Kochen erhitzt und nach dem Erkalten von den ausgeschiedenen Eiweissstoffen abfiltriert. Jetzt fällt man mit Bleiessig, so lange ein Niederschlag entsteht, aber unter Vermeidung eines grossen Ueberschusses, filtriert, leitet Schwefelwasserstoff ein, filtriert wieder und

*) Ein geeignetes Object für die Isolierung dieser Substanzen stellt auch das Fleischextract dar.

Das Liebig'sche Fleischextract ist in Bezug auf seine Basen eingehend von Kutscher untersucht (Z. f. Unters. N. u. G. **10**. 528. (1905.) u. **11**. 582. (1906.), C. f. Ph. **21**. 33 u. 586 (1908), das Krabbenextract von Ackermann u. Kutscher (Z. f. Unters. N. u. G. **13**. 180. 610 u. 612 (1907.) und **14**. 688. (1907.)

1) Neubauer, Z. f. analyt. Ch. **2**. 26. (1863.) **6**. 33. (1867.)

dampft auf dem Wasserbade bis zum dünnen Syrup ab. Während zwei- bis dreitägigen Stehens an einem kühlen Orte krystallisiert aus der gelblichen,
Kreatin. syrupösen Flüssigkeit das Kreatin aus. Der Nachweis geschieht nach § 124.

Von Jaffe[1]), Gottlieb u. Stangassinger[2]), Grindley[3]) u. a. ist die colori-
Bestimmung des Kreatins. metrische Methode von Folin (§ 556) für die Bestimmung des Kreatins benutzt worden. Doch scheinen die Bedingungen für eine quantitative Umwandlung des Kreatins in Kreatinin, welche für dieses Verfahren Voraussetzung ist, noch nicht genügend festgestellt. Siehe darüber Weber[4]).

Die von den Kreatinkrystallen abgesaugte Flüssigkeit wird nach Zusatz von Ammoniak mit Silbernitrat versetzt. Der Niederschlag besteht
Nucleinbasen. aus den Silberverbindungen der Nucleinbasen. Löst man den einmal mit Wasser gewaschenen Niederschlag in wenig Salpetersäure (spec. Gew. 1,1) auf dem Wasserbade und filtriert heiss, so scheiden sich beim Erkalten die Nucleinbasen als Silbernitratverbindungen teilweise krystallinisch ab. Wegen der Isolierung der einzelnen Nucleinbasen siehe § 810.

802. **Kreatinin, Milchsäure, Taurin.** Nachdem zunächst das Kreatin nach § 801 entfernt ist, dampft man das Filtrat (+ Waschalkohol) nach Zusatz von etwas Bariumcarbonat zur Trockne ein, erschöpft den Rückstand mit absol. Alkohol und filtriert.

Filtrat. Man setzt zu der (event. etwas eingeengten) Flüssigkeit ein wenig alkoholische säurefreie Chlorzinklösung (spec. Gew. 1,2). Während
Kreatinin. mehrtägigen Stehens scheidet sich das Kreatinin als Chlorzinkverbindung ab. Für den Nachweis kocht man die abfiltrierten Krystalle mit Bleioxydhydrat, filtriert und prüft das Filtrat mit Hülfe der S. 161 angegebenen Reactionen.

Die von dem Kreatininchlorzink abfiltrierte alkoholische Lösung wird auf dem Wasserbade verdunstet, der syrupöse Rückstand mit Phosphorsäure angesäuert und wiederholt mit grossen Mengen Aether ausgeschüttelt. Aus dem Rückstand der Aetherauszüge stellt man nach S. 75 das Zinksalz der
Milchsäure. Milchsäure dar und identificiert dasselbe durch Bestimmung des Krystallwasser- und Zinkgehaltes (S. 77).

Rückstand. Die conc. wässerige Lösung des Rückstandes wird der langsamen Verdunstung überlassen. Scheiden sich keine Krystalle ab, so
Taurin. kann man eine Abscheidung von Taurin durch Quecksilberoxyd versuchen (§ 177). Der nach § 55 festzustellende bedeutende Schwefelgehalt des Taurins erleichtert die Auffindung selbst bei sehr kleinen Mengen.

Für die Gewinnung des Taurins dürfte es sich empfehlen, nach dem Vorgang von Kutscher und Steudel die Muskelauszüge nach der Entfernung des coagulablen Eiweisses mit Tannin und dann mit Phosphorwolframsäure zu fällen und das Filtrat

1) H.-S. **48**. 457. (1906.) 2) H.-S. **52**. 1. (1907.)
3) J. B. Ch. **2**. 309. (1907.) **3**. 491. (1907.)
4) A. exp. P. u. Ph. **58**. 93. (1908.)

nach Fällen mit Baryt und Entfernen des überschüssigen Baryts durch Kohlensäure zu verarbeiten. Auf diese Weise gewann Micko[1]) Taurin aus Fleischextract.

803. **Inosit.** Die von den Kreatinkrystallen abfiltrierte Flüssigkeit (siehe § 801) wird nach dem Verfahren von Boedeker (§ 195) weiter behandelt.

Ein Verfahren zur Isolierung des Inosits, welches auf seiner Widerstandsfähigkeit gegen Aetzalkali, Barytwasser und Salpetersäure beruht, ist kürzlich von Rosenberger[2]) angegeben worden.

Nachweis von Zucker in den Muskeln.

804. Zum Nachweis des Zuckers wird der Muskelbrei mit Wasser mehrmals ausgekocht, das vereinigte Filtrat bei niedriger Temperatur eingeengt und mit dem mehrfachen Volumen Alkohol gefällt. Das Filtrat wird wieder eingeengt und abermals mit absol. Alkohol gefällt. Nach einigem Stehen filtriert man ab, löst den Rückstand in Wasser, fügt zu der Lösung salzsaures Phenylhydrazin und Natriumacetat (S. 108) und erwärmt auf dem Wasserbade. Das dabei erhaltene Osazongemenge ist z. Tl. in heissem Wasser unlöslich, z. Tl. darin löslich. Der in heissem Wasser unlösliche Teil ist Phenylglukosazon (Panormoff[3]), der darin lösliche hat den Schmelzpunkt des Isomaltosazons, 152—154°, und stellt nach Osborne und Zobel[4]) ein Maltosazon dar, welches durch das Osazon eines dextrinartigen Körpers verunreinigt ist. Die Menge des erhaltenen Glukosazons ist geringer, als die des in heissem Wasser löslichen Osazons.

Nachweis der Phosphatide in den Muskeln.

805. Ueber den Nachweis siehe S. 192.

Ueber die Darstellung der einzelnen Phosphatide sind S. 191, 194, § 150 u. § 151 einige Angaben gemacht worden. Im Uebrigen ist auf die Originalarbeiten, besonders auf Erlandsen[5]) zu verweisen.

Nachweis und Bestimmung der gebundenen Pentose in den Muskeln.

806. Nachweis. Man kocht den Muskelbrei mit 0,5proc. Ammoniak- Nachweis.
lösung, filtriert, fällt das Filtrat mit Essigsäure und wäscht den abfiltrierten Niederschlag mit Wasser, Alkohol und Aether aus. Versetzt man nun etwas von dieser Substanz in einem Reagensglase mit 1 ccm Wasser, 1 ccm conc. Salzsäure und Phloroglucin und kocht, so tritt sofort oder allmählich eine himbeer- bis kirschrote Färbung auf, welche den charakteristischen Absorptionsstreifen zeigt (§ 108, 2) (Blumenthal[6]).

---

1) H.-S. **56**. 180. (1908.)
2) H.-S. **56**. 373. (1908.)
3) H.-S. **17**. 596. (1893.)
4) J. of Ph. **29**. 1. (1903.)
5) H.-S. **51**. 71. (1907.)
6) Z. f. k. M. **34**. 166. (1898.)

Bestimmung. Bestimmung nach Tollens[1]). Princip. Das bei der Destillation von Pentosen mit Salzsäure sich bildende Furfurol ($C_5H_{10}O_5 - 3\,H_2O = C_5H_4O_2$) gibt mit Phloroglucin sich abscheidendes Furfurolphloroglucid ($2\,C_5H_4O_2 + 2\,C_6H_6O_3 = C_{22}H_{18}O_9 + H_2O$), welches gewogen wird.

Die Methode gehört in die Reihe der conventionellen, verlangt also genaues Einhalten der Vorschriften.

Das frische Organ wird fein zerkleinert, das ganze oder ein Teil gewogen, mit der gleichen Menge einer Mischung gleicher Teile Alkohol und Aether, der 1—2 ccm Essigsäure zugesetzt sind, verrührt, filtriert, der Rückstand bei 50—55° getrocknet, nach etwa 48 Stunden wieder gewogen und zu einem homogenen Pulver zerrieben.

Eine gewogene Menge (etwa 5 g) dieses Pulvers wird in einem etwa 300 ccm fassenden Kolben, in dessen Stopfen eine Hahnpipette eingefügt ist, mit 100 ccm 12 proc. Salzsäure destilliert. Nachdem 30 ccm abdestilliert sind, lässt man aus der Hahnpipette wieder 30 ccm derselben Säure nachfliessen und fährt so fort, bis sich im Destillat längere Zeit kein Furfurol (Rotfärbung von Anilinacetatpapier) nachweisen lässt. Die Destillate enthalten weisse flockige Häutchen; sie bleiben meist bei vorsichtigem Abgiessen zurück. Gelingt das nicht, so muss filtriert werden. Das vereinigte wasserklare Destillat wird mit mehr als der berechneten Menge Phloroglucin (in 12 proc. Salzsäure gelöst) versetzt, mit 12 proc. Salzsäure auf 400 ccm aufgefüllt, durchgeschüttelt und 12—14 Stunden stehen gelassen. Nach dieser Zeit saugt man den Niederschlag durch einen mit Asbest versehenen Porzellan-Goochtiegel ab, wäscht mit 150 ccm Wasser nach, indem man dafür sorgt, dass der Niederschlag immer mit Flüssigkeit bedeckt ist, saugt dann möglichst trocken und trocknet 4 Stunden bei 97—98° (Wassertrockenschrank). Dann wird der Tiegel im geschlossenen Wägegläschen gewogen. Zieht man das vorher festgestellte Gewicht des Wägegläschens + Tiegel von dem gefundenen Gewicht ab, so erhält man die Menge des Phloroglucids. Die diesem entsprechende Menge Pentose erfährt man aus der von Kröber (H.-S. **36**. Anhang) aufgestellten Tabelle.

Nachweis und Bestimmung von Alkohol in den Muskeln.

807. Siehe die Angaben § 87.

Nachweis. Nachweis nach Landsberg[2]). Er beruht auf der Umwandlung des durch Destillation isolierten Alkohols in Aldehyd und Nachweis des Aldehyds. Die zerkleinerten Organe (einige 100 g) werden mit etwa dem doppelten Volumen Wasser destilliert, bis etwa der 3. Teil übergegangen ist. Das Destillat wird mit Schwefelsäure und Kaliumchromat (auf 100 ccm 5 ccm concentrierte Schwefelsäure und 5 ccm einer 2 proc. Kaliumchromatlösung) versetzt und wieder destilliert. Die ersten 15 ccm werden für folgende Reactionen auf Aldehyd benutzt:

---

1) H.-S. **36**. 239. (1902.) Z. f. angew. Ch. 1902. S. 477.
Bendix u. Ebstein, Z. f. allg. Ph. **2**. 1. (1903.)
Vergl. auch Grund, H.-S. **35**. 111. (1902.)

2) H.-S. **41**. 505. (1904.)

1. Erhitzen mit concentrierter Natronlauge: Trübung oder nur Gelbfärbung und charakteristischer Geruch (Bildung von Aldehydharz).

2. Gelbfärbung auf Zusatz von Nessler's Reagens.

3. Jodoformprobe (§ 87, 1).

Die beiden letzten Proben sind wesentlich empfindlicher als die erste.

Bestimmung. 1. Eine titrimetrische Bestimmung kleiner Mengen Alkohol nach seiner Isolierung durch Destillation ist von Nicloux[1]) angegeben und von Landsberg als ganz brauchbar befunden worden. Sie beruht auf der reducierenden Wirkung des Alkohols auf die Chromsäure. Ein auf demselben Princip beruhendes Verfahren ist früher von Bodländer[2]) beschrieben. Beide Methoden leiden an einer wenig scharfen Endreaction. Nach Nicloux beträgt der relative Fehler bei seiner Methode ungefähr 5 pCt. Bestimmung.

2. Genauere Resultate erhält man nach Stritar[3]) bei der Anwendung des Jodidverfahrens von Zeisel u. Fanto[4]). Man kocht die alkoholhaltige Flüssigkeit mit Jodwasserstoff, wobei sich Aethyljodid bildet, leitet die Dämpfe durch eine Suspension von rotem Phosphor, wobei der Jodwasserstoff absorbiert wird und darauf in eine alkoholische Silbernitratlösung, durch welche das Jod des Aethyljodids an Silber gebunden wird. Das Jodsilber wird gewogen und durch Multiplication seiner Menge mit 0,1960 die entsprechende Menge Aethylalkohol erhalten.

Der Fehler beträgt nach Stritar nur 0,5—1 pCt., wenn mindestens 0,05 g Alkohol vorhanden sind. Ueber die zweckmässigste Art der Anreicherung des Destillats an Alkohol durch wiederholte Destillation siehe bei Stritar, über die Einzelheiten der Methode die unten citierten Arbeiten[4]). Eine eingehende Beschreibung des Jodidverfahrens und Abbildung des Apparates findet sich auch bei Tangl u. Weiser[5]). Ueber Fehlerquellen und ihre Ausschaltung siehe auch bei Stritar.

Bestimmung von Trockenrückstand, Gesamtstickstoff, einzelnen anorganischen Bestandteilen in den Muskeln.

808. **Vorbereitung.** Etwa 50 g gut zerkleinerte und gemischte Muskelsubstanz wird in einer gewogenen Schale (+ Glasstab) genau abgewogen, mit so viel Alkohol zusammengerührt, dass die Masse krümlig wird, in dünner Schicht ausgebreitet und auf dem Wasserbade, dessen Temperatur weniger wie 80° beträgt, unter häufiger Durchmischung der Muskelpartikelchen mit dem Glasstabe getrocknet, bis der Alkoholgeruch verschwunden ist. Ist die Masse jetzt noch nicht gut pulverisierbar, so wird nochmals Alkohol zugefügt und wieder verdunstet (E. Voit[6]). Nach mehrstündigem Stehen an der Luft stellt man das Gewicht fest und zerreibt die Masse in einer Reibschale zu einem möglichst feinen Pulver. Dieses lufttrockene Pulver wird in einem gut schliessenden Gefäss aufbewahrt und dient für die einzelnen Bestimmungen.

Trockenrückstand. Man wägt genau 1—2 g ab und trocknet zunächst

---

1) Recherches expér. sur l'élimination de l'alcool et. 1 Vol. Paris. 1900 bei O. Doin u. H.-S. **43**. 476. (1904/05.)

2) Pfl. A. **32**. 398. (1883.) 3) H.-S. **50**. 22. (1906/07.)

4) Z. f. d. landw. Versuchsw. in Oesterreich **5**. 729. (1902.), Z. f. anal. Ch. **42**. 549. (1903) und Stritar, Z. f. anal. Ch. **42**. 579. (1903.)

5) Pfl. A. **115**. 152. (1906.)

6) Z. f. B. **35**. 555. (1998.)

bei etwa 80° und dann bei 100° bis zum constanten Gewicht. Man benutzt für diesen Zweck den Uhrglasapparat (§ 9).

Gesamtstickstoff*). Man verfährt nach Kjeldahl (§ 528 b) unter Benutzung von etwa 0,3 g. Das Abwägen geschieht in einem Wägeröhrchen (§ 12).

Einzelne anorganische Bestandteile*). Der Gesamtschwefel wird nach § 520, das Gesamteisen nach § 512, die Gesamtphosphorsäure nach § 523 ermittelt. Für die Eisenbestimmung nimmt man mindestens 5 g, für die andern beiden 1—2 g. Kalium und Natrium werden nach § 509, Calcium und Magnesium nach § 510, Salzsäure nach § 516 bestimmt.

Bestimmung des Ammoniaks in den Muskeln.

809. Man verfährt am besten nach Grafe[1]), welcher die Erfahrungen von Boussignault, Wurster[2]), Krüger u. Reich[3]) und Folin[4]) benutzte.

Princip. Das Ammoniak wird durch kochsalzhaltige Natriumcarbonatlösung (Folin) in Freiheit gesetzt, im Vacuum (Boussignault, Wurster) bei einer Temperatur bis zu 37° überdestilliert, in titrierter Schwefelsäure aufgefangen und durch Zurücktitrieren mit Natronlauge quantitativ bestimmt. Das Schäumen während der Destillation wird durch Zusatz von Alkohol beseitigt (Krüger u. Reich, Folin).

Erforderliche Lösungen und Apparate.

1. Gesättigte Kochsalzlösung (ammoniakfrei), 2. Gesättigte Natriumcarbonatlösung (ammoniakfrei), 3. $^n/_{10}$ Schwefelsäure und $^n/_{10}$ Natronlauge, 4. Lacmoid, 5. Der S. 576 abgebildete Apparat. Die Peligot'sche Röhre hat zweckmässig eine Höhe von 26 cm und einen Fassungsraum (bis zum oberen Rand der beiden Kugeln gemessen) von etwa 450 ccm, es empfiehlt sich, sie schräg aufzustellen u. z. so, dass die der Wasserstrahlpumpe zugekehrte Hälfte erhöht ist. Als Destillationskolben dient ein Jenaer Rundkolben von 1—2 Liter mit langem Hals.

Vorbereitung. Die Leber ist unmittelbar nach dem Tode des Tieres in möglichst ausgeblutetem Zustande zu verwenden, andere weniger zersetzliche Organe lassen sich ohne nachweisbaren Nachteil bis zum nächsten Tage aufheben, wenn man sie mit Salicylsäure bestreut auf Eis liegen lässt. Nach Entfernung von Häuten und grossen Gefässen sind die Organe möglichst fein mit Hilfe der Fleischhackmaschine zu zerkleinern oder, wo das möglich ist, wie bei der Leber durch Reiben durch ein Sieb.

Ausführung. Nachdem in die Peligot'sche Röhre 10 ccm $^n/_{10}$ Schwefelsäure und ebensoviel destilliertes Wasser eingebracht sind, wägt man von dem Organbrei 50 g (bis auf 0,1 g genau) ab, spült ihn mit 100 ccm conc.

*) Man kann natürlich auch die frische Muskelsubstanz für diese Bestimmungen erwenden, doch bietet das vorherige Trocknen und Pulverisieren grössere Gewähr für einen richtigen Durchschnittswert. Von der frischen Substanz nimmt man etwa die vierfache Menge (Abwägen § 12).

1) H.-S. **48**. 300. (1906.)

2) C. f. Ph. **I**. 485. (1888.), B. **22**. 1903. (1889.)

3) H.-S. **39**. 165. (1903.) 4) H.-S. **37**. 161. (1902/03.)

Kochsalzlösung, 50 ccm Alkohol und 100 ccm (ammoniakfreiem) Wasser in den Kolben, fügt 50 ccm gesättigte Sodalösung hinzu und verschliesst den Kolben. In den Scheidetrichter wird Alkohol gebracht. Nachdem Stopfen und Hähne mit neutral reagierendem, flüssigem Paraffin abgedichtet worden, wird die Flamme unter dem Wasserbad angebrannt und evacuiert. Bei einem Vacuum von 20 mm beginnt schon nach einer Viertelstunde, wenn das Thermometer 25—28° zeigt, der Kolbeninhalt zu sieden. Es ist ratsam in den ersten 3 Stunden nicht viel über diese Temperatur hinauszugehen, da bei höherer Temperatur leicht Organteile, die noch nicht ganz mit der alkalischen Flüssigkeit durchtränkt sind, an die Kolbenwand spritzen und nicht alles Ammoniak abgeben. Eintretendes Schäumen beseitigt man durch vorsichtige Zugabe von etwas Alkohol aus dem Scheidetrichter oder auch durch vorübergehende Verringerung des Vacuums. Ist einmal die Destillation in ruhigen Gang gebracht (was bei einiger Uebung in 20 bis 30 Min. der Fall ist), bedarf es zunächst keiner weiteren Aufsicht. Nach etwa 3 Stunden steigert man die Temperatur des Wasserbades auf 36 bis 37°. Nach 6—7 Stunden (gerechnet vom Beginne des Siedens) ist die Destillation beendet. Die Abstellung des Apparates und die Titration geschieht in der § 549 angegebenen Weise.

Bestimmung der beim Kochen mit verdünnter Säure aus den Muskeln erhaltenen Nucleinbasen[1]).

810. 500 g*) vom Muskelbrei werden mit Wasser, dem für je 1 Liter 5—10 g conc. Schwefelsäure zugesetzt sind, 3—4 Stunden im Dampfkochtopf bei 100—110° gekocht. Die Flüssigkeit wird mit Natronlauge alkalisch, mit Essigsäure sauer gemacht, erhitzt und filtriert, das Filtrat mit Natronlauge schwach alkalisch gemacht und mit Natriumbisulfit und Kupfersulfat in der Hitze ausgefällt (S. 744). Der abfiltrierte und ausgewaschene Kupferoxydulniederschlag wird in heissem Wasser suspendiert und durch Schwefelwasserstoff zersetzt. Nachdem noch Schwefelsäure zugefügt, um etwa ausgeschiedenes Guanin in Lösung zu bringen, wird abfiltriert. Das Filtrat wird etwa auf 1 Liter eingedampft, in der Wärme mit basischem Bleiacetat ausgefällt und filtriert. Man erhält so einen Niederschlag (a) und ein Filtrat (b).

*) Von drüsigen Organen nimmt man weniger, 50—500 g.

1) A. Kossel, H.-S. **5**. 267. (1881.) **6**. 422. (1882.) **7**. 7. (1883.) **8**. 404. (1884.)
Schindler, H.-S. **13**. 432. (1889.)
Bruhns, H.-S. **14**. 533. (1890.)
Burian u. Schur, H.-S. **23**. 55. (1897.)
Krüger u. Salomon, H.-S. **24**. 364. (1898.) **26**. 350. (1899.)
His d. J. u. Hagen, H.-S. **30**. 350. (1900.)
Krüger u. Schittenhelm, H.-S. **35**. 153. (1902.)

a) Niederschlag. Derselbe wird in Wasser zerteilt und mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Das Filtrat wird nach Verjagen des Schwefelwasserstoffs mit ammoniakalischer Silberlösung versetzt. Entsteht hierdurch eine Fällung, so wird diese abfiltriert, ausgewaschen und dem aus dem Filtrat b zu gewinnenden Silberniederschlag hinzugefügt.

b) Filtrat. Dasselbe wird durch Schwefelwasserstoff vom Blei befreit, die vom Schwefelblei abfiltrierte Lösung nach dem Verjagen des Schwefelwasserstoffs mit überschüssigem wässerigem Ammoniak versetzt und mit ammoniakalischer Silberlösung ausgefällt. Der sorgfältig ausgewaschene Niederschlag wird (nachdem event. die in a erwähnte, aus dem Bleiniederschlag erhaltene Silberfällung hinzugefügt worden ist) in Wasser suspendiert und bei Wasserbadtemperatur mit verdünnter Salzsäure versetzt, bis das Silber völlig in Chlorsilber umgewandelt ist. Man fügt noch die gleiche Menge der vorhin gebrauchten Salzsäure hinzu, filtriert heiss und wäscht den Niederschlag mit stark verdünnter Salzsäure aus.

1. Bestimmung des Guanins. Das Filtrat wird jetzt zur Entfernung der überschüssigen Salzsäure zur Trockne eingedampft, der Rückstand mit heissem Wasser aufgenommen, die Lösung auf ein Volum von 100—150 ccm gebracht und in der Wärme mit einer wässerigen Ammoniaklösung im Ueberschuss versetzt. Der Niederschlag enthält das Guanin. Die Fällung wird nach 24 Stunden abfiltriert, noch einmal mit 2 proc. Ammoniaklösung in der Wärme digeriert, nach weiteren 24 Stunden wiederum abfiltriert, in wenig verdünnter Natronlauge gelöst, die Lösung nötigenfalls filtriert und
Guanin. durch Ansäuern mit Essigsäure wieder ausgefällt. Das Guanin wird bei 100° getrocknet und gewogen.

2. Bestimmung des Adenins. Die von dem Ammoniakniederschlage abfiltrierten Flüssigkeiten werden zur Vertreibung des überschüssigen Ammoniaks eingedampft, mit Wasser auf 100—150 ccm gebracht und nach Zusatz eines Tropfens wässeriger Methylorangelösung tropfenweise mit Salzsäure bis zum Auftreten einer Rotfärbung versetzt. Man fügt jetzt eine kalte conc. Lösung von Natriumpikrat so lange hinzu, als noch ein weiterer Zusatz des Fällungsmittels zu einem Teil des Filtrats sofort eine Trübung erzeugt. Der Niederschlag von pikrinsaurem Adenin wird sofort mit Hülfe einer Saugvorrichtung abfiltriert. Das Adeninpikrat wird bei 100° getrocknet und gewogen. Man bestimmt nun in einer kleinen Menge des Pikrats den Zersetzungspunkt. Liegt derselbe bei 281°, so ist das Adeninpikrat rein und man berechnet daraus das Adenin nach der Formel $C_6H_5N_5 . C_6H_2 (NO_2)_3OH$; andernfalls wägt man einen aliquoten Teil des Niederschlags ab, suspendiert ihn unter Zusatz von wenig Salpetersäure in Wasser, befreit die Flüssigkeit durch Ausschütteln mit Benzol von der Pikrinsäure und fällt das Adenin mit ammoniakalischer Silberlösung aus. Der gut ausgewaschene Niederschlag dient zur Bestimmung des Stickstoffs nach Kjeldahl (§ 528 b) und somit

zur Ermittelung des Gehalts an Adenin, dem event. noch das unter 4 erhaltene Adenin zuzufügen ist. Adenin (1).

3. Trennung von Hypoxanthin und Xanthin. Man säuert die vom Adeninpikrat abfiltrierte Flüssigkeit mit Salpetersäure an und entfernt die Pikrinsäure durch Ausschütteln mit Benzol. Hierauf fällt man Hypoxanthin und Xanthin mit ammoniakalischer Silberlösung aus und führt sie in oben angegebener Weise in die Chloride über, deren Lösung man zur Trockne verdampft. Der Rückstand wird zur völligen Entfernung der Salzsäure noch einmal mit Wasser und mehrere Male mit Alkohol eingedunstet, sodann in wenig Wasser gelöst und die Lösung zur Ausscheidung des Xanthins 24 Stunden hingestellt. Den aus Xanthin und Xanthinchlorhydrat bestehenden Niederschlag filtriert man ab, wäscht mit Wasser aus und verfährt weiter nach 5.

4. Bestimmung des Hypoxanthins. Die vom Xanthin abfiltrierte Flüssigkeit wird mit einem kleinen Ueberschuss von Pikrinsäure in 50 ccm Wasser heiss gelöst. Wenn die Flüssigkeit sich beim Abkühlen gleichmässig trübt, so ist ein kleiner Teil des Adenins der ersten Pikratfällung entgangen. Die Trübung wird sofort abfiltriert. Der Filterrückstand, nach dem unter 2 angegebenen Verfahren in die Silberverbindung des Adenins übergeführt, dient nach Ermittelung des Stickstoffgehalts zur Correctur der unter 2 gefundenen Adeninmenge. Die klare, von Adenin völlig freie Lösung scheidet nach dem Einengen und Erkaltenlassen das Hypoxanthinpikrat in makroskopischen tafelförmigen Krystallen aus. Dasselbe wird abfiltriert, in siedendem Wasser gelöst und mit neutraler oder nur schwach salpetersaurer Silbernitratlösung versetzt. Der Niederschlag besteht aus Hypoxanthinsilberpikrat, er wird bei 100° getrocknet und gewogen und dient zur Berechnung des Hypoxanthins nach der Formel $C_5H_3AgN_4O \cdot C_6H_2(NO_2)_3OH$. Adenin (2). Hypoxanthin.

5. Bestimmung des Xanthins. Die vom Hypoxanthinpikrat abfiltrierte Flüssigkeit wird mit Salpetersäure und Benzol von Pikrinsäure befreit und mit überschüssigem Ammoniak versetzt. In dieser Flüssigkeit löst man den aus Xanthin und Xanthinchlorhydrat bestehenden Niederschlag (siehe 3) und fällt die Lösung mit ammoniakalischer Silberlösung. Der Niederschlag dient zur Stickstoffbestimmung, aus deren Resultat die Menge des Xanthins berechnet wird. Xanthin.

Nachweis und Bestimmung der beim Kochen mit verdünnten Säuren aus den Muskeln erhaltenen Harnsäure[1].

811. 50—500 g vom Organbrei werden in grossen Kolben mit 2 Litern Wasser und 10 ccm conc. Schwefelsäure 12 Stunden lang so erhitzt, dass

1) Stadthagen, Virch. A. **109**. 390. (1887.)
His d. J. u. Hagen, H.-S. **30**. 350. (1900.) Dieser letzteren Arbeit ist die obige Beschreibung entnommen.

die Flüssigkeit niemals ins Sieden kommt. Die Flüssigkeit wird nach 12 stündigem Stehen durch grosse Faltenfilter abfiltriert und der Rückstand noch zweimal mit Schwefelsäure von 0,5 Vol.-Procent je 2—3 Stunden in der Wärme extrahiert. Die vereinigten Filtrate werden mit so viel Barythydrat versetzt, als der zugesetzten Schwefelsäure entspricht. (Da etwas Schwefelsäure im ausgefällten Eiweiss zurückgehalten wird, so kommt auf diese Weise ein geringer Ueberschuss von Baryt in die Lösung. Dieser geringe Ueberschuss schadet nicht.) Das Bariumsulfat setzt sich bei gelinder Wärme in einigen Stunden gut ab. Man filtriert, fügt zu dem Filtrat Lithiumcarbonat bis zur neutralen Reaction und neutralisiert, während der Niederschlag sich absetzt, von Zeit zu Zeit von neuem mit Essigsäure. Das Absitzen erfolgt am besten bei 30—40°. Eine Probe der überstehenden Flüssigkeit darf weder mit Baryt noch mit Lithiumcarbonat eine Trübung geben. Ist dies, event. durch nachträglichen Zusatz, erreicht, so wird filtriert und mit heissem Wasser mehrfach nachgewaschen. Man dampft das Filtrat ein, filtriert von ausgeschiedenen Albumosen ab und fällt die Harnsäure als harnsaure Silbermagnesia aus. Ueber das Weitere siehe § 559. Auf jeden Fall ist es nötig, die schliesslich erhaltene Harnsäure mikroskopisch und mit Hilfe der Murexidprobe zu identificieren.

Ein anderes Verfahren ist von Brugsch und Schittenhelm[1]) benutzt worden.

Bestimmung der ätherlöslichen Substanzen in den Muskeln.

812. 1. Man wägt einige Gramme des gut gemischten Fleischbreies ab, übergiesst sie in einem Becherglase mit der etwa fünffachen Menge absol. Alkohols, lässt 24 Stunden unter wiederholtem Umrühren bedeckt stehen und verfährt weiter nach § 632. Die Aetherextraction wird 24 Stunden fortgesetzt.

Bestimmung der höheren Fettsäuren in den verseiften Muskeln nach Kumagawa und Suto[2]).

Verseifung.

813. 1. Verseifung. 2—5 g Organpulver (§ 808) (je nach dem Fettgehalt) werden in einem auf dem kochenden Wasserbad stehenden und mit einer Glasglocke, welche nach oben zu in eine enge Röhre mit Oeffnung ausläuft, bedeckten Becherglas mit 25 ccm 20 proc. Natronlauge unter mehrmaligem Umrühren 2 Stunden erhitzt. Man giesst die noch heisse Lösung in einen gut schliessenden Scheidetrichter von etwa 250 ccm Inhalt, spült 2—3mal mit je 5 ccm warmem Wasser nach, fügt nach dem Erkalten bis auf 40—50° zunächst 20 ccm 20 proc. Salzsäure hinzu und nach Schütteln und Abkühlen noch 10 ccm derselben Salzsäure. Man kühlt wieder ab und gibt 70—100 ccm Aether zu und schüttelt gut durch. Es erfolgt meist so-

1) Z. exp. P. u. Th. **4**. 534. (1907.) 2) B. Z. **8**. 212. (1908.)

fortige Trennung der Schichten, indem der Niederschlag sich zu einer dünnen Schicht in der Mitte verdichtet. Man lässt nach einigen Minuten die klare wässerige Schicht ab, giesst die bräunliche ätherische in ein Becherglas, spült Trichter und Niederschlag zweimal mit je 5—10 ccm Aether nach und giesst diese Portionen zu der Hauptmenge. Der Niederschlag im Scheidetrichter wird nun mit etwa 5 ccm Normalnatronlauge unter Schütteln gelöst, die Lösung mit 30—50 ccm Aether geschüttelt, mit der zuerst abgegossenen, stark sauren, wässerigen Flüssigkeit versetzt und nochmals geschüttelt. Den abgeschiedenen Aether vereinigt man mit dem der ersten Ausschüttelung, verdunstet, nimmt nochmals mit absol. Aether auf, filtriert durch Asbest, verdunstet wieder, trocknet den Rückstand bei 50° einige Stunden und giesst auf den noch warmen Rückstand unter sanftem Umschwenken 20—30 ccm Petroläther (Sdp. 50—60°). Nachdem eine in der Regel auftretende milchige Trübung beim Stehen des bedeckten Glases in $^1/_2$—1 Stunde sich zum grössten Teil harzartig niedergeschlagen hat, filtriert man durch Asbest, verdunstet das farblose Filtrat und trocknet bei 50° bis zur Gewichtsconstanz.

2. Entfernung der unverseifbaren Substanzen. Um die noch beigemengten unverseifbaren Substanzen zu entfernen, löst man wieder in einem Scheidetrichter in 50—70 ccm Petroläther und fügt $^n/_3$ absolut-alkoholische Kalilauge in einer solchen Menge hinzu, dass sie etwa das 30 bis 40fache Volumen des Petrolätherextractes beträgt. Man schüttelt gut durch (wobei wieder eine ganz klare Lösung entsteht), fügt eine der Kalilauge genau gleiche Menge Wasser hinzu und schüttelt wieder. Indem hierdurch die Concentration des Alkohols auf etwa 50 Vol.-Procent sinkt, erfolgt eine sofortige glatte Trennung in zwei Schichten, wobei die unverseifbaren Substanzen in den Petroläther, die Seifen in den Alkohol gehen. Die abgetrennte alkoholische Lösung wird nochmals mit 30—40 ccm Petroläther geschüttelt. Die vereinigten Petrolätherlösungen werden verdunstet, der Rückstand wird nochmals in ein wenig Alkohol gelöst, mit 0,5—1 ccm alkohol. Natronlauge versetzt, wieder auf dem Wasserbade verdunstet, der Rückstand 15—30 Minuten bei 100° getrocknet. Man extrahiert ihn jetzt noch heiss mit Petroläther, filtriert durch Asbest, verdunstet und trocknet bei 100° bis zur Gewichtsconstanz.

Entfernung der unverseifbaren Substanzen.

Die Differenz zwischen diesem Gewicht und dem bei 1 erhaltenen ergibt die Menge der Fettsäuren.

Bestimmung des Glykogens in den Muskeln nach Pflüger[1]).

814. Ausser dem hier zu beschreibenden Verfahren hat Pflüger noch ein abgekürztes Verfahren[2]) angegeben, welches in einigen Stunden,

1) Pfl. A. **96**. 94. (1903) oder das Glykogen S. 104. 2. Aufl. Bonn 1905.
2) Pfl. A. **103**. 169. (1904.)

höchstens in einem Tage annähernd zum Ziel führt, und ein polarimetrisches Verfahren[1]), welches ihm gute Resultate gab.

Princip. Das zerkleinerte Organ wird mit Kalilauge gekocht, die Lösung mit Alkohol gefällt, das abfiltrierte Glykogen durch Kochen mit Salzsäure quantitativ in Traubenzucker übergeführt und dieser bestimmt.

1. Isolierung des Glykogens und seine Umwandlung in Zucker.

Erfordernisse. 1. Je ein Masskolben für 400 ccm und für 500 ccm. 2. 60proc. Kalilauge. 3. Eine Lösung aus 1 Vol. 15proc. Kalilauge und 2 Vol. 96 proc. Alkohol. 4. Salzsäure vom spec. Gewicht 1,19.

Ausführung. Unmittelbar nachdem das Tier getödtet, nimmt man das Organ heraus, zerkleinert es mit möglichster Schnelligkeit durch Hackmesser oder Hackmaschine, wägt von dem Brei auf einer Wage, die 0,1 g anzeigt, 100 g*) ab, bringt sie in ein 200 ccm-Kölbchen, fügt 100 ccm heisser 60proc. Kalilauge (Kaliumhydrat Ia Merck) hinzu und schüttelt tüchtig durch. Man versenkt nun das Kölbchen in ein siedendes Wasserbad, verschliesst es, nachdem sein Inhalt die Temperatur des Bades erreicht hat, mit einem Gummistopfen, schüttelt es nochmals durch, lässt 2 Stunden in dem Wasserbad, giesst es in einen 400 ccm-Masskolben, spült mit kochendem Wasser aus und füllt nach Abkühlen bis zur Marke auf. Von der gut gemischten Flüssigkeit bringt man 100 ccm**) in ein Becherglas von etwa 300 ccm Inhalt, fügt 100 ccm 96 proc. Alkohol hinzu und mischt gut. Es entsteht ein flockiger Niederschlag***). Am besten erst am nächsten Tage filtriert man durch ein Munktell-Filter von 15 ccm Durchmesser, indem man zunächst die überstehende Flüssigkeit auf das Filter bringt, wäscht zweimal mit einer Lösung, welche aus 1 Vol. 15proc. Kalilauge und 2 Vol. 96proc. Alkohol besteht, Becherglas und Filter aus (es ist nicht nötig, dass alles Glykogen auf das Filter kommt), darauf mit 96proc. Alkohol. Nachdem der Alkohol abgetropft ist, verschliesst man das Trichterrohr, über das ein Gummischlauch gezogen ist, mit einer Klemme, füllt das Filter fast ganz mit kaltem Wasser, stellt das noch Glykogenreste enthaltende Becherglas unter und öffnet nach $^1/_2$ bis 1 Stunde die Klemme. Nachdem die Flüssigkeit abgelaufen, verfährt man noch zweimal in derselben Weise, indem man bei der zweiten Wiederholung mit einem

*) Muss man weniger nehmen, so sind die späteren Zahlenangaben entsprechend zu verkleinern.

**) Bei geringem Glykogengehalt nimmt man 200 oder 300 ccm und fällt mit dem gleichen Vol. Alkohol.

***) In seltenen Fällen scheidet sich das Glykogen milchig ab. Die milchige Trübung setzt sich allmählich als durchsichtiger Firniss ab und erst nach einigen Tagen ist die Flüssigkeit klar. In solchen Fällen muss vor der Filtration die völlige Klärung der Flüssigkeit abgewartet werden (Pflüger[2]).

1) Pfl. A. **114**. 231. (1906.), **120**. 253. (1907.)

2) Pfl. A. **121**. 641. (1908.)

kleinen Pinsel den an dem Papier sitzenden grünlichen Staub in der Flüssigkeit verteilt. Das Filtrat wird nun durch tropfenweisen Zusatz von Salzsäure (1,19 spec. Gew.) aus einer Bürette unter Controlle eines kleinen hineingeworfenen Stücks Reagenspapier genau neutralisiert und dann in einen 500 ccm-Masskolben überführt. Zum Ausspülen des Becherglases benutzt man zunächst aus der Bürette abgemessene 25 ccm Salzsäure (1,19 spec. Gewicht), dann Wasser. Letzteres giesst man nicht direct, sondern durch das Glykogenfilter in den Masskolben, um auf diese Weise die letzten Glykogenreste noch auszuwaschen. Man wäscht aus, bis der Kolben nahezu bis zur Marke gefüllt ist. (Von der Vollständigkeit des Auswaschens überzeugt man sich, indem man einige Cubikcentimeter Filtrat in einem Reagensglas mit Alkohol versetzt, es darf keine Trübung auftreten). Man bringt nun den 500 ccm-Masskolben (welcher annähernd 2,2 pCt. HCl enthält) in ein siedendes Wasserbad, verschliesst ihn, wenn die Flüssigkeit sich nicht mehr ausdehnt, mit einem Gummistopfen, erhitzt 3 Stunden, lässt abkühlen, füllt bis zur Marke auf, mischt und filtriert durch trockenes schwedisches Papier.

Abkürzung des Verfahrens durch Centrifugieren.

Die in vielen Fällen besonders z. B. bei der Verarbeitung von Leber viel Zeit erfordernden Operationen der Filtration und der späteren Lösung des Glykogens lassen sich nach Bang[1]) ganz wesentlich abkürzen, wenn man die Abtrennung und das Waschen des Glykogens in einem Centrifugierglas (durch Centrifugieren) bewirkt und in demselben Glas dann auch die Spaltung vornimmt. Siehe darüber bei Bang.

2. Bestimmung des Zuckers.

Princip. Das beim Kochen mit alkalischer Kupferoxydlösung gebildete Kupferoxydul wird durch Asbest filtriert und entweder gravimetrisch bestimmt oder titrimetrisch nach Volhard, indem man es durch Salpetersäure löst, bei Gegenwart von schwefliger Säure durch überschüssig zugesetzte $^n/_{10}$ Rhodanammoniumlösung als Kupferrhodanür fällt und im Filtrat den Ueberschuss des Rhodanammoniums mit $^n/_{10}$ Silberlösung ermittelt.

Die gravimetrische Methode (a) gibt nahezu richtige Werte. Da aber unter Umständen die Möglichkeit, dass das gewogene Kupferoxydul kleine Verunreinigungen enthält, nicht ganz auszuschliessen ist, so empfiehlt es sich, um völlig sicher zu gehen, eine Controlle durch titrimetrische Bestimmung (b) des in dem gewogenen Kupferoxydul enthaltenen Kupfers auszuführen. Man kann diese Bestimmung natürlich auch allein ausführen. Sie erfordert etwas mehr Zeit und Lösungen, stellt aber weniger Anforderungen an das Asbeströhrchen.

a) Gravimetrische Methode.

Gravimetrische Methode.

Erforderliche Lösungen und Apparate. 1. Eine Lösung, welche in 500 ccm 34,639 g Kupfervitriol ($CuSO_4 + 5\,H_2O$) enthält.

Das Kupfervitriol ist 1 Mal aus Salpetersäure, 3 Mal aus Wasser umzukrystallisieren. Lässt man das durch gestörte Krystallisation erhaltene feine Mehl des Kupfervitriols, nachdem es zwischen Filtrierpapier ausgepresst wurde, möglichst ausgebreitet auf Filtrierpapier 24 Stunden liegen, so hat es den richtigen Krystallwassergehalt.

1) Hammarsten-Festschrift. No. II. Upsala u. Wiesbaden 1906.

2. Eine Lösung, welche in 500 ccm 173 g Seignettesalz und 125 g Aetzkali enthält. Man erhitzt in einem Becherglas 150 ccm Wasser zum Sieden, nimmt die Flamme fort, bringt 173 g Seignettesalz hinein und rührt bis zur Lösung. Nach Abkühlung giesst man die Flüssigkeit in einen 500 ccm-Masskolben, fügt 208 ccm 60proc. Kalilauge (hergestellt aus bestem Aetzkali) hinzu, spült mit Wasser nach, füllt nach völliger Abkühlung und guter Durchmischung bis zur Marke auf und filtriert durch dichte Glaswolle.

Beide Lösungen sind haltbar.

3. Kalilauge, welche 68 pCt. reinstes Aetzkali enthält.

4. Asbestfilterröhrchen. Ein Glasrohr von 10 cm Länge und 1,7 cm lichter Weite läuft nach unten in eine Verjüngung und darauf folgende birnförmige Erweiterung von etwa 1 cm äusserem Durchmesser aus. An diese Erweiterung schliesst sich abermals nach einer Verjüngung das 6 cm lange Abflussrohr. Die kleine birnförmige Erweiterung enthält allein den Asbest, welcher also Grösse und Gestalt einer grossen Erbse hat. Der zu benutzende Asbest von langfaseriger, weicher Beschaffenheit wird nach mehrtägigem Verweilen in roter, rauchender Salpetersäure so oft mit destilliertem Wasser gewaschen, bis das Wasser beim Umrühren keine Spur einer Trübung mehr zeigt, und dann getrocknet. Man zerteilt nun weiche langfaserige Stränge auf einer Glasplatte mit Präpariernadeln in einzelne Fäden oder feine Faserbündel, vereinigt sie zu einem Haufen, schiebt sie mit einer Pincette in das Röhrchen und mit einem Draht durch die Verjüngung in die Birne. Der Asbestfilz darf weder zu locker noch zu dicht sein. Um das Röhrchen auf seine Brauchbarkeit zu prüfen, saugt man heisses mit dem gleichen Vol. kalten Wassers verdünntes Gemisch gleicher Teile der Lösung 1 und 2 durch, wäscht mit 100 ccm Wasser aus, giesst Salpetersäure von 1,4 spec. Gewicht auf und lässt langsam durchfiltrieren, wäscht dann mit Wasser, absol. Alkohol und absol. Aether aus, trocknet bei 100° und wägt. Dieser Versuch wird wiederholt, bis der Gewichtsverlust bei zwei aufeinanderfolgenden Wägungen 0,2—0,3 mg nicht übersteigt. Ein solches Röhrchen ist für viele Versuche zu benutzen.

Eine Controlle der Dichtigkeit besteht darin, dass man stets zwei Parallelglykogenbestimmungen macht.

Ausführung*). In ein etwa 300 ccm fassendes Becherglas bringt man je 30 ccm der Lösungen 1 und 2, 4 ccm der Kalilauge (3) (zum Neutralisieren der in der Zuckerlösung enthaltenen Salzsäure) und 81 ccm der Zuckerlösung**) und mischt durch rotierende Bewegung (das Gesamtvolum muss in jedem Fall 145 ccm betragen). Nachdem das Becherglas mit einem Uhrglas (Concavität nach unten) bedeckt und in einen horizontalen, an einem Stativ angefügten Ring gehängt ist, taucht man es in einem gegebenen Moment in ein stark siedendes Wasserbad, so dass es etwas über die untere Hälfte eintaucht, hebt es nach genau 30 Minuten wieder heraus, fügt sofort 130 ccm kaltes Wasser hinzu und filtriert mit der Saugpumpe durch das Asbeströhrchen (dessen Abflussrohr in den Gummistopfen einer Saugflasche eingefügt ist) mit der Vorsicht, dass sich dauernd Flüssigkeit im Röhrchen befindet. Man giesst zunächst die überstehende blaue Flüssigkeit hinein, lässt dann an einem die Glaswand be-

*) Es sind stets zwei Parallelversuche auszuführen.

**) Diese 81 ccm dürfen nicht weniger als 12 und nicht mehr als 250 mg Traubenzucker enthalten.

rührenden Glasstab 100 ccm Wasser in das Becherglas fliessen (wodurch der Niederschlag nicht aufgerührt wird), giesst dieses Wasser ebenfalls auf das Filter und bringt nun erst mit Hülfe von Spritzflasche*) und Pinsel das Kupferoxydul quantitativ in das Röhrchen. Sobald der Niederschlag völlig aufgebracht und das Wasser fast ganz abgelaufen ist, wäscht man mehrmals mit absolutem Alkohol und mehrmals mit absolutem Aether nach, trocknet dann das Röhrchen im Trockenschrank bei 100—120° und wägt.

Berechnung. Die der gefundenen Menge Kupferoxydul entsprechende Menge Traubenzucker erfährt man aus der Tabelle (S. 791). Durch Multiplication des erhaltenen Zuckerwertes mit 0,927 erfährt man die entsprechende Glykogenmenge[1]).

Statt das Kupfer als Kupferoxydul zu wägen, kann man es auch vor der Wägung in Kupferoxyd überführen, indem man das Asbestfilterröhrchen mit der Saugpumpe verbindet und erhitzt, während ein Luftstrom hindurchgeht. Der erhaltene Wert ist durch Multiplikation mit 0,799 in den entsprechenden Kupferwert überzuführen und die diesem entsprechende Zuckermenge in der Tabelle (Anhang) abzulesen.

b) Titrimetrische Methode.

Titrimetrische Methode.

Erforderliche Lösungen und Apparate. 1. Die unter a aufgeführten Lösungen 1 und 2.

2. Asbestfilterröhrchen. Ein etwa 10 cm langes und 1,5 cm weites Glasrohr, das sich in ein engeres Abflussrohr verjüngt und an dessen anderem Ende ein Trichter von etwa 100 ccm Gehalt angeschmolzen ist. In dem unteren Teil des Glasrohres befindet sich ein lockerer, der Wandung gut anliegender Pfropf von weichem, langfaserigem Asbest, der keine Spur Kupferoxydul durchlassen darf.

3. $^n/_{10}$ Silberlösung. 4. $^n/_{10}$ Rhodanammoniumlösung.

5. Salpetersäure (1,2 spec. Gew.), der vor dem Gebrauch einige Harnstoffkrystalle zuzufügen sind.

6. Kaltgesättigte wässerige Lösung von schwefliger Säure.

7. Kaltgesättigte wässerige Lösung von Eisenammoniakalaun.

Ausführung. Nachdem zunächst in der unter a angegebenen Weise verfahren worden ist, setzt man das sämtliches Kupferoxydul enthaltende Asbeströhrchen auf eine Saugflasche, löst das Kupferoxydul durch vorsichtiges Uebergiessen mit Salpetersäure (man bedecke den Trichter mit einem Uhrglase, um Herausspritzen zu vermeiden!) und wäscht nun unter Anwendung der Saugpumpe mit Wasser völlig aus. Lösung und Spülwasser werden mit etwas mehr als der berechneten Menge Schwefelsäure (zur Ueberführung des Kupfernitrats in Kupfersulfat) versetzt und bis etwa

*) Pflüger empfiehlt für diesen Zweck eine Spritzflasche, an der die äussern Enden beider Glasröhren mit langen dünnen Gummischläuchen versehen sind. Der Schlauch, durch den das Wasser austritt, trägt eine Glasspitze, die man in die Hand nimmt, das Ende des andern Schlauchs nimmt man in den Mund, während die Flasche auf dem Tisch steht. Mit der einen Hand hält man das Becherglas, mit der andern richtet man den Wasserstrahl.

1) Nerking, Pfl. A. **85**. 320. (1901.)

zur Trockne in einer Glasschale verdampft. Der Rückstand wird in Wasser gelöst und die Lösung in ein 300 ccm Masskölbchen übergeführt. Nun gibt man einige Tropfen concentrierte Sodalösung hinzu, bis eben ein bleibender Niederschlag entsteht, fügt 50 ccm der schwefligen Säure hinzu, wodurch der Niederschlag wieder gelöst wird, erhitzt, kocht 1 Minute und fügt zu der heissen Flüssigkeit aus einer Bürette so viel der $^n/_{10}$ Rhodanammoniumlösung zu, bis die blaugrüne Kupferfarbe vollständig verschwunden ist. Es bildet sich ein feinflockiger Niederschlag von Kupferrhodanür, der in einer wasserhellen Flüssigkeit schwimmt. Nach dem Erkalten wird das Kölbchen bis zur Marke mit Wasser aufgefüllt und nach gutem Umschütteln durch ein trocknes Filter filtriert. Zu 100 ccm des klaren Filtrats setzt man in einem Becherglase 100 ccm Wasser, 50 ccm Salpetersäure und 10 ccm der Eisenammoniakalaunlösung, fügt $^n/_{10}$ Silberlösung aus einer Bürette bis zum völligen Verschwinden der roten Farbe hinzu und titriert nun mit $^n/_{10}$ Rhodanlösung zurück, bis ein schwach gelbrötlicher Farbenton erreicht ist. Ist nach 24 stündigem Stehen des bedeckten Becherglases im Dunkeln die rötliche Farbe wieder verschwunden, so sind noch 1 oder auch 2 Tropfen Rhodanlösung zuzufügen.

Berechnung. Die Differenz zwischen der Anzahl der verbrauchten Cubikcentimeter Rhodanammonium- und Silberlösung multipliciert mit 6,36 gibt die Menge des reducierten Kupfers in Milligrammen an. Die den gefundenen Milligrammen Kupfer entsprechende Mengen Traubenzucker liest man in der Tabelle (Anh.) ab. Durch Multiplication mit 0,927 erfährt man die zugehörige Menge Glykogen.

Bestimmung der in Proteiden enthaltenen Phosphorsäure nach Kossel[1]).

815. Ungefähr 15 g des Muskelbreies werden abgewogen, in geräumiger Reibschale mit ein wenig Gerbsäurelösung und etwa 10 ccm 5 proc. Salzsäure übergossen und gut durchgeknetet. Der Brei wird dann durch ein kleines, aschefreies Filter filtriert, mit viel verdünnter Salzsäure, dann mit siedendem Alkohol und zuletzt mit Aether extrahiert, u. z. so lange, bis die letzten Portionen der einzelnen Extracte nach dem Eindampfen nur ganz schwache Phosphorsäurereaction geben (§ 56). In der extrahierten Masse bestimmt man nach § 523 oder § 522 die Phosphorsäure. Sie entspricht der in den Proteiden enthaltenen.

Bestimmung der Proteinstoffe, anorganischen Salze, der ätherlöslichen Stoffe in den Muskeln.

816. Man wägt etwa 50 g des Muskelbreies ab und verfährt nach den Angaben, die in § 636 für die Analyse der serösen Flüssigkeiten angegeben worden sind.

---

1) H.-S. **7**. 9. (1883.)

Untersuchung der drüsigen Organe.

817. **Bestandteile.** In den drüsigen Organen finden sich ungefähr dieselben Bestandteile wie in den Muskeln. Es sind nachgewiesen lösliche Eiweissstoffe (unter ihnen Thyreoglobulin in der Schilddrüse), Nucleoproteide (u. z. in reichlicherer Menge als die Eiweissstoffe), Mucin (in der Submaxillar- und Sublingualdrüse), Nucleinbasen, Harnstoff, Kreatin, Kreatinin, Harnsäure, Taurin, Glykogen, Traubenzucker, Milchsäure, Bernsteinsäure, Aminovaleriansäure, Leucin, Cystin, flüchtige Fettsäuren, Seifen, Fett, Phosphatide, Jecorin, protagonartige Substanzen, Chondroitinschwefelsäure, Adrenalin (in der Nebenniere), Cholesterin, Inosit, Scyllit (Organe von Rochen und Haifischen), anorganische Bestandteile (dieselben wie beim Muskel), unter pathologischen Verhältnissen auch Tyrosin und andere Aminosäuren (in der Leber). Ferner enthalten die Organe Fermente, von denen besonders das diastatische und proteolytische und die auf Purinkörper einwirkenden weit verbreitet sind.

818. **Untersuchung.** Dieselbe geschieht in qualitativer und quantitativer Beziehung durchaus nach den für die Muskeln gemachten Angaben; über die in den Muskeln nicht nachgewiesenen Organbestandteile siehe §§ 819 u. 820. In betreff der Untersuchung auf Proteinstoffe, welche ebenfalls nach § 798 ausgeführt wird, ist zu bemerken, dass die Trennung der einzelnen Eiweissstoffe in dem Wasser- und Salmiakauszug auch durch fractionierte Coagulation und ausserdem durch fractionierte Sättigung mit Magnesiumsulfat und mit Natriumchlorid erreicht wird. Ausser Eiweissstoffen geht auch ein Teil des Nucleoproteids schon in die neutralen Auszüge über. Durch Essigsäure wird es gefällt.

Nachweis und Isolierung verschiedener Organbestandteile.

819. **Aminosäuren.** Der Organbrei wird in der mindestens dreifachen Menge absol. Alkohols verteilt und auf dem Wasserbade unter häufigem Umschütteln bis zum beginnenden Sieden des Alkohols erhitzt. Man lässt einige Stunden zum Erkalten stehen, filtriert ab, wäscht den Rückstand mit Alkohol aus, dampft das Filtrat zur Entfernung des Alkohols ein und verfährt weiter nach §§ 630 u. 593.

820. **Andere Bestandteile.** Ueber die Darstellung des Adrenalins aus Nebennieren siehe § 193, des Thyreoglobulins aus der Schilddrüse siehe § 311, über die Darstellung der Nucleoproteide aus den einzelnen Organen siehe § 418 ff., über die Darstellung des Mucins aus den Speicheldrüsen siehe § 460.

Verfahren zur Trennung von Basen (Purin-, Pyrimidin-, Hexonbasen, Diamine, Cholin, Guanidin) z. B. in weitgehend autolysierten drüsigen Organen (Thymus, Pancreas) nach Kutscher[1]).

Fractionierung.

821. 1. Fractionierung. Die Flüssigkeit wird filtriert, das Filtrat aufgekocht, eingeengt, von ausgeschiedenem Tyrosin usw. abgesaugt, mit Barytwasser ausgefällt, filtriert, mit Kohlensäure behandelt, wieder filtriert und eingeengt bis zur Ausscheidung von Leucin. Man filtriert dieses ab oder bringt es auch durch Wasser wieder in Lösung, säuert mit Salpetersäure schwach an, fällt mit 20 proc. Silbernitratlösung aus und filtriert: Purinbasenfraction. Das Filtrat wird mit 20 proc. Silbernitratlösung versetzt, bis eine Probe in gesättigtem Barytwasser sofort neben weissen Silberverbindungen braunes Silberoxyd fallen lässt. Darauf wird der Flüssigkeit vorsichtig Barytwasser zugefügt, bis ein Tropfen der über dem sich bildenden Niederschlag befindlichen Flüssigkeit mit einem Tropfen ammoniakalischer Silberlösung*) auf einer Glasplatte zusammengebracht an der Berührungsstelle nur eine ganz schwache Trübung erkennen lässt, und filtriert: Histidinfraction. Das Filtrat wird mit Aetzbaryt in der Kälte gesättigt und filtriert: Argininfraction. Das Filtrat wird in der Kälte mit Schwefelsäure und Salzsäure stark sauer gemacht, das ausgeschiedene Chlorsilber und Bariumsulfat abfiltriert und das Filtrat mit Phosphorwolframsäure ausgefällt, bis eine Probe auf weiteren Zusatz des Fällungsmittels nicht mehr sofort, sondern erst nach einiger Zeit einen Niederschlag giebt. Der Niederschlag wird abfiltriert, mit 5proc. Schwefelsäure ausgewaschen: Lysinfraction.

Untersuchung der einzelnen Fractionen.

2. Untersuchung der einzelnen Fractionen.

a) Purinbasenfraction. Sie enthält die Purinbasen als Silbernitratverbindungen, welche durch Aufschwemmen in Ammoniak und Zufügen von ammoniakalischer Silbernitratlösung in die Silberverbindungen übergeführt und nach § 810 untersucht werden können. Ueber andere in dieser Fraction vorhandene Substanzen siehe H.-S. **35**, 437 (1902).

Purinbasen.

b) Histidinfraction. Sie kann enthalten Histidin, Cytosin, Thymin, Uracil, ferner Asparaginsäure, Glutaminsäure, vielleicht auch Tryptophan[2]). Der Niederschlag wird mit Wasser verrieben, mit Schwefelsäure angesäuert und mit Schwefelwasserstoff zerlegt, das Filtrat nach Entfernung des Schwefelwasserstoffs vorsichtig mit Phosphorwolframsäure ausgefällt.

Histidin. Cytosin.

α) Der Niederschlag kann Histidin und Cytosin enthalten.

β) Das Filtrat, welches Thymin, Uracil und die Aminosäuren ent-

*) Sie wird bereitet, indem man 2 ccm 10proc. Silbernitratlösung tropfenweise mit 10proc. Ammoniaklösung versetzt bis gerade das abgeschiedene Silberoxyd sich gelöst hat und nun noch einen Tropfen Ammoniaklösung zusetzt.

1) H.-S. **39**. 159. (1903.) 2) H.-S. **44**. 386. (1905.)

halten kann, wird durch Baryt von Phosphorwolframsäure und Schwefelsäure, durch Kohlensäure von überschüssigem Baryt befreit und eingeengt. Etwa vorhandenes Thymin und Uracil werden auskrystallisieren[1]). Thymin, Uracil.

3. Argininfraction. In ihr kann ausser Arginin Guanidin*) vorhanden sein. Der Niederschlag wird in Schwefelsäure gelöst, das Silber durch Schwefelwasserstoff, die Schwefelsäure durch Baryt, das Barium durch Kohlensäure entfernt. In der Lösung fällt man das Arginin durch alkoholische Pikrolonsäure aus, die das Guanidin gelöst lässt, aus dem Filtrat nach Entfernung der Pikrolonsäure das Guanidin als Pikrat[2]). Arginin. Guanidin.

4. Lysinfraction. Sie kann enthalten Lysin, Cadaverin, Putrescin, Cholin. Sie wird mit Baryt zersetzt, das Filtrat nach Entfernung des Bariums durch Kohlensäure zum dünnen Syrup eingeengt und mit alkoholischer Pikrinsäure ausgefällt. Das ausgefallene Pikrat wird abfiltriert und mit absol. Alkohol ausgekocht.

a) In Alkohol unlösliche Pikrate. Sie können Lysin, Cadaverin, Putrescin enthalten. Zur Trennung lässt sich Pikrolonsäure verwenden, welche mit Lysin eine leicht lösliche, mit den beiden andern in Wasser und Alkohol nur schwer oder garnicht lösliche Verbindungen bildet[3]); vergleiche auch Lawrow[4]). Lysin, Cadaverin. Putrescin.

b) Das Filtrat + Alkohol. Es kann Cholin enthalten, welches nach Entfernung der Pikrinsäure mit Sublimat ausgefällt und als Cholinplatinchlorid oder Aurat identificiert wird[5]). Aus dem Filtrat der Quecksilberfällung ist noch Lysin zu isolieren[6]). Cholin. Lysin.

Untersuchung des Gehirns, des Rückenmarks und der Nerven.

822. **Bestandteile.** Die Zusammensetzung der Gehirn- und Nervensubstanz weicht sehr von der der übrigen Organe ab. Es finden sich in ihr reichliche Mengen von specifischen, in warmem Alkohol löslichen Gehirnstoffen (§§ 259—261), deren Trennung und Untersuchung sehr schwierig und sehr wenig vorgeschritten ist, von Cholesterin, Lecithin, Kephalin und anderen Phosphatiden, sowie sonstige noch ganz ungenügend bekannte Stoffe, ferner Eiweissstoffe, Nucleoproteid, Neurokeratin, in Wasser lösliche Extractivstoffe (Milchsäure, Kreatin, Harnstoff, Harnsäure, Nucleinbasen, Cholin, Inosit), anorganische Salze (Kalium, Natrium, Calcium, Magnesium, gebunden an Salzsäure, Phosphorsäure, Kohlensäure und sehr wenig Schwefelsäure).

---

*) Es ist bei der Autolyse des Pancreas gefunden worden (H.-S. **43**. 93. (1904/05).

1) H.-S. **35**. 438. (1902.) **44**. 386. (1905.)
2) H.-S. **42**. 457. (1904.)
3) H.-S. **41**. 336. (1904.)
4) H.-S. **33**. 325. (1901.)
5) H.-S. **39**. 161 u. 315. (1903.)
6) H.-S. **44**. 382. (1905.)

Isolierung und Nachweis der anorganischen Salze im Gehirn usw.

823. Directe Verkohlung und Veraschung führen zu Aschen, in denen wohl Kalium, Natrium, Calcium und Magnesium, aber keine Säuren bestimmt werden können, weil die sehr reichlich in organischer Bindung enthaltene Phosphorsäure die übrigen Säuren austreibt und sogar pyrophosphorsaures Salz liefert. Bis zu einem gewissen Grade lassen sich die Schwierigkeiten in folgender Weise vermeiden. Man extrahiert den Gehirnbrei mit 80 proc. Alkohol, filtriert (alkoholischer Auszug), erschöpft ihn darauf nacheinander mit Aether, warmem 85 proc. Alkohol und warmem, Benzol oder Chloroform enthaltendem Alkohol und kocht ihn schliesslich mit Wasser (wässeriger Auszug) aus. In dem so erhaltenen alkoholischen (1) und wässerigen Auszug (2) finden sich die wasserlöslichen, in dem in allen angewandten Lösungsmitteln unlöslichen Rückstand (3) die wasserunlöslichen Salze.

Der alkoholische Auszug (1) wird vorsichtig im Vacuum verdunstet, der Rückstand zur Entfernung von Phosphatiden mit Aether ausgezogen und darauf mit Wasser aufgenommen. Man filtriert, vereinigt das Filtrat mit dem wässerigen Auszug (2), dampft ein, verascht und untersucht die wässerige Aschelösung nach § 507. Lässt sich die Flüssigkeit nicht filtrieren, so muss sie nach Vereinigung mit dem wässerigen Auszug direct eingedampft und verascht werden.

Der Rückstand (3), welcher ausser Calcium- und Magnesiumphosphat auch coagulierte Eiweissstoffe, Neurokeratin, Nucleoproteid u. a. enthält, wird zur Entfernung des Proteids mit 0,5 proc. Ammoniak extrahiert und in einer Platinschale verbrannt. In der salzsauren Lösung der Asche lassen sich Calcium, Magnesium und Phosphorsäure nach § 508 nachweisen.

Isolierung und Nachweis der wasserlöslichen Substanzen im Gehirn usw.

824. **Proteine.** Man verrührt den Gehirnbrei mit viel Wasser zu einer feinen Emulsion, fügt Natriumsulfatlösung bis zur Abscheidung feiner Flocken hinzu und filtriert. Ist die Flüssigkeit trübe, so kann man verversuchen, sie durch Schütteln mit Aether im Scheidetrichter und Filtrieren nach Trennung beider Schichten zu klären.

Eiweissstoffe. Eiweissstoffe[1]) erkennt man durch Coagulation beim Kochen; man kann sie durch ihre verschiedenen Gerinnungstemperaturen und ihr verschiedenes Verhalten beim Aussalzen von einander trennen (vgl. § 798 u. § 818).

Nucleoproteid. Nucleoproteid[1 u. 2]) fällt auf Zusatz von Essigsäure und wird nach § 619, 1 b als solches identificiert. Eine weitere Menge Nucleoproteid lässt sich durch längere Extraction des Filterrückstandes mit 0,5 proc. Ammoniakflüssigkeit und Fällen des Filtrats mit Essigsäure erhalten.

---

1) Halliburton, J. of Ph. **15**. 90. (1894.)
2) Levene, A. of Neurol. and Psychopath. **2**. 1. (1899.)

Andere wasserlösliche Stoffe. Man kann den zu ihrer Isolierung zu benutzenden wässerigen Auszug in derselben Weise herstellen, besser aber ist es, die Verwendung von Salz zu vermeiden und den Gehirnbrei entweder mit mit Salzsäure schwach angesäuertem Wasser bei unter 70° eine Viertelstunde zu kochen und zu filtrieren (Gulewitsch[1]) oder mit dem gleichen Gewicht Aceton zu kochen, nach dem Erkalten zu filtrieren und das Filtrat zur Entfernung des Acetons einzudampfen (Koch[2]).

Aus diesem wässerigen Auszuge geschieht die Isolierung der Milchsäure nach § 74, des Harnstoffs nach § 627, des Kreatins nach § 124, der Harnsäure nach § 629, des Inosits nach § 195. Ueber die Gewinnung von Milchsäure, Kreatin, Nucleinbasen, Inosit siehe auch § 801 u. § 802.

Zur Darstellung des Cholins wird der salzsaure Auszug eingeengt, mit Alkohol aufgenommen, und die alkoholische Lösung (nach Abtrennung des Unlöslichen) mit alkoholischer Bleizuckerlösung gefällt. Das Filtrat wird entbleit, eingeengt, der Rückstand mit Alkohol aufgenommen und die Lösung mit alkoholischer Sublimatlösung gefällt. Aus diesem Niederschlag lässt sich Cholin gewinnen (Gulewitsch).

Isolierung der alkohol- und ätherlöslichen Stoffe im Gehirn usw.

825. Protagon wird nach § 259, Cerebroside werden nach § 261, Cholesterin wird nach § 225, Lecithin nach § 147, Kephalin nach § 148 dargestellt.

Isolierung des Neurokeratin.

Sie geschieht nach § 386.

Bestimmung des Trockenrückstandes, des Gesamtstickstoffs, der anorganischen Salze und anderer Stoffe im Gehirn usw.

826. **Trockenrückstand.** Man bringt den Gehirnbrei in dünner Schicht in eine gewogene Porzellanschale oder auf ein gewogenes Uhrglas, wägt, übergiesst mit Alkohol, lässt bei mässiger Wärme verdunsten, übergiesst nochmals mit Alkohol und lässt wieder verdunsten. Die auf diese Weise coagulierte Substanz wird jetzt über Schwefelsäure, dann im Luftbade bei unter 60° und zuletzt bei 100° getrocknet.

Es ist zweckmässig in dieser Weise vorzugehen, um zu verhindern, dass ein Eintrocknen der oberflächlichen Schicht stattfindet. Dieselbe lässt dann das Wasser aus dem Innern schwer entweichen. Auch findet beim Erhitzen auf 100°, so lange Wasser vorhanden ist, leicht teilweise Zersetzung statt.

Gesamtstickstoff, einzelne anorganische Bestandteile. Man bestimmt den Gesamtstickstoff nach Kjeldahl (§ 528 b), die einzelnen Aschebestandteile nach § 509 ff.

1) H.-S. **27**. 63. (1899.) 2) H.-S. **36**. 134. (1902.)

Anorganische Salze. Man verfährt nach den §823 gegebenen Principien.

Will man gleichzeitig die aus den Nucleoproteiden stammende Phosphorsäure bestimmen, so mischt man den nach § 823 erhaltenen Rückstand(3) (ohne ihn mit Ammoniak auszuziehen) vor der Veraschung mit reinem (calcium- und magnesiumfreien) kohlen- oder salpetersaurem Baryt. Die Menge Phosphorsäure, welche bei der quantitativen Bestimmung mehr gefunden wird, als dem Calcium und Magnesium entspricht, stammt aus dem Nucleoproteid.

Cholesterin. Man stellt in der im drittfolgenden Absatz (Galactose) beschriebenen Weise einen Alkoholbenzolauszug her. Zur quantitativen Gewinnung des Cholesterins aus dem Verdunstungsrückstand eignet sich nach Koch[1]) das Verfahren von Ritter (S. 312).

Lecithin und Kephalin. Für die Bestimmung dieser Phosphatide gibt Koch[2]) eine Methode an, welche darauf beruht, dass nach den Beobachtungen von Koch[3]) beim Erhitzen mit Jodwasserstoff Kephalin (und ebenso ein von Thudichum Myelin genannter Gehirnstoff) nur eine Methylgruppe abspaltet und zwar unter 240°, Lecithin dagegen drei, und zwar eine unterhalb 240°, zwei zwischen 240 und 300° (Verfahren von Herzig und Meyer[4]). Näheres über diese Bestimmung, deren Grundlagen mir indessen noch weiterer Sicherstellung zu bedürfen scheinen, siehe bei Koch.

Neurokeratin[5]). Etwa 50 g vom Bindegewebe möglichst befreite Gehirn- oder Nervensubstanz werden mit der 5—6fachen Menge künstlichen Magensaftes in einem 700—900 ccm fassenden Scheidetrichter unter häufigem Umschütteln 8—14 Tage lang verdaut und darauf mit Aether geschüttelt. Die wässerige Lösung setzt sich fast immer so klar ab, dass man sie ohne Verlust ablassen kann; man fügt Waschflüssigkeit (0,4 proc. Salzsäure) hinzu, schüttelt wieder, lässt die klare, wässerige Flüssigkeit ab und wiederholt das 3—4mal. Ist die Flüssigkeit ausnahmsweise trübe, so filtriert man sie durch ein gewogenes, bereits in einem später zu heizenden Wärmetrichter befindliches Filter. Durch dieses Filter lässt man dann auch das reichlich mit Alkohol versetzte Magma hindurchgehen. Der Wärmetrichter ist mit einem langen Kautschukschlauch versehen, welcher in ein entfernt stehendes Gefäss führt und eine Klemme trägt. Man schliesst jetzt die Klemme, bringt Alkohol auf den Trichter, erhitzt, lässt nach einiger Zeit den Alkohol abfliessen, bringt neuen darauf und wiederholt das nochmals; dann löscht man die Flamme und erschöpft den noch längere Zeit warmen Filterinhalt mit Aether. Nach dem Abkühlen wird die Masse wenigstens zwei Tage durch 1—2 Liter Natronlauge von 1 pCt., die man nur nach und nach unten abfliessen lässt, vom Nuclein befreit, dann mit Wasser, verdünnter Salzsäure, wieder mit Wasser, sowohl kaltem wie heissem, endlich wieder mit Alkohol und Aether gewaschen und auf dem Filter erst an der Luft, dann bei 110° getrocknet und gewogen. Das so erhaltene Neurokeratin ist vollständig frei von Myelinstoffen.

Galactose. Die Cerebroside, vielleicht auch andere Gehirnbestandteile, enthalten Galactose in ihrem Molekül. Zur Bestimmung dieser gebundenen Galactose verfährt man nach Noll[6]) in folgender Weise.

---

1) A. J. of Ph. **11**. 325. (1904.)
2) A. J. of Ph. **11**. 318. (1904.)
3) H.-S. **36**. 134. (1902.)
4) M. **15**. 613. (1894.)
5) Kühne u. Chittenden, Z. f. B. **26**. 291. (1889.)
6) H.-S. **27**. 370. (1899.)

Die gewogene Menge (ungefähr 10 g) wird mit wenig Wasser zu einem dünnen Brei zerrieben, die so entstandene Emulsion mit 10 proc. Natrium- oder Magnesiumsulfatlösung bis zur feinflockigen Abscheidung versetzt und centrifugiert. Nach Abgiessen der ziemlich klaren Flüssigkeit wird der Bodensatz mit 95 proc. Alkohol tagelang (unter täglichem Ersatz des abfiltrierten Alkohols durch neuen, bis das Filtrat sich beim Abkühlen nicht mehr trübt) und darauf tagelang mit Benzol (bis eine Benzolprobe beim Verdunsten keinen Rückstand mehr hinterlässt) ausgekocht. Man verdunstet die vereinigten Auszüge, zerreibt den Rückstand mit 0,75 proc. Salzsäure, führt ihn in einen Kolben mit höchstens 100 ccm derselben Salzsäure über und kocht 30 Stunden am Rückflusskühler. Nach dem Erkalten wird nach Zusatz einiger Cubikcentimeter kaltgesättigter Natriumsulfatlösung filtriert, ausgewaschen, das Filtrat etwas eingeengt, mit Natronlauge neutralisiert, in einen Masskolben von 100 ccm übergeführt, und bis zur Marke aufgefüllt. Von dieser Lösung benutzt man 20 ccm zur Titration nach Bertrand (S. 658, 2). Die der gefundenen Kupfermenge entsprechende Menge Galactose ergibt sich aus der Tabelle.

10	mg	Galactose	entsprechen	19,3	mg	Cu	41	mg	Galactose	entsprechen	75,6	mg	Cu
11	„	„	„	21,2	„	„	42	„	„	„	77,4	„	„
12	„	„	„	23,0	„	„	43	„	„	„	79,1	„	„
13	„	„	„	24,9	„	„	44	„	„	„	80,8	„	„
14	„	„	„	26,7	„	„	45	„	„	„	82,5	„	„
15	„	„	„	28,6	„	„	46	„	„	„	84,3	„	„
16	„	„	„	30,5	„	„	47	„	„	„	86,0	„	„
17	„	„	„	32,3	„	„	48	„	„	„	87,7	„	„
18	„	„	„	34,2	„	„	49	„	„	„	89,5	„	„
19	„	„	„	36,0	„	„	50	„	„	„	91,2	„	„
20	„	„	„	37,9	„	„	51	„	„	„	92,9	„	„
21	„	„	„	39,7	„	„	52	„	„	„	94,6	„	„
22	„	„	„	41,6	„	„	53	„	„	„	96,3	„	„
23	„	„	„	43,4	„	„	54	„	„	„	98,0	„	„
24	„	„	„	45,2	„	„	55	„	„	„	99,7	„	„
25	„	„	„	47,0	„	„	56	„	„	„	101,5	„	„
26	„	„	„	48,9	„	„	57	„	„	„	103,2	„	„
27	„	„	„	50,7	„	„	58	„	„	„	104,9	„	„
28	„	„	„	52,5	„	„	59	„	„	„	106,6	„	„
29	„	„	„	54,4	„	„	60	„	„	„	108,3	„	„
30	„	„	„	56,2	„	„	61	„	„	„	110,0	„	„
31	„	„	„	58,0	„	„	62	„	„	„	111,6	„	„
32	„	„	„	59,7	„	„	63	„	„	„	113,3	„	„
33	„	„	„	61,5	„	„	64	„	„	„	115,0	„	„
34	„	„	„	63,3	„	„	65	„	„	„	116,6	„	„
35	„	„	„	65,0	„	„	66	„	„	„	118,3	„	„
36	„	„	„	66,8	„	„	67	„	„	„	120,0	„	„
37	„	„	„	68,6	„	„	68	„	„	„	121,7	„	„
38	„	„	„	70,4	„	„	69	„	„	„	123,3	„	„
39	„	„	„	72,1	„	„	70	„	„	„	125,0	„	„
40	„	„	„	73,9	„	„	71	„	„	„	126,6	„	„

72 mg	Galactose	entsprechen	128,3 mg Cu	87 mg	Galactose	entsprechen	152,7 mg Cu
73 „	„	„	130,0 „ „	88 „	„	„	154,3 „ „
74 „	„	„	131,5 „ „	89 „	„	„	156,0 „ „
75 „	„	„	133,1 „ „	90 „	„	„	157,6 „ „
76 „	„	„	134,8 „ „	91 „	„	„	159,2 „ „
77 „	„	„	136,4 „ „	92 „	„	„	160,8 „ „
78 „	„	„	138,0 „ „	93 „	„	„	162,4 „ „
79 „	„	„	139,7 „ „	94 „	„	„	164,0 „ „
80 „	„	„	141,3 „ „	95 „	„	„	165,6 „ „
81 „	„	„	142,9 „ „	96 „	„	„	167,2 „ „
82 „	„	„	144,6 „ „	97 „	„	„	168,8 „ „
83 „	„	„	146,2 „ „	98 „	„	„	170,4 „ „
84 „	„	„	147,8 „ „	99 „	„	„	172,0 „ „
85 „	„	„	149,4 „ „	100 „	„	„	173,6 „ „
86 „	„	„	151,1 „ „				

Untersuchung von Hornhaut, Linse, Glaskörper, Humor aqueus.

827. **Hornhaut**[1]. Sie ist zusammengesetzt aus der Grundsubstanz, dem Epithellager und der Descemet'schen Haut, welche durch anatomische Präparation von einander zu trennen sind.

Grundsubstanz. Sie enthält von festen Bestandteilen hauptsächlich Collagen, daneben etwas Mukoid, anorganische Salze und nur Spuren von Eiweissstoffen. Das Corneamukoid (§ 469) lässt sich durch verdünntes Alkali extrahieren; das Collagen bleibt dabei zurück und geht nach völliger Entfernung des Alkalis durch Auswaschen beim Kochen mit Wasser als Glutin in Lösung (§ 390).

Epithellager. In ihm finden sich zwei Globuline, von denen das eine wohl mit dem Serumglobulin identisch ist.

Descemet'sche Haut. Sie besteht aus einem Membranin (§ 395).

Linse[2]. Sie ist zusammengesetzt aus der Linsensubstanz und der Linsenkapsel.

Linsensubstanz. Sie enthält ungefähr 36 pCt. Trockenrückstand, welcher zum grössten Teil aus Proteinstoffen besteht und ausserdem aus etwas ätherlöslicher Substanz (Cholesterin, Phosphatide, Fett) und anorganischen Salzen. Beim Zerreiben und Schütteln mit Wasser geht etwa die Hälfte der Proteinsubstanz in Lösung: α- und β-Krystallin (§ 310) und etwas Albumin. Die unlösliche Hälfte besteht aus Albumoid (§ 392).

Linsenkapsel. Die Grundlage derselben ist ein Membranin (§ 395).

Glaskörper[3]. Die Häute, welche zurückbleiben, wenn man den mit der Schere zerschnittenen Glaskörper filtriert, bestehen aus Collagen (§ 390). Das klare, nicht fadenziehende Filtrat reagiert alkalisch und

1) C. Th. Mörner, H.-S. **18**. 213. (1894.)
2) C. Th. Mörner, H.-S. **18**. 61. (1894.), Pautz, Z. f. B. **31**. 212. (1904.)
3) C. Th. Mörner, H.-S. **18**. 244. (1894.)

enthält etwas gerinnbares Eiweiss, eine sehr geringe Menge Mukoid, ferner etwas Milchsäure, Traubenzucker, Harnstoff und anorganische Salze. Man untersucht die Flüssigkeit nach den für seröse Flüssigkeiten gegebenen Vorschriften (§ 612ff). Ueber die Darstellung des Hyalomukoids siehe § 469.

Humor aqueus. Die alkalisch reagierende, klare Flüssigkeit enthält etwas Eiweiss, Milchsäure, Traubenzucker, Harnstoff, anorganische Salze und wird wie eine seröse Flüssigkeit untersucht (§ 612 ff.).

Berichtigungen und Nachträge.

Isolierung des Cholesterins aus verseiftem Fett.

Zu S. 103. Für die Isolierung des Cholesterins aus dem verseiften Fett*) empfiehlt Salkowski[1]) folgendes Verfahren, bei dem die Emulsionsbildung vermieden wird und welches deshalb schneller zum Ziel führt. Die in der S. 103, 1 beschriebenen Weise erhaltene Seifenlösung wird nach Ergänzung des verdampften Alkohols (so dass das Gesamtvolumen etwa 165 ccm beträgt) noch etwas warm in 500 ccm Aether gegossen, welcher sich in einem grossen Scheidetrichter befindet und vorher mit 30—50 ccm Wasser durchgeschüttelt worden ist. Zu der klaren Lösung setzt man 500 ccm Wasser und schwenkt gelinde um. Es tritt sofort glatte Schichtenbildung ein. Nach Abtrennung der Seifenlösung mischt man die ätherische mit 300 ccm Wasser, indem man sanft durchschüttelt, filtriert sie dann, verdunstet und nimmt den Rückstand zur Entfernung von etwas Seife mit Petroläther auf. Dieser hinterlässt beim Verdunsten das Cholesterin.

Zu S. 237. Fussnote 4 muss es heissen: A. **49**. 16. (1844.)

Zu S. 293. Zeile 4 muss es heissen: Hydrochinon-α-Milchsäure.

Zu S. 294. Viertletzte Zeile des ersten Absatzes muss es heissen: β-Naphthochinonnatriummonosulfonat.

Zu S. 405. In der letzten Zeile muss es heissen: S. 404.

*) Bis jetzt nur für Schweinefett und andere oleinreichere Fette ausprobiert.

1) H.-S. **57**. 515. (1908.)

ANHANG.

Einige Reagentien.

Alméu'sche Lösung. Man löst 4 g Gerbsäure in 8 ccm 25 proc. Essigsäure und fügt 190 ccm 40—50 proc. Alkohol hinzu.

Brücke's Reagens (Quecksilberkaliumjodidlösung). Man erhitzt eine Lösung, die im Liter 100 g Jodkalium enthält, und trägt so lange Quecksilberjodid ein, als es sich löst. Nach dem Erkalten giesst man von den roten Krystallen ab und fügt noch einige Krystalle Jodkalium hinzu.

Glyoxylsäurelösung[1]. Man versetzt 1 Liter einer gesättigten Oxalsäurelösung in einem hohen Cylinder mit ungefähr 60 g Natriumamalgam, filtriert nach Beendigung der Wasserstoffentwickelung und verdünnt mit der zwei- oder dreifachen Menge Wasser.

Magnesiamischung. Man löst 110 g krystallisiertes Magnesiumchlorid und 140 g Ammoniumchlorid in 1300 ccm Wasser, fügt 700 g 10 proc. Ammoniakflüssigkeit hinzu, mischt, lässt einige Tage stehen und giesst von einem etwa entstandenen Niederschlage ab.

Millon's Reagens. Man löst Quecksilber in dem doppelten Gewicht einer Salpetersäure von dem spec. Gewicht 1,42 zunächst in der Kälte, dann unter mässigem Erwärmen, fügt das doppelte Volumen Wasser hinzu, lässt einige Stunden stehen und giesst die klare Flüssigkeit vom krystallinischen Niederschlage ab.

O. Nasse[2]) empfiehlt eine wässerige Lösung von Quecksilberacetat, die erst zum Gebrauch mit einigen Tropfen einer 1 proc. Kaliumnitritlösung und, falls die Reaction nicht genügend sauer, mit etwas verdünnter Essigsäure versetzt wird.

Molybdaensaures Ammoniak. Man löst 50 g Molybdaensäure in 200 g 10 proc. Ammoniakflüssigkeit, vermischt die Lösung mit 750 g Salpetersäure (spec. Gewicht 1,2) und giesst nach mehrtägigem Stehen an einem gelinde warmen Ort von etwa entstandenem Bodensatz ab.

---

1) Hopkins u. Cole, J. of Ph. **27**. 418. (1902.)
2) Pfl. A. **83**. 361. (1901.)

Nessler's Reagens. Man löst 50 g Kaliumjodid in etwa 50 ccm heissem destilliertem Wasser und versetzt mit einer conc. heissen Quecksilberchloridlösung, bis der dabei entstehende rote Niederschlag aufhört sich wieder zu lösen (20—25 g Quecksilberchlorid sind hierzu erforderlich). Man filtriert, fügt 150 g Aetzkali in 300 ccm Wasser gelöst hinzu, verdünnt auf 1 Liter, fügt noch etwa 5 ccm der Quecksilberchloridlösung hinzu, lässt den Niederschlag sich absetzen und decantiert. Die Lösung ist in kleinen, verschlossenen Gefässen aufzubewahren. Ein später noch auftretender Niederschlag schadet nicht, man giesst von ihm ab.

Phosphorwolframsäure*). Man löst 4 kg reines, möglichst carbonatfreies, wolframsaures Natrium in 4 Liter heissem Wasser, fügt 1 kg krystallisiertes, ammoniakfreies Natriumphosphat hinzu und kocht die Flüssigkeit, bis das Phosphat völlig in Lösung gegangen ist. Die noch warme alkalische Flüssigkeit wird nun mit einem warmen Gemisch von 1 Liter Wasser und 1 Liter engl. Schwefelsäure unter vorsichtigem Zufügen schwach angesäuert und eingedampft, bis an der Oberfläche eine dünne Krystallhaut entsteht, die nach dem Abkühlen nach einiger Zeit wieder verschwindet. Die während 24—36stündigen ruhigen Stehens sich bildende Ausscheidung von Glaubersalzkrystallen wird durchstossen, die syrupöse Flüssigkeit abgegossen und event. von noch ausgeschiedenem Glaubersalz abgeseiht; sie besitzt bei genügender Concentration das spec. Gewicht 1,8—2. Man bringt nun 200—300 ccm dieser öligen Phosphorwolframsäure in einen grossen Scheidetrichter, schichtet das doppelte Volumen Aether darauf und fügt unter jeweiligem gutem Umschütteln gut gekühlte, annähernd 70 proc. Schwefelsäure in kleinen Portionen hinzu. Nach einiger Zeit fallen schwere, hellgelbe ölige Tropfen — eine ätherische Lösung von Phosphorwolframsäure — herunter; man lässt dieselben abfliessen und setzt das Ausäthern unter Zusatz von Schwefelsäure so lange fort, bis keine ölige Ausscheidung mehr erfolgt. Die vereinigten ätherischen Lösungen werden nun zweckmässig noch einmal mit Aether unter Wasserzusatz extrahiert. Man destilliert nun den ätherischen Auszug unter Durchleiten eines Dampfstroms (zur Verhinderung des Stossens) ab und leitet in die dunkle, noch warme, von Aether möglichst vollständig befreite Flüssigkeit so lange Chlorgas ein, bis die Farbe hellgelb geworden ist. Nach dem Erkalten krystallisiert ein grosser Teil der Phosphorwolframsäure aus, der Rest wird durch starkes Concentrieren der Mutterlauge erhalten. Die zuletzt übrig bleibende Mutterlauge kann bei einer weiteren Darstellung wieder verwertet werden. Aus 4 kg Wolframat erhält man auf diese Weise 2,3 kg krystallisierte Säure.

Stokes'sche Lösung ist eine frisch hergestellte ammoniakalische Lösung von weinsaurem Eisenoxydul (Ferrosulfat + Weinsäure).

*) Verfahren von Drechsel, B. **20**. 1454. (1887.), in der Modification von Winterstein, Chemiker-Zeitung. 1898. S. 539.

Atomgewichte und Verhältniszahlen für Analysenberechnung.

Atomgewichte[1])			Verhältniszahlen für Analysenberechnung
Aluminium	Al	27,1	Chlorsilber: Chlor . . . . . = 1 : 0,247383
Antimon	Sb	120,2	AgCl Cl
Arsen	As	75,0	Chlorsilber: Chlorwasserstoff . . . . = 1 : 0,254411
Barium	Ba	137,37	AgCl HCl
Blei	Pb	207,10	Chlorsilber: Chlornatrium . . . . . = 1 : 0,407841
Bor	B	11,0	AgCl NaCl
Brom	Br	79,92	Schwefelsaurer Baryt: Schwefel . . . = 1 : 0,137380
Cadmium	Cd	112,40	$BaSO_4$ S
Calcium	Ca	40,09	Schwefelsaurer Baryt: Schwefelsäure . = 1 : 0,420176
Chlor	Cl	35,46	$BaSO_4$ H_2SO_4
Chrom	Cr	52,1	Schwefelsaurer Baryt: Barium . . . = 1 : 0,588459
Eisen	Fe	55,85	$BaSO_4$ Ba
Fluor	F	19,0	Kaliumplatinchlorid: Kalium . . . . = 1 : 0,160919
Gold	Au	197,2	K_2PtCl_6 K_2
Jod	J	126,92	Kaliumplatinchlorid: Chlorkalium . . = 1 : 0,307272
Kalium	K	39,10	K_2PtCl_6 2 KCl
Kobalt	Co	58,97	Ammoniumplatinchlorid: Ammoniak . = 1 : 0,076715
Kohlenstoff	C	12,00	$(NH_4)_2PtCl_6$ $2NH_3$
Kupfer	Cu	63,57	Platin: Ammoniak . . . . . = 1 : 0,174564
Lithium	Li	7,00	Pt $2NH_3$
Magnesium	Mg	24,32	Chlornatrium: Natrium . . . . . = 1 : 0,393430
Mangan	Mn	54,93	NaCl Na
Molybdaen	Mo	96,0	Kohlensaurer Kalk: Calcium . . . . = 1 : 0,400539
Natrium	Na	23,00	$CaCO_3$ Ca
Nickel	Ni	58,68	Calciumoxyd: Calcium . . . . . = 1 : 0,714744
Phosphor	P	31,0	CaO Ca
Platin	Pt	195,0	Kohlensäure: Kohlensaurer Kalk . . = 1 : 2,274773
Quecksilber	Hg	200,0	CO_2 $CaCO_3$
Sauerstoff	O	16,00	Pyrophosphorsaure Magnesia: Magnesium = 1 : 0,218469
Schwefel	S	32,07	$Mg_2P_2O_7$ Mg_2
Silber	Ag	107,88	Pyrophosphors. Magnesia: Phosphorsäure = 1 : 0,637801
Silicium	Si	28,3	$Mg_2P_2O_7$ P_2O_5
Stickstoff	N	14,01	Phosphorsaur. Eisenoxyd: Phosphorsäure = 1 : 0,470666
Strontium	Sr	87,62	$2FePO_4$ P_2O_5
Uran	U	238,5	Phosphorsaures Eisenoxyd: Eisen . . = 1 : 0,370255
Wasserstoff	H	1,008	$FePO_4$ Fe
Wismuth	Bi	208,0	Eisenoxyd: Eisen . . . . . = 1 : 0,699436
Wolfram	W	184,0	Fe_2O_3 2 Fe
Zink	Zn	65,37	Manganosulfid: Mangan . . . . . = 1 : 0,631379
Zinn	Sn	119,0	MnS Mn

[1]) Aus der Tabelle der internationalen Atomgewichte für 1909.

Tabellen der specifischen Gewichte.

Ammoniak bei 15°		Kalilauge bei 15°			Natronlauge bei 15°		
spec. Gewicht	100 g enthalten NH_3	spec. Gewicht	100 g enthalten K_2O	KOH	spec. Gewicht	100 g enthalten Na_2O	NaOH
0,980	4,80	1,007	0,7	0,9	1,007	0,47	0,61
0,978	5,30	1,014	1,4	1,7	1,014	0,93	1,20
0,976	5,80	1,022	2,2	2,6	1,022	1,15	2,00
0,974	6,30	1,029	2,9	3,5	1,029	2,10	2,71
0,972	6,80	1,037	3,8	4,5	1,036	2,60	3,35
0,970	7,31	1,045	4,7	5,6	1,045	3,10	4,00
0,968	7,82	1,052	5,4	6,4	1,052	3,60	4,64
0,966	8,33	1,060	6,2	7,4	1,060	4,10	5,29
0,964	8,84	1,067	6,9	8,2	1,067	4,55	5,87
0,962	9,35	1,075	7,7	9,2	1,075	5,08	6,55
0,960	9,91	1,083	8,5	10,1	1,083	5,67	7,31
0,958	10,47	1,091	9,2	10,9	1,091	6,20	8,00
0,956	11,03	1,100	10,1	12,0	1,100	6,73	8,68
0,954	11,60	1,108	10,8	12,9	1,108	7,30	9,42
0,952	12,17	1,116	11,6	13,8	1,116	7,80	10,06
0,950	12,74	1,125	12,4	14,8	1,125	8,50	10,97
0,948	13,31	1,134	13,2	15,7	1,134	9,18	11,84
0,946	13,88	1,142	13,9	16,5	1,142	9,80	12,64
0,944	14,46	1,152	14,8	17,6	1,152	10,50	13,55
0,942	15,04	1,162	15,6	18,6	1,162	11,14	14,37
0,940	15,63	1,171	16,4	19,5	1,171	11,73	15,13
0,938	16,22	1,180	17,2	20,5	1,180	12,33	15,91
0,936	16,82	1,190	18,0	21,4	1,190	13,00	16,77
0,934	17,42	1,200	18,8	22,4	1,200	13,70	17,67
0,932	18,03	1,210	19,6	23,3	1,210	14,40	18,58
0,930	18,64	1,220	20,3	24,2	1,220	15,18	19,58
0,928	19,25	1,231	21,1	25,1	1,231	15,96	20,59
0,926	19,87	1,241	21,9	26,1	1,241	16,76	21,42
0,924	20,49	1,252	22,7	27,0	1,252	17,55	22,64
0,922	21,12	1,263	23,5	28,0	1,263	18,35	23,67
0,920	21,75	1,274	24,2	28,9	1,274	19,23	24,81
0,918	22,39	1,285	25,0	29,8	1,285	20,00	25,80
0,916	23,03	1,297	25,8	30,7	1,297	20,80	26,83
0,914	23,68	1,308	26,7	31,8	1,308	21,55	27,80
0,912	24,33	1,320	27,5	32,7	1,320	22,35	28,83
0,910	24,99	1,332	28,3	33,7	1,332	23,20	29,93
0,908	25,65	1,345	29,3	34,9	1,345	24,20	31,22
0,906	26,31	1,357	30,2	35,9	1,357	25,17	32,47
0,904	26,98	1,370	31,0	36,9	1,370	26,12	33,69
0,902	27,65	1,383	31,8	37,8	1,383	27,10	34,96
0,900	28,33	1,397	32,7	38,9	1,397	28,10	36,25
0,898	29,01	1,410	33,5	39,9	1,410	29,05	37,47
0,896	29,69	1,424	34,4	40,9	1,424	30,08	38,80
0,894	30,37	1,438	35,4	42,1	1,438	31,00	39,99
0,892	31,05	1,453	36,5	43,4	1,453	32,10	41,41
0,890	31,75	1,468	37,5	44,6	1,468	33,20	42,83
0,888	32,50	1,483	38,5	45,8	1,483	34,40	44,38
0,886	33,25	1,498	39,6	47,1	1,498	35,70	46,15
		1,514	40,6	48,3	1,514	36,90	47,60
		1,530	41,5	49,4	1,530	38,00	49,02
		1,546	42,5	50,6			
		1,563	43,6	51,9			
		1,580	44,7	53,2			

Tabellen der specifischen Gewichte.

Salzsäure bei 15°		Salpetersäure bei 15°		Alkohol bei 15,6°		
spec. Gewicht	100 g enthalten HCl	spec. Gewicht	100 g enthalten HNO_3	spec. Gewicht	Volum-pCt. (Tralles)	Gewichts-pCt.
1,010	2,14	1,020	3,70	0,9335	50	42,52
1,015	3,12	1,030	5,50	0,9315	51	43,47
1,020	4,13	1,040	7,26	0,9295	52	44,42
1,025	5,15	1,050	8,99	0,9255	53	45,36
1,030	6,15	1,060	10,68	0,9254	54	46,32
1,035	7,15	1,070	12,33	0,9234	55	47,29
1,040	8,16	1,085	14,74	0,9213	56	48,26
1,045	9,16	1,100	17,11	0,9192	57	49,23
1,050	10,17	1,115	19,45	0,9170	58	50,21
1,055	11,18	1,130	21,77	0,9148	59	51,20
1,060	12,19	1,145	24,08	0,9126	60	52,20
1,065	13,19	1,160	26,36	0,9104	61	53,20
1,070	14,17	1,175	28,63	0,9082	62	54,21
1,075	15,16	1,190	30,88	0,9059	63	55,21
1,080	16,15	1,205	33,09	0,9036	64	56,22
1,085	17,13	1,220	35,28	0,9013	65	57,20
1,090	18,11	1,235	37,53	0,8989	66	58,27
1,095	19,06	1,250	39,82	0,8965	67	59,32
1,100	20,01	1,265	42,10	0,8941	68	60,38
1,105	20,97	1,280	44,41	0,8917	69	61,42
1,110	21,92	1,295	46,72	0,8892	70	62,50
1,115	22,86	1,310	49,07	0,8867	71	63,58
1,120	23,82	1,325	51,53	0,8842	72	64,66
1,125	24,78	1,340	54,07	0,8817	73	65,74
1,130	25,75	1,355	56,66	0,8791	74	66,83
1,135	26,70	1,370	59,39	0,8765	75	67,93
1,140	27,66	1,385	62,24	0,8739	76	69,05
1,1425	28,14	1,400	65,30	0,8712	77	70,18
1,145	28,61	1,415	68,63	0,8685	78	71,31
1,150	29,57	1,430	72,17	0,8658	79	72,45
1,152	29,95	1,445	75,98	0,8631	80	73,59
1,155	30,55	1,460	79,98	0,8603	81	74,74
1,160	31,52	1,475	84,45	0,8575	82	75,91
1,163	32,10	1,490	89,60	0,8547	83	77,09
1,165	32,49			0,8518	84	78,29
1,170	33,46			0,8488	85	79,50
1,171	33,65			0,8458	86	80,71
1,175	34,42			0,8428	87	81,94
1,180	35,39			0,8395	88	83,19
1,185	36,31			0,8367	89	84,46
1,190	37,23			0,8332	90	85,75
1,195	38,16			0,8299	91	87,00
1,200	39,11			0,8265	92	88,37
				0,8230	93	89,71
				0,8194	94	91,07
				0,8157	95	92,46
				0,8118	96	93,89
				0,8077	97	95,34
				0,8034	98	96,84
				0,7988	99	98,39
				0,7939	100	100

Volumen und Dichte des Wassers
(bezogen auf Volumen und Dichte bei 4°).

Grad	A. Volumen	B. Dichte	Grad	A. Volumen	B. Dichte
0	1,000122	0,999878	21	1,001939	0,998065
1	1,000067	0,999933	22	1,002156	0,997849
2	1,000028	0,999972	23	1,002383	0,997623
3	1,000007	0,999993	24	1,002621	0,997386
4	1,000000	1,000000	25	1,002868	0,997140
5	1,000008	0,999992	30	1,00425	0,99577
6	1,000031	0,999969	35	1,00586	0,99417
7	1,000067	0,999933	40	1,00770	0,99236
8	1,000118	0,999882	45	1,00974	0,99035
9	1,000181	0,999819	50	1,01197	0,98817
10	1,000261	0,999739	55	1,01436	0,98584
11	1,000350	0,999650	60	1,01694	0,98334
12	1,000456	0,999544	65	1,01967	0,98071
13	1,000570	0,999430	70	1,02261	0,97789
14	1,000703	0,999297	75	1,02570	0,97493
15	1,000847	0,999154	80	1,02891	0,97190
16	1,000997	0,999004	85	1,03225	0,96876
17	1,001162	0,998839	90	1,03574	0,96549
18	1,001339	0,998663	95	1,03941	0,96208
19	1,001527	0,998475	100	2,04323	0,95856
20	1,001731	0,998272			

Tabelle über die den gefundenen Kupfer- und Kupferoxydulmengen entsprechenden Traubenzuckermengen nach E. Pflüger.

Zu S. 773.

mg Zucker	mg Kupfer	0,1 mg Zucker entsprech. mg Kupfer	mg Kupferoxydul	0,1 mg Zucker entsprech. mg Kupferoxydul	mg Zucker	mg Kupfer	0,1 mg Zucker entsprech. mg Kupfer	mg Kupferoxydul	0,1 mg Zucker entsprech. mg Kupferoxydul
12	32,8	0,21064	36,8	0,23688	32	74,3	0,2028	83,6	0,2288
13	34,9	„	39,2	„	33	76,3	„	85,9	„
14	37,0	„	41,6	„	34	78,4	„	88,2	„
15	39,1	„	43,9	„	35	80,4	„	90,5	„
16	41,2	„	46,3	„	36	82,4	„	92,8	„
17	43,3	„	48,7	„	37	84,4	„	95,1	„
18	45,4	„	51,0	„	38	86,5	„	97,4	„
19	47,5	„	53,4	„	39	88,5	„	99,7	„
20	49,6	„	55,8	„	40	90,5	„	101,9	„
21	51,7	„	58,1	„	41	92,6	„	104,2	„
22	53,8	„	60,5	„	42	94,6	„	106,5	„
23	55,9	„	62,9	„	43	96,6	„	108,8	„
24	58,0	„	65,2	„	44	98,6	„	111,1	„
25	60,1	„	67,6	„	45	100,7	„	113,4	„
26	62,1	0,2028	69,9	0,2288	46	102,7	„	115,7	„
27	64,2	„	72,2	„	47	104,7	„	118,0	„
28	66,2	„	74,5	„	48	106,7	„	120,2	„
29	68,2	„	76,8	„	49	108,8	„	122,5	„
30	70,2	„	79,1	„	50	110,8	„	124,8	„
31	72,3	„	81,3	„	51	112,8	0,204	127,1	0,22976

mg Zucker	mg Kupfer	0,1 mg Zucker entsprech. mg Kupfer	mg Kupfer-oxydul	0,1 mg Zucker entsprech. mg Kupfer-oxydul	mg Zucker	mg Kupfer	0,1 mg Zucker entsprech. mg Kupfer	mg Kupfer-oxydul	0,1 mg Zucker entsprech. mg Kupfer-oxydul
52	114,9	0.204	129,4	0,22976	108	228,1	0,198	256,8	0,2232
53	116,9	„	131,7	„	109	230,1	„	259,1	„
54	119,0	„	134,0	„	110	232,1	„	261,3	„
55	121,0	„	136,3	„	111	234,1	„	263,6	„
56	123,0	„	138,6	„	112	236,1	„	265,8	„
57	125,1	„	140,9	„	113	238,0	„	268,0	„
58	127,1	„	143,2	„	114	240,0	„	270,2	„
59	129,2	„	145,5	„	115	242,0	„	272,5	„
60	131,2	„	147,8	„	116	244,0	„	274,7	„
61	133,2	„	150,1	„	117	246,0	„	276,9	„
62	135,3	„	152,4	„	118	248,0	„	279,2	„
63	137,3	„	154,7	„	119	250,0	„	281,4	„
64	139,4	„	157,0	„	120	252,0	„	283,6	„
65	141,4	„	159,3	„	121	253,9	„	285,9	„
66	143,4	„	161,6	„	122	255,9	„	288,1	„
67	145,5	„	163,9	„	123	257,8	„	290,3	„
68	147,5	„	166,2	„	124	259,8	„	292,6	„
69	149,6	„	168,5	„	125	261,8	„	294,8	„
70	151,6	„	170,8	„	126	263,7	0,1884	296,9	0,212
71	153,6	„	173,0	„	127	265,6	„	299,0	„
72	155,7	„	175,3	„	128	267,5	„	301,2	„
73	157,7	„	177,6	„	129	269,3	„	303,3	„
74	159,8	„	179,9	„	130	271,2	„	305,4	„
75	161,8	„	182,2	„	131	273,1	„	307,5	„
76	163,8	0,202	184,5	0,2272	132	275,0	„	309,6	„
77	165,8	„	186,7	„	133	276,9	„	311,8	„
78	167,9	„	189,0	„	134	278,8	„	313,9	„
79	169,9	„	191,3	„	135	280,6	„	316,0	„
80	171,9	„	193,6	„	136	282,5	„	318,1	„
81	173,9	„	195,8	„	137	284,4	„	320,2	„
82	175,9	„	198,1	„	138	286,3	„	322,4	„
83	178,0	„	200,4	„	139	288,2	„	324,5	„
84	180,0	„	202,6	„	140	290,1	„	326,6	„
85	182,0	„	204,9	„	141	291,9	„	328,7	„
86	184,0	„	207,2	„	142	293,8	„	330,8	„
87	186,0	„	209,5	„	143	295,7	„	333,0	„
88	188,1	„	211,7	„	144	297,6	„	335,1	„
89	190,1	„	214,0	„	145	299,5	„	337,2	„
90	192,1	„	216,3	„	146	301,4	„	339,3	„
91	194,1	„	218,6	„	147	303,2	„	341,4	„
92	196,1	„	220,8	„	148	305,1	„	343,6	„
93	198,2	„	223,1	„	149	307,0	„	345,7	„
94	200,2	„	225,4	„	150	308,9	„	347,8	„
95	202,2	„	227,6	„	151	310,7	0,176	349,8	0,1986
96	204,2	„	229,9	„	152	312,4	„	351,8	„
97	206,2	„	232,2	„	153	314,2	„	353,8	„
98	208,3	„	234,5	„	154	315,9	„	355,7	„
99	210,3	„	236,7	„	155	317,7	„	357,7	„
100	212,3	„	239,0	„	156	319,5	„	359,7	„
101	214,3	0,198	241,2	0,2232	157	321,2	„	361,7	„
102	216,3	„	243,5	„	158	323,0	„	363,7	„
103	218,2	„	245,7	„	159	324,7	„	365,7	„
104	220,2	„	247,9	„	160	326,5	„	367,7	„
105	222,2	„	250,2	„	161	328,3	„	369,6	„
106	224,2	„	252,4	„	162	330,0	„	371,6	„
107	226,2	„	254,6	„	163	331,8	„	373,6	„

mg Zucker	mg Kupfer	0,1 mg Zucker entsprech. mg Kupfer	mg Kupferoxydul	0,1 mg Zucker entsprech. mg Kupferoxydul	mg Zucker	mg Kupfer	0,1 mg Zucker entsprech. mg Kupfer	mg Kupferoxydul	0,1 mg Zucker entsprech. mg Kupferoxydul
164	333,5	0,176	375,6	0,1986	208	407,1	0,1572	458,5	0,178
165	335,3	„	377,6	„	209	408,6	„	460,3	„
166	337,1	„	379,6	„	210	410,2	„	462,1	„
167	338,8	„	381,6	„	211	411,8	„	463,9	„
168	340,6	„	383,5	„	212	413,4	„	465,7	„
169	342,3	„	385,5	„	213	414,9	„	467,4	„
170	344,1	„	387,5	„	214	416,5	„	469,2	„
171	345,9	„	389,5	„	215	418,1	„	471,0	„
172	347,6	„	391,5	„	216	419,7	„	472,8	„
173	349,4	„	393,5	„	217	421,2	„	474,6	„
174	351,1	„	395,5	„	218	422,8	„	476,3	„
175	352,9	„	397,5	„	219	424,4	„	478,1	„
176	354,6	0,1664	399,3	0,1874	220	425,9	„	479,9	„
177	356,2	„	401,2	„	221	427,5	„	481,7	„
178	357,9	„	403,1	„	222	429,1	„	483,5	„
179	359,6	„	404,9	„	223	430,7	„	485,2	„
180	36 ,2	„	406,8	„	224	432,2	„	487,0	„
181	362,9	„	408,7	„	225	433,8	„	488,8	„
182	364,5	„	410,6	„	226	435,3	0,146	490,4	0,1636
183	366,2	„	412,4	„	227	436,7	„	492,1	„
184	367,9	„	414,3	„	228	438,1	„	493,7	„
185	369,5	„	416,2	„	229	439,6	„	495,3	„
186	371,2	„	418,1	„	230	441,1	„	497,0	„
187	372,9	„	419,9	„	231	442,6	„	498,6	„
188	374,5	„	421,8	„	232	444,0	„	500,3	„
189	376,2	„	423,7	„	233	445,5	„	501,9	„
190	377,9	„	425,6	„	234	446,9	„	503,5	„
191	379,5	„	427,4	„	235	448,4	„	505,2	„
192	381,2	„	429,3	„	236	449,9	„	506,8	„
193	382,9	„	431,2	„	237	451,3	„	608,4	„
194	384,5	„	433,1	„	238	452,8	„	510,1	„
195	386,2	„	434,9	„	239	454,2	„	511,7	„
196	387,8	„	436,8	„	240	455,7	„	513,3	„
197	389,5	„	438,7	„	241	457,2	„	515,0	„
198	391,2	„	440,6	„	242	458,6	„	516,6	„
199	392,8	„	442,4	„	243	460,1	„	518,2	„
200	394,5	„	444,3	„	244	461,5	„	519,9	„
201	396,1	0,1572	446,1	0,178	245	463,0	„	521,5	„
202	397,6	„	447,9	„	246	464,5	„	523,6	„
203	399,2	„	449,6	„	247	465,9	„	524,8	„
204	400,8	„	451,4	„	248	467,4	„	526,4	„
205	402,4	„	453,2	„	249	468,8	„	528,1	„
206	403,9	„	455,0	„	250	470,3	„	529,7	„
207	405,5	„	456,8	„					

Zu S. 728.

Tabelle über die dem gefundenen specifischen Gewicht der Aetherfettlösung entsprechende Fettmenge nach Soxhlet.

Spec. Gewicht	Fett pCt.	Spec. Gewicht	Fett pCt.	Spec. Gewicht	Fett pCt.	Spec. Gewicht	Fett pCt.	Spec. Gewicht	Fett pCt.
21		**26**	0,46	**31**	0,92	**36**	1,37	**41**	1,87
1	0,00	1	0,47	1	0,93	1	1,38	1	1,88
2	0,01	2	0,48	2	0,94	2	1,39	2	1,89
3	0,02	3	0,49	3	0,95	3	1,40	3	1,90
4	0,03	4	0,50	4	0,95	4	1,41	4	1,91
5	0,04	5	0,50	5	0,96	5	1,42	5	1,92
6	0,05	6	0,51	6	0,97	6	1,43	6	1,93
7	0,06	7	0,52	7	0,98	7	1,44	7	1,94
8	0,07	8	0,53	8	0,99	8	1,45	8	1,95
9	0,08	9	0,54	9	1,00	9	1,46	9	1,96
22	0,09	**27**	0,55	**32**	1,01	**37**	1,47	**42**	1,97
1	0,10	1	0,56	1	1,02	1	1,48	1	1,98
2	0,11	2	0,57	2	1,03	2	1,49	2	1,99
3	0,12	3	0,58	3	1,04	3	1,50	3	2,00
4	0,13	4	0,59	4	1,05	4	1,51	4	2,01
5	0,14	5	0,60	5	1,05	5	1,52	5	2,02
6	0,15	6	0,60	6	1,06	6	1,53	6	2,03
7	0,16	7	0,61	7	1,07	7	1,54	7	2,04
8	0,17	8	0,62	8	1,08	8	1,55	8	2,05
9	0,18	9	0,63	9	1,09	9	1,56	9	2,06
23	0,19	**28**	0,64	**33**	1,10	**38**	1,57	**43**	2,07
1	0,20	1	0,65	1	1,11	1	1,58	1	2,08
2	0,21	2	0,66	2	1,12	2	1,59	2	2,09
3	0,22	3	0,67	3	1.13	3	1,60	3	2,10
4	0,23	4	0,68	4	1,14	4	1,61	4	2,11
5	0,24	5	0,69	5	1,15	5	1,62	5	2,12
6	0,25	6	0,70	6	1,15	6	1,63	6	2,13
7	0,25	7	0,71	7	1,16	7	1,64	7	2,14
8	0,26	8	0.72	8	1,17	8	1,65	8	2,16
9	0,27	9	0,73	9	1,18	9	1,66	9	2,17
24	0,28	**29**	0,74	**34**	1,19	**39**	1,67	**44**	2,18
1	0,29	1	0,75	1	1,20	1	1,68	1	2,19
2	0,30	2	0,76	2	1,21	2	1,69	2	2,20
3	0,30	3	0,77	3	1,22	3	1,70	3	2,22
4	0,31	4	0,78	4	1,23	4	1,71	4	2,23
5	0,32	5	0,79	5	1,24	5	1,72	5	2,24
6	0,33	6	0,80	6	1,24	6	1,73	6	2,25
7	0,34	7	0,80	7	1,25	7	1,74	7	2,26
8	0,35	8	0,81	8	1,26	8	1,75	8	2,27
9	0,36	9	0,82	9	1,27	9	1,76	9	2,28
25	0,37	**30**	0,83	**35**	1,28	**40**	1,77	**45**	2,30
1	0,38	1	0,84	1	1,29	1	1,78	1	2,31
2	0,39	2	0,85	2	1,30	2	1,79	2	2,32
3	0,40	3	0,86	3	1,31	3	1,80	3	2,33
4	0,40	4	0,87	4	1.32	4	1,81	4	2,34
5	0,41	5	0,88	5	1,33	5	1,82	5	2,35
6	0,42	6	0,88	6	1,33	6	1,83	6	2,36
7	0,43	7	0,89	7	1,34	7	1,84	7	2,37
8	0,44	8	0,90	8	1,35	8	1,85	8	2,38
9	0,45	9	0,91	9	1,36	9	1,86	9	2.39

Spec. Gewicht	Fett pCt.	Spec. Gewicht	Fett pCt.	Spec. Gewicht	Fett pCt.	Spec. Gewicht	Fett pCt.	Spec. Gewicht	Fett pCt.
46	2,40	**50**	2,88	**54**	3,37	**58**	3,90	**62**	4,47
1	2,42	1	2,90	1	3,38	1	3,91	1	4,48
2	2,43	2	2,91	2	3,39	2	3,92	2	4,50
3	2,44	3	2,92	3	3,40	3	3,93	3	4,52
4	2,45	4	2,93	4	3.41	4	3,95	4	4,53
5	2,46	5	2,94	5	3,43	5	3,96	5	4,55
6	2,47	6	2,96	6	3,45	6	3,98	6	4,56
7	2,49	7	2,97	7	3,46	7	3,99	7	4,58
8	2.50	8	2,98	8	3,47	8	4,01	8	4,59
9	2,51	9	2,99	9	3,48	9	4,02	9	4,61
47	2,52	**51**	3,00	**55**	3,49	**59**	4,03	**63**	4,63
1	2,54	1	3,01	1	3,51	1	4,04	1	4,64
2	2,55	2	3,03	2	3,52	2	4,06	2	4,66
3	2,56	3	3,04	3	3,53	3	4,07	3	4,67
4	2,57	4	3,05	4	3,55	4	4,09	4	4,69
5	2,58	5	3,06	5	3,56	5	4,11	5	4,70
6	2.60	6	3,08	6	3,57	6	4,12	6	4,71
7	2,61	7	3,09	7	3,59	7	4,14	7	4,73
8	2,62	8	3.10	8	3,60	8	4,15	8	4,75
9	2,63	9	3,11	9	3.61	9	4,16	9	4,77
48	2,64	**52**	3,12	**56**	3,63	**60**	4.18	**64**	4,79
1	2,66	1	3,14	1	3,64	1	4.19	1	4,80
2	2,67	2	3,15	2	3,65	2	4,20	2	4,82
3	2,68	3	3,16	3	3.67	3	4,21	3	4,84
4	2,70	4	3,17	4	3,68	4	4,23	4	4,85
5	2.71	5	3,18	5	3,69	5	4,24	5	4,87
6	2.72	6	3.20	6	3,71	6	4.26	6	4,88
7	2,73	7	3,21	7	3,72	7	4,27	7	4,90
8	2.74	8	3,22	8	3.73	8	4,29	8	4,92
9	2,75	9	3,23	9	3.74	9	4,30	9	4.93
49	2,76	**53**	3,25	**57**	3,75	**61**	4,32	**65**	4,95
1	2,77	1	3,26	1	3,76	1	4.33	1	4,97
2	2,78	2	3,27	2	3,78	2	4,35	2	4,98
3	2,79	3	3,28	3	3,80	3	4,36	3	5,00
4	2,80	4	3,29	4	3.81	4	4,37	4	5,02
5	2,81	5	3,30	5	3,82	5	4,39	5	5,04
6	2,83	6	3,31	6	3,84	6	4,40	6	5,05
7	2,84	7	3,33	7	3,85	7	4,42	7	5,07
8	2,86	8	3,34	8	3,87	8	4,44	8	5,09
9	2,87	9	3,35	9	3,88	9	4,46	9	5,11
								66	5,12

Alphabetisches Namenverzeichnis.

A.

Abderhalden (Blutplättchen) 672.
— (Cystin) 246, 249.
— (Tyrosin) 285.
— (Erepsin) 529.
— (Oxyhämoglobin) 460.
— (Ovomukoid) 503.
— u. Barker (Glykokoll) 227.
— — (Leucin) 234.
— — (Phenylalanin) 279.
— — (Aminosäuren i. Harn) 627.
— u. Baumann (Tryptophan) 299, 302,
— (Oxytryptophan) 303.
— u. Bergell (Glykokoll) 227, 228.
— — (Aminosäuren i. Harn) 626.
— — (Adrenalin) 269.
— — u. Dörpinghaus 398, 407.
— u. Deetjen 670, 672.
— u. Falta 290.
— u. E. Fischer (Diaminotrioxydodekansäure) 252, 515.
— — (Phenylalanin) 279.
— — (Prolin) 263.
— — (Polypeptide) 425, 427, 428, 429.
— — (Trypsinspaltung v. Polypept.) 528.
— u. Funk (Leucinimid) 238.
— — (Polypeptide) 425, 426, 429, 430.
— u. Guggenheim (Tyrosin) 288.
— — (Homogentisinsäure) 292.
— — (Tryptophan) 302.
— — (Oxytryptophan) 303.
— — (Tyrosinase) 288.
— u. Hunter 493.
—, Kautzsch u. London 735.
— u. Kempe (Tryptophan) 299, 301, 302.
— — (Oxytryptophan) 303.
—, Körösy u. London 735.
— u. Pregl 433.
— u. Reinbold 528.
— u. Rona 627.
— u. Schittenhelm 234, 285, 483.
— u. Strauss 447.
— u. Teruuchi 286.
— u. Voegtlin 491.
Abderhalden u. Voitinovici 449.
Abel (Aethylsulfid) 89.
— (Adrenalin) 269. 270.
— u. Davis 384.
— u. Ladenburg 210.
— u. Muirhead 143.
Abeles 657.
Abelsdorf u. Köttgen 387.
Ackermann (Guanidin) 154.
— (Methylguanidin) 155.
— (Isolierung von Putrescin u. Cadaverin) 212, 222.
— (Putrescin) 213.
— (Cadaverin) 214.
— (Putrin) 220.
— (Marcitin) 220.
— (δ-Amino-n-valeriansäure) 233.
— (Ornithin) 254.
— (Lysin) 258.
— (Blutkörperchenkern) 671.
— u. Kutscher (Krabbenextract) 207, 209, 216, 257, 265, 761.
— — (Arginin) 255.
Achelis 155.
Adamkiewicz 392.
Adler, O. u. R. (Glukose) 106.
— (Fruchtzucker) 112.
— (Pentose) 127, 128.
— (Salpetrige Säure i. Harn) 568.
Albro u. Chittenden 384, 385.
Aldrich 268.
Alexander 490.
Alexandroff 264.
v. Alfthan 138.
Allers 300, 301.
Almén 175.
Alsberg 478, 483.
— u. Levene 492, 493.
Altmann 193, 478, 493.
Ameseder 92, 731.
Amiradzibi u. Gulewitsch 214, 759.
Andersen u. Sörensen 263.
Andreä u. Fischer 137.
Araki (Chitin) 139.
— (Chitosan) 140.

Araki (Nucleinsäure) 483.
— u. Hoppe-Seyler (Milchsaures Lithium) 76, 77.
— — — (Schwefelmethämoglobin) 470.
Argiris 447, 518.
Armstrong Frankland 114.
Arnold 469, 616.
— u. Wedemeyer 560.
Arnstein 593.
Aron 466, 544.
— u. Müller 459.
v. Asboth 552.
Ascoli 167.
Autenrieth 567.
— u. Barth 595.
— u. Bernheim 570.

B.

Baeyer (Neurin) 206.
— (Indol u. Derivate) 293—297, 303, 305, 341.
— u. Caro 293.
— u. Drewsen 304.
Baisch 104, 116, 138.
Baldi 199.
Balke 186, 187, 421.
Bamberger u. Landsiedl 144.
— u. Sternitzki 86.
Bang (Xylose) 130.
— (Taurocholsäure) 334.
— (Histon) 434, 435, 436, 671.
— (Nucleoproteid) 472, 473, 474.
— (Nucleinsäure) 481.
— (Guanylsäure) 485.
— (Labferment) 531.
— (Zuckerbestimmung) 609.
— (Albumosen i. Harn) 624.
— (Glykogenbestimmung) 773.
— u. Forssman 347.
— u. Raaschou 485.
Barber, 228, 230, 236, 241, 243.
Barbieri u. Schulze (Aminosäuren der Pflanzenkeimlinge) 231, 279.
Bardachzi 460.
Barfoed 110.
Barker u. Abderhalden 227, 234, 279, 627.
Barth u. Authenrieth 595.
Baudisch u. Breinl 446.
Bauer (Methylmercaptan) 89.
— (l-Xylose) 130.
— (Histidin) 261.
— (Keratine) 446.
— (Inosinsäure) 486.
— (Nachw. v. Milchzucker i. Harn) 613.
Baum 228, 275, 297.
Baumann, E. (Glukose) 104, 105, 108.
— (Glukosamin) 135.
— (Cystein) 245.
— (Cystin) 249.
— (Phenole) 265—270.
— (aromat. Säuren) 274—293.
— (Kynurensäure) 308.
Baumann, E. (gepaarte Schwefelsäuren) 338—341.
— (Jodothyrin) 410.
— (Nachweis von Oxysäuren) 600.
— (Homogentisinsäure im Harn) 633.
— u. Brieger 297, 341.
— u. Fränkel 291.
— u. Goldmann 246, 249.
— u. v. Udranszky 211, 213.
— u. Wolkow 290.
Baumann, L. u. Abderhalden 299, 302, 303.
Baumstark (Base) 216.
— (Urofuscohämatin) 381.
— (Protagon) 347.
Bayer 423.
Bayliss u. Plimmer 491, 493, 556.
Beatty u. Levene (Phosphorwolframat der Aminosäuren) 224, 236, 241, 243, 280.
— — (Polypeptid) 429.
— — (Glutin) 453.
Béchamp 91.
Behrend 203.
— u. Roosen 169.
Beitler 299.
Belloni u. Biscaro 167.
Bence Jones 410.
Bender 169.
Bendix u. Ebstein 764.
Benech u. Kutscher 153, 257.
Berdez u. Nencki 384.
Bergell (Lecithin) 194, 195, 196, 198.
— u. Abderhalden 227, 228, 269, 626.
— — u. Dörpinghaus 398, 407.
— u. E. Fischer 226, 287, 428, 626.
— u. Krüger 204.
Bergh 448.
Bergholz u. Scheunert 705.
Bergman 523.
v. Bergmann 655.
Bernard Claude 120, 488.
Bernert 80, 430, 644.
Bernheim u. Autenrieth 570.
Bertel 290.
Berthelot 126.
Bertrand 50, 267, 283—290, 658.
Bethe 177.
Bial 342, 614, 643.
Bickel 107, 697.
Biedermann 536.
Bing 197, 199, 200.
Bingel 655.
Biscaro u. Belloni 167.
Bissegger u. Winterstein 238, 264.
Bistrow u. Liebreich 466.
Bizio 120.
Blachstein 75.
Blankenhorn u. Gamgee 347.
Blanksma u. v. Ekenstein 113, 618.
Bleibtreu 330.
— u. Pflüger 582.
Blendermann 282, 284, 289.
Blum 431.
— u. Vaubel 431.

Blumenthal 83, 127, 471, 763.
— u. Neuberg 86, 453.
Boas 699.
Bock 196, 468.
Bocklisch 203, 204.
Bodländer 765.
Boecker u. Stephani 3.
Boedeker (Inosit) 271, 273, 763
— (Homogentisinsäure) 290.
Boettger 110, 602.
Bohr 460, 462.
Bokay 198.
Boldyreff 533.
Bondi 455.
— u. Müller 329—335.
Bondzynski (Koprosterin) 316.
— (Urochrom) 376.
— (Oxyproteinsäure) 432, 433.
— u. Gottlieb 184, 432.
— u. Humnicki 316.
— u. Panek 432.
— u. Zoja 430.
Bontemps 330.
Bopp 237.
Borchardt 112, 613, 617.
Borissow 150, 524.
Borkel 420.
Bosshard u. Schulze 242, 243.
Boudet 319.
Boulud u. Lépine 131.
Bouma 597, 598.
Bourcet 45.
Bouveault u. Locquin 238.
Brahn u. Neuberg 130, 485, 486.
Brandberg 623.
Brandl 751.
— u. Pfeiffer 384.
Brasch u. Friedmann 238.
Brauer 499, 711.
v. Braun 213.
Breinl u. Baudisch 446.
Brenzinger 249.
Bresler 184.
Breuer 135, 136.
Brieger (Glutarsäure) 84.
— (Fäulnisbasen) 155, 204—221, 295.
— (Kynurensäure) 309.
— (Skatolfarbstoff) 382.
— u. Baumann 297, 341.
Browinski 432.
Brown 318.
— u. Mendel 150.
Brown u. Morris 116.
Brücke (Glykogen) 121.
— (Bilifuscin) 374.
— (Oxyprotsulfonsäure) 430.
Brugsch u. Schittenhelm 655, 770.
Bruhns 180, 767.
— u. Kossel 181.
Buchner u. Meisenheimer 91.
— — u. Schade 107.
Buchtala 446, 447.
Bücheler 460.
Buerger u. Gies 753.
Bütschli (Strontiumgehalt d. Gewebe) 38.
— (Paraglykogen) 124.
Buliginsky 69.
Bull 63, 66, 67.
Bulnheim 322, 326.
Bunge 493, 681.
— u. Schmiedeberg 275, 599.
Burchard-Liebermann 315, 317.
Burian (Nucleinbasen) 175—178, 180, 183.
— (Cholesterin) 314.
— (Phytosterine) 318.
— u. Hall 177.
— u. Schur 767.

C.

Camerer 593.
Campbell u. Heynsius 371.
— — u. Osborne 399, 400, 408, 492, 502.
Camps 308.
Capaldi 601.
Capranica 178.
Carlson 631.
Carnot 751.
Carius 65.
Caro u. Baeyer 293.
Carré 95.
Castoro u. Schulze 231, 255, 285, 291.
Cathcart 255, 530.
Cerny 416.
Chandelon 430.
Chittenden (Glykogen) 123.
— (Glykocoll) 227.
— (Albumosen) 414.
— (Gelatose) 452.
— u. Albro 384, 385.
— u. Gies 504.
— u. Hart 448.
— u. Kühne 446.
Christiani 234, 285.
Church 387.
Ciamician u. Magnanini 296.
Clapp u. Osborne 425, 427.
Clark u. Fittig 232.
— u. Hurtley 470.
Claus 172.
Clemens u. Edinger 594.
Cleve 324.
Cloetta 246, 432, 433.
Cohn, M. 150, 396, 399.
— R. 238, 425.
— Th. 211.
Cohnheim, J. 531.
— O. 435, 529.
Colasanti 161, 190, 692.
Cole 303, 392.
— u. Hopkins 299, 300, 301, 302.
Conrad u. Guthzeit 108.
Cousin 67, 196, 198, 199.
Cramer (Cholin) 205.
— (Neurin) 206.

Cramer (Serin) 250.
— (Protagon) 347.
— (Fibrinogen) 405.
— (Fibroin) 455.
— u. Lochhead 347.
— u. Wilson 348.
Cremer 116.
Croft Hill 116.
Curtius 225, 275.
Cutter u. Gies 504.

D.

Dabrowski 208.
Dakin (Buttersäure) 60.
— (Milchsäure) 78.
— (Oxybuttersäure) 80.
— (Allantoin) 151.
— (Kreatin) 157.
— (Kreatinin) 161.
— (Aminosäurenzersetzung) 211, 229, 231, 233, 237, 254.
— (Ornithin) 253.
— (Indol) 295.
— (Skatol) 296.
— (Tryptophan) 303.
— (Proteolytisches Ferment) 530.
— u. Kossel (Prolin) 263.
— — — (Protamine) 441, 442, 443, 445.
— — — (Arginase) 530, 534.
Danilewski 289, 403, 404, 422.
Darmstaedter u. Lifschütz 63, 65, 80, 81, 92, 317, 731.
Dastre u. Floresco 374.
Deetjen u. Abderhalden 670, 672.
Dehn 572.
Delépine 203, 204..
Demant 705.
Denigès 85, 86, 173, 288.
Dennstedt u. Rumpf 559.
Dessaignes 205.
Devoto 623, 624.
Dhéré 401.
Diakonow (Lecithine) 193, 194.
— (Cholin) 204.
— u. Hoppe-Seyler 193.
Diels u. Abderhalden 312, 316.
— u. Linn 312, 313, 317.
Diez 94.
Ditthorn u. Fr. N. Schulz 137.
Dittrich 466.
Dörpinghaus, Abderhalden u. Bergell 398, 407.
— — — u. E. Fischer 231, 243.
Dombrowski 376, 377.
Donné 633.
Dorner 157, 587.
Drechsel (Kieselsäuregehalt) 50.
— (Aethylsulfid) 90.
— (Carbaminsäure) 143.
— (Harnstoff) 146.
— (Nucleinbasen) 174.
— (Jecorin) 199.
— (Cystin) 246.
Drechsel (Diaminosäure) 253.
— (Lysin) 257.
— (Lysursäure) 258.
— (Jodgorgosäure) 290.
— (Cornein) 456.
Drescher u. Vorländer 297.
Drewsen u. Baeyer 304.
Dreyfuss 126.
Düll u. Lintner 116, 125.
Dunham 347.
Dyes u. Krafft 76.

E.

Ebert 65.
Ebstein u. Grützner 522.
Edinger u. Clemens 594.
Edmunds 530.
Ehrenberg 204.
Ehrenfeld u. Habermann 235, 286, 431, 625.
Ehrlich, F. 230—242, 251, 280—285.
— u. Wendel 231—239.
Ehrlich, P. (Aldehydprobe) 294, 392.
— (Skatol) 296.
— (Tryptophan) 302.
— (Glukoproteide) 497.
Ehrström 436.
Eichholz 408.
Ekbom 321, 322, 326.
van Ekenstein u. Blanksma 113, 618.
— u. Lobry de Bruin 105, 112, 114, 118, 135, 136.
Ellinger (Putrescin) 211.
— (Cadaverin) 213.
— (Ornithin) 254.
— (Lysin) 259.
— (Indolessigsäure) 297.
— (Indolpropionsäure) 298.
— (Tryptophan) 299, 302.
— (Kynurensäure) 308.
— (Indoxylnachw.) 597.
— u. Flamand 296, 299, 301.
— u. Gentzen 302.
Embden 245, 247, 248.
— u. Marx 227.
— u. Reese 627.
— u. Schliep 618.
Emerson 289.
Emich 154.
Emmerling 116, 203, 217.
Emmett 108.
— u. Gies 450, 452.
Engel 448, 455.
Engeland 632.
Eppinger 150, 153, 354, 360.
Erben 63, 80, 681.
Erdmann 119.
Erlandsen 191–201, 763.
Erlenmeyer (Methylguanidin) 155.
— (Kreatin) 157.
— (Cystein) 245.
— (Cystin) 246.
— (Serin) 251.

Erlenmeyer (Phenylalanin) 279.
— u. Halsey 285.
— u. Lipp 279, 285.
Esbach 623.
Etard u. Gautier 218.

F.

Fahrion 68, 74.
Falta u. Abderhalden 290.
— u. Langstein 290.
Farnsteiner 67, 68, 71, 73.
Faust (Sepsin) 219.
— (Samandaridin) 310.
— (Glutolin) 407, 408.
— (Glutin) 451.
Feder 383.
Federer u. Neuberg 128
Felser u. Leuchs 264.
Feser u. Friedberger 594.
de Filippi 203, 204.
Fischer, E. (Brenztraubensäure) 87.
— (Heptosazon) 104.
— (Glukose) 105, 108.
— (Phenylhydrazinprobe) 111, 603.
— (Galaktose) 113.
— (Maltose) 115.
— (Isomaltose) 116.
— (Milchzucker) 117.
— (Pentose) 129.
— (Harnsäure) 169.
— (Purinbasen) 174—186.
— (Aminosäuren) 224, 225, 226.
— (Glykokoll) 228.
— (Alanin) 230, 231.
— (Valin) 232, 233.
— (Leucin) 234—238.
— (Asparaginsäure) 241.
— (Glutaminsäure) 242, 243.
— (Serin) 251.
— (Ornithin) 253.
— (Prolin) 263.
— (Oxyprolin) 264.
— (Ornithursäure) 277.
— (Phenylalanin) 279.
— (Tyrosin) 285, 286, 287.
— (Skatol) 297.
— (Polypeptide) 424, 427, 429.
— (Spinnenseide) 455.
— (Isolierung von Aminosäuren) 508.
— u. Abderhalden (Diaminotrioxydodekansäure) 252.
— — (Prolin) 263.
— — (Phenylalanin) 279.
— — (Polypeptide) 425, 427, 428, 429.
— — (Isolierung von Tyrosin und Diaminotrioxydodekansäure) 515.
— — (Trypsin) 527.
— u. Andreä 137.
— u. Bergell 226, 287, 428, 626.
— u. Dörpinghaus 231, 243.
— u. Jacobs 251, 252.
— u. Jourdan 87.
— u. Leuchs 134, 251, 252.
Fischer u. Meyer 115, 118.
— u. Mouneyrat 279, 281.
— u. Niebel 532.
— u. Piloty 131.
— u. Raske 231, 246, 248, 252.
— u. Röder 162, 164, 167.
— u. Schmitz 234.
— u. Schoeller 280.
— u. Schrauth 428.
— u. Schulze 428.
— u. Skita 229, 231.
— u. Suzuki 248, 249, 251, 255, 256.
— u. Tiemann 136, 137.
— u. Warburg 234—237.
— u. Weigert 257, 258, 259.
Fischer, H. 301, 302.
Fischler u. Loebisch 374.
Fittig u. Clark 232.
Fitz 60.
Flamand u. Ellinger 296, 299, 301.
Flatow u. Neubauer 291, 293.
Fleckseder 690.
Fleischl 679.
Fleroff 435, 438.
Fletscher u. Hopkins 78, 758.
Floresco u. Dastre 374.
Folin (Tierisch. Gummi) 137.
— (Kreatin) 157.
— (Kreatinin) 158, 160.
— (Kreatininbestimmung) 585, 587, 654.
— (Fleischsäure) 421.
— (Mucinalbumose) 498.
— (Schwefelbest.) 553, 573.
— (Harnstoffbest.) 581.
— (Harnsäurebest.) 589.
— (Ammoniakbest.) 577, 651.
— (Acetonbest.) 619.
Fordos 387, 388.
Formanek 463.
Forssman u. Bang 347.
Forssner 626.
Foster u. Herter 294, 738.
Fouquet 63.
Fränkel (Histidin) 260, 261, 262.
— (Chondroitinschwefelsäure) 345, 346.
— (Albamin) 137, 138, 400.
— (Phosphatid) 202.
— u. Baumann 291.
— u. Kelly 139.
Framm 107.
Frédéricq 401, 405, 407.
Frederikse 405.
Frémy u. Valenciennes 244, 495.
Frerichs u. Staedeler 273.
Fresenius 748.
— u. Will 612.
Freund 126, 138, 648.
— u. Joachim 406, 407, 477.
Freytag u. Kossel 350, 351.
Friboes 459.
Friedberger u. Feser 594.
Friedenthal 665.
Friedmann (Cystin) 244, 248, 250.
— (Keratine) 446.

Friedmann (Adrenalin) 268, 269.
— u. Brasch 238.
Fromholdt 378, 379.
Fuchs u. Küster 360, 361.
v. Fürth (Adrenalin) 268, 269, 270.
— (Haemin) 361.
— (Melanine) 384.
— (Myogen) 402.
— (Myosin) 403, 404.
— (Oxydiertes Eiweiss) 430, 431.
— (Muskeln) 755, 756.
— u. Jerusalem 383, 385, 485.
— u. Russo 139, 140.
— u. Schneider 288, 383, 536.
— u. Scholl 140.
Fuld 490.
— u. Levison 703.
— u. Spiro 406, 643.
— u. Wohlgemuth 722.
Funaro 586.
Funk u. Abderhalden 238, 426, 429, 430.

G.

Gabriel 244.
Gabriel, S. 749.
Galimard 495.
Gallois 273.
Gamgee 349, 353, 355, 375, 387, 463—466.
— u. Blankenhorn 347.
— u. Hill 437, 438, 461.
— u. Jones 471, 473, 474, 476, 482.
Garrod (Homogentisinsäure) 291.
— (Hämatoporphyrin) 361.
— (Urochrom) 376, 377, (Uroerythrin) 381.
— u. Hopkins 373, 377, 378, 379.
— u. Hurtley 292, 293, 633.
— u. Orton 292.
Gaskell 627.
Gatin-Gruzewska 120, 122, 123, 395.
Gautier (Arsen) 50.
— (Xanthin) 175.
— (Ptomaine) 218—222, 289.
— u. Bertrand 50.
— u. Etard 218.
— u. Mourgues 204, 217, 220.
Geide 424.
Geiger u. Leuchs 251.
Gentzen u. Ellinger 302.
Gerhard 88, 616.
Gerngross 163.
Gessard 536.
Giemsa 132.
Gierke 45.
Giertz 471, 488.
Gies 347, 349, 477.
— u. Buerger 753.
— u. Chittenden 504.
— u. Cutter 504.
— u. Emmett 450, 452.
— u. Hawk 454, 505, 749.
— u. Lesem 347.
— u. Posner 344, 347, 349, 504, 505, 506.
— u. Richards 448, 477, 505, 753.
Gies u. Seifert 505.
— u. Steel 348, 578.
— u. Vandergrift 753.
Gilson (Chitin) 139, (Chitosan) 140.
— (Lecithine) 193, 194, 197.
Gittelmacher-Wilenko 316.
Glässner 522, 530, 704.
Gmelin 299, 372, 470, 629.
Golding Bird 381.
Goldmann u. Baumann 246, 249.
Goldschmidt 397, 400.
Goodmann 758.
Gorup-Besanez 231.
Goto (Harnsäure) 171, 172.
— (Protamine) 440—444.
Gottlieb 124, 652.
— u. Bondzynski 184, 432.
— u. Stangassinger 157, 654, 762.
de Graaff u. Grutterink 410.
Grafe 651, 766.
Graham 4.
Grebe 123.
Green u. Tower 449.
Gregersen 541, 556.
Gregor u. Pribram 569.
Gréhant u. Quinquaud 688.
Griffiths 218, 220.
Grimaux 151.
Grindley 756, 762.
Gröber 305.
Grosser 383.
— u. Neuberg 90.
Gruber 572.
Grünbaum u. Gürber 112.
Grünhagen 703.
Grützner 524, 702.
— u. Ebstein 522.
Grund 764.
Grutterink u. de Graaff 410.
Gscheidlen 686.
Guareschi u. Mosso 218.
Gümbel 398, 446, 520.
Gürber 395.
— u. Grünbaum 112.
Guggenheim u. Abderhalden 288, 292, 302.
Gulewitsch (Methylguanidin) 155.
— (Thymin) 162, 164.
— (Cholin) 204, 205.
— (Neurin) 206, 207.
— (Cadaverin) 214.
— (Carnosin) 215, 216.
— (Arginin) 254, 256, 257.
— (Histidin) 260.
— (Isolirung von Cholin aus Gehirn) 781.
— u. Amiradzibi 214, 759.
— u. Krimberg 208, 758.
Gullbring 325, 327, 336.
Gumlich 582.
Gundlach u. Strecker 327, 337.
Gunning 86, 560.
Gusserow u. Hermann 150.
Guth 97, 99.
Guthzeit u. Conrad 108.

H.

Haberland 57, 59, 70.
Habermann u. Ehrenfeld 235, 286, 431, 625.
— u. Hlasiwetz 242.
Händel 746, 752, 753.
Hafner u. Kreis 65, 97, 100.
Hagemann 3.
Hahn u. Nencki 144.
Haiser 485, 486.
Haitinger 243.
Haldane 465, 466, 468.
— u. Smith 688.
Hall u. Burian 177.
Halliburton (Cellulose) 126.
— (Brenzcatechin) 267.
— (Farbstoff) 387.
— (Hämocyanin) 401.
— (Myosinogen) 401.
— (Paramyosinogen) 403, 404.
— (Paranucleoprotide[?]) 496.
Halsey u. Erlenmeyer 285.
Hamburger 666.
Hammarsten (Achrooglykogen) 124.
— (Sinistrin) 125.
— (Xylose) 130.
— (Phosphatide) 200, 201.
— (Taurin) 244.
— (Cholesterin) 311.
— (Cholsäure) 321, 323.
— (Ursocholsäure) 328.
— (Glykocholsäure) 329.
— (Glykocholeinsäure) 332.
— (Taurocholsäure) 333—335.
— (Taurocholeinsäure) 336.
— (Scymnolschwefelsäure) 337.
— (Hämatoporphyrin) 361.
— (Bilirubin) 371, 372, 629.
— (Phylloerythrin) 374.
— (Fibrinogen) 404, 405.
— (Fibringlobulin) 405.
— (Serumglobulin) 406, 407.
— (Glutolin) 408.
— (Fibrin) 411.
— (Nucleoproteide) 475.
— (Casein) 489.
— (Ichthylin) 493.
— (Synovia) 496.
— (Nucleoalbumin) 496.
— (Mucin) 498, 500.
— (Serosamucin) 499.
— (Pseudomucin) 501.
— (Helicoproteid) 507.
— (Labferment) 530.
— (Galle) 706, 707, 710, 712.
— u. Starke 395, 396, 398.
Hammerschlag 665.
Hann u. Tutin 94, 95.
Hansen 100.
— u. Henriques 196.
Hanssen 506.
Hari 433.
Harms 751.
Harnack 457, 469, 470.
— u. Schmiedeberg 270.
Harries u. Langheld 491.
Harris u. Osborne 400, 401, 491, 520.
Hart u. Chittenden 448.
Hartley 68.
Hartmann 318, 731.
Hasebroek 206, 411.
Haslam 414, 416, 417.
Hausmann 316, 407, 438, 520.
Hauth u. Windaus 317.
Hawk u. Gies 454, 505, 749.
Hazura 67, 68, 74.
Heckel 60.
Hedenius 447, 661.
Hedin 254, 256, 258, 260, 527, 530.
Heffter 75, 400.
Hehner 101.
Heintz 64, 65, 74.
— u. Wislicenus 328, 337.
Hekma 705.
Heller 391, 631.
Henderson 259.
Henkel 84.
Henriques 199.
— u. Hansen 196.
Henze (Chitin) 139.
— (Asparaginsäure) 240.
— (Taurin) 244.
— (Jodgorgosäure) 290.
— (Spongosterin) 311, 317.
— (Hämocyanin) 401.
— (Cornein) 456.
— (Nucleoproteid v. Octopus) 476.
Hepner 313, 319, 670.
Herlant 478.
Hermann u. Gusserow 150.
Herrmann, E. 38.
Herter 297, 382.
— u. Foster 294, 738.
Hervieux u. Porcher 383.
Herzfeld 114, 129.
Herzog 254, 259, 262.
Hesse 314.
Hetper u. Marchlewski 359.
Heumann 304.
Heymann u. Neuberg 134, 501.
Heynsius u. Campbell 371.
Hiestand 113, 200.
— u. Winterstein 113, 191, 200.
Hilger 82, 272.
Hill u. Gamgee 437, 438, 461.
Hinterberger 316.
Hirschfeld 384.
His 265.
— u. Hagen 767, 769.
— u. Paul 170.
Hlasiwetz u. Habermann 242.
Hobohm u. Vorländer 86.
Höber 566, 665.
Hödlmoser 50.
Hoehnel-Glaser 552.
Höne 595.
Hörnes u. Skraup 431, 491.

Hoffa 155, 219.
v. Hofmann 203, 206, 210.
Hofmann u. Pregl 447.
Hofmeister (Milchzucker) 117.
— (Kreatinin) 158, 761.
— (Aminosäuren) 236, 241, 242.
— (Kynurensäure) 309.
— (Proteine) 391, 394.
— (Ovalbumin) 398, 399.
— (Albumosen) 414, 624.
— (Peptone) 422.
— (Jodeiweiss) 431.
— (Glutin) 450, 452.
— (Eiter) 688.
— u. Pohl 623.
Hohlweg u. Meyer 648, 651.
Holde 65, 66, 73.
Holm u. Staedeler 385.
Holmgren 476, 758.
v. Holst 499.
v. Hoogenhuyze u. Verploegh 586.
Hopkins (Indol) 295.
— (Skatol) 296.
— (Tryptophan) 302.
— (Ovalbumin) 399, 400.
— (Halogeneiweiss) 431.
— (Harnsäure) 589.
— u. Cole 299—302.
— u. Fletscher 78, 758.
— u. Garrod 373, 377, 378, 379.
— u. Pinkus 398.
Hoppe-Seyler (Manganprobe) 42.
— (Glukosanin) 136.
— (Chitin) 139.
— (Chitosan) 140.
— (Lecithine) 196.
— (Inosit) 271.
— (Glykocholsäure) 332.
— (Guanogallensäure) 337.
— (Pyosin) 351.
— (Haemochromogen) 352, 353.
— (Haematin) 354.
— (Haemin) 357, 359.
— (Haematoporphyrin) 361. 364.
— (Bilirubin) 369.
— (Phylloerythrin) 374.
— (Urobilin) 380.
— (Tetronerythrin) 386.
— (Abscheidung von Eiweissstoffen) 394.
— (Oxyhaemoglobin) 459.
— (Kohlenoxydhaemoglobin) 464.
— (Methaemoglobin) 466.
— (Cyanhaemoglobin) 468.
— (Sulfhaemoglobin) 470.
— (Casein) 488.
— (Vitellin) 493.
— (Harnstoffisolierung) 651.
— (Blutfarbstoffbestimmung) 675, 676.
— (Bestimmung von Plasma, Serum u. Blutkörperchen) 681.
— (Gallenanalyse) 712.
— (Fettbestimmung i. d. Milch) 726.
— (Cholsäure in Fäces) 740.
Hoppe-Seyler u. Araki 76, 77, 470.
— u. Diakonow 193.
Hoppe-Seyler, G., 341, 603, 675.
Horbaczewski (Kreatin) 156.
— (Harnsäure) 169.
— (Xanthin) 175.
— (Guanin) 177, 448.
Hotter 278, 279.
Hübel 102.
Hüfner (Spectrophotometrie) 23, 675.
— (Harnstoff) 148, 584.
— (Glykocholsäure) 329, 331.
— (Blutfarbstoff) 460, 462, 464, 466, 675.
— u. Külz 467.
— u. Küster 353.
— u. Otto 467.
— u. Reinbold 467.
Hürthle 318.
Hugounenq 78, 493, 495.
— u. Morel 238, 493.
Huiskamp 404, 405, 435, 472, 473, 477.
Humnicki u. Bondzynski 316.
Hundeshagen 193, 205, 457.
Hunter 311, 441.
— u. Abderhalden 493.
Huppert (Acthylsulfid) 90.
— (Uroleucinsäure) 292, 293.
— (Urobilin) 379.
— (Bilirubinnachweis i. Harn) 629.
— (Bilirubinnachweis i. Fäces) 741.
— u. Messinger 617.
— u. Schütz 524.
Hurtley u. Clark 470.
— u. Garrod 292, 293, 633.
Hutzler u. Meyer 60.
Hybbinette 63, 66, 594.

I. J.

Jaarsveld u. Stokvis 599.
Jacobj 668.
Jacobs u. Fischer, E. 251, 252.
— u. Levene 235, 239.
Jacobsen 199, 200.
Jacoby 529, 536.
Jaeckle 72.
Jaederholm 466.
Jaffe (Harnstoff) 147.
— (Kreatin) 157, 762.
— (Kreatinin) 159, 160, 161.
— (Harnsäure) 170.
— (Ornithin) 253.
— (Ornithursäure) 276.
— (Tyrosin) 289.
— (Kynurensäure) 309, 601.
— (Urocaninsäure) 310, 311.
— (Glukuronsäure) 344.
— (Gallenfarbstoff) 371.
— (Urobilin) 377, 378, 379.
— (Urobilin i. Harn) 628.
v. Jaksch 86, 383.
Jamieson u. Wheeler 156, 290.
Jaquet 460.
Jellett 29.

Jernström 499.
Jerusalem 620, 661.
— u. v. Fürth 383, 385, 485.
Ignatowski 227, 277, 626.
Inagaki 396.
Inoko 460.
Inouye 162, 164, 481.
Joachim u. Freund 406, 407, 477.
Jochem 229, 241, 243, 281.
Jodlbauer 109, 751.
Johansson 395.
Johnson 157, 487.
— u. Wheeler 165, 166, 167.
Jolin 327, 337.
Jones 163, 164, 167, 384, 535.
— u. Gamgee 471, 473, 474, 476, 482.
— u. Rowntree 485.
— u. Whipple 474, 476.
de Jonge 92, 488, 731.
Jourdan u. E. Fischer 87.
Jowett 270.
Jünger u. Klages 328, 329.
Justus 45.
Iwanoff 483.

K.

Kaas 399.
Kanitz 101.
Kast 339, 717.
Kelly 227.
— u. Fränkel 139.
Kempe u. Abderhalden 299—303.
Kent u. Tollens 113, 119.
Kikkoji 481.
Kiliani u. Kochler 128.
Kionka 228, 230.
Kirbach 424.
Kirk 292.
Kirkbride 234.
Kitagawa u. Thierfelder 349.
Kjeldahl 560.
Klages u. Jünger 328, 329.
v. Klaveren 469.
Klug 452.
Knapp 611.
Knoop 260, 261, 262.
— u. Windaus 107, 260, 261.
Knop 148, 584.
Kobert 401, 468.
Kobrak 488, 490.
Koch 195, 196, 198, 781, 782.
Kochler u. Kiliani 128.
Körösy, Abderhalden u. London 735.
Köttgen u. Abelsdorf 387.
Köttstorfer 101.
Kolbe 244.
Kondo 295, 296.
Koppe u. Schmiedeberg 207.
Korndörfer 158.
Kossel, A. (Centrifuge) 5.
— (Natriumpresse) 15.
— (Pentose) 127.
— (Thymin) 162.
— (Nucleinbasen) 174, 179, 180, 181, 183.
Kossel, A. (Lysin) 258.
— (Histidin) 259, 261.
— (Protagon) 347.
— (Cerebrin) 351.
— (Histone) 434, 435, 437.
— (Protamine) 439, 441, 444.
— (Oxyhämoglobin) 460.
— (Paranucleoproteide) 487, 488.
— (Kernmasse der roten Blutkörperchen) 671.
— (Zerkleinerungsapparat) 755.
— (Bestimmung der Nucleinbasen) 767.
— (Proteidphosphorsäure) 776,
Kossel u. Bruhns 181.
— u. Dakin (Ornithin) 253, 257, 263.
— — (Protamine) 441—445, 534.
— u. Freytag 350, 351.
—, Krüger u. Obermüller 103.
— u. Kutscher (Histidin) 260.
— — (Histon) 435, 436.
— — (Protamine) 439, 441—444.
— — (Isolierung von Hexonbasen) 516.
— — (Aminosäuren) 655.
— u. Neumann (Lävulinsäure) 88.
— — (Thymin) 162, 163.
— — (Cytosin) 164.
— — (Nucleinsäure) 480, 483.
— u. Patten 261.
— u. Pringle 444.
— u. Steudel 164—167, 483.
— u. Thoiss 181.
Kossel, H., 694, 695.
Kossler u. Penny 595.
Kostytschew 481, 482.
Krafft 92.
— u. Dyes 76.
Kramm 161.
Krasnosselsky 437.
Kraus 666.
Kraut 760.
Krawkow 139, 344, 506.
Kreis u. Hafner 65, 97, 100.
Kretschy 309.
Krimberg 155, 208, 209, 216, 259.
— u. Gulewitsch 208, 758.
Kröber 764.
Krüger, F. 461, 720.
Krüger, M. (Harnsäure) 171.
— (Nucleinbasen) 174—185.
— u. Bergell 204.
—, Kossel u. Obermüller 103.
— u. Reich 576.
— u. Salomon (Purinbasen) 174—184.
— — (Darstellung v. Purinb. aus Harn) 188.
— — (Bestimmung von Nucleinbasen in Muskeln) 767.
— u. Schittenhelm 736, 743, 767.
— u. Schmid 174, 590, 627.
— u. Wulff 186.
Krüger, Th. R. 421.
Krukenberg (Chitin) 139.
— (Farbstoffe) 374, 385, 387.

Krukenberg (Conchiolin) 456.
— (Cornein) 456.
— u. Wagner 187.
Kühne (Indol) 293.
— (Sehpurpur) 387.
— (Antialbumid) 412.
— (Albumosen) 414, 527.
— (Trockenpankreas) 528.
— u. Chittenden 446, 447, 782.
Külz, E. (Oxybuttersäure) 78, 79.
— (Fruchtzucker) 112.
— (Cystin) 249
— (Glukuronsäure) 342.
— (Nachweis von Oxybuttersäure) 619.
— u. Vogel 116, 126, 615.
Külz, R. 246.
— u. Hüfner 467.
Kueny 105, 108, 115, 117, 122, 135.
Küster, W. (Hämatin) 354, 356.
— (Hämin) 358—360.
— (Hämopyrrol 365.
— (Hämatinsäure) 366—368.
— (Bilirubin) 369—371.
— (Biliverdin) 372.
— (Choleprasin) 373.
— u. Fuchs 360, 361.
— u. Hüfner 353.
Kumagawa u. Suto 607, 770.
Kunkel 50.
Kunz 217.
Kurajeff 299, 422, 431, 442.
Kurbatoff 68.
Kutscher (Paramylum) 124.
— (Methylguanidin) 155.
— (Vitiatin) 156.
— (Kreatinin) 160.
— (Thymin) 162.
— (Cytosin) 165, 166.
— (Neurin) 206.
— (Novain) 208.
— (Reductonovain, Oblitin, Neosin) 209.
— (Ignotin) 215.
— (Mingin) 216.
— (Aminosäuren) 225, 241, 242, 244.
— (Leucin) 236.
— (Arginin) 255.
— (Histidin) 261.
— (Tyrosin) 286.
— (Fleischsäure) 421.
— (Untersuchung einer tryptischen Verdauungsflüssigkeit) 528.
— (Organische Basen im Harn) 631.
— (Fleischextrakt) 761.
— (Trennung von Basen) 778.
— u. Ackermann (Krabbenextrakt) 207, 209, 216, 257, 265, 761.
— — (Arginin) 255.
— u. Benech 153, 257.
— u. Kossel (Histidin) 260.
— — (Histon) 435, 436.
— — (Aminosäuren) 655.
— u. Lohmann (Methylguanidin) 155.
— — (Pankreasautolyse) 162, 213.
— — (Lecithin) 198.
Kutscher u. Lohmann (Novain) 208.
— — (Oblitin) 209.
— — (Kynosin, Gynesin) 216.
— — (Methylpyridinammoniumhydroxyd) 265.
— — (Lipase) 533.
— — (Organische Basen im Harn) 631.
— u. Seemann 484, 734.
— u. Schenk 153, 453, 484.
— u. Steudel 3.
— u. Zickgraf 153, 453.

L.

Ladenburg 213.
— u. Abel 210.
Laidlaw 363, 387.
Lamois u. Martz 731.
Lampel 407, 431.
Landolt 29, 384.
Landsberg 91, 764.
Landsiedl u. Bamberger 144.
Landsteiner 324.
Landwehr 124, 126, 137.
Lang 244.
Langheld 320, 326, 327.
— u. Harries 491.
Langley 522.
Langstein (Glukosamin) 134, 138.
— (Cadaverin) 213.
— (Oxyphenyläthylamin) 289.
— (Skatosin) 297.
— (Serumalbumin) 398.
— (Ovalbumin) 399, 400.
— (Conalbumin) 401,
— (Serumglobulin) 407.
— (Ovoglobulin) 408.
— (Ovomukoid) 502, 503.
— u. Falta 290.
— u. Mayer 650.
— u. Neuberg 112, 116.
— u. Steinitz 113, 116, 613.
Laqueur u. Sackur 490.
Laskowsky u. Sabanin 85.
Lassar-Cohn 63, 66, 320, 323—325, 327.
Lasseigne 53.
Latschinoff 322, 323, 325, 326, 327.
Lawrow 211, 213, 256, 423.
— u. Salaskin 422.
Leathes 137, 138, 502, 530.
Ledderhose (Glukosamin) 133, 135, 136.
— (Chitin) 139, 140.
— (Pyocyanin) 388.
Lefèbre u. Tollens 133.
Legal 295, 616.
Lehmann, J. 146.
Lelli u. Ulpiani 348.
Lemaire 104, 116, 138.
Leo 113, 699, 700.
Lepierre 220.
Lépine u. Boulud 131.
Lesem u. Gies 327.
Letsche 199, 661.

Leuchs 264.
— u. Felser 264.
— u. Fischer 134, 251, 252.
— u. Geiger 251.
Levene (tierisch. Gummi) 137.
— (Pyrimidinbasen) 162, 164, 166, 167.
— (Nucleinbasen) 178, 182.
— (Gykocoll) 228.
— (Leberautolyse) 231, 279.
— (Glukothionsäure) 346, 505.
— (Protagon) 348.
— (Polypeptide) 425, 429.
— (Glutin) 452.
— (Nucleoproteid) 477, 494.
— (Nucleinsäuren) 481.
— (Chondroitinschwefelsäure) 498.
— u. Alsberg 492, 493.
— u. Beatty (Aminosäurenphosphorwolframat) 224, 228, 236, 241, 243, 280.
— — (Polypeptide) 429.
— — (Glutin) 453.
— u. Jacobs 235, 239.
— u. Mandel 162, 164, 474, 485.
— u. Stookey 476.
— u. Wallace 263, 429.
Levison u. Fuld 703.
Levites 431.
Lewandowsky 590.
Lewin, Miethe, Stenger 353, 355, 363, 365, 386, 463, 465, 467.
Lewkowitsch 76.
Lewy, B. 211.
Lieben u. Rossi 61.
Lieberkühn 400, 413.
Liebermann, L. (Dextran) 125.
— (Eiweissreaction) 392.
— (Cholesterinnachweis) 315.
— (Uroferrinsäure) 433.
Liebermeister 477.
Liebig (Harnstoff) 146, 578.
— (Kynurensäure) 308.
— (Inosinsäure) 485.
Liebreich (Cholin) 204.
— (Betain) 207.
— (Cholesterinester) 318.
— (Protagon) 346.
— (Vernix caseosa) 731.
— u. Bistrow 466.
Lifschütz u. Darmstaedter 63, 65, 80, 81, 92, 317, 731.
Lilienfeld 231, 347, 435, 472.
v. Linden 470.
Lindenmayer 314.
Lindwall 447.
Linn u. Diels 312, 313, 314.
Linser 731.
Lintner 116.
— u. Düll 116, 125.
Lipliawsky 616.
Lipp u. Erlenmeyer 279, 285.
Lippich 29.
v. Lippmann (Galaktose) 113.
— (Arabinose) 129.
v. Lippmann (Guanidin) 153.
— (Carnin) 187.
— (Arginin) 255.
— (Tyrosin) 285.
Ljubarsky 66.
Lobry de Bruyn 135.
— u. v. Ekenstein 105, 112, 114, 118, 135, 136.
Locquin 238, 240.
— u. Bouveault 238.
Loebisch (Tierisch. Gummi) 137.
— (Nucleinsäure) 481.
— (Tendomukoid) 504, 505.
— u. Fischler 374, 375.
— u. v. Rokitansky 696.
Loening 430.
Lönnberg 344, 496.
Lörcher 530.
Loevenhart 490.
Loewy 151, 666.
— u. Neuberg 211—214, 249.
Lohmann u. Kutscher (Methylguanidin) 155.
— (Pankreasautolyse) 162, 213.
— (Lecithin) 198.
— (Novain) 208.
— (Oblitin) 209.
— (Kynosin, Gynesin) 216.
— (Methylpyridinammoniumhydroxyd) 265.
Lohnstein 611.
Lohrisch u. Simon 746.
Long 489.
— u. Johnson 736.
Longo 82.
Lossen 153.
Lowe u. Senier 94.
Ludwig 587.
Lücke 140, 274, 387.
Lüdecke u. Willstädter 95, 96.
Lüdy 149.
Lüning 41.
Lukomnik 422.
Lumsden 57, 58, 59, 61, 62.
Lüttke 701.
Luzzatto 128, 149, 613, 614.

M.

Maas 419.
Macallum 37.
Mac Kenzie 78, 80.
Mac Lean 197.
Mac Munn 361, 374.
Magnanini u. Ciamician 296.
Magnus-Levy (Schwefelwasserstoffbildg.) 46.
— Milchsäure 74.
— (β-Oxybuttersäure) 78, 79, 80, 619.
— (Bernsteinsäure) 82.
— (Benzoesäure, Glukuronsäure) 344.
— (Urobilin) 378.
— (Bence-Jones Eiweiss) 410.
Maillard 597.

Majert 210.
Makris 118, 489.
Malengreau 472, 473.
Malerba 153.
Maly (Kreatinin) 158.
— (Bilirubin) 369, 371.
— (Biliverdin) 372.
— (Hydrobilirubin) 373.
— (Lutein) 385.
— (Oxyprotsulfonsäure) 430, 453.
Manasse 200.
— u. Neuberg 226, 287.
Mandel u. Levene 162, 164, 474, 485.
— u. Neuberg 615.
Mann 278.
Marcet 316.
Marchlewski 365, 367, 375.
— u. Hetper 359.
— u. Nencki 365.
— u. Retinger 365.
— u. Schunk 305.
Marckwald 61.
— u. Schütz 61.
Marcus 406.
Mark u. Siegfried 199.
Marx u. Embden 227.
Maschke 161.
Mathews 438, 734.
Mauthner 237, 248, 249, 287.
— u. Suida 314.
Mayeda 281, 301.
Mayer, E. u. Willstätter 314, 316.
Mayer, P. (Phosphatidspaltung) 94.
— (Lecithin) 197, 198.
— (Jecorin) 199, 200.
— (Glukuronsäure) 131, 132, 342.
— (Inosit) 272.
— u. Langstein 650.
— u. Neuberg (Glukuronsäure) 131, 342, 343.
— — (Cystein) 245.
— — (Cystin) 247—250.
Mays 421, 527.
Medwedew 132.
Mehu 378.
Meillère 272.
Meinertz 199, 200.
— u. Neumann 552.
Meisenheimer u. Buchner 91.
— Buchner u. Schade 107.
Meissl 114, 115.
Meissner 48, 82, 150, 168, 171.
Mellanby 157, 396, 654.
Mendel 244.
— u. Brown 150.
— u. White 150.
v. Mering 131, 342, 572.
Merriam u. Wheeler 163, 167.
Merunowicz u. Zaleski 361, 363, 365.
Messinger u. Huppert 617.
Mester 383.
Mett 524.
Meyer 60.
— u. Fischer 115, 118.
Meyer u. Hohlweg 648, 651.
— u. Hutzler 60.
Meyer, H. u. Schmiedeberg 131, 342.
Michael u. Wing 240.
Michaelis u. Rona 648, 656.
Michel 395, 396, 397.
Micko 230, 242, 244, 763.
Miescher (Thymin) 162.
— (Albuminose) 436.
— (Protamine) 439, 441.
— (Nucleinsäure) 478.
— (Blutfarbstoffbest.) 679.
— (Sperma) 733.
Miethe, Levin, Stenger 353, 355, 363, 365, 386, 463, 464, 465, 467.
Milchner u. Neuberg 130, 134.
Millon 392.
Milroy 352, 471, 493.
Minkowski 78, 150, 152, 172.
Mitjukoff 502.
Mittelbach 405.
Mittelmeier u. Scheibler 116, 125.
Miura 384.
Möller 618.
Mörner, C. Th. (Tyrosinprobe) 288.
— (Chondroitinschwefelsäure) 344, 346.
— (Krystallin) 409.
— (Percaglobulin) 408.
— (Ichthylepidin) 449.
— (Collagen) 450.
— (Glutin) 451.
— (Albumoid) 454.
— (Membranine) 454.
— (Cornein) 456.
— (Mukoid) 502, 504.
— (Knorpel) 752.
— (Hornhaut, Linse) 784.
Mörner, K. A. H. (Brenztraubensäure) 87.
— (Harnstoff) 581, 584.
— (Cholin) 205.
— (Cystein) 245.
— (Cystin) 246—250.
— (Chondroitinschwefelsäure) 344, 600.
— (Hämin) 357, 358.
— (Melanin) 383, 384.
— (Serumalbumin) 396.
— (Ovalbumin) 399, 400.
— (Fibrinogen) 405.
— (Serumglobulin) 407.
— (Keratin) 445, 446, 447.
— (Muskelfarbstoff) 458.
— (Casein) 489, 491.
— (Harnmukoid) 503.
— (Bleischwärzender Schwefel) 553.
— u. Sjoquist 146, 581.
Mohr 445, 550, 571.
Molisch 111, 393.
Moll 396, 397, 998.
Moore 110.
Morawitz 672.
— u. Dietschy 624, 648.
Moreau 125.
Morel u. Hugounenq 238, 493.
Moriya 74.

Morkowin 443.
Morochowetz 408, 449, 454.
Morris u. Brown 116.
Moruzzi 197.
Moscatelli 150.
Mosso u. Guareschi 218.
Mouneyrat 226.
— u. E. Fischer 279, 281.
Mourgues u. Gautier 204, 217, 220.
Muck 190.
Mühle 420.
Müller, E. u. Bondi 329—335.
Müller, Franz u. Aron 459.
— u. Ziemke 467, 469.
— Friedrich, (Glukosamin) 133, 134.
— (Tierisches Gummi) 137.
— (Chitosan) 140.
— (Protagon) 347.
— (Urobilin) 378.
— (Glukoproteide) 497—499.
— (Sputum) 694.
— u. A. Schmidt 695.
— Johannes 273, 633.
— P. Th. 404.
Müntz 103.
Muirhead u. Abel 143.
Munk 190, 593, 629, 723, 735.
Mylius 320—323, 326, 327.

N.

Nägeli 566.
Nakayama 483.
van Name 451.
Nasse 122, 123, 267.
— u. Schmidt 289.
Naunyn 150.
Nawratzki 267.
Neimann u. Neuberg 132, 343, 344, 615.
Nencki, L. 89.
— M., (Methylmerkaptan) 89.
— (Schwefelcyansäure) 190.
— (bakterielle Fäulnisproducte) 217, 278, 282.
— (Indol) 293, 294.
— (Skatol) 295.
— (Indolpropionsäure) 298.
— (Tryptophan) 299.
— (Dünndarminhalt) 734.
— u. Berdez 384.
— u. Hahn 143.
— u. Marchlewski 365.
— u. Rotschy 628.
— u. Schoubenko 89.
— u. Sieber (Methylmercaptan) 89.
— (Haemin) 357, 359.
— (Hämatoporphyrin) 361, 364.
— (Urobilin) 380.
— (Urorosein) 382.
— (Melanin) 384.
— (Hämoglobin) 462.
— (Pepsin) 523, 697.
— u. Zaleski 357, 359, 360, 361, 364, 365.
Nerking 120, 123, 752.
Netolitzky 310.
Neubauer (Bernsteinsäure) 83.
— (Oxalursäure) 149.
— (Harntrockenrückstand) 569.
— (Kreatinin) 585.
— (Muskeln) 761.
Neubauer, O. (Hämatin) 356.
— (Hämatoporphyrin) 363, 364.
— (Hämopyrrol) 366.
— (Proteinreaction) 392.
— u. Flatow 291, 293.
— u. Porges 196, 313.
Neuberg (Hexose, Zucker, Bernsteinsäure) 84.
— (Glukose) 105, 108.
— (Fruchtzucker) 112.
— (Galaktose) 114.
— (Maltose) 115.
— (Milchzucker) 118.
— (Pentosen) 126, 128, 129, 130.
— (Glukuronsäure) 131, 132.
— (Glukosamin) 134, 135, 136.
— (Cadaverin) 213.
— (Pyrrolreaction der Aminosäuren) 224.
— (Isaethionsäure) 245.
— (Lysin) 259.
— (Prolin) 263, 264.
— (Adrenalin) 270.
— (Inosit) 271, 272.
— (Tryptophan) 299—302.
— (Koprosterin) 316.
— (Nucleoproteid) 476.
— (Guanylsäure) 485.
— (Amyloid) 507.
— (Phenolbest.) 595.
— u. Ascher 249.
— u. Blumenthal 86, 453.
— u. Brahn 130, 485, 486.
— u. Federer 128.
— u. Grosser 90.
— u. Heymann 134, 501.
— u. Langstein 112, 116.
— u. Löwy 211—214, 249.
— u. Manasse 226, 287.
— u. Mandel 615.
— u. Mayer (Glukuronsäure) 131.
— (Cystein) 245.
— (Cystin) 247—250, 342, 343.
— u. Milchner 129, 130, 134.
— u. Neimann 132, 343, 344, 615.
— u. Orgler 131, 134, 252, 345, 346.
— u. Popowski 300, 302.
— u. Rauchwerger 315.
— u. Rewald 62.
— u. Richter 234, 655.
— u. Rosenberg 61, 62, 226, 252, 301.
— u. Salkowski 132, 133, 343.
— u. Strauss 112, 227, 613, 655.
— u. Wohlgemuth 128, 129, 130, 615.
— u. Wolff 136.
Neumann, A. (Nucleinsäure) 480—483.
— (Veraschung) 539.
— (Eisenbestimmung) 546.
— (Salzsäurebest.) 551.

Neumann, A. (Phosphorsäurebest.) 554.
— (Glukose- u. Pentosenachw.) 127, 603, 614.
— u. Kossel (Lävulinsäure) 88.
— — (Thymin) 162, 163.
— — (Cytosin) 164.
— u. Meinertz 552.
Neumann, E. 386.
Neumann, W. 420.
Neumeister (Albumosen) 414.
— (Admidalbumose) 419.
— (Elastin) 448.
— (Pseudopepton) 502.
Neusser 361.
Nicloux 765.
Niebel 123.
— u. E. Fischer 532.
Nishimura 126.
Noël-Paton 408, 494.
Nolf 143, 144, 782.
Nürnberg 422.

O.

Obermayer 597.
Obermüller 314, 316.
—, Kossel u. Krüger 103.
Oddi 344.
Odenius 476.
Oechsner de Coninck 217, 218.
Oerum 323, 327, 599, 706.
Offer 139.
Ofner 109, 112.
Okerblom 184.
Okunew 422.
Ollendorf u. Ruff 105, 129.
Oppenheimer 396.
Orgler 86, 347.
— u. Neuberg 131, 134, 252, 345, 346.
Orndorff u. Teeple 370, 371.
Orton u. Garrod 292.
Osborne 399, 460.
— u. Campbell 399, 400, 408, 492, 502.
— u. Clapp 425, 427.
— u. Harris 400, 401, 491, 520.
— u. Zobel 763.
Ost 112.
Oswald 409, 431, 474.
Otolski 199, 752.
Otori (Lävulinsäure) 88.
— (Guanidin) 153.
— (Monamine) 203.
— (Cholin) 205.
— (Betain) 207.
— (Putrescin) 212.
— (Cadaverin) 214.
— (Casein) 491.
— (Pseudomucin) 501.
— u. Kutscher 20, 153, 154.
Otto 342, 383, 460, 467.
— u. Hüfner 467.

P.

Paal 226, 451, 452.
— u. Zitelmann 287.
Paijkull 496, 499, 645.
Panek u. Bondzynski 432.
Panormow 398, 763.
Panzer 318, 319, 322, 431, 502.
Parkus 350, 351.
Pascucci 347, 670.
Patten 249.
— u. Kossel 261.
Paul u. His 170.
Pauli u. Rona 450.
Pauly (Histidin) 259, 260, 261.
— (Proteinreaction) 393.
— (Adrenalin) 268, 269, 270.
— (Tyrosin) 289.
Pautz 784.
Pavy 607.
— u. Slau 116.
Pawlow 522, 523, 527, 530, 697.
Pekelharing (Nucleoproteid) 477, 478.
— (Pepsin) 522, 523, 530, 697.
Pemsel 395.
— u. Spiro 666.
Penny u. Kossler 595.
Penzoldt 616.
Peters 68.
Petrequin 731.
Pettenkofer 323.
Pfeiffer u. Brandl 384.
Pfaundler 628.
Pflüger (Glykogen) 120, 122, 123, 124.
— (Gärungsprobe) 604.
— (Harnstoff) 578, 582.
— (Knorpel) 752.
— (Glykogenbestimmung) 771.
Philippson 5.
Pick 415.
Pickard u. Yates 65.
Piloty u. E. Fischer 131.
Pinkus u. Hopkins 398.
Pinoff 127.
Piria 288.
Plattner 330.
Plenge 483, 671.
Plesch 586
— u. Zuntz 688.
Plimmer u. Bayliss 491, 493, 556.
Ploss 755.
Poda 743.
Poduschka 151, 152.
Pohl 150.
— u. Hofmeister 623.
Pollacci 190.
Pollak 88.
Pommerehne u. Toppelius 158.
Pons 345, 601.
Popowsky u. Neuberg 300, 302.
Porcher 564.
— u. Hervieux 383.
Porges u. Neubauer 196, 313.
— u. Spiro 406, 407.

Posner 733.
— u. Gies 344, 347, 349, 504, 505, 506.
Posternak 271.
Pouchet 219, 220.
Poulsson 158.
Power u. Tutin 95.
Pregl 320, 322, 324, 326, 353, 433, 447.
— u. Abderhalden 433.
— u. Hofmann 447.
Preusse 340.
Preyer 468.
Pribram 319, 402.
— u. Gregor 569.
Pringle 442.
— u. Kossel 444.
Pröscher 370, 719.
Prout 381.
Przibram 402.
Purdie 76, 77.
— u. Walker 76, 77.

Q.

Quinquaud u. Gréhant 688.

R.

Raaschou u. Bang 485.
Rajewski 90.
Raper 422.
Raske u. E. Fischer 231, 246, 248, 252.
Rauchwerger u. Neuberg 315.
Reese u. Embden 627.
Redelius 623.
Reh 162, 167, 488, 490, 491.
Reich 452.
— u. Krüger 576.
Reichert-Meissl 101.
Reichl 392.
Reinbold u. Abderhalden 528.
— u. Hüfner 467.
Reiss 407.
Reoch 698.
Retinger u. Marchlewski 365.
Rewald u. Neuberg 62.
Reye 405, 406, 648, 650.
Richards u. Gies 448, 477, 505, 753.
Richter u. Neuberg 234, 655.
Ries u. Schultzen 284.
Riesser 253—257.
Ritter 312.
Ritthausen 137, 237, 242, 425, 723.
Riva 381.
Roberts 611, 623.
Röder u. E. Fischer 162, 164, 167.
Röhmann (Bürzeldrüse) 63.
— (Carnaubasäure) 65.
— (Lanocerin) 81.
— (Octadekylalkohol) 92.
— (Isomaltose) 116.
— (Frauencasein) 489.
— (Salpetersäure) 568, 575.
— (Diastase im Blutserum) 643.
— (Hauttalg) 731.
Rohde 302, 392, 393.
Rogozinski 422.
v. Rokitansky u. Loebisch 696.
v. Romburgh 62.
Rona u. Abderhalden 627.
— u. Michaelis 648, 656.
— u. Pauli 450.
Roos 211, 213.
Roosen u. Behrend 169.
Rosemann 697.
Rosenbach 629.
Rosenberg u. Neuberg 61, 62, 226, 252, 301.
Rosenberger 104, 113, 600, 661, 763.
Rosenfeld 359, 457.
Rosenheim 312.
— u. Tebb 347, 348.
Rosin 305, 306, 382, 629.
Rosow 384.
Rossi u. Lieben 61.
Roster 329.
Rothera 495.
Rotschy u. Nencki 628.
Rubner 89, 111, 119, 603.
Ruff 128.
— u. Ollendorf 105, 129.
Rumpf u. Dennstedt 559.
Rupp 593, 692.
Ruppel 317, 731.
Russo u. v. Fürth 139, 140.

S.

Sabanin u. Laskowsky 85.
Sachs 483, 534, 535, 614.
Sack u. Tollens 285.
Sackur u. Laqueur 490.
Sadikoff 451.
Sahli 680.
Saillet 380.
Salaskin 238, 425.
— u. Lawrow 422.
Salkowski (Oxalsäure) 81.
— (Bernsteinsäure) 82, 83.
— (Fettverseifung) 103.
— (Glukose) 107.
— (Pentosen) 126, 127, 128, 130.
— (Glukuronsäure) 132.
— (Allantoin) 150, 153.
— (Kreatinin) 159, 161.
— (Harnsäure) 170.
— (Aminovaleriansäure) 233.
— (Phenylessigsäure) 277.
— (Phenylpropionsäure) 277.
— (Phenacetursäure) 278.
— (Oxyphenylessigsäure) 282.
— (Oxyphenacetursäure) 283.
— (Indol) 294.
— (Skatol) 296.
— (Indolessigsäure) 297.
— (Indolpropionsäure) 298.
— (Untersuchung eines Fäulnisgemisches) 306.
— (Cholesterin) 315.

Salkowski (Cholesterinester 318, 319.
— (Hämatoporphyrin) 361.
— (Urorosein) 382.
— (Xanthoproteinprobe) 392.
— (Casein) 488, 491.
— (Synovin) 500.
— (Ovomukoid) 502.
— (Proteolytische Fermente) 529.
— (Kalium) 567.
— (Salzsäurebestimmung) 571.
— (Harnsäurebestimmung) 587.
— (Purinbasenbestimmung) 592.
— (Phenolnachweis) 595.
— (Indoxylbestimmung) 597.
— (Zuckernachweis im Harn) 603.
— (Pentosenachweis im Harn) 615.
— (Eiweissnachweis im Harn) 621.
— (Bilirubinnachweis im Harn) 629.
— (Hämatoporphyrin im Harn 631.
— (Harnstoffisolierung) 652.
— (Bilirubinnachweis im Dünndarm) 735.
— (Bilirubin in Fäces) 741.
— (Isolierung von Cholesterin aus verseiftem Fett) 785.
— u. Neuberg (Glukuronsäure) 132, 133, 343.
Salomon 179, 184, 185.
— u. Krüger 174, 181—188, 767.
Salomone u. Treves 431.
Samec 60.
Samuely 385.
Savarè 476.
Sawjalow 422.
Saxl 756.
Schade 107.
— Buchner u. Meisenheimer 107.
Schäfer 126.
Schalfejeff 357, 359.
Scheermesser 420.
Scheibe 84, 116, 730.
Scheibler 207.
— u. Mittelmeier 116, 125.
Schenk (Guanidin) 154.
— (Arginin) 256.
— (Histidin) 261.
— (Cholsäure) 323.
— (Zuckernachw.) 655.
— u. Kutscher 153, 453, 484.
Scherer (Cystin) 246.
— (Inosit) 272.
— (Metalbumin) 501.
— (Eiweissbestimmung) 622.
Scheunert u. Bergholz 705.
Schiff 148, 240, 241.
Schindler 178, 767.
Schittenhelm (Harnsäure) 173.
— (Nucleinsäure) 483.
— (Purinbasen) 535.
— (Ammoniakbestimmung) 577.
— (Galle) 706.
— (Fäces) 736.
— (Meconicum) 746.
— u. Abderhalden 234, 285, 483.
— u. Brugsch 655, 770.
Schittenhelm u. Schröter 483.
— u. Tollens 736.
Schlesinger 628, 711, 740.
Schliep u. Embden 618.
Schlösing 578.
Schlossmann 725.
Schmiedeberg (Unterschweflige Säure) 48.
— (Glykogen) 124.
— (Glukuronsäure) 131, 133.
— (Onuphin) 141.
— (Chondroitinschwefelsäure) 345, 346.
— (Melanin) 384.
— (Melanoidine) 385.
— (Ferratin) 475.
— (Nucleinsäure) 478—483.
— u. Bunge 275, 599.
— u. Harnack 207.
— u. Koppe 207.
— u. H. Meyer 131. 342.
— u. Schultzen 309.
Schmid u. Krüger 174, 590, 627.
Schmidt, Ad. 296, 347, 740, 741.
— u. Fr. Müller 695.
Schmidt, C. 126.
Schmidt, E. 176.
Schmidt, J. 488, 725.
— (Cholin) 205.
— u. Haensch 32.
Schmidt-Nielsen 489.
Schmitz u. E. Fischer 234.
Schmöger 118, 119.
Schneider u. v. Fürth 288, 383, 536.
Schoeller u. E. Fischer 280.
Schönbein 568.
Schöndorff (Glykogen) 120.
— (Harnstoff) 144, 147.
— (Glykocoll) 229.
— (Asparaginsäure) 241.
— (Harnstoffbestimmung) 582, 653.
— (Zuckerbestimmung) 607.
Scholl u. v. Fürth 140.
Schoorl 108.
Schotten 233, 322, 327.
Schoubenko u. Nencki 89.
Schoumow-Simanowsky 523, 697.
Schrauth u. E. Fischer 428.
Schreiber 595.
Schreiner 210, 250.
v. Schröder 654.
Schröter u. Schittenhelm 483.
Schrötter 314, 322.
Schütz, E. 524.
— u. Huppert 524.
Schütz J. 524.
— u. Marckwald 61.
Schützenberger (tier. Gummi) 137.
— (Tyroleucin) 238.
— (Hemiprotein) 412, 430.
Schulz, Fr. N. (Hämatoporphyrin) 363.
— (Farbstoffe) 374.
— (Serumalbumin) 396.
— (Ovalbumin) 399.
— (Oxyprotein) 430.
— (Globin) 437.

Schulz, Fr. N. (Oxyhämoglobin) 460.
— u. Ditthorn 137.
— u. Zsigmondy 399.
Schulz, H. 50, 753.
Schulze, A. u. E. Fischer 428.
Schulze, E. (Hyänasäure) 65.
— (Guanidin) 153.
— (Betain) 207.
— (Aminosäuren) 224.
— (Leucin) 234.
— (Glutaminsäure) 243.
— (Histidin) 260.
— (Phenylalanin) 279, 281.
— (Tyrosin) 285, 287.
— (Isocholesterin) 317.
— u. Barbieri 231, 279.
— u. Bosshard 242, 243.
— u. Castoro 231, 255, 285, 291.
— u. Likiernik 234, 237, 257.
— u. Steiger 254, 256, 257.
— u. Winterstein (Lecithine) 194.
— — (Valin) 231, 232.
— — (Isoleucin) 238.
— — (Ornithin) 253.
— — (Arginin) 255.
— — (Prolin) 263.
— — (Phytin) 271.
— — (Ornithursäure) 277.
— — (Phenylalanin) 280, 281.
— — (Tyrosin) 287.
— — (Tryptophan) 299.
— — (Cholesterin) 314.
— — (Isocholesterin) 317.
Schulze, F. E. u. Thierfelder 38.
Schulze, F. 575.
— u. Tollens 130.
Schultzen u. Ries 284.
— u. Schmiedeberg 309.
Schumm 22, 630, 741.
Schunk 149, 305, 376, 386.
— u. Marchlewski 305.
Schwarz 448.
Scott 457.
Sebelien 401, 406, 408, 722, 729.
Seemann (Bernsteinsäure) 82.
— (Glukosamin) 134.
— (Ovalbulmin) 400.
— (Leim) 453.
— (Ovomukoid) 503.
— u. Kutscher 484, 734.
Seidel 273.
Seifert u. Gies 505.
Selitrenny 453.
Seliwanoff 112.
Selmi 216.
Senier u. Lowe 94.
Sennkowski 322.
Seo 172.
Shaffer 576, 577, 578, 589.
Shimidzu 729.
Sidney Young 293.
Sieber 384.
— u. Nencki (Methylmercaptan) 89, 357, 359, 361, 364, 380, 382, 384, 462, 523, 697.
Siegfried (Dialysator) 5.
— (Aminosäuren) 226, 227.
— (Lysin) 257, 258.
— (Urocaninsäure) 310, 311.
— (Protokyrine) 414, 423.
— (Peptone) 419, 420, 421.
— (Reticulin) 453.
— (Nucleon) 496.
— (Stickstoffbest.) 562.
— u. Mark 199.
v. Siewert 354, 357, 358.
Simon u. Lohrisch 746.
Sjöquist u. Mörner (Harnstoff) 146, 581, — 700.
Skita u. E. Fischer 229, 231.
Skraup (Glukose) 108.
— (Galaktose) 114.
— (Maltose) 115.
— (Milchzucker) 117.
— (Caseinsäure) 252.
— (Leimsäure usw.) 253.
— (Desaminoproteine) 431.
— (Glutin) 453.
— (Casein) 491.
— u. Hörnes 431, 491.
— u. Witt 60, 491.
Slau u. Pavy 116.
Slimmer 232.
Slowtzoff 733.
Smith u. Haldane 688.
Sörensen 253, 254, 277.
— u. Andersen 263.
Solera 190.
Sommerfeld 697.
Sotnitschewsky 731.
Soxhlet (Extractionsapparat) 3.
— (Glukose) 105.
— (Galaktose) 113.
— (Maltose) 114.
— (Milchzucker) 117.
— (Fettbestimmung in Milch) 727.
Spiegel 48, 131, 246, 250.
Spiegler 383, 384.
Spiro 229, 276, 282, 408.
— u. Fuld 406, 643.
— u. Pemsel 666.
— u. Porges 406, 407.
Staal 382.
Stadelmann 79, 299.
Städel 278.
Städeler 139, 369, 372, 374.
— u. Frerichs 273.
— u. Holm 385.
Stanek 206.
Stangassinger u. Gottlieb 157, 654, 762.
Starke 397.
— u. Hammarsten 395, 396, 398.
Steel u. Gies 348, 578.
Steensma 294, 296, 741.
Steiger u. E. Schulze 254, 256, 257.
Steinitz u. Langstein 113, 116, 613.
Stenger, Miethe u. Lewin 353, 355, 363, 365, 386, 463, 464, 465, 467.
Stephani u. Böcker 3.

Stern u. Thierfelder 194, 198, 202.
Sternitzki u. Bamberger 86.
Steudel (Glukosamin) 133, 134, 136.
— (Paramucosin) 138.
— (Thymin) 164.
— (Uracil) 167.
— (Arginin) 256.
— (Lysin) 257.
— (Histidin) 261.
— (Nucleinsäuren) 481—484.
— (Guanylsäure) 485.
— (Trennung der Basen aus Nucleinsäure) 486.
— (Mucin) 498.
— (Paramucin) 502.
— (Ovomukoid) 503.
— u. Kossel 164—167, 483.
— u. Kutscher 3.
Steyrer 213.
Stöckly 278.
Stokvis 371.
— u. Jaarsveld 599.
Stolnikow-Roberts 623.
Stolte 135.
Stolz 268.
Stookey 422.
— u. Levene 476.
Strassburger 745.
Strauss E., 446, 447, 457.
— u. Abderhalden 447.
Strauss, H. u. Neuberg 112, 227, 613, 655.
Strauss, H., 598.
Strecker (Milchsäure) 76.
— (Guanidin) 153.
— (Xanthin) 175, 176.
— (Lecithine) 193, 196.
— (Cholin) 204.
— (Alanin) 230.
— u. Gundlach 327, 337.
Strickler u. Winterstein 719.
Stritar 765.
Struve 352.
Stuhetz 257.
Stutzer 723.
Suida u. Mauthner 314.
Sundwik (Psyllasäure) 66.
— (Psyllaalkohol) 93.
— (Chitin) 139.
— (Allantoin) 151.
— (Harnsäure) 172, 173.
Suter 246.
Suto u. Kumagawa 607, 770.
Suzuki u. E. Fischer 248, 249, 251, 255, 256.
— u. Yoshimura 271.
Swain (Allantoin) 150, 151, 297, 308, 311.
Szabo 698.
Szydlowski 257, 259.

T.

Takamine 268, 269, 270.
Takayasu 564.
Tangl 489.
Tangl u. Weiser 93, 643, 660, 765.
Tanret 119, 135, 271.
Tappeiner 278.
Taverne 61.
Tebb 450, 454.
— u. Rosenheim 347, 348.
Teeple u. Orndorff 370, 371.
Teichmann 356, 674.
Tengström 331, 335, 708.
Teruuchi u. Abderhalden 286.
Thesen 158.
Thiele 433.
Thierfelder 80, 113, 131, 132.
— u. Kitagawa 349
— u. F. E. Schulze 38.
— u. Stern 194, 198, 202.
— u. Wörner 347, 349.
Thöny u. Winterstein 211, 213, 257, 260.
Thoiss u. Kossel 181.
Thomas, K. 380.
Thomas, W. 699.
Thudichum (Milchsäure) 74.
— (Paraxanthin) 185.
— (Phosphatide) 190, 191, 195, 198, 201.
— (Protagon) 347.
— (Cerebroside) 348.
— (Phrenosin) 349.
— (Urochrom) 376.
— (Luteine) 385, 386.
Tiemann 135, 136, 408.
— u. Fischer 136, 137.
Tollens (Lävulinsäure) 88.
— (Glukose) 108, 109.
— (Pentose) 127, 129, 764.
— (Glukoronsäure) 133, 615.
— u. Lefèbre 133.
— u. Kent 113, 119.
— u. Sack 285.
— u. Schulze 130.
Toppelius u. Pommerehne 158.
Tower u. Green 449.
Traube 177.
Treves u. Salomone 431.
Trommer 110.
Tschugajew 315.
Tsujimoto 68.
Tsuschija 623, 624.
Tutin u. Hann 94, 95.
— u. Power 95.

U.

v. Udranszky 111, 615.
— u. Baumann 211, 213.
Uffelmann 77.
Ulpiani 173, 196, 197.
— u. Lelli 348.
Umber 130, 471, 475, 499.
Urano 157, 160.
Ury 739.

V.

Vahlen 320, 325, 326, 327.
Valenciennes 456.

Valenciennes u. Frémy 244, 495.
Vandergrift u. Gies 753.
Vaubel u. Blum 431.
v. d. Velden 698.
Velichi 402, 404.
Vernon 529.
Verploegh u. v. Hoogenhuyze 586.
Victorow 604, 611.
Vierordt 23.
Vignon 455.
Vincent 402, 404.
Virchow 176, 506.
Voegtlin u. Abderhalden 491.
Völker 600.
Vogel u. Külz 116, 126, 615.
Vohl 272.
Voit, C. 177.
Voit, E. 765.
Voitinovici u. Abderhalden 449.
Volhard, F. 525, 533.
Volhard, J. 156, 571, 572.
Vondracek u. Votocek 113.
Vorländer u. Drescher 297.
— u. Hobohm 86.
Votocek u. Vondracek 113.
Vournasos 699.
Vozarek 566.

W.

Wälchli 449.
Wagner 611.
Wagner u. Krukenberg 187.
Wahlgren 329, 331, 332. 496.
Walker u. Purdie 76, 77.
Wallace u. Levene 263, 429.
Wallerstein 650.
Walter 494, 495.
Wang 597.
Wanner 695.
Warburg 236.
— u. E. Fischer 234—237.
Weber 587, 654, 741, 762.
Wedemeyer u. Arnold 560.
Wedenski 104, 122.
Weidel 176, 187.
Weigert u. E. Fischer 257, 258, 259.
Wein 61, 62.
Weinland 60, 532.
Weintraud 736, 746.
Weiser u. Tangl 93, 660, 765.
— u. Zaitschek 128, 130, 745.
Weiske 449.
Weiss, O. 131.
Welcker 686.
Werigo 213.
Wendel u. Ehrlich 231, 232, 234, 237, 239.
Wenzel 309.
Wetzel 456.
Weydemann 137, 138.
Weyl 161, 229, 455, 568.
Wheeler 166, 167.
— u. Jamieson 156, 290.
— u. Johnson 165, 166, 167.
Wheeler u. Merriam 163, 167.
White u. Mendel 150.
Wichmann 395, 401.
Wiechowski 150, 152, 599.
Wild 27.
Wilfarth 560.
Will u. Fresenius 612.
Willanen 503.
Willcock 399, 400.
Willdenow 259.
Williams, J. 145.
Willstätter 207, 253, 263.
— u. Lüdecke 95, 96.
— u. Mayer 314, 316.
Wilson u. Cramer 348.
Winckler 203.
Windaus (Fruchtzucker) 112.
— (Maltose) 115.
— (Milchzucker) 118.
— (Pentose) 127.
— (Cholesterin) 312, 314, 318.
— (Koprosterin) 316.
— u. Hauth 317.
— u. Knoop 107, 260, 261.
Wing u. Michael 240.
Winternitz 675, 687.
Winterstein (Citronensäure) 84.
— (Cellulose) 126.
— (Chitin) 139.
— (Valin) 231.
— (Cystin) 248.
— (Prolin) 263.
— (Phytin) 271.
— (Tryptophan) 299.
— u. Bissegger 238, 264.
— u. Hiestand 113, 191, 200.
— u. E. Schulze (Lecithine) 194.
— — (Valin) 231.
— — (Isoleucin) 238.
— — (Ornithin) 253.
— — (Arginin) 255.
— — (Prolin) 263.
— — (Phytin) 271.
— — (Ornithursäure) 277.
— — (Phenylalanin) 280, 281.
— — (Tyrosin) 287.
— — (Tryptophan) 299.
— — (Cholesterin) 314.
— — (Isocholesterin) 317.
— u. Strickler 719.
— u. Thöny 211, 213.
Wislicenus 77, 78.
— u. Heintz 328, 337.
Witt u. Skraup 60, 491.
v. Wittich 531.
Wörner (Kalium) 37.
— (Kreatinin) 158, 159, 161.
— (Phosphorsäurebestimmung) 541.
— (Harnsäurebestimmung) 589.
— u. Thierfelder 347, 349.
Wohl 128, 129.
Wohlgemuth (unterschweflige Säure) 48.
— (Methylmercaptan) 89, 90.
— (Xylose) 130.

Wohlgemuth (Glykocoll) 227.
— (Alanin) 230.
— (Cystin) 249.
— (Oxydiaminosebacinsäure) 253.
— (Nucleoproteide) 474, 475.
— (Aminosäuren i. Harn) 627.
— u. Fuld 722.
— u. Neuberg 128, 129, 130, 615.
Wolff 242, 318, 384, 644.
— u. Neuberg 136.
Wolkow u. Baumann 290.
Wooldridge 671.
Worm-Müller 602.
Worms 398.
Wroblewski 489, 492.
Wulff 178, 179, 181, 182.
— u. Krüger 186.
Wurm 386.
Wurster 289, 430, 576, 690, 693.
Wurtz 204.

Y.

Yates u. Pickard 65.
Yoshimura u. Suzuki 271.
Young 122, 125.

Z.

Zängerle 501.
Zahor 623.
Zaitschek 490, 719.
— u. Weiser 128, 130, 745.
Zaleski 310, 359—365, 380.
— u. Merunowicz 361, 363, 365.
— u. Nencki 357, 359, 360, 361, 364, 365.
Zalocostas 457.
Zanetti 502, 503.
Zdarek u. v. Zeynek 384.
Zelmanowitz 3.
v. Zeynek 65, 352, 354, 356, 466, 468, 731.
— u. Zdarek 384.
Zickgraf 259.
— u. Kutscher 153, 453.
Ziemke u. Müller 467, 469.
Zincke 19.
Zitelmann u. Paal 287.
Zoja 381, 449.
— u. Bondzynski 430.
Zsigmondy u. Schulz 399.
Zuelzer 194, 198.
v. Zumbusch 374, 384.
Zuntz, L. 665.
Zuntz, N. 533.
— u. Plesch 688.
Zunz 415.

Alphabetisches Sachverzeichnis.

A.

Abdampfen von Flüssigkeiten 1.
Absorptionsstreifen 23.
Abwägen 11.
Acetaldehyd aus Buttersäure 60.
— aus Milchsäure 78.
— aus β-Oxybuttersäure 80.
— aus Alanin 231.
Acetessigsäure 88.
— aus Buttersäure 60.
— Nachw. im Harn 616.
— Best. im Harn 617.
— — mit Aceton 617.
— — getrennt 618.
Acethämin 359.
Aceton 85.
— Nachweis 87.
— aus Butter- u. Isobuttersäure 60.
— aus β-Oxybuttersäure 80.
— aus Valin 233.
— aus Leucin 237.
— bei der Zersetzung des Eiweiss 390.
— Nachw. im Harn 616.
— — bei Abwesenheit von Acetessigsäure 616.
— — bei Anwesenheit von Acetessigsäure 616.
— Best. von Aceton + Acetessigsäure im Harn 617.
— — von Aceton 618.
Acetyldiglukosamin 139.
Acetylenhämoglobin 466.
Achillessehne 753.
Achroodextrin 125.
Achrooglykogen 124.
Acidalbumine 389.
— Unterschied gegen Albuminate 412.
Acidhämoglobin 461 469.
Acidimetrie 13 ff.
Acidität des Harns 566.
— des Mageninhaltes 697.
— — Best. 699.
Acrolein 94.
Activatoren 521.
Adamkiewicz'sche Probe 295, 296, 302, 303, 392.
Adenase 535.
Adenin 168, 174, 179, 181.
— Vorkommen 181.
— aus Thymonucleinsäure 483.
— Darstellung 181.
— — aus Harn 188.
— Eigenschaften 181.
— Verbindungen 181, 182.
— Umwandlungen 183.
— Nachw. 183.
— -Probe von Kossel 180, 183.
— u. Guanin, quantitative Gewinnung aus Nucleinsäure 487.
— Best. in Muskeln u. Organen 769,
— Trennung von Epiguanin, Hypoxanthin, Paraxanthin 189.
Adipocire 63.
Adrenalin 268. 269, 270.
— Darstellung aus Nebennieren 269, 777.
Aepfelsäure 241.
Aether, hämolyt. Wirkung 667.
Aetherschwefelsäuren, aromatische 265, 338, 339, 340, 341.
— allgemeine Eigenschaften 338.
— Nachw. im Harn 567, 595.
— Best. im Harn 573, 595.
— Vork. u. Best. in Galle 707, 713.
— — im Schweiss 717.
Aethylalkohol 90.
— Nachw. u. Best. in Muskeln u. Organen 764.
— Tabelle des spec. Gewichts 790.
Aethylenmilchsäure 74.
Aethylidenmilchsäure 74.
Aethylsulfid 89.
— aus Cystin 90, 249, 390.
Alanin 229.
— Darstellung 230.
— Eigenschaften 230.
— — optische 231.
— Nachw. 231.
— Umwandlungen u. Zersetzungen 231.
— Verbindungen 230.
— Vorkommen 229.

Alanin, Racemisierung 230.
— Trennung in optisch-actives 230.
— aus Eiweiss 390.
— aus Serin 252.
d-Alanin, Isolierung aus der hydrolyt. Zersetzungsflüssigkeit der Proteine 508, 510, 511, 512.
— Gehalt einiger Proteine an 518.
d-Alanyl-l-Leucin 427.
— Isolierung 426.
Alanylprolinanhydrid 429.
Albamin 137, 138.
— aus Ovalbumin 400.
Albuminate 413.
— Unterschied gegen Acidalbumine 413.
Albumine 395.
— allgemeine Eigenschaften 395.
— Unterschied von Globulinen 395.
— einzelne 395.
— Nachw. u. Best. im Harn 622, 623.
— Vork. im Pancreassaft 704.
— — u. Best. in Milch 721, 723, 725.
Albuminoide 388, 445, 446, 447.
Albuminose von Miescher 436.
Albuminsäuren 413.
— s. Albuminate.
Albuminstoffe 388.
— coagulierte 389, 411.
s. auch Eiweissstoffe.
Albumoid des Knochens 454.
— des Knorpels 454.
— der Linse 454.
Albumosen 389, 414.
— Darstellung nach Kühne 414.
— — nach Pick 415.
— — nach Haslam 416.
— Abscheidung aus einem Albumose-Peptongemisch 416.
— Abscheidung der primären Albumosen aus einem Albumose-Peptongemisch oder Albumosengemenge 417.
— Abscheidung der Deuteroalbumosen aus einem Albumosengemenge 417.
— Weitere Aufteilung der primären und Deuteroalbumosen 417.
— allgemeine Eigenschaften 418.
— einzelne Albumosen und ihre Eigenschaften 418.
— characteristisches Verhalten 418.
— Prüfung auf schwer fällbare 416.
— — auf leicht fällbare 416.
— Nachw. in der peptischen Verdauungsflüssigkeit 526.
— — in der tryptischen Verdauungsflüssigkeit 528.
— — im Harn 624.
— — nach Hofmeister 624.
— — nach Devoto 624.
— — in serös. Flüssigkeiten 646, 648.
— Vork. im Eiter 688.
— — in Sputis 695.
— — im Pancreassaft 704.
Aldehydase der Leber 536.
Aldehyde bei der Oxydation des Eiweiss 390.
Alkalialbuminate 389, 413.
s. Albuminate.
— Lieberkühn's Alkalialbuminat 400.
Alkalialbuminose 419.
Alkalimetalle 36.
Alkalimetrie 13ff.
Alkaloidreagentien, Verhalten der Protamine zu A. 441.
Alkaptonharn 290, 292.
Alkohole 90.
s. auch Aethylalkohol.
Allantoin 150.
— Vorkommen 150.
— Darstellung 151.
— Isolierung 151.
— Eigenschaften 152.
— Zersetzungen 153.
— Nachw. 153.
— aus Harnsäure 172.
— Nachw. u. Best. im Harn 151, 585.
— Vork. u. Nachw. in serösen Flüssigkeiten 643, 661.
Alloxan aus Harnsäure 172.
— aus Guanin 176.
— Probe (v. Denigès) 173.
Alloxanthin aus Harnsäure 172.
Alloxurkörper 168.
s. Purinkörper u. Nucleinbasen.
Alloxyproteinsäure 433.
Almén'sche Lösung (Reagens) 786.
Almén-Nylander's (Probe auf Zucker) 110.
Ameisensäure 56.
— Vorkommen und Eigenschaften 56.
— Nachweis 57.
— Abscheidung und Trennung 70.
Amidomyelin 201.
Amidstickstoff, Best. in Proteinstoffen 520.
Amidulin 125.
Aminoaethandisulfid aus Cystin 249.
Aminoaethylsulfosäure 243.
s. Taurin.
Aminobernsteinsäure 240.
s. Asparaginsäure.
Aminoessigsäure 227.
s. Glykokoll.
α-Aminofettsäuren (Allgemeines) 224.
— Vorkommen 224.
— Eigenschaften 224.
— Salze u. Verbindungen 225.
— Isolierung aus der hydrolyt. Zersetzungflüssigkeit der Proteine 507.
— Gehalt einiger Proteine an 518.
— Nachw. im Harn 625.
— Isolierung als β-Naphthalinsulfoverbindung 626.
— — als Ester 627.
— Best. nach Krüger u. Schmid 627, 628.
— Nachw. in normal. Blut 655.
— Nachw. in serösen Flüssigkeiten 655.
— Nachw. in Galle 712.
— Nachw. u. Isolierung aus Organen 777.
— Schwefelhaltige 243.
α'-Aminoglutarsäure 242.
s. Glutaminsäure.

α-Amino-β-Methyläthylpropionsäure 238.
s. Isoleucin.
α-Amino-β-Oxypropionsäure 250.
s. Serin.
2-Amino-6-Oxypurin 176.
s. Guanin.
6-Amino-2-Oxypyrimidin 164.
s. Cytosin.
α-Aminopropionsäure 229.
s. Alanin.
6-Aminopurin 181.
s. Adenin.
α-Amino-β-Thiomilchsäure 245.
s. Cystein.
α-Aminoisovaleriansäure 231.
s. Valin.
δ-Amino-n-valeriansäure 233.
— Isolierung aus einem Fäulnisgemisch 224 u. 307.
— aus Eiweiss 390.
Aminosäuren s. α-Aminofettsäuren.
Ammoniak, Vorkommen u. Eigenschaften 51.
— Nachw. 52.
— Tabelle des spec. Gewichtes 789.
— aus Eiweiss durch Zersetzung 390.
— Gehalt einiger Proteine an 518.
— Nachw. im Harn 575.
— Best. nach Krüger-Reich 576.
— — nach Folin 577.
— — nach Schlösing 578.
— Nachw. u. Best. im Harnstein 639, 642.
— — — in serösen Flüssigkeiten 651.
— — — im Speichel 693.
— — — im Mageninhalt 704.
— — — in Galle 712.
— — in Fäces 736, 743.
— Best. in Muskeln u. anderen Organen 766.
— molybdänsaures, Reagens 786.
Ammoniumbasen 204.
Ammoniummagnesiumphosphat, Nachw. u. Best. in Harnstein 636, 639, 641.
— in Darmsteinen 746.
Amniosflüssigkeit, Untersuchung 642.
s. seröse Flüssigkeiten.
Amylodextrin 125.
Amyloid **506**, 507.
— Darst. auf mechanischem Wege 506.
— — durch Verdauung 506.
— Beziehung zur Chondroitinschwefelsäure 506, 507.
— in Harnsteinen 641.
Amyloidentartete Organe, Chondroitinschwefelsäure 344.
Amylum, Nachw. u. Best. in Fäces 736, 739, 745.
— Spaltung durch diastat. Ferment 532.
Analyse, quantitative 9.
— Verhältniszahlen zur Berechnung 788.
Anorganische Salze 35.
— Allgemeines 35.
— Nachw. u. Best. im Harn 567, 569.
— in Harnsteinen 638.
Anorganische Salze in serösen Flüssigkeiten 643, 645, 662.
— in roten Blutkörperchen 670.
— im Eiter 688.
— in Galle 707, 709, 712, 713.
— im Schweiss 717.
— in Milch 718, 722.
— in Fäces 736, 737, 743.
— in Knochen 747, 748, 749.
— im Knorpelgewebe 753.
— im Bindegewebe 754.
— in Muskeln u. Organen 756, 766, 777.
— im Gehirn 780.
Anorganische Stoffe, Allgemeines 35.
Anthracin 219.
Antialbumid 412.
Antiferment 521.
Antipathidenachsenskelett, Cornein 456.
Antoxyproteinsäure 432.
Apomyelin 201.
i-Arabinose **128**, 129.
d-Arabinose 128.
l-Arabinose 128.
— Nachw. u. Best. im Harn 613, 615.
i-Arabinosazon, Darstellung aus Harn 614.
Arachinsäure 65.
— Abscheidung u. Trennung 70.
Aräometer 18.
Arbaciasperma (Arbacin) 438.
Arbacin 438.
Arginase 534.
— aus Darmschleimhaut 534.
Arginin 254.
— Vorkommen 254.
— Darst. u. Synthese 255.
— Eigenschaften 255.
— Verbindungen 255.
— optische Eigenschaften 257.
— Umwandlungen 257.
— Nachw. 257.
— aus Eiweiss 390.
— Isolierung aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteine 516.
— Gehalt einiger Proteine an 518.
— Isolierung aus autolysierten Organen 778.
Arnold'sche Probe auf Acetessigsäure 616.
Aromatische Säuren 273.
— Schwefelsäuren 338, s. auch Aetherschwefelsäuren.
Arsen 50.
Arsengehalt der Gewebe 50.
Arthropodenblut, Hämocyanin 401.
Asche, Untersuchung mit dem Spectralapparat 23.
Aschen, Herstellung 537, 538.
— Vorprüfung 537.
— Veraschung auf trockenem Wege 537.
— — auf nassem Wege 539.
— — unter Sodazusatz 539.
— — von eiweissreichen Substanzen 538.
Aschenanalyse n. Dennstedt u. Rumpf 559.
Aschenauszug, qualitative Untersuchung des wässerigen 541.

Aschenauszug, qualitative Untersuchung des salzsauren 542.
— quantitative Bestimmungen einzelner Aschenbestandteile 543.
— quantitative Best. und Analyse der Gesamtasche 559.
— Herstellung der Harnasche 568.
— — der Knochenasche 749.
Asbestfilter 5.
— Herstellung 553, 774, 775.
Ascites, chylöser (Cholesterinester) 318.
Ascitesflüssigkeit, s. seröse Flüssigkeit.
— Untersuchung 642.
— Glykocollgehalt 227.
— Serosamucin 499.
Asellin 220.
Asparagin 240.
Asparaginsäure 240.
— Vorkommen 240.
— Darstellung 240.
— — d.- optisch activen 240.
— Eigenschaften 240.
— Verbindungen 241.
— Optische Eigenschaften 241,
— Umwandlungen 241.
— Nachweis 241.
— aus Eiweiss 390.
— Isolierung aus der hydrolyt. Zersetzungsflüssigkeit der Proteinkörper 508, 512.
— Gehalt einiger Proteine an 518.
Atherombälge, Untersuchung 731.
— Cholesteringehalt 311.
— Leucingehalt 233.
Atmidalbumin 419.
Atmidalbumose 419.
Atmidkeratin 445.
Atmidkeratose 445.
Atomgewichte 788.
Auswaschen der Niederschläge 6.
Autodigestion 529.
Autolyse von Organen 529.
— Schwefelwasserstoffbildung 46.
— Allantoin 150.
Autolytisches Ferment 529.
Azulminsäure aus Adenin 183.

B.

Badeschwamm, Jod 45.
— Jodospongin 457.
— Spongin 457.
Balggeschwülste, Bestandteile und Untersuchung 731.
Bangsche Zuckertitration im Harn 609.
— Lösungen dazu 609.
— Tabelle zur Berechnung 610.
Barfoed's Probe auf Zucker 110, 116, 119.
Barium, Vorkommen 38.
Barscheier, Ichthulin 493.
— Ichthulin-Lecithinverbindung 494.
Basen, Organische, Einwirkung auf Eiweiss 413.
— Isolierung aus Harn 631.
Basen, Trennung aus autolysierten drüsigen Organen 778.
— unbekannter Constitution 214.
Baumstarks Körper aus Harn 216.
Bence-Jones' Eiweisskörper 410.
— Gehalt an Aminosäuren 518.
Benzoesäure 273.
— Isolierung aus Flüssigkeiten 274.
— Nachw. u. Best. im Harn 599.
Benzoesäureglukuronsäure 344.
Benzoylverbindung der Aminofettsäuren 225.
Berechnung der Analysen 788.
Bernsteinsäure 82. 83.
— Vorkommen 82.
— Darstellung 82.
— Isolierung aus Organen u. Flüssigkeiten 83.
— Eigenschaften, Salze 83.
— Umwandlungen 83.
— Trennung von Milchsäure 83.
— Nachweis 84.
— aus Novain 209.
— aus Arginin 257.
— aus Hämatinsäure 368.
— aus Eiweiss 390.
— Isolierung aus Fäulnisgemisch 308.
— Nachweis in serös. Flüssigkeiten 643, 661.
Betain 207.
Bezoare 746.
— Lithofellinsäure 329.
Bienenwachs 63, 92, 93.
Biliansäure 322, 324.
— Trennung von Isobiliansäure 321.
Bilicyanin 371.
Bilifuscin 374.
Bilihumin 374.
Biliprasin 374.
Bilipurpurin (s. Phylloerythrin) 374.
Bilirubin, s. auch Gallenfarbstoffe 368.
— Vorkommen 368.
— Darstellung aus Gallensteinen 369.
— Isolierung aus Flüssigkeiten 369.
— Eigenschaften 370.
— Verbindungen 370.
— Spectrum 371.
— Umwandlungen 371.
— Nachweis 371.
— Aehnlichkeit m. Haematoporphyrin 363.
— Nachw. im Harn 628.
— — in Galle 707, 711.
— — in Gallensteinen 716.
— — neben Urobilin im Dünndarminhalt 735.
— — in Fäces 736, 741.
Biliverdin 372.
Bindegewebe, Bestandteile und Untersuchung 753.
— Kieselsäuregehalt 50.
— adenoides, Reticulin 453.
Bittermandelöl bei der Oxydation des Eiweisses 390.
Biuretreaction 148, 262, 380, 392, 471.
Blasenstein 634, s. Harnsteine.

Blausäure s. Cyanwasserstoff.
Blei 43.
— Schwefelbleiprobe im Eiweiss 393.
Blut 665.
— Bestandteile 665.
— Spec. Gew. 665.
— — Best. nach Hammerschlag 665.
— Farbe 665.
— Reaction 665.
— Best. d. Titrationsalkalescenz 666.
— Verhalten zu Salzlösungen 667.
— Hämolyse 667.
— Gerinnung 667.
— — Verzögerung 667.
— — Aufhebung 668.
— — Beschleunigung 668.
— Blutkuchen, Serum, defibriniertes Blut 668.
— Trennung u. Untersuchung v. Plasma (Serum) und Blutkörperchen 669.
— Trennung 669.
— Isolierung von Plasma 669.
— — von Serum 669.
— Auffangen des Blutes 669.
— Isolierung d. roten Blutkörperchen 670.
— Untersuchung d. roten Blutkörperchen 670.
— Isolierung u. Untersuchung d. weissen Blutkörperchen 672.
— — d. Blutplättchen 672.
— Nachw. u. Best. d. einzelnen Bestandteile im Blut 672.
— Nachw. des Blutfarbstoffs 673.
— Best. des Blutfarbstoffs 675.
— Best. des Fibringehaltes im Blut oder Plasma 680.
— — d. Plasmas, Serums und der Blutkörperchen im Blute 681.
— Gesamtblutanalyse 685.
— Best. d. Gesamtblut- u. Gesamtblutfarbstoffmenge eines Tieres 686.
— — d. Gesamtblutmenge b. Lebenden 688.
— Nachw. im Harn 630.
— — im Mageninhalt 703.
— — in Galle 712.
Blutextravasate, Hämatin 354.
— Hämatoidinkrystalle 368.
Blutfarbstoffe u. ihre nächsten Derivate 458.
— Beziehung zum Muskelfarbstoff 458.
— zur Harnfarbe 565.
— Spectrophotometr. Untersuchung 23.
— Nachw. im Harn 630.
— — in serös. Flüssigkeiten 643, 661.
— — in roten Blutkörperchen 670.
— — im Blut 673.
— — in eingetrocknetem Blut 674.
— — in sehr kleinen Mengen eingetrockneten Blutes 674.
— Best. im Blut 675.
— — spectroskopisch 23, 675.
— — colorimetrisch mit Hoppe-Seyler's Doppelpipette 675.
— — — nach Fleischl-Miescher 679.
Blutfarbstoffe, Best. colorimetrisch nach Sahli 680.
— Nachw. in Fäces 736, 741.
— — in Sputis 696.
— Farbstoffgruppen 352.
Blutkörperchen, rote 669.
— Trennung von Plasma (Serum) 669.
— Isolierung 670.
— Bestandteile 670.
— Darstellung des Stroma 671.
— Eigenschaften des Stroma 671.
— kernhaltige der Vögel 671.
— Darstellung der Kernmasse 671.
— Histon 434, 671.
— Protagonartige Stoffe 347.
— Nucleoproteid 474.
Blutkörperchen, weisse 672.
— Isolierung u. Untersuchung 672.
— Inosit 274.
— Protagonartige Stoffe 347.
Blutplättchen, Isolierung 672.
Blutkuchen 668.
Blutplasma, Isolierung 669.
— Untersuchung 642, s. seröse Flüssigkeiten.
— Best. im Blut 681.
— Best. des Fibrins 680.
Blutserum, Bestandteile und Untersuchung 642, s. seröse Flüssigkeiten.
— Isolierung 669.
— Best. im Blut 681.
— Lutein 385.
— Glutolin 407.
— diastatisches Ferment 531.
— Invertase 532.
— Maltase 532.
Böttcher'sche Krystalle 210.
Boettger's Probe auf Zucker 110.
— im Harn 602.
Bohnen, grüne, Inosit 271.
Boviste (Harnstoff) 144.
Brenzcatechin 267.
— Isolierung 268.
— Darstellung von B. und Hydrochinon aus Harn 267.
Brenzcatechinschwefelsäure 267.
— Nachw. u. Best. im Harn 340, 597.
Brenztraubensäure aus Casein 491.
Bronchialdrüsen, Pigment 383.
Browning's Taschenspectroskop 22.
Brückes Reagens 786.
Büchner'sche Nutsche 6.
Bürzeldrüsensecret, Bestandteile u. Untersuchung 731.
— Octadekylalkohol 92.
— Casein 488.
Bunsenbrenner 23.
Butter, Fettsäuren 59, 61, 62, 63, 65, 66.
Buttersäure 59.
— Oxydationsproducte 60.
— aus Inosit 272.
— aus Eiweiss 390.
— Trennung von Capron-, Capryl-, Caprinsäure 62.

Butylamin 204, 217.
Butyrin 99.
Byssus 455.
— Gehalt an Aminosäuren 519.

C.

Cadaverin 213, 214, 217.
— Isolierung aus Harn, Fäces und faulenden Substanzen 211, 221.
— Nachw. im Harn 631.
— — in Fäces 736, 742.
— Isolierung aus autolysierten Organen 778.
Calcium, Vorkommen, Eigenschaften 39.
— Nachw. in Aschen 542.
— Best. in Aschen 544.
— — als Sulfat nach Aron 544.
— — als Oxyd 545.
— — titrimetrisch 545.
— Nachw. im Harn 567.
— Best. in eiweissfreiem Harn 570.
— — in eiweisshaltigem Harn 571.
— Nachw. u. Best. in Harnconcrementen 634, 639, 642.
— — in Speichel u. Speichelsteinen 690, 693.
— Vork. in Pancreassaft 704.
— Nachw. in Gallensteinen 716.
— Best. in Knochen 750.
Calciumcarbonat, Nachw. in Aschen 542.
— Nachw. in Harnsteinen 636, 639.
— — u. Best. in Speichelsteinen 693.
— Vork. in Pancreassteinen 705.
— Nachw. in Gallensteinen 716.
Calciumoxalat, Nachw. u. Best. in Harnsteinen u. Sedimenten 637, 640, 642.
Calciumphosphat, Nachw. in Aschen 543.
— Nachw. in Harnsteinen 640.
— — u. Best. in Speichelsteinen 693.
— Vork. in Pancreassteinen 705.
— Nachw. in Gallensteinen 716.
Calciumsalze v. Fettsäuren 57, 58, 59, 61, 62.
Calciumsulfat, Nachw. in Harnsteinen 636, 639.
Camphoglukuronsäure 342.
Capranica's Reactionen 178.
Caprinsäure 62.
— Trennung von Butter-, Capron, Caprylsäure 62.
Capronin 99.
Capronsäure 61.
— Trennung von Butter-, Caprynl-, Caprinsäure 62.
— aus Eiweiss 390.
Caprylin 99.
Caprylsäure 62.
— Trennung von Butter-, Capron-, Caprinsäure 62.
Carbaminosäuren, Kalksalze 226.
Carbaminsäure 143.
Carcinom, Pigment 383, 384.
Carnaubasäure 65.
Carnaubylalkohol 92.
Carniferrin 497.
Carnin 187.
— Isolierung aus Muskeln 756.
Carnitin 208.
— Isolierung aus Muskeln 758.
Carnosin 214.
— Histidinbildung 215.
— Isolierung aus Muskeln 758.
Caseansäure 253.
Casein 488.
— Vorkommen 488.
— Darstellung aus Kuhmilch 488.
— — aus Frauenmilch 488.
— Zusammensetzung 489.
— Eigenschaften 489.
— — optische 489.
— Umwandlung b. Erhitzen auf 100° 490.
— — durch Labferment 490.
— — durch Pepsinsalzsäure 490.
— — durch Trypsin 490.
— Hydrolyse 491.
— Oxydation 491.
— Stickstoffverteilung 491.
— Gehalt an Aminosäuren 519.
— Nachw. in der Milch 721.
— Best. in der Milch 723, 724, 725.
— Vork. in Fäces 736.
Caseinartiger Stoff im Hauttalg und in der Bürzeldrüse 732.
Caseinokyrin 424.
Caseinsäure 252, 253,
Cellulose 81, 126.
— Nachw. u. Best. in Fäces 736, 739, 746.
Centrifugieren 5.
— A. Kossel's Centrifugiergefässe 5.
Centrophorushiston 436.
Cerebrin 350.
Cerebron 349.
Cerebronsäure 80.
Cerebroside 348.
— Galactosegehalt 113.
Cerebrosid in roten Blutkörperchen 670.
— im Eiter 689.
Cerebrospinalflüssigkeit (Cholin) 204.
— Brenzcatechin 267.
Cerotinsäure 65.
Cerylalkohol 92.
Cetylalkohol 92, 732.
Charcot'sche Krystalle 210.
— in Sputis 695.
Chenocholsäure 328.
Chinesisches Wachs (Cerotinsäure) 65.
Chinolinderivate 308.
Chinolin aus Oxytryptophan 303.
— aus Kynurensäure 309.
Chinon 270.
Chitin 139, 140.
— Glukosamingehalt 133.
Chitosamin, s. Glukosamin 133.
Chitosan 140.
— Glukosamingehalt 133.
Chlor, Best. des Gesamtchlors 572.
Chlorazol, bei d. Zersetzung d. Eiweisses 390.
Chlormethylchinolin aus Skatol 296.

Chloroform, hämolytische Wirkung 667.
Chlorophyllderivate 376.
— Beziehung zum Phylloerythrin 375.
Chlorophyllan, Nachw. in Fäces 742.
Chlorophyllansäure 742.
Chlorwasserstoff 44, s. Salzsäure.
Cholalsäure 320, s. Cholsäure.
Cholansäure 325.
Cholecamphersäure 322.
Choleeyanin 371.
Choleinsäure 323, 325, 327.
— Oxydationsproducte 326.
— Beziehung zur Desoxycholsäure 328.
— aus Taurocholeinsäure 336.
— Trennung von Fettsäuren 325.
— Trennung von Cholsäure 320, 325.
Choleprasin 373.
Cholestankörper 314.
Cholestanol 316.
Cholesten 314.
Cholesterilen 314.
Cholesterine 98, 311.
— Vorkommen 311.
— Zusammensetzung 312.
— Darstellung aus Gallensteinen 312.
— — aus Gehirn 312.
— quantitative Gewinnung aus Geweben u. Flüssigkeiten 312.
— Eigenschaften 313.
— Verbindungen 313.
— Optische Eigenschaften 314.
— Umwandlungen 314.
— Nachweis 314.
— Farbenreactionen 315.
— Isolierung aus verseiftem Fett 103.
— Nachtrag 785.
— Nachw. u. Best. in serösen Flüssigkeiten 643, 644, 660, 662.
— — in roten Blutkörperchen 670.
— — im Eiter 688, 689.
— — in Sputis 695, 696.
— — im Pancreassaft 704.
— — in Galle 707, 710, 713.
— — im Schweiss 717.
— — in Milch 721, 725, 726.
— Isolierung a. Talgdrüsen u. ähnlichen Secreten 732.
— Nachw. in Fäces 736, 739.
— Best. in Muskeln 776.
— Nachw. im Gehirn 781.
Cholesterinconcremente im Harn 635.
Cholesterinester 318.
— Vorkommen 318.
— Darstellung 318.
— Isolierung 318.
— — aus Blut 318.
— — aus der grossen weissen Niere 319.
— Trennung von Fett 319.
— Eigenschaften 319.
— Nachw. in serösen Flüssigkeiten 644, 660.
— — in roten Blutkörperchen 670.
— Isolierung a. Talgdrüsen u. ähnlichen Secreten 732.
Cholesterinfett 318.
Cholesteringallensteine 715.
Cholesterinsäureester 319.
Choletelin 371.
Choleverdin 371.
Cholin 204, 205, 206, 217.
— Eigenschaften u. Verbindungen 205.
— Darstellung aus Eidotter 204.
— Bildung von Neurin 206.
— Einwirkung auf Eiweiss 413.
— aus Phosphatiden 192.
— aus Lecithin 197.
— aus Jecorin 199.
— Isolierung aus Fäulnisgemisch 221.
— — aus autolysierten Organen 778.
— — aus Gehirn 781.
Cholohämatin (Phylloerythrin) 374.
Choloidinsäure 321.
Cholonsäure 332.
Cholsäure 320.
— Vorkommen 320.
— Darstellung aus Rindergalle 320.
— — aus Fäces 740.
— Eigenschaften 320.
— Optische Eigenschaften 321.
— Anhydride 321.
— Oxydationsproducte 322, 324.
— Reductionsproducte 322.
— Nachw. 322, 323.
— Unterschied von Desoxycholsäure 326.
— Nachw. von Cholsäure neben Glyko- u. Taurocholsäure 335.
— — in Fäces 736, 739.
Cholylsäure 322.
Chondrin 454.
Chondroalbumoid 454.
— Nachw. im Knorpel 753.
Chondromukoid 504, 497.
— Verhalten zu Verdauungssäften 505.
— Beziehung zu Chondroitinschwefelsäure 344.
— Isolierung aus Knorpelgewebe 752, 753.
Chondroitinschwefelsäure 344.
— Darstellung aus Knorpel 344.
— Eigenschaften 345.
— Nachw. 346.
— Spaltung 345.
— Vorkommen 344.
— aus Glukoproteiden 497.
— aus Mucin 498.
— Best. u. Nachw. im Harn 601.
— Nachw. im Knorpel 753.
Chondrosin 345.
— Tetraoxyaminocapronsäure 346.
Chorioidea, Farbstoff 383.
Chrysophansäure, Harnfarbe 565.
Chylurie 620.
Chylus, Myristinsäure 63.
— Fett 96.
— Serumalbumin 395.
Chymosin 530, s. Labferment.
Chymus 734.
Ciliansäure 324.
Circumpolarisation, Untersuchung 24.

Citronensäure 84, 85.
— Best. in der Milch 730.
Clupein 440, 442.
Clupeon 444.
Clupeovin 495.
Coagulierte Albuminstoffe 389, 411.
Coagulosen 422.
Cobaltihexaminchlorid, Reagens auf Pyrophosphorsäure 50.
Cocosit 271.
Coffein 168.
— im Harn 184.
Collagen 449.
— Vorkommen 449.
— Darstellung a. Knochen u. Sehnen 450.
— Eigenschaften 450.
— Angebliche Rückverwandlung a. Glutin 452.
— Nachw. in Knochen 747, 749.
— Best. in Knochen 751.
— Nachw. im Knorpel 753.
— — im Bindegewebe 753, 754.
— — in Muskeln 758.
— — in Hornhaut 784.
— — im Glaskörper 784.
Colloide nach Graham 4.
Colostrum 719.
— Glycerinphosphorsäure 94.
Conalbumin 400.
— Stickstoffverteilung 401.
Conchiolin 456.
Congopapier z. Nachw. d. freien Salzsäure im Mageninhalt 698.
Conjunctivalsecret, Schwefelcyansäure 190.
Convolvulin 61.
Cornea 784, s. Hornhaut.
Corneamukoid 504, 784.
Cornein 431, 456.
Cornikrystallin 409.
Corpora lutea, Lutein 385.
Crangitin 216.
Crangonin 216.
α-Crotonsäure 80.
— aus Novain 209.
Crusta inflammatoria 669.
Crustaceenblut, Farbstoff v. Halliburton 387.
— Hämocyanin 401.
Cuorin 94, 200.
Cyanhämoglobin 468.
Cyanwasserstoffbildung aus Lysin 259.
— aus Adenin 83.
— bei der Zersetzung des Eiweiss. 390.
— bei Veraschung unter Sodazusatz 541.
Cyclocholesterin 316.
Cyclopterin 443.
Cyprinin 440, 443.
Cyprinin-α, Gehalt an Aminosäuren 518.
Cystein 245, 246.
— Isaethionsäure, 245.
Cysteinsäure 250.
Cystenflüssigkeit, s. Untersuchung seröser Flüssigkeiten 642.
— Cholesterine 311.
— Bilirubin 368.
Cystin 246.
— Darstellung durch Synthese 246.
— — aus Haaren oder Horn 247.
— — aus Cystinsteinen od. Sedimenten 247.
— Eigenschaften 247.
— — optische 249.
— Nachweis 250.
— Oxydationen und Reductionen 250.
— Verbindungen 248.
— Vorkommen 246.
— Zersetzungen 247.
— Bildung von Methylmercaptan 89.
— — von Aethylsulfid 90.
— — von Taurin 244.
— Bildung von unterschwefliger Säure 48.
— Schwefelbleiprobe im Eiweiss 393.
— Isolier. aus d. hydrolyt. Zersetzungsflüssigkeit der Proteine 247, 515.
— Gehalt einiger Proteine an 518.
— Isolierung aus Harn 625.
— Best. im Harn 627.
— Nachweis in Harnstein 637, 639.
Cystinsteine im Harn 634.
Cytosin 162, 164.
— Darstellung aus Thymonucleinsäure 165.
— — aus Störtestikel 165.
— Eigenschaften 166.
— Umwandlungen 166.
— Nachweis 166.
— Reaction von Wheeler u. Johnson 167.
— Isolierung aus autolysierten Organen 778.

D.

Darminhalt, Bestandteile, Untersuchung 734.
Darmsaft 705.
Darmschleimhaut, Erepsin, Prüfung der Wirksamkeit 529, 705.
— Arginase 534.
— Nuclease 534.
Defibriniertes Blut 668.
Dehydrocholeinsäure 325.
Dehydrocholon 323, 324.
Dehydrocholsäure 322, 323.
Dekantieren 7.
Denigès-Probe auf Harnsäure 173.
— auf Tyrosin 288.
Dermoidcyste 731.
Desaminoproteine 431.
Desaminoproton 444.
Desaminoprotsäure 430.
Descemet'sche Haut, Membranin 784.
Desoxycholsäure 322, 326, 327.
— Unterschied von Cholsäure 327.
— Beziehung zur Choleinsäure 328.
Destillieren 2.
Deuteroalbumosen 415, 417, 419.
Deuteroclastose 449.
Deuterokeratinose 446.
Deuterospongiose 457.
Dextran, tierisches 125.

Dextrine 124.
— Nachw. u. Best. in Fäces 739, 745.
— Vork. in Muskeln 756.
Dextrit 125.
Dextrose 104.
s. Traubenzucker.
Diacetylglukosamin 139.
Diaethylamin 204, 217.
— Isolierung aus Fäulnisgemisch 222.
Diaethylendiamin 210.
s. Spermin.
Diaethylmethylsulfiniumbase 90.
Dialysieren 3, 5.
— Schilfschlauch 5.
Diamidsulfat, Allantoinausscheidung 150.
Diamine, Isolierung aus autolysiert. Organen 778.
α-, ε-Diaminocapronsäure 257.
s. Lysin.
Diaminomonophosphatide 201, 202.
Diaminosäuren 253.
— Isolierung von D. u. Monaminosäuren aus der hydrolyt. Zersetzungsflüssigkeit der Proteine 507, 516.
— Gehalt einiger Proteine an D. 518.
— $C_2H_6N_2O_2$ von Drechsel 253.
Diaminosäurenstickstoff, Bestimmung 520.
Diaminotrioxydodekansäure 252.
— Isolierung aus d. hydrolyt. Zersetzungsflüssigkeit des Caseins 515.
— Gehalt des Caseins an D. 390, 518.
α-, δ-Diaminovaleriansäure 253.
s. Ornithin.
Diastatisches Ferment 531.
— Nachw. im Harn 628.
— — im Speichel 691.
— — im Pancreassaft 704, 705.
— — im Darmsaft 705.
— — in Galle 707.
— — in Fäces 736.
Diazobenzolsulfosäure, Herstellung als Diazoreagens nach Pauly 393.
Diazoreaction 164, 176, 178, 180, 183, 262, 311, 370, 380, 393.
Dibenzoyllysin 257.
Dibenzoylornithin, Ornithursäure 276.
Dibromstearinsäure 67.
Dihydrocholesterin 316.
Dihydrodimethylpyridin 217.
3-5-Dijod-dl-Tyrosin 290.
s. Jodgorgosäure.
Diketopiperazine 425.
Dimethylamine 203, 217.
Dimethylaminobenzaldehyd 392, s. Ehrlichs Aldehydprobe.
Dimethylaminobenzoeglukuronsäure 344.
Dimethylguanidin 155, 156.
— Isolierung a. Harn 632.
1, 7-Dimethylxanthin s. Paraxanthin 184.
Dioxydiaminokorksäure 253.
Dioxymethylenkreatinin 157.
2, 5-Dioxyphenylessigsäure 290.
s. Homogentisinsäure.
2, 5-Dioxyphenylmilchsäure 293.
(Uroleucinsäure).
2, 6-Dioxypurin 174.
s. Xanthin.
2, 6-Dioxypyrimidin 167.
Dioxystearinsäure 67.
Dipeptidanhydride 425.
— Auftreten bei vollständiger Säurehydrolyse 425.
— Darstellung aus stark hydrolysierter Caseinflüssigkeit 426.
Dipeptid a. Phenylalanin u. Tryptophan (?) 427.
Disaccharide 114.
Distearyllecithin 194, 196.
Dorschfleisch, Kreatinin 158.
Dorschleberöl, Myristinsäure 63.
Drechsel's Diaminosäure 253.
Drehung, Untersuchung der specifischen 29.
Drüsensecret v. Tritonium nodosum, Asparaginsäure 240.
Drüsige Organe 777.
Dünndarminhalt 734.
Dyslysin 321.

E.

Echinokokkenflüssigkeit s. Untersuch. seröser Flüssigkeiten 644.
— Inosit 271.
Ehrlich's Aldehydprobe 138, 140, 294, 296, 298, 302, 345, 356, 363, 366, 380, 392, 393, 497.
— in Fäces 738, 740.
Eidotter, Glycerinphosphorsäure 94.
— Lutein 385.
Eieralbumin, Glukosamin 134.
Eigelblecithin, Linolsäure 67.
— Triaminomonophosphatid 202.
Eihäute, Substanz der E. von Hühnereiern 447.
— — Gehalt an Aminosäuren 519.
— Substanz der Eihäute von Scyllium stellare 447.
— — Gehalt an Aminosäuren 519.
— Substanz d. Eihäute v. Testudo graeca 447.
— — Gehalt an Aminosäuren 519.
Eikosylalkohol 92.
— Isolierung a. Talgdrüsen u. ähnlichen Secreten 732.
Eisen, Vorkommen, Eigenschaften 40.
— Ferriionennachw. 41.
— Nachw. in organischen Stoffen 54.
— — in Aschen 543.
— Best. in Aschen 546.
— — Jodometrisch nach A. Neumann 546.
— — Oxydimetrisch 548.
— — Gewichtsanalytisch 549.
— Nachw. u. Best. im Harn 567, 571.
— — — in Sputis 696.
— — — in Galle 707, 713.
— — — in Milch 722.
— — — in Fäces 737, 743.

Eisen, Nachw. u. Best. in Muskeln und Organen 756, 766.
Eisenablagerungen 385.
Eisenoxyd, Nachw. in Sputis 696.
Eisenphosphat 642.
— Nachw. u. Best. in Harnsteinen 640.
— — in Galle 713.
— — in Knochen 750.
Eiter, allgemeine Eigenschaften 688.
— Bestandteile 688.
— Trenn. v. Eiterserum u. Körperchen 688.
— Nachw. im Harn 633.
— Fettsäuren 63 ff.
— Bernsteinsäure 82.
— Glutarsäure 84.
— Glycerinphosphorsäure 94.
— Leucin 233.
Eiterkörperchen, Cerebrosid 351.
Eiweissstoffe 388.
— Uebersicht 388.
— Native 389.
— Zusammensetzung und allg. Eigenschaften 389.
— Zersetzungen 390.
— Nachw. 390.
— Fällungsreactionen 391.
— Farbenreactionen 391.
— einzelne native Eiweissstoffe 394.
— Umwandlungsproducte der nativen Eiweissstoffe 389, 411.
— Intermediäre Spaltungsproducte und ihre Umwandlungsproducte 389, 413.
— Coagulierte 411.
— Oxydierte 430.
— Halogensubstituierte 431.
— Nitrosubstituierte 431.
— Desamidierte 431.
— Abscheidung aus Flüssigkeiten 393.
— Entfernung aus Harn 566.
— — zur Ammoniakbestimmung 576.
— Nachw. im Harn 620, 621.
— Best. im Harn 622.
— — nach Scherer 622.
— — nach Devoto 623.
— — annähernde 623.
— — nach Roberts-Stolnikow 623.
— — nach Tsuschija 624.
— — d. coagulierbaren in serös. Flüssigkeiten 648—651.
— Entfernung zur Zuckerbest. 655.
— Optische Drehung im Harn 604.
— Einwirkung von Harnstoff 413.
— — von organischen Basen 413.
Eiweisskörper aus glatten Muskeln 402, 404.
— von Bence-Jones 410.
— Gehalt an Aminosäuren 518.
Elaidinsäure 67.
Elektrolyse, Nachw. von Kupfer und Blei 43.
Ellagsäure 746.
Elastin 448, 449.
— Gehalt an Aminosäuren 519.
Elastinpepton 449.
Elastisches Gewebe, Chondroitinschwefelsäure 344.
Elastosen 449.
Elemente, Atomgewichte 788.
Empirische Lösungen 12.
Emulsin 343.
— Milchzucker 118.
— Spaltung v. gepaarter Glukuronsäure 343.
Enchondrom, Chondroitinschwefelsäure 344.
Enterokinase 527.
— im Darmsaft 705.
Enzyme (Fermente) 521.
Epidermis s. Haut.
Epidermisschuppen, Cholesterinester 318.
Epiguanin 168, 183, **186**, 188.
— Darstellung aus Harn 188.
— Trennung von Adenin, Hypoxanthin u. Paraxanthin 189.
Epinephrin 270.
Episarkin 183, **186**.
Epizuckersäure 484.
Erdalkalimetalle 38.
Erepsin 529.
— Prüfung der Wirksamkeit 529.
— im Darmsaft 705.
— Verhalten zu Polypeptiden 424.
— — zu Protaminen 441, 444.
— — zu Koilin 448.
— — zu Amyloid 506.
Erucasäure 67.
Erythrodextrin 125.
Erythronsäure 107.
Essigsäure **57**, 60.
— aus Eiweiss durch Zersetzung 390.
— Verhalten d. Harns zu E. 600.
Estermethode von E. Fischer 508.
— Abtrennung des Melanin 508.
— Herstellung der Esterchlorhydrate 508.
— Darstellung der Ester aus den Esterchlorhydraten 509.
— Verbesserung der Ausbeute 509.
— Fractionierte Destillation d. Ester 510.
— Untersuchung der Fractionen (I) 510, (II) 511, (III) 512, (IV) 512.
— — des Destillationsrückstandes 513.
— — des von Aminosäuren durch Aussäthern möglichst befreiten Rückstandes 514.
Esterzahl 101.
Euglobulin 406.
— Best. in serösen Flüssigkeiten 650.
Euxanthinsäure 131, 342, 344.
Euxanthon 131.
Euxanthonglukuronsäure 131.
Excremente, s. Fäces 735.
Excretin 316.
Exsiccator 8.
Exspirationsluft, Aceton 86.
Exsudate, Untersuchung s. seröse Flüssigkeit 642.
— Fibrinogen 404.
— pleurit. (Serosamucin) 499.
Extractivstoffe, Best. des Stickstoffs der E. in der Milch 730.
Extrahieren 3.

F.

Fäces, Bestandteile 735.
— allgemeine Eigenschaften 736.
— Nachw. von anorganischen Salzen 737.
— — von Proteinstoffen 737.
— — von Nucleinbasen 737.
— — von Taurin 737.
— — von flüchtigen Fettsäuren 738.
— — von höheren Fettsäuren 739.
— — von Phenolen 738.
— — von Indol, Skatol 738.
— — von Koprosterin, Cholesterin 739.
— — von Fett 739.
— — von Zucker 739.
— — von Amylum, Dextrin 739.
— — von Cellulose 739.
— — von aromatischen Oxysäuren 739.
— — von Gallensäuren 739.
— — von Urobilin 740.
— — von Urobilinogen 740.
— — von Bilirubin 741.
— — von Blutfarbstoff 737, 741.
— — von Chlorophyllan 742.
— — von Milchsäure 742.
— — von Leucin, Tyrosin 742.
— — von Phosphatiden 742.
— — von Cadaverin, Putrescin 742.
— — von Ammoniak 743.
— — von Schwefelwasserstoff 743.
— Herstellung lufttrockner F. 743.
— Best. des Trockenrückstandes 743.
— — des Gesamtstickstoffs 743, 560.
— — der einzel. Aschenbestandteile 743.
— — des Nucleinbasenstickstoffs 743.
— — des Fettes, Fettsäuren 745.
— — des Amylum (+ Dextrin) 745.
— — der Cellulose 746.
— Darmconcremente, Darmsteine 746.
— Meconium 746.
— Isolierung v. Putrescin u. Cadaverin 211.
Fällungsanalyse 15.
Faltenfilter 6.
Fäulnisgemisch, Untersuchung 221 ff., 306.
Fäulnisproducte, Isolierung nach E. und H. Salkowski (ohne Berücksichtigung der Ptomaine) 306.
— Isolierung von Putrescin und Cadaverin 211.
— — von Ptomainen 221 ff.
Farbstoffe 383.
— aus Crustaceenblut 387.
— aus Fischbeinen 383.
— aus Haar 383.
— aus Horn 383.
— aus Pigmentzellen 383.
— aus Rete Malpighi 383.
— roter aus Haliotis refuscens 374.
— grüner aus Haliotis californiensis 374.
— zu d. Melaninen gehörig, aus Harn 383.
— Tetronerythrin ähnlicher a. Schwämmen 387.
— rote der Vanessen 470.
— Farbstoffgruppen d. Blutfarbstoffe 352.
Farbstoffe, Gallenfarbstoffe 368.
— Harnfarbstoffe 376.
— — Nachw. 628.
— braune und schwarze Pigmente 383.
— Lipochrome 385.
— Sehpurpur 387.
— Turacin 387.
— Pyocyanin 387.
— Blutfarbstoffe 458.
— in den Fäces 740.
— durch Bakterien in Sputis 696.
— Untersuchung mit dem Spectralapparate 22.
Federn, Kieselsäure 50.
— Cholesterinester 318.
— Pigment 383.
— Keratin 445.
Fehling's Probe (Trommer's Probe) 94, 104, **110**, 113, 128, 132, 135, 136, 137, 187, 268, 291, 343, 344.
— Titration mit Fehl. Lösung im Harn 605.
— Herstellung 606.
— Genaue Titration 607.
— Titration bei sehr geringem Zuckergehalt 607.
Fellinsäure 327.
Fermente 521.
— Allgemeine Eigenschaften 521.
— Pepsin 521.
— Trypsin 527.
— Erepsin 529.
— Protolytische F. 529.
— Labferment 530.
— Diastatisches F. 531.
— Invertase, Maltase, Lactase 532.
— Lipase 533.
— Arginase 534.
— Nuclease 534.
— auf Purinbasen wirkende 535.
— uricolytisches F. 173, 535.
— oxydierende F. 536.
— Vorkommen im Serum 643.
— — in roten Blutkörperchen 670.
— — in Blutplättchen 672.
— — im Eiter 688.
— — in Galle 707.
— Nachw. im Harn 628.
— — im Speichel 691.
— — im Mageninhalt 702.
— — im Pancreassaft 704.
— — im Darmsaft 705.
Ferratin 475.
Ferriphosphat, s. Eisenphosphat.
Ferrocyanwasserstoff, Eiweissprobe 391.
Fett, Abtrennung 3.
— Isolierung aus Geweben u. Flüssigkeiten 97.
— Abtrennung von Fettsäuren, Phosphatiden 97.
— Isolierung von Cholesterin aus verseiftem 785.
— Säurezahl 100.
— Verseifungszahl 101.
— Köttstorfer'sche Zahl 101.

Fett, Esterzahl 101.
— Hehner'sche Zahl 101.
— Reichert-Meissl'sche Zahl 101.
— Hübl'sche Jodzahl 102.
— Verseifung 103.
— Nachw. im Harn 620.
— Nachw. u. Best. in serösen Flüssigkeiten 644, 660, 662.
— — im Eiter 688.
— — in Sputis 695.
— — im Pancreassaft 704.
— — in Galle 710, 713.
— — im Schweiss 717.
— — in Milch 721 ff.
— — — nach Soxhlet 727, Tabelle 794.
— — in Fäces 739, 745.
— — in Knochen 748.
— Best. in Muskeln u. anderen Organen 770, 776.
Fettconcremente im Harn 635.
Fettgemenge, Untersuchung (auf seine Bestandteile) 100.
Fettgewebe, Lutein 385.
Fettsäuren 55.
— gesättigte, Vorkommen u. allgemeine Eigenschaften 55.
— ungesättigte 66.
— Trennung von Butter-, Capron-, Caprylu. Caprinsäure 62.
— Trennung von Palmitin-, Stearin- und anderen gesättigten höheren F. 71.
— Abscheidung u. Trennung der niederen F. 68.
— Abscheidung u. Trennung der höheren F. 70.
— Trennung der ungesättigten F. aus einem Fettsäuregemisch 73.
— Trennung von Fett 97.
— Trennung der bei gewöhnlicher Temperatur festen von den flüssig. F. 103 (Fussnote).
— Isolierung aus verseiften Fetten 103.
— — aus Fäulnisgemisch 308.
— Nachw. im Eiter 688.
— — im Sputum 695.
— — im Schweiss 717.
— — u. Best. im Harn 594.
— — — im Mageninhalt 698, 699.
— — — in Galle 714.
— — — in Fäces 738, 739, 745.
— — — in Muskeln u. anderen Organen 758, 770.
Fibrin 411.
— Nachw. in serös. Flüssigk. u. Blut 646, 673.
— Best. des Gehaltes im Blut od. Plasma 680.
Fibringlobulin 403, 405.
— Berichtigung 785.
— Verunreinigung mit Fibrinogen 404.
— in serös. Flüssigk. 646.
Fibrinogen 403. 404.
— Verunreinig. mit Fibringlobulin 404.
— Gehalt an Aminosäuren 518.
Fibrinogen, Nachw. u. Best. in serösen Flüssigkeiten 646, 647, 648, 650.
Fibrinoplastische Substanz 406.
s. Serumglobulin.
Fibrinokyrin 424.
Fibroin 455.
— Gehalt an Aminosäuren 519.
Fichtenspahnreaction 84, 249, 264, 295, 296, 303, 310, 373, 377, s. auch Pyrrolreaction.
Filterplatten nach Witt 6.
Filtrieren 5.
Fischbein, Pigment 383.
— Keratin 445.
Fischblase, Guanin 177.
Fischeierschalen, Elastin 448.
Fischfett, Säuren 68.
Fischschuppen, Guanin 176.
— Ichthylepidin 449.
— Collagen 449.
Fleisch, Fleischextract, Alanin 230.
— Krimberg's Base 216.
— Carnin 187.
— Carnitin 208.
— Carnosin 214.
— Glutaminsäure 242.
— Ignotin 215.
— Methylguanidin 155.
— d-Milchsäure 74.
— Neosin 209.
— Neurin 206.
— Novain 208.
— Taurin 244.
— Vitiatin 156.
Fleischextract, Isolierung von Kreatin, Kreatinin, Nucleinbasen, Milchsäure, Taurin, Inosit 761.
Fleischmilchsäure 74.
s. Milchsäure.
Fleischsäure 421.
Fliegenpilz, Muscarin 207.
Fluorescenz, Untersuchung 34.
— -Reaction auf Gallensäuren 323.
Fluornatrium, Aufhebung d. Gerinnung 668.
Fluorwasserstoff, Vorkommen, Eigenschaften, Nachw. 45.
— Nachw. u. Best. in Knochen u. Zähnen 741, 748.
Formaldehyd aus Glykocoll 229.
Frauenmilch, Gerinnung 721.
Fraunhofer'sche Linien 23.
Fruchtzucker, Vorkommen 112.
— Verbindungen 112.
— Optische Eigenschaften 112.
— Nachweis 112.
— Nachw. im Harn 612.
— Unterscheidung von Trauben- u. Milchzucker 112, 613.
— Ammoniakderivate 135.
Fruchtwasser 112.
Fructose 112.
s. Fruchtzucker.
Fumarsäure bei d. Zersetzung des Eiweisses 390.

Furfurol aus Eiweiss durch Zersetzung 390.
Furfurolprobe 108, 148, 272.

G.

Gadinin 218.
Gadoleinsäure 67.
Gadushiston 435.
— Gehalt an Aminosäuren 518.
Gärungsmilchsäure 74.
Gärungsprobe 109.
— Traubenzuckernachw. im Harn 603.
— Traubenzuckerbest. i. Harn m. d. volumetrischen Messung der Kohlensäure 611.
— durch Abnahme d. spec. Gew. 611.
— Best. d. Kohlensäure als Gewichtsverlust 612.
Galactosamin 137.
d-Galactose 113, 114.
— Trennung von Traubenzucker 113.
— aus Cerebrosiden 348, 349, 351.
— Best. im Gehirn 782.
Galactosazon 113.
Galle, normale Bestandteile 706.
— patholog. Bestandteile 708.
— Verhalten zu Alkohol 708.
— — zu Salzen 708.
— — zu Säuren u. Alkalien 708.
— Fäulnis 709.
— Nachw. anorganisch. Bestandteile 709.
— — von Gallenschleim 710.
— — von Gallensäuren 710.
— — von Cholesterin, Phosphatiden, Fett 710.
— — von Harnstoff 711.
— — von Gallenfarbstoff 711.
— — von Urobilin 711.
— — von Eiweiss 711.
— — von Zucker 712.
— — von Aminosäuren 712.
— — von Blut 712.
— Best. des Trockenrückstandes 712.
— — des Gesammtstickstoffs 712.
— — des Ammoniaks 712.
— — einzelner Aschenbestandteile 712.
— Quantitative Analyse 712, 715.
— Gehalt an Essigsäure 58.
— — an Propionsäure 58.
— — an Myristinsäure 63.
— — an Oelsäure 66.
— — an Milchsäure 74.
— Nachw. im Mageninhalt 703.
— Krystallierte G. von Plattner 330.
Gallenblase, Oxalsäure 81.
Gallenfarbstoffe 368.
— Harnfarbe 565.
— Nachw. im Harn 628, 629.
— — in serös. Flüssigk. 643, 661.
— — im Speichel 690.
— — im Mageninhalt 703.
— — in d. Galle 707, 711.
Gallennucleoalbumin 496.
Gallensäuren 320.
Gallensäuren, gepaarte 329, 330.
— Farbenreactionen d. Cholesterine 315.
— hämolytische Wirkung 667.
— Trennung von Phosphatiden 715.
— Nachw. u. annähernde Bestimmung im Harn 632.
— — in serös. Flüssigkeiten 643, 661.
— — im Mageninhalt 703.
— — in Fäces 736, 739.
— — u. Best. in Galle 706, 710, 712, 714.
Gallenschleim, Nachw. u. Best. in d. Galle 706, 710, 713.
Gallensedimente 715.
Gallensteine 715.
— Qualitative Untersuchung 716.
— Quantitative Untersuchung 716.
— Stearinsaurer Kalk 63.
Gallussäure 293.
Gallois' Probe, Inosit 273.
Gehirn 779.
— Bestandteile 779.
— Isolierung u. Nachw. d. anorganischen Salze 780.
— — — d. Eiweissstoffe 780.
— — — d. Nucleoproteide 780.
— — — d. Milchsäure 74, 781.
— — — d. Harnstoffs 144, 781.
— — — d. Harnsäure 781.
— — — d. Kreatin 781.
— — — d. Inosit 781.
— — — d. Cholin 204, 781.
— — — d. Protagon 346, 781.
— — — d. Cerebroside 199, 781.
— — — d. Cholesterin 311, 781.
— — — d. Lecithin 201, 781.
— — — d. Kephalin 198, 781.
— — d. Neurokeratin 446, 781.
— Best. d. Trockenrückstandes 781.
— — d. Gesamtstickstoffes, einzelner anorganischer Bestandteile 781, 782.
— — d. Cholesterin 782.
— — d. Lecithin, Kephalin 782.
— — d. Neurokeratin 782.
— — d. Galactose 782.
— Gehalt an Alkohol 90.
— — an Glycerinphosphorsäure 94.
— — an Thymin 162.
— — an Cytosin 164.
Gelatinpepton 452.
Gelatose 452.
Gepaarte Gallensäuren 329, 330.
— Glukuronsäuren 342.
Gerhardt's Probe auf Acetessigsäure 616.
Gerinnung von Fibrinogenlösung 405.
— von Blut 667.
— von Milch 720.
Gewicht, Best. d. spec. G. von Flüssigk. 18.
— von Blut 665.
Gewichtsanalyse 9.
Gewichtskonstanz 8.
Glaskörper 784.
— Harnstoff 144.
Glaswollefilter 5.

Globin 437.
— Stickstoffverteilung 438.
— Gehalt an Aminosäuren 518.
Globinokyrin 424.
Globuline, Allgemeine Eigenschaften, Unterschied von d. Albuminen 402 ff.
— Einzelne G. 403.
— Pflanzliche G. 403.
— Unterschied gegen tierische 403.
— d. Krystallinse 402, 409.
— a. glatten Muskeln u. aus Wirbellosen 404.
— Krystallisierendes aus Harn 408.
— Nachw. u. Best. im Harn 622, 623.
— — in serösen Flüssigkeiten 647, 649.
— — in Milch 721.
— Best. in Milch 723, 725.
Glühen 8.
Glukoheptosazon 104.
Glukoproteide 497, 498. 499.
— Nachw. in serös. Flüssigkeiten 646.
— — im Speichel 691.
— — in Galle 710.
— — im Knorpel 752.
— — im Bindegewebe 754.
Glukosamin, Vorkommen 133.
— Darstellung, synthetisch, a. Hummerschalen 134.
— aus Sputum oder Submaxillarmucin 134.
— Eigenschaften 135.
— Verhalten zu Alkalien, Reductionsvermögen 135.
— Verbindungen 135.
— Opt. Eigenschaften 136.
— Oxydationsproducte 136.
— Nachw. 137.
— aus Eiweiss 390.
— aus Conalbumin 401.
— aus Serumglobulin 407.
— aus Ovoglobulin 408.
— aus Glukoproteiden 497.
Glukose 104, s. Traubenzucker.
Glukothionsäure 346.
— aus Tendomukoid 505.
Glukuronsäure 131.
— Synthese u. Darstellung 131.
— Eigenschaften 131.
— Verbindungen 132.
— Nachw. 133.
— Gepaarte Glukuronsäuren 342, 344.
— — Nachw. u. Best. im Harn 615.
— — Vorkommen im Blutplasma 643.
— — — in Galle 707.
Glutaminsäure 242.
— Vorkommen 242.
— Darstellung 242.
— — d. optischen activen G. 242.
— Eigenschaften 242.
— — optische 243.
— Nachw. 243.
— Umwandlungen 243.
— Verbindungen 242, 243.
Glutaminsäure, Isolierung a. d. hydrolyt. Zersetzungsflüssigkeit der Proteine 508, 512, 514.
— Gehalt einiger Proteine an G. 518.
Glutarsäure 84.
— aus Lysin 259.
Gluteine 452.
Glutin 449.
— Bildung aus Collagen 450.
— Gelatinierung 450.
— Reinigung von käuflichem Leim 450.
— Zusammensetzung 451.
— Eigenschaften 451.
— Rückverwandlung, angebl. in Collagen 452.
— Hydrolyse 452.
— Verdauung 452.
— Zersetzung, bacterielle 453.
— Oxydation 453.
— Gehalt an Aminosäuren 519.
— Nachw. in Knochen 749.
— — in Knorpel 753.
— — in Bindegewebe 754.
— — in Muskeln 758.
Glutinpepton 452.
Glutolin 407.
Glutokyrin 423.
Glutose 452.
Glycerin 93.
— Isolierung aus verseiften Fetten 104.
— Best. in serösen Flüssigkeiten 660.
Glycerinphosphorsäure 94.
— Vorkommen 94.
— Constitution 94, 95.
— Darstellung aus Lecithin 95.
— Eigenschaften 95.
— — optische 96.
— Nachw. 96.
— — aus Phosphatiden 192.
— — aus Lecithin 197.
— — aus Jecorin 199.
— — aus Cuorin 201.
— — aus Diaminomonophosphatiden 202.
Glycerinsäure aus Serin 252.
Glycin 227.
Glycyl-d-Alaninanhydrid 428.
Glycyl-d-valinanhydrid 429.
Glycyl-l-leucinanhydrid 429.
Glycyl-l-tyrosinanhydrid 428.
Glycylprolinanhydrid 429.
Glykocholeinsäure 332.
— Darstellung aus Rindergalle 329.
— Trennung von Glykocholsäure 330.
Glykocholsäure 329.
s. auch Gallensäuren.
— Vorkommen 329.
— Darstellung 329.
— — aus Rindergalle 329.
— Isolierung aus Flüssigkeiten 331.
— Eigenschaften 331.
— Salze 331.
— Optische Eigenschaften 331.
— Spaltung 332.
— Umwandlung 332.

Glykocholsäure, Nachweis 332.
— — neben Tauro- u. Cholsäure 335.
Glykocoll 227.
— Vorkommen 227.
— Darstellung aus Hippursäure 227.
— Eigenschaften 227.
— Verbindungen 228.
— Umwandlungen u. Zersetzungen 229.
— Nachweis 229.
— — durch Umwandlung in Hippursäure 229.
— — von Spuren 229.
— Trennung von Aminosäuren 229.
— Isolierung aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteine 508, 510, 511, 512.
— Abscheidung als Esterchlorhydrat 508.
— Gehalt einiger Proteine an G. 518.
— im Muskel 756.
Glykogen 119.
— Vorkommen 119.
— Darstellung reinen G. 120.
— — nach Brücke 121.
— Eigenschaften 122.
— Fällungsmittel 122.
— Verhalten zu Jod 123.
— — zu Alkalien, Säuren u. Fermenten 123.
— Oxydationen 123.
— Optische Eigenschaften 123.
— Nachweis 123.
— Umwandlung in Zucker 772.
— Spaltung durch diastat. Ferment 532.
— Nachw. in weissen Blutkörperchen 673.
— — im Eiter 688.
— — im Knorpel 753.
— Best. in Muskeln u. Organen 771.
Glykogenartiger Körper Schmiedeberg's 124.
Glykohyocholsäure 337.
Glykolsäure aus Glukose 107.
— aus Glykocoll 229.
Glykolyldiharnstoff 150.
Glyoxylsäure aus Kreatin 157.
— aus Glykocoll 229.
Glyoxylsäurereaction (Adamkiewicz) 295, 296, 302, 303, 392.
Glyoxylsäurelösung, Reagens 786.
Gmelin's Probe (Bilirubin) 372.
— Roter Vanessenfarbstoff 470.
— Ausführung im Harn 629.
Goochtiegel 10.
Gorgonidenachsenskelett, Jodgorgosäure 290.
Gorgonin 456.
— Cornein 456.
Greifswalder Ochsengalle 330.
Guanase 535.
Guanidin 153.
— bei der Oxydation des Eiweiss 390.
— Isol. aus autolysierten Organen 778.
Guanidin-α-Aminovaleriansäure 254, s. Arginin.
Guanin 168, 174, 176.
— Darstellung 177.
— — aus Guano 177.
Guanin, Eigenschaften 177.
— Verbindungen 177.
— Umwandlungen 178.
— Nachw. 178.
— aus Thymonucleinsäure 483.
— aus Guanylsäure 485.
— u. Adenin, quantitative Gewinnung aus Nucleinsäure 487.
— Best. in Muskeln u. anderen Organen 768.
— Methylderivate 183.
Guano, Harnsäure 169.
— Guanin 176.
Guanogallensäure 337.
Guanylsäure 471, 478, 485.
Guajakharzprobe für Blutnachweis im Harn 630.
— in Fäces 741.
Gummi, tierisches 137, 138.
— aus Glukoproteiden 498.
— Galactosegehalt 113.
Gunning'sche Probe auf Aceton 86.
Gynesin 216.
— Isolierung aus Harn 632.

H.

Haare, Cholesterinester 318.
— Pigment 383.
— Keratin 445.
Hämatin 353.
— Vorkommen 353.
— Darstellung aus Oxyhämoglobin 354.
— — aus Hämin 354.
— Zusammensetzung 354.
— Eigenschaften 355.
— Spectrum 355.
— Veränderung des Spectrums durch Reductionsmittel und Cyankalium 356.
— Umwandlungen 356.
— Nachw. 356.
— Beziehung zum Hämin 360.
— aus Oxyhämoglobin 461.
— Trennung von Hämoglobin und Oxyhämoglobin 464.
— aus Kohlenoxydhämoglobin 465.
— Unterschied spectroskopischer gegen Methämoglobin 468.
— Nachw. in serös. Flüssigk. 661.
— — im Mageninhalt 703.
— — in Galle 712.
— — In Fäces 741.
— reduciertes, s. Hämochromogen.
Hämatinsäure aus Hämatin 356.
— aus Hämatoporphyrin 363.
— aus Bilirubin 366.
— Imid der 3 basischen 366.
— — der 2 basischen 367, 368.
— Anhydrid der 3 basischen 367.
Hämatinsalzsäureester 356, s. Hämin.
Hämatogen 493.
Hämatoidinkrystalle 368.
— Nachw. in Sputis 696.

Hämatoporphyrin 352, 356, 361.
— Entstehung 361.
— Vorkommen 361.
— Darstellung 361.
— Zusammensetzung u. Eigenschaften 362.
— Spectrum 362.
— Umwandlungen 363.
— Aehnlichkeit mit Bilirubin 363.
— Hämatoporphyrine anderer Zusammensetzung 364.
— Nachw. 364.
— aus Hämoglobin 462.
— Trennung von Hämoglobin u. Oxyhämoglobin 464.
— Nachw. im Harn 631.
— Aehnlichkeit mit Farbstoff aus Turacin 387.
Hämin 356.
— Darstellung 356.
— Einheitlichkeit u. Zusammensetz. 359.
— Beziehungen zum Hämatin 360.
— Eigenschaften 360.
— Reductionsproducte 361.
— Umkrystallisieren 358.
— aus Oxyhämoglobin 461.
Häminprobe, Teichmann'sche 674.
Hämochromogen, Vorkommen, Darstellung 352.
— Spectrum 353.
— Umwandlung 353.
— aus Hämatoporphyrin 363.
— aus Hämoglobin 458, 462.
— aus Kohlenoxydhämoglobin 465.
Hämocyanin 387, 401.
Hämoglobin 458, 462.
— Darstellung 462.
— Eigenschaften 462.
— Spaltungen 462.
— Beziehung zum Oxyhämoglobin 462.
— Spectroskopisches Verhalten 462, 463.
— Nachw. 464.
— Trennung (mit Oxyhämoglobin) von Methämoglobin, Hämatin, Hämatoporphyrin 464.
— aus Methämoglobin 468.
— Nachw. in serösen Flüssigkeiten (siehe auch Blutfarbstoffe) 661.
Hämolyse 667.
Hämometer von Sahli 680.
Hämopyrrol aus Hämin 361, 363, 365.
— aus Phyllocyanin 365.
Hämotricarbonsäure 368.
Halbschattenpolarimeter 29.
Halogensubstituierte Eiweissstoffe 431.
Hammarsten's Probe auf Gallenfarbstoff 372.
— Ausführung im Harn 629.
— modificierte Probe 629.
Hanföl, Linolsäure 67.
Harn, Untersuchung 562 ff.
— Allgemeines 562.
— Concentrieren 1, 2.
— — grösserer Mengen zur Veraschung 540.
Harn, Bestandteile 562.
— — normale 563.
— — pathologische 563.
— Geruch 563.
— Menge 563.
— specifisches Gewicht 563.
— Consistenz 563.
— Klarheit 564.
— Nubecula 564.
— Sedimentum lateritium 564.
— Ammoniakalische Gärung 564.
— optische Drehung 564.
— Fluorescenz 564.
— Farbe 565.
— Reaction 565.
— Jonenacidität 566.
— Titrationsacidität 566.
— Best. der Acidität 566.
— Trockenrückstand, Best. des T. im Harn 569.
— Veraschung 540, 568.
— Verhalten zu Essigsäure 600.
— Anorganische Bestandteile:
— Nachw. u. Best. von Ammoniak 575.
— Asche, Best. 568.
— Calcium, Nachw. u. Best. 567, 570, 571.
— Chlor, Best. des Gesamtchlors 572.
— Eisen, Nachw. u. Best. 567, 571.
— Kalium, Nachw. u. Best. 567, 569, 570.
— Magnesium, Nachw. u. Best. 567, 570.
— Natrium, Nachw. u. Best. 567, 569.
— Phosphorsäure, Nachw. u. Best. 567, 574.
— Salpetersäure, Nachw. u. Best. 568, 575.
— Salpetrige Säure, Nachw. 568.
— Salzsäure, Nachw. u. Best. 567, 571.
— — Titration nach Mohr 571.
— — — nach Volhard 571.
— Schwefelsäure, Nachw. u. Best. 567, 573.
— Best. d. Gesamtschwefels 573.
— Wasserstoffsuperoxyd, Nachw. 568.
— Organische Bestandteile:
— Nachw. u. Best. von Aceton 616.
— — — von Acetessigsäure 616.
— Adenin, Isolierung aus Harn 188.
— Aetherschwefelsäure, Nachw. u. Best. 567, 573, 595.
— Aethylsulfid, Isolierung aus Hundeharn 89.
— Alanin 230, 625.
— Albumosen, Nachw. 624.
— Allantoin, Isolierung u. Best. 151.
— Ameisensäure 56.
— Aminosäuren, Nachw. 625.
— — Isolier. a. β-Naphthalinsulfoverbind. 626.
— — — als Ester 627.
— — Best. nach Krüger-Schmid 627.
— Arabinose 613, 614.
— aromatische Oxysäuren 595.
— — Schwefelsäuren 567, 573, 595.
— Bence-Jones'scher Eiweisskörper, Isolierung 410.
— Benzoesäure, Nachw. u. Best. 273, 599.
— Bernsteinsäure, Isolierung 82.

Harn, Betain 207.
— Blut, Nachw. 630.
— Blutfarbstoffe, Nachw. 630.
— Brenzcatechin, Nachw. u. Best. 597.
— — Darstellung 267.
— Buttersäure 59.
— Cadaverin, Isolierung 211, 631.
— Cholesterin 311.
— Cholsäure 320.
— Chondroitinschwefelsäure, Nachw. und Best. 600.
— Cystin, Isolierung u. Best. 625—627.
— Diastat. Ferment, Nachw. 628.
— Dimethylguanidin, Isolierung 632.
— Eiter, Nachw. 633.
— Eiweiss, Nachw. u. Best. 620, 622.
— — Annähernde Best. 623.
— Epiguanin, Darstellung 188.
— Farbstoffe, Nachw. 628.
— Fermente, Nachw. 628.
— Fett, Nachw. 620.
— Fettsäuren, Nach. u. Best. 594.
— Fruchtzucker, Nachw. 612.
— Gallenfarbstoff, Nachw, 628.
— Gallensäuren, Isolierung 334.
— — Nachw. u. Best. 632.
— Globulin, Best. 623.
— — krystallisiertes 408.
— Glukuronsäure, gepaarte, Nachw. 615.
— Glycerinphosphorsäure 94.
— Glykokoll, Isolierung 626, 627.
— Gynesin, Isolierung 632.
— Hämatoporphyrin, Nachw. 631.
— Harnsäure, Nachw. u. Best. 587, 590.
— Harnstoff, Nachw. u. Best. 581.
— Heteroxanthin, Darstellung 188.
— Hippursäure, Nachw. u. Best. 599.
— Histidin u. Homologe, Isolierung 632.
— Homogentisinsäure, Nachw. u. Best. 633.
— Hydrochinon, Darstellung 267.
— Hydro-p-Cumarsäure, Isolierung 283, Nachw. 600.
— Hypoxanthin, Darstellung 188.
— Indirubin 305.
— Indol-Pr.-3-Essigsäure 297.
— Indoxylschwefelsäure, Darstellung 341, Nachw. 597.
— Inosit, Nachw. 600.
— Isomaltose 116.
— Kohlehydrate, Best. 615.
— Kreatinin, Nachw. u. Best. 585.
— — Darstellung 158.
— Kresol, Nachw. u. Best. 595.
— Kynurensäure, Nachw. u. Best. 601.
— Leucin, Isolierung 625.
— Melanine, Vork. 383, 565.
— Methylguanidin, Isolierung 632.
— Methylmercaptan, Vork. 89.
— Methylpyridin, Isolierung 632.
— Methylpyridinammoniumhydroxyd 265. 632.
— Methylxanthin, Darstellung 188.
— Milchsäure, Nachw. u. Best. 620.
— Milchzucker, Nachw. 613.
Harn, Mingin, Isolierung 632.
— Mukoid 503, 564.
— Novain, Isolierung 632.
— Oelsäure, Vork. u. Isolierung 66, 594.
— Ornithursäure 276.
— Oxalsäure, Nachw. u. Best. 594, 595.
— Oxalursäure, Isolierung 149.
— β-Oxybuttersäure, Nachw. u. Best. 619.
— Oxymandelsäure 284.
— p-Oxyphenylessigsäure, Nachw. 600.
— Oxyproteinsäure 432.
— Palmitinsäure, Vork. u. Isolierung 63, 594.
— Paraxanthin, Darstellung 188.
— Pentose, Nachw. u. Best. 613.
— Pepsin, Nachw. 628.
— Phenol, Nachw. u. Best. 595.
— Phenylalanin 279.
— Purinbasen, Darstellung 188.
— — Best. 590, 592.
— Putrescin, Isolierung 211, 212.
— Reductonovain, Isolierung 632.
— Schwefelcyansäure, Nachw. u. Best. 593.
— Serumalbumin, Nachw. u. Best. 622, 623.
— Serumglobulin, Nachw. u. Best. 622, 623.
— Stearinsäure, Vork. u. Isolierung 63, 594.
— Stickstoff nach Kjeldahl 560.
— — nach Liebig-Pflüger 578.
— Taurocarbaminsäure 245.
— Traubenzucker, Nachw. u. Best. 601
— Trimethylamin 203.
— Trypsin, Nachw. 628.
— Tyrosin, Nachw. 625.
— Urobilin, Nachw. 628.
— Urobilinogen 392.
— Urocaninsäure, Darstellung 310.
— Urochrom 376.
— Uroerythrin 381.
— Urofuscohämatin 381.
— Urorosein 382.
— Urorubrohämatin 381.
— Valin 231.
— Vitiatin, Isolierung 632.
— Wasserstoffsuperoxyd, Nachw. 568.
— Xanthin, Darstellung 188.
Harnconcremente, s. Harnsteine 634.
Harnfarbstoffe 376.
— aus Chromogen entstehend 382, 383.
— Nachw. im Harn 628.
Harnindican 341.
— Indoxylschwefelsäure, Darstellung aus Harn 341, Nachw. u. Best. 597.
Harnmukoid 503, 564.
Harnpentose, Arabinose 613.
Harnsäure, Vorkommen 168.
— Darstellung aus Harn 169.
— — aus Guano u. Schlangenexcrementen 169.
— Eigenschaften 170.
— Krystallformen 170.
— Salze 171.

Harn, Verbindung mit Nucleinsäure 172.
— Umwandlungen 172.
— Nachw. 173.
— Best. im Harn 587.
— — nach Salkowski-Ludwig 587.
— — nach Folin-Shaffer 589.
— — nach Hopkins-Wörner 589.
— — nach Krüger-Schmid 590.
— Nachw. in Harnsteinen 637, 640.
— Best. in Harnsteinen 641, 642.
— Nachw. in serösen Flüssigkeiten 654.
— — im Speichel 693.
— Nachw. u. Best. in Muskeln u. anderen Organen 769.
— — im Gehirn 781.
Harnsedimente, s. Harnsteine 634.
Harnsteine 634.
— Allgemeines 634.
— mikroskopische Untersuchung 635.
— — Formen 635.
— Verhalten gegen Reagentien unterm Mikroskop 635.
— Kurze Charakterisierung der in H. vorkommenden Verbindungen 636.
— qualitative Analyse 637.
— quantitative Analyse 641.
Harnstoff, Vorkommen 144.
— Darstellung 145.
— — aus Harn 145.
— Eigenschaften 145.
— Verbindungen 145.
— Zersetzungen 147.
— Nachw. 148.
— Einwirkung a. Eiweiss 413.
— Nachw. im Harn 581.
— Best. im Harn 581.
— — nach Mörner-Sjöqvist 581.
— — nach Pflüger-Bleibtreu 582.
— — nach Hüfner 584.
— Nachw. u. Best. in serös. Flüssigkeit. 651.
— — im Speichel 693.
— — im Mageninhalt 704.
— — in Galle 711.
— — im Schweiss 717.
— — in Muskeln 758.
— — im Gehirn 781.
Haut, Pigment 383.
— Keratin 445.
— Cholesterinester 318.
Hauttalg, Bestandteile u. Untersuchung 731.
Hefeautolyse, Bernsteinsäure 82.
— Leucin 284.
— Isoleucin 238.
Hefenucleinsäure, Cytosin 164.
— Uracil 167.
Hehner'sche Zahl 101.
Helicoproteid 507.
Heller's Probe auf Eiweiss 391.
— — im Harn 621.
— auf Blut im Harn 631.
Hemicollin 452.
Hemielastin 449.
Hemiprotein 412.
Heptadekansäure 65.
Heptose 104.
Heringslake, Monamine 203.
— Cholin 204.
Heringstestikel, Thymin 162.
— Thymindarstellung 163.
— Cytosin 164.
— Histon 436.
— Clupein 442.
Herz, Phosphatid 201.
— Inosit 271.
Heteroalbumose 415, 417, 419.
Heterokeratinose 446.
Heterosponginose 457.
Heteroxanthin 168, 183, 184.
— Darstellung aus Harn 188.
— Trennung von Xanthin u. Methylxanthin 188.
Hexabromstearinsäure 68.
Hexahydrohexaoxybenzole 271.
Hexaoxystearinsäure 68.
Hexonbasen, Isolierung a. d. hydrolyt. Zersetzungsflüssigkeit d. Proteine 514.
— — nach Kossel u. Kutscher 516.
— — aus autolysiert. Organen 778.
— Gehalt einiger Proteine an H. 518, 519.
Hexosen 104.
Hippokoprosterin 316.
Hippomelanin 384.
Hippursäure 228, 274.
— Vorkommen 274.
— Darstellung 275.
— — aus Pferde- oder Rinderharn 275.
— — aus Menschenharn 275.
— Eigenschaften 276.
— Nachw. 276.
— Nachw. im Harn 599.
— Best. im Harn 599.
— — nach Bunge-Schmiedeberg 599.
— — nach Völker 600.
— Vorkommen in serös. Flüssigkeiten 643.
— — im Schweiss 717.
Hirudin, Aufhebung d. Gerinnung 668.
Histidin 259.
— Vorkommen 259.
— Darstellung aus Blut 260.
— Eigenschaften 260.
— Verbindungen 261.
— Umwandlungen 261.
— Opt. Eigenschaften 262.
— Nachw. 262.
— Diazoreaction im Eiweiss 393.
— aus Eiweiss durch Zersetzung 390.
— Gehalt einiger Proteine an H. 518.
— Isolierung aus d. hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit d. Proteine 516.
— — aus Harn 632.
— — aus autolysierten Organen 778.
— Beziehung zu Urocaninsäure 311.
— — zu Carnosin 215.
Histone 388, 434.
— Vorkommen 434.
— Allgemeine Eigenschaften 434.
— Spaltung durch Pepsin 434.

Histone, Hydrolyse 434.
Histon aus roten Blutkörperchen d. Vögel 434.
— aus Nucleohiston 435, 473.
— — Gehalt an Aminosäuren 518.
— aus Quappe 436.
— aus Hering 436.
— nucleinsaures Histon 472.
Histopepton 437.
Holzgummi, l-Xylose 129.
Homocerebrin, Darstellung aus Gehirn 350, 351.
Homogentisinsäure 290.
— Darstellung 291.
— — aus Harn 291.
— Eigenschaften 291.
— Nachw. 292.
— Umwandlungen 292.
— Verbindungen 292.
— Vorkommen 290.
— Nachw. u. Best. im Harn 633.
Hoppe-Seyler's Probe auf Mangan 42.
— — auf Kohlenoxydhämoglobin 465.
Hoppe-Seyler, G., Traubenzuckernachweis im Harn 603.
Horn, Pigment 383.
— Keratin 445.
Hornhaut 784.
Hübl'sche Zahl 102.
Hühnerblut, Harnsäure 168.
Hühnereier, Eihautprotein 447.
Hühnereiweiss, Ovalbumin 398.
— Conalbumin 400.
— Ovoglobulin 408.
— Ovomukoid 502.
Hühnermuskelmagen, Koilin 447.
Huminsubstanzen aus Hexosen 88, 107.
— aus Eiweiss 390, 508.
Huminstickstoff 520.
Hummelwachs, Psyllaalkohol 93.
Humor aqueus 785.
— d-Milchsäure 74.
— Harnstoff 144.
Hundeharn, Allantoin 150.
— Kynosin 216.
— Kynurensäure 308, 601.
— Urocaninsäure 310.
— Salzsäurebest. 572.
Hundemagensaft 697.
Huppert's Probe a. Gallenfarbstoff im Harn 629.
— in Fäces 741.
Hyaenasäure 65.
Hyalin 140.
Hyalomukoid 504, 785.
— im Glaskörper 784.
Hydantoin d. Aminosäurenphenylisocyanate 226.
Hydracrylsäure 74.
Hydrobilirubin 371, 372.
— Verhältnis zu Urobilin 380.
— aus rotem Farbstoff der Mollusken 374.
Hydrocephalus, Bernsteinsäure 82.
Hydroceleflüssigkeit 642,
s. Untersuchung seröser Flüssigkeiten.
— Bernsteinsäure 82.
— Serosamucin 499.
— Mucinalbumose des Serosamucin 499.
Hydrochinon 270.
— u. Brenzkatechin, Darstellung a. Harn 267.
Hydrochinonessigsäure 290,
s. Homogentisinsäure.
Hydrochinonmilchsäure 293.
Hydrochinonschwefelsäure 270.
Hydrocorindin 218.
Hydro-p-Cumarsäure 283.
— aus Tyrosin 287.
— aus Eiweiss 390.
— Isolierung aus Harn 283.
— — aus Fäulnisgemisch 308.
— Nachw. im Harn 600.
Hydroxylamin, Allantoinausscheidung 150.
Hydrozimmtsäure 277.
s. β-Phenylpropionsäure.
Hyocholsäure 327.
Hypoxanthin 168, 174, 179.
— aus Harnsäure 173.
— aus Adenin 183.
— aus Inosinsäure 486.
— aus Thymonucleinsäure 483.
— Darstellung aus Harn 188.
— Trennung v. Epiguanin, Adenin, Paraxanthin 189.
— — v. Xanthin 769.
— Best. in Muskeln u. anderen Organen 769.

I.

Ichthulin aus Barscheiern 493.
— Lecithinverbindung a. Barscheiern 494.
— aus Kabeljaueiern 494.
— aus Karpfeneiern 495.
— aus Lachseiern 494.
— aus Eiern von Torpedo marmorata 495.
Ichthulinsäure 495.
Ichthylepidin 449.
— Gehalt an Aminosäuren 519.
Ichthyosisschuppen, Leucin 233.
Ignotin 215.
β-Imidazol-α-Aminopropionsäure 259.
s. Histidin.
Imidazolcarbonsäure 261.
Imidazolglykocoll, Isolierung aus Harn 632.
Imidazolglyoxylsäure 261.
Imidazolmilchsäure 261.
Imidazolpropionsäure 261.
Incrustationen im Darm 746.
Indicator 13.
Indigblau 303, 304.
Indigblausulfosäuren 304.
Indigo, Spectrophotometrische Untersuchung 23.
Indigolösung, entfärbte, Reagens auf Wasserstoffsuperoxyd 568.
Indigotin, s. Indigblau 303.

Indigpurpurin 305, s. Indirubin.
Indigrot 305, s. Indirubin.
Indigweisssulfosäure 304.
Indikan 303.
Indirubin 305.
— Nachw. im Harn 306.
— Trennung von Urorosein 306, 382.
Indirubinsulfosäure 306.
Indirubinweiss 306.
Indol 293.
— Vorkommen 293.
— Darstellung 293.
— Eigenschaften 294.
— Verbindungen 294.
— Berichtigung 785.
— Zersetzung 294.
— Nachw. 294.
— aus Molluskenfarbstoff 374.
— aus Eiweiss 390.
— Darstellung 293.
— Isolierung aus Fäulnisgemisch 307.
— Trennung von Skatol 296, 738.
— Nachw. u. Best. in Fäces 738.
β-Indolaldehyd, aus Tryptophan 302.
Indol-Pr.-3-α-Aminopropionsäure 299, siehe Tryptophan.
Indolderivate 293.
Indol-Pr.-3-Essigsäure 297.
— Chromogen 382, s. Urorosein.
— aus Eiweiss 390.
Indolessigsäure, Isolierung aus Fäulnisgemisch 308.
— Isolierung aus Harn 382.
Indol-Pr.-3-Propionsäure 298.
— aus Tryptophan 302.
— aus Eiweiss 390.
— Isolierung aus Fäulnisgemisch 298, 308.
Indoxyl 297.
Indoxylglukuronsäure 297.
Indoxylschwefelsäure 341.
— Nachw. im Harn 597.
— Best. im Harn 597.
— — nach Obermayer 597.
— — nach Bouma 598.
— — colorimetrisch 598.
Inosinsäure 478, 485.
i-Inosit 271.
— Nachw. 273.
— Isolierung aus Gewebsflüssigkeiten 271.
— Nachw. u. Isolierung aus Harn 600.
— — u. Darstellung aus serösen Flüssigkeiten 643.
— — in Muskeln 758, 763.
— — im Gehirn 781.
Invertase (Invertin) 532.
— im Darmsaft 705.
— in Fäces 736.
Isoamylamin 204.
Isobiliansäure 322, 324.
Isobuttersäure 60.
— Nachw. 60.
— Abscheidung und Trennung 68.
— aus Valin 233.
— aus Eiweiss 390.
Isobutylaldehyd 233.
Isocholansäure 325.
Isocholesterin 317.
— Isolierung aus Talgdrüsen und ähnlichen Secreten 732.
Isocholesterinester 318.
Isokreatinin 158.
Isoleucin 238.
— Vorkommen 238.
— Darstellung von dl-Isoleucin 238.
— — von d-Isoleucin aus Melasseschlempe 239.
— Trennung von l-Leucin 239.
— — von l-Valin 239.
— Eigenschaften 239.
— — optische 240.
— Verbindungen 239.
— aus Eiweiss 390.
— Isolierung aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteine 508, 511, 512.
— Gehalt einiger Proteine an 518.
Isomaltose 116.
Isovaleraldehyd 237.
Isovaleriansäure 61.
— aus Leucin 237.
— aus Eiweiss 390.

J.

Jaffe's Reaction auf Kreatinin 161.
— — auf Kynurensäure 309.
Jecorin 199.
Jecorine, von abweichendem Verhalten 200.
Jod, Nachw. in organischen Stoffen 55.
Jodeiweiss 431.
Jodgorgosäure 290.
Jodoformprobe 87, 88, 91.
Jodometrie 16.
Jodospongin 457.
Jodothyrin 410.
Jodwasserstoff, Vorkommen, Nachw. 45.
Jodzahl 102.

K.

Kabeljaueier, Ichthulin 494.
Kalilauge, spec. Gewicht 789.
Käse, Bernsteinsäure 82.
— Cadaverin 213.
— Caprinsäure 62
— Capronsäure 61.
— Caprylsäure 62.
— Cholin 204.
— Citronensäure 84.
— Histidin 260.
— d-l-Leucin 234.
— Lysin 257.
— Oxyprolin 264.
— Paracasein 490.
— Phenylalanin 279.
— Prolin 263.
— Putrescin 211.

Käse, Tryptophan 299.
— Valin 231.
Kalium, Vorkommen, Eigenschaften 36.
— Nachw. 37.
— — u. Best. in Aschen 542, 543.
— — im Harn 567.
— Best. von Kalium + Natrium im Harn 569.
— — von Kalium im Harn 570.
— Nachw. u. Best. in Harnsteinen 639, 641.
— Best. in Knochen 750.
Kaliumwismuthjodidlösung, Darstellung nach Kraut 760.
Kaninchenharn, Allantoin 150.
Kaolin zur Entfernung v. Eiweiss aus serös. Flüssigkeiten 657.
Karpfeneier, Ichthulin 494.
Kartoffelknollen, Histidin 260.
— Lysin 257.
Kathämoglobin 469.
Kefirlactase 118.
— Spaltung v. gepaart. Glukuronsäure 343.
Kephalin 198.
— Glycerinphosphorsäure 94.
— Nachw. u. Best. im Gehirn 781, 782.
Keimpflanzen, Arginin 254.
— Betain 207.
— Histidin 260.
— Isoleucin 238.
— Leucin 234.
— Lysin 257.
— Phenylalanin 279.
— Prolin 263.
— Tryptophan 299.
— Tyrosin 285.
Kephalinsäure 198.
Kerasin 349.
Keratine 445.
— Vorkommen 445.
— Zusammensetzung 445.
— Eigenschaften 445.
— Hydrolyse, Bildung von Albumose u. peptonartigen Körpern 445.
— — vollständige 446.
— Cystingehalt 446.
— Stickstoffverteilung 446.
— Oxydation 446.
— Gehalt an Aminosäuren 518.
Keratinoide Substanz 447, s. Koilin.
Kiemen, Scyllit 273.
Kieselsäure 50.
— Nachw. u. Best. in Aschen 542, 557.
— — in Harnsteinen 640.
Kinase 521.
Kjehldahl's Stickstoffbestimmung 560.
— — im Harn 560.
— — bei eiweisshaltigen Substanzen 562.
— — bei starkem Stossen 562.
Kloakenschlamm, Ameisensäure 57.
Knapp'sche Zuckertitration i. Harn 611.
Knochen 747.
— Bestandteile 747.
— Herstellung d. Untersuchungsmaterials 747.
Knochen, Nachw. v. Kohlensäure 747.
— — Fluorwasserstoff 748.
— — Eiweiss-, Extractivstoffe 748.
— — Fett, Cholesterin, Phosphatid 748.
— — anorganischer Salze 748.
— — Osseomukoid 749.
— — Osseoalbumoid 749.
— — Glutin 749.
— Best. der Kohlensäure 749.
— — der Asche und einzelnen Aschenbestandteile 749.
— — des Collagens 751.
Knochenmark 751.
— Gehalt an Jecorin 199.
— Fibrinogen 404.
— Nucleoproteid 473, 474.
Knochentumor, Jodwasserstoffgehalt 45.
Knorpelgewebe, Bestandteile 752.
— Untersuchung 752.
— Chondroitinschwefelsäure 344.
Koagulationstemperatur, Bestimmung 20.
Kochen von Flüssigkeiten 1.
Köttstorfersche Zahl 101.
Kohle in Lunge u. Bronchialdrüsen 383.
— Nachw. im Sputum 696.
Kohlehydrate 104.
— Annähernde Bestimmung der Gesamt-K. im Harn 615.
Kohlehydratcomplex im Eiweissmolekül 393.
Kohlenoxydhämochromogen 353.
— aus Kohlenoxydhämoglobin 465.
Kohlenoxydhämoglobin 464.
— Bildung 464.
— Darstellung 464.
— Eigenschaften 465.
— — optische 465.
— Spectrum 465.
— Spaltungen 465.
— Verhalten gegen Fäulniskeime 465.
— Nachw. 466.
Kohlensäure 141.
— aus Eiweiss 390.
— Nachw. u. Best. in Aschen 541, 557.
— Best. in Harnsteinen 642.
— Vorkommen im Speichel 690.
— Nachw. u. Best. in Knochen 747, 749, 750.
Kohlenstoffverbindungen 52, s. organische Stoffe.
Koilin 447.
— Gehalt an Aminosäuren 519.
Kolieren 5.
Kolorimetrie 23.
Kondo's Probe, Indol 295.
Koprosterin 316.
— Nachw. in Fäces 736, 739.
Krabbenextract, Arginin 255.
— Betain 207.
— Crangitin, Crangonin 216.
— kreatinfrei 156.
— Leucin 233.
— Lysin 257.
— Methylpyridinammoniumhydroxyd 265.
— Neosin 209.

Krabbenextract, Isolierung verschiedener Substanzen aus K. 761.
Kreatin 156.
— Umwandlung in Kreatinin 157.
— Best. im Harn 586.
— Nachw. u. Best in serös. Flüssigk. 654.
— — in Muskeln 761.
— — im Gehirn 781.
Kreatinin, Vorkommen 157.
— Darstellung 158.
— — aus Kreatin 158.
— — aus Harn 158.
— Eigenschaften 159.
— Verbindungen 159.
— Umwandlung in Kreatin 160.
— Zersetzung 160.
— Nachw. 161.
— — u. Best. im Harn 585.
— — in Muskel u. Organen 761.
Kresole 265.
— aus Eiweiss 390.
— Nachw. 267.
— Isolierung aus Fäulnisgemisch 307.
— Nachw. u. Best. i. Harn 595.
o-Kresol, Abtrennung von p-Kresol 266.
p-Kresol, Abtrennung von Phenol u. o-Kresol 266.
Kresolschwefelsäuren 340.
— Nachw. u. Best. im Harn 340, 595.
Krimberg's Base $C_6H_{14}N_2O_2$ aus Fleischextract 216.
Kristalloide nach Graham 4.
Kropf, Casein 488.
Krystalle, Untersuchung 17.
Krystallin 402, 409, 784.
Krystalllinse 784.
Kürbissamen, Phenylalanin 279.
Kuhharn, Allantoin 150.
Kupfer, Vorkommen, Eigenschaften 42.
— Nachw. in Aschen, † Anm. 542.
Kupferhydroxydbrei, Zur Best. d. Gesamtproteinstoffgehaltes der Milch, Herstellung nach Stutzer 723.
Kynosin 216.
Kynurensäure 308.
— Vorkommen 308.
— Darstellung 308.
— — aus Hundeharn 308.
— Eigenschaften 309.
— Nachweis 309.
— Umwandlungen 309.
— aus Tryptophan 302.
— Nachw. u. Best. im Harn 601.
— — Verfahren nach Jaffe 601.
— — — — Capaldi 601.
Kynurin 309.
Kyroprotsäure 430.

L.

Labferment 530.
— Vorkommen 530
— Activierung 530.
Labferment, Darstellung 530.
— — einer Labflüssigkeit 531.
— Eigenschaften 531.
— Wirkung 531.
— Prüfung der Labwirkung 531.
— Verhalten zu Albumosen, Plasteinbildung 422.
— — zu Casein 490.
— — zu Milch 721.
— Nachw. im Mageninhalt 703.
— — im Pancreassaft 704, 705.
Lachsmilch s. Lachssperma.
Lachssperma, Albuminose 436.
— Salmin 441.
— Thymonucleinsäure 479.
— Thymin 162.
Lachseier, Ichthulin 494.
Lacmoidindikator 13.
Lacmuslösung 13.
Lactalbumin 401.
— Gehalt an Aminosäuren 518.
Lactase 532.
Lactobionsäure 118.
Lactoglobulin 408.
Lactose 116, s. Milchzucker.
Lävulinsäure 88.
— Thymonucleinsäure 483.
Lävulose 112.
— aus Traubenzucker 107.
Lanocerin 81.
Lanocerinsäure 81.
Lanopalmitinsäure 80.
Laurinsäure 63.
— Abscheidung u. Trennung 68.
Leber u. Leberautolyse.
— Alkohol 90.
— Ameisensäure 57.
— Arginase 534.
— Bernsteinsäure 82.
— Buttersäure 59.
— Cystin 246.
— Cytosin 164.
— Diastatisches Ferment 531.
— Eisenablagerungen 385.
— Essigsäure 58.
— Glukuronsäure 131.
— Glykogen 119.
— Jecorin 199.
— Inosit 271.
— Leucin 233.
— Linolensäure 68.
— Linolsäure 68.
— Milchsäure 74.
— Nucleoproteid 475.
— Oxalsäure 81.
— Phenylalanin 279.
— Scyllit 273.
— Thymin 162.
— Tyrosin 285.
— Urobilin 378.
— Valin 231.
Lebercirrhose, Allantoin 150.
Lecithine 192, s. auch Phosphatide.
— Vorkommen 192.

Lecithine, Darstellung aus Eigelb 193.
— — aus Herzmuskel u. quergestreiften Muskeln 194.
— — aus Gehirn 195.
— — aus Pflanzensamen 195.
— Reinheit der Präparate 195.
— Eigenschaften 196.
— Verbindungen 196.
— optische Eigenschaften 197
— Inactivierung 197.
— Autooxydation 197.
— Spaltung 197, 198.
— Bildung von Oelsäure 66.
— — von Linolensäure 68.
— — von Linolsäure 195.
— aus Protagon 348.
— Nachw. u. Best. im Gehirn 781, 782.
Lecithinfäulnis, Trimethylamin 203.
Légal'sche Probe auf Aceton 87.
— auf Skatol 295.
s. auch Nitroprussidnatriumprobe.
Leichenwachs 63, 65, s. Adipocire.
Leim 449, s. Glutin.
Leimsäure 253.
Leinöl, Linolsäure 68.
Leinwandfilter 5.
Leo'scher Zucker 104, 113.
Leuceine 238.
Leucin 233.
— Darstellung durch Synthese 234.
— — des activen L. 234.
— Eigenschaften 235.
— — optische 237.
— Nachweis 237.
— Trennung von Isoleucin und Valin 235.
— Verbindungen 235.
— Vorkommen 233.
— Zersetzung und Oxydation 237.
— aus Eiweiss 390.
— Isolierung aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteine 508, 511, 512, 514.
— Gehalt einiger Proteine an L. 518.
— Isolierung aus Harn 625.
— Nachw. in seröser Flüssigkeit 655.
— — im Speichel 693.
— — im Pancreassaft 704.
— — im Eiter 688.
— — im Schweiss 717.
— — im Talgdrüsensekret 732.
— — in Fäces 742.
l-Leucinanhydrid 429.
l-Leucin-d-Glutaminsäure 427.
l-Leucinimid 237, 429.
— Berichtigung 785.
— Isolierung aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteine 513.
Leucomaine 221.
l-Leucyl-d-Alaninanhydrid 429.
l-Leucyl-d-Glutaminsäure 427.
l-Leucyl-d-Valinanhydrid 430.
Leukocyten s. weisse Blutkörperchen.
Licht, Herst. v. weissem u. Natriumlicht 26.
Lieben'sche Jodoformprobe 87, 88, 91.
Liebermann's Reaction auf Eiweiss 392.
Liebermann-Burchard's Reaction auf Cholesterin 315.
Lienoprotease 530.
Ligamentomukoid 344, 497, 505.
— Verhalten zu Verdauungssäften 505.
Ligamentum nuchae 753.
Linolensäure 68.
— in Lecithinen 195.
Linolensäurehexabromid 68.
Linolsäure 67, 73.
Linolsäuretetrabromid 68.
Linse 784.
— Krystalline 409.
— Albumoid 454.
— Membranin 454.
Lipase 533.
— Untersuchung der L.-Wirkung 533.
— Vereinfachter Nachweis 534.
— Vorkommen 533.
— Eigenschaften 533.
— in käuflichen Trypsinpräparaten 528.
— Nachw. im Mageninhalt 704.
— — im Pancreassaft 705.
— — im Darmsaft 705.
Lipliawsky-Arnold's Probe auf Acetessigsäure im Harn 616.
Lipochrome 385.
Lipom, Caprinsäure 62.
Lithium 38.
— Nachw. in Aschen 542.
Lithobilinsäure 329.
Lithofellinsäure 328, 746.
Löslichkeit, Bestimmung 20.
Lösungen, empirische 12.
Lohnstein's Apparat, Gärungssacharimeter 611.
Lotahiston 436.
— Gehalt an Aminosäuren 518.
Lota-(vulgaris)-sperma, Histon 436.
Lücke'sche Reaction auf Benzoesäure 274, 276, 278.
Lunge, Inosit 271.
— Pigment 383.
Lutein, krystallisiertes 385, 386.
— Unterschied von Bilirubin 370.
Luteocobaltchlorid, Reagens auf Pyrophosphorsäure 50.
Lymphdrüsen, Arginase 534.
— Thymin 162.
— Nucleoproteid 473.
Lymphe, Untersuchung 642 s. seröse Flüssigkeiten.
— Harnstoff 144.
— Cholesterinester 318.
— Serumalbumin 395.
— Fibrinogen 404.
— Serumglobulin 406.
— diastatisches Ferment 531.
Lysatin 259.
Lysatinin 259.
Lysin 257.
— Darstellung 257.

Lysin, Darstell. aus d. hydrolyt. Zersetzungsflüssigkeit der Proteinstoffe 257.
— — abgekürztes Verfahren 257.
— Eigenschaften 258.
— — optische 259.
— Nachweis 259.
— Umwandlungen 259.
— Verbindungen 258.
— Vorkommen 257.
— Isolierung aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteine 516.
— Gehalt einiger Proteine an L. 518.
— Vork. in serösen Flüssigkeiten 643.
— Isolierung aus autolysierten Organen 778.
— Isomere des L. 259.
Lysursäure 257.

M.

Mageninhalt, Nachweis der Säuren 697.
— Gesamtacidität 697.
— freie Salzsäure 698.
— Milchsäure 699.
— flüchtige Fettsäuren 699.
— saure Phosphate 699.
— Best. der Gesamtacidität 699.
— — der Gesamtsäure 700.
— — der Gesamtsalzsäure 700.
— — der freien Salzsäure 702.
— Nachweis der Fermente 702.
— — des Pepsins 702.
— — des Labferments 703.
— — der Lipase 703.
— — der Galle 703.
— — des Blutes 703.
— — des Eiweisses 704.
— — des Harnstoffes 704.
— — des Ammoniaks 704.
— — des Zuckers 704.
— Gehalt an Buttersäure 59.
— — an Essigsäure 57.
— — an Indol 293.
— — an Propionsäure 58.
Magensaft (s. auch Mageninhalt), Allgemeines 696.
— reiner 697, Eigenschaften.
— Bildung von Plasteinen 422, s. Pepsin.
Magnesiamischung, Reagens 786.
Magnesium, Vorkommen, Eigenschaften 39.
— Bestimmung in Asche 545.
— Nachweis im Harn 567.
— Bestimmung im eiweissfreien Harn 570.
— — im eiweisshaltigen Harn 570.
Magnesiumcarbonat, Nachweis in Aschen 542.
— — in Harnsteinen 639.
Magnesiumphosphat, Nachweis in Aschen 543.
— — in Harnsteinen 636, 640.
Maikäfer, Melolonthin 250.
Maiskörner, Lutein 385.
Maja squinado-Eier, Lutein 385.
Makrelensperma, Scomberhiston 436.
— Scombrin 442.
— Scombron 444.
Maltase 115, 532.
— Nachweis im Speichel 690, 692.
— — im Pancreassaft 704, 705.
— — im Darmsaft 705.
Maltobionsäure 115.
Maltose 114.
— Entstehung 114.
— Eigenschaften 114.
— Verbindungen 115.
— Umwandlungen 115.
— Oxydation 115.
— optische Eigenschaften 115.
— Best. der durch Speichelferment gebildeten 692.
Mangan, Vorkommen, Eigenschaften 41.
— Nachweis 42.
— — in Aschen 543.
— Bestimmung in Aschen 549.
Mannose, aus Traubenzucker 107.
— aus Fruchtzucker 112.
Marcitin 220.
— Isolierung aus Fäulnisgemisch 224.
Martamsäure 484.
Maschke's Reaction auf Kreatinin 161.
Massanalyse 11.
Mastixsuspension, Zur Entfernung von Eiweiss aus seröser Flüssigkeit 648.
Meconium 746.
Melanin 383.
— Vorkommen 383.
— Allgemeine Eigenschaften 383.
— Isolierte M. 384.
— Umwandlungen 384.
— künstliches aus Tyrosin 288, 385.
— schwefelhaltiges aus Urochrom 377.
Melanoidine 385.
Melanoidinsäuren 385.
Melolonthin 250.
Membranine, tierische 454, 784.
Mesenteriallymphdrüsen, Ablagerung von Ferrihydrat 385.
Mesoporphyrin 364.
Metalbumin, 501, s. Pseudomucin.
Methämoglobin 466.
— aus Oxyhämoglobin 461.
— Trennung von Hämoglobin u. Oxyhämoglobin 464.
— Bildung und Vorkommen 466.
— Darstellung 467.
— Zusammensetzung 467.
— Eigenschaften 467.
— Spectrum 467.
— Umwandlung in Hämoglobin 468.
— Nachw. 468.
— Unterschied gegen Hämatin 468.
— Nachw. im Harn 630.
— — in serös. Flüssigk. 661.
Methan in Fäces 736.
d-Methyläthylessigsäure 61.
Methyläthylmaleinsäureanhydrid 368.
Methylamin 203, 217.
— aus Kreatin 157.
— aus Glykokoll 229.
— aus Adrenalin 270.

Methylamin, Isolierung aus Fäulnisgemisch 222.
— Verwechselung mit Aethylsulfid 90.
Methyldibutylessigsäure 384.
δ-Methylfurfurol, Herstellung einer haltbaren Lösung 315.
Methylguanidin 217.
— aus Kreatin 157.
— Isolierung aus Fäulnisgemisch 222.
— Isolierung aus Harn 632.
— Isolierung aus Muskeln 758.
Methylguanin 186, s. Epiguanin.
Methylhydantoin aus Kreatin 157.
Methylimidazol aus Traubenzucker 107.
— aus Maltose 115.
— aus Milchzucker 118.
— aus Pentose 127.
Pr.-3-Methylindol 295, s. Skatol.
Methylmercaptan 89.
— aus Cystin 249.
— aus Eiweiss 390.
— in Fäces 736.
Methylpyridin, Isolierung aus Harn 632.
Methylpyridinammoniumhydroxyd 265.
5-Methyluracil 162, s. Thymin.
Methylviolett, Nachw. d. freien Salzsäure 698.
1-Methylxanthin 168, 175, 183, **184**.
— Darstellung aus Harn 188.
— Trennung von Heteroxanthin und Xanthin 188.
7-Methylxanthin, s. Heteroxanthin.
Miesmuschel, Betain 207.
Milch, Bestandteile d. Milchkügelchen 718.
— des Milchplasmas 718.
— Zusammensetzung 718.
— spec. Gewicht 719.
— Reaction 719.
— Verhalten verschiedenen Einwirkungen gegenüber 719.
— Gerinnung durch Mikroorganismen 720.
— — durch Labferment 721.
— qualitative Untersuchung 721.
— Nachw. von Casein 488, 721.
— — Albumin + Globulin 721.
— — Fett, Phosphatid, Cholesterin 721.
— — Milchzucker, Salze 722.
— Best. d. Trockenrückstandes 722.
— — d. Gesamtstickstoffs 722.
— — einzelner anorganischer Bestandteile 722.
— — d. Gesamtproteingehaltes 722.
— — v. Casein, Albumin + Globulin, Fett 723.
— — von Casein, d. übrigen Proteinstoffe, Fett 725.
— — von Casein (+ Globulin) u. Albumin 725.
— — d. Fettes 726.
— — d. Milchzuckers 728.
— — d. Stickstoffs d. Extractivstoffe 730.
— — d. Citronensäure 84, 730.
— quantitative Analyse 730.
— Essigsäuregärung 57.
Milch, Gehalt an Harnstoff 144.
— — an Kreatinin 157.
— — an Serumglobulin 406.
Milchdrüse, Nucleoproteid 476.
Milchsäure 74.
— Vorkommen 74.
— Darstellung der i. Säure 75.
— Isolierung 75.
— Darstellung d. activ. Säure 76.
— Eigenschaften 76 ff.
— Oxydationsprod. 78.
— Reaction auf M. 78.
— aus Glukose 107.
— Nachw. u. Best. i. Harn 620.
— in serösen Flüssigkeiten 661.
— im Speichel 693.
— im Mageninhalt 698, 699.
— in Fäces 742.
— in Knochen 748.
— Nachw. u. Best. in Muskeln u. Organen 758, 762.
Milchzucker 116.
— Vorkommen 116.
— Darstellung aus Milch 116.
— Isolierung aus Harn 117.
— Reductionsvermögen 117.
— Verbindungen 117.
— Umwandlungen 118.
— optisches Verhalten 118.
— Nachw. 119.
— in eiweissfreier wässeriger Lösung 119.
— Nachw. im Harn 613.
— — in der Milch 722.
— Best. in der Milch 728.
— — durch Polarisation 728.
— — durch Titration nach Fehling 729.
— — durch Titration nach Pavy 729.
Millon's Probe 267, 270, 282, 284, 288, 289, 290, 291, 303, 310, **392**, 470.
— Reagens 786.
Milz, Vorkommen von Ameisensäure 56.
— Arginin 255.
— Bernsteinsäure 82.
— Buttersäure 59.
— Cerebrosid 351.
— Erepsin 529.
— Essigsäure 58.
— Jecorin 199.
— Inosit 271.
— Nucleoproteid 473.
— Nucleinsäure 481.
— Protease 530.
— Pyosin, Pyogenin 351.
— Scyllit 273.
Mingin 216.
— Isolierung aus Harn 632.
Molisch's Probe 111, 112, 119, 132, **393**, 489.
Molluskenfarbstoff 374.
Molke 720, 721.
Molkeneiweiss 490.
Molybdaensaures Ammoniak, Reagens 786.
Monamine 203.
Monaminodiphosphatid 200.
Monaminomonophosphatide 190, **192**.

Monoaminosäuren s. Aminofettsäuren.
— Isolierung aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit d. Proteine 507.
— Gehalt einiger Proteine an M. 518.
Monoaminosäurenstickstoff, Best. 520.
Monobenzoylornithin 277.
Monomethyloxaethylamin aus Kephalin 198.
Monosaccharide 104.
Moore'sche Probe 110, 112, 132.
Morrhuin 220.
Mucinähnliche Substanz d. Synovia, Synovin 500.
— — im Harn, Nachw. 600.
Mucinalbumose 498.
Mucine 497.
— d. Submaxillardrüse 498.
— d. Schleimhaut der Luftwege 498.
— d. Nabelstrangs 499.
— Serosamucin 499.
— d. Schnecken 500.
— der Barscheier 500.
— Gehalt an Essigsäure 58.
— Nachw. im Speichel 691, 695.
— — in seröser Flüssigkeit 646.
— — in Galle 710.
— — in Fäces 737.
— — u. Best. in Sputis 695.
— bei der Amylumbest. in Fäces 745.
Mucinogen, Schneckenmucin 500.
Mukoide 497.
— Einzelne Mukoide 502 ff.
— aus Hühnereiweiss 502.
— aus Harn 503.
— aus Blutserum 503.
— aus Cornea 504.
— aus Glaskörper 504.
— aus Knorpel 504.
— aus Sehnen 504.
— aus Ligament. nuchae 505.
— aus Knochen 505.
— Nachw. in serös. Flüssigk. 646.
Murexeierschalen, Conchiolin 456.
Murexid 172.
Murexidprobe 173, 176.
Muscarin 207, 217.
Muschelschalen, Conchiolin 456.
Muskel, Bestandteile 755.
— Nachw. d. Proteinstoffe 756.
— — u. Best. d. anorganisch. Salze 756.
— — — d. Harnstoffs 758.
— — — d. Milchsäure 758, 762.
— — — d. flüchtigen Fettsäuren 758.
— — — d. Inosits 758, 763.
— Isolierung von Carnosin, Carnitin, Methylguanidin 758.
— Nachw. v. Kreatin, Kreatinin, Nucleinbasen, Taurin 761.
— — von Zucker 763.
— — von Phosphatiden 763.
— — u. Best. d. gebund. Pentose 763.
— — — v. Alkohol 764.
— Best. v. Trockenrückstand, Gesamtstickstoff, einzelnen anorganischen Bestandteilen 765.
Muskel, Best. d. Ammoniaks 766.
— — d. Nucleinbasen 767.
Muskeln, glatte 402, 404.
Muskelfarbstoff 458.
— Beziehung zum Blutfarbstoff 458.
Muskelnucleoproteid 477.
Musophagiden, Turacin 387.
Mutarotation 29.
Mydalein 222.
Mydatoxin 218.
Mydin 219.
Myelinformen in Sputis 695.
Mylius' Jodreaction, Cholsäure 322.
Myogen 401.
— Darstellung aus Muskelpresssaft 401.
— Unterschied gegen Myosin 402.
— Nachw. in Muskeln 756.
Myogenfibrin 402.
— lösliches 402.
Myosin 403.
— Nachw. in Muskel 757.
Myosinfibrin 403.
Myosinogen, s. Myogen 401.
Myricylalkohol 93.
Myristinsäure 63.
Mytilotoxin 218.

N.

Nabelstrang, Mucin 499.
Nägel, Keratine 445.
β-Naphthalinsulfoverbindungen der Aminofettsäuren 226.
β-Naphthalinsulfoglycyl-d-Alanin 428.
— Isolierung 426.
α-Naphthylisocyanatverbindungen d. Aminofettsäuren 226.
Nasensecret 694.
— Bestandteile 694.
— Untersuchung 694.
— Schwefelcyansäure 190.
Nasensteine 694.
Natrium, Vorkommen, Eigenschaften 37.
— Nachw. 38.
— — u. Best. in Aschen 542, 543.
— — im Harn 567.
— Best. im Harn 569.
— Nachw. u. Best. in Harnsteinen 639, 641.
— — — in Knochen 748, 750.
Natriumlampe 26.
Natriumlicht, Herstellung 26.
Natriumpresse 15.
Natronlauge, spec. Gewicht 789.
Nebennieren, Adrenalin 268.
— 1-Methylxanthin 184.
— Inosit 271.
— protagonartige Stoffe 347.
— Nucleoproteid 474.
Neosin 209.
Neottin 202.
Nerven s. Gehirn 779.
Nessler's Reagens 787.

Netzhaut, Guanin 177.
— Pigment 383.
— Sehpurpur 387.
Neumann's Veraschungsmethode 539.
Neuridin 206, 219.
— Isolierung aus Fäulnisgemisch 221.
Neurin **206**, 217.
Neurokeratin 446.
— Gehalt an Aminosäuren 519.
— Isolierung u. Best. i. Gehirn 781, 782.
Neurostearinsäure 349.
Nicotinsäure 217, 218.
Niederschläge, Auswaschen 6.
Niere, Arginase 534.
— Cholesterinester 318.
— Cystin 246.
— Erepsin 529.
— Inosit 271.
— Scyllit 273.
— Taurin 243.
Nierensteine 634.
— Harnsäure 168.
Nitrile bei der Zersetzung des Eiweiss 390.
Nitroprussidnatriumreaction s. auch Legal's und Weyl's Probe 46, 87, 89, 161, 246, 295, 296.
— im Harn 616.
Nitrosokreatinin 161.
Nitrosubstituierte Eiweissstoffe 430.
4-Nitrotoluol-2-Sulfoverbindungen der Aminofettsäuren 226.
Normallauge, Herstellung 14.
Normallösungen 11.
Normalnatronlauge 14.
Normaloxalsäure 14.
Normalsäure, Herstellung 14.
Normalschwefelsäure 14.
Novain 208.
— Isolierung aus Harn 632.
Nubecula 564.
Nuclease 534.
Nucleinbasen 174, s. auch Purinbasen.
— und Pyrimidinbasen, Isolierung aus der Thymonucleinsäure 486.
— Nachw. in seröser Flüssigkeit 647.
— — u. Best. in Fäces 736, 737, 743.
— — — in Muskeln 761, 767.
— — im Gehirn 781.
Nuclein 434, 471.
— im Eiterserum 689.
Nucleine, künstliche 482.
Nucleinsäuren 434, 471, 478.
— Phosphorgehalt 478.
— Purinbasengehalt 478.
— Nachw. d. Purinbasen in 478. 479.
— hydratische Form 479, 481.
— anhydrische Form 479, 481.
— Pentosegehalt 482.
— mikrochemische Reaction 484.
— Verhalten d. Protamine zur 441.
— Thymonucleinsäuren 478.
— Guanylsäure 485.
Nucleinsäuren, Inosinsäure 485.
— Isolierung der Nuclein- u. Pyrimidin basen aus Thymonucleinsäure 486.
Nucleoalbumine, s. Paranucleoproteide 487.
— aus Rindergalle 496.
Nucleohiston aus Thymus 472.
Nucleon 496.
— Nachw. in Milch 722.
Nucleoproteide 470.
— Vorkommen 470.
— allgemeine Eigenschaften 471.
— Spaltungen 471.
— Nachw. 471.
— Xylosegehalt 476.
— Allantoinausscheidung 150.
— Nachw. in seröser Flüssigkeit 647.
— — im Eiter 688.
— — in Fäces 737.
— — in Muskeln 757.
— Vorkommen in Sputis 695.
— — im Pancreassaft 704.
— — in Galle 706.
— aus Thymus 472.
— aus lymphatischen Organen 473.
— aus lymphatischem Rundzellensarkom 473.
— aus Lymphdrüsen 473.
— aus Milz 473.
— aus Gänseblutkörperchen 474.
— aus Knochenmark 474.
— aus Nebennieren 474.
— aus Thyreoidea 474.
— aus Leber 475.
— aus Pancreas 475.
— aus Hepatopancreas (Octopus) 476.
— aus Submaxillardrüse 476.
— aus Milchdrüse 476.
— aus Placenta 476.
— aus Muskeln 477.
— aus Gehirn 477.
— aus elastischem Gewebe 477.
— aus Blutserum 477.
Nucleothyminsäure 482.
Nucleotin 483.
Nucleotinphosphorsäure 483.

O.

Obermayer's Reagens 597.
Obermüller's Probe auf Cholesterin 316.
Oblitin 209.
Octadekylalkohol 92.
— Isolierung aus Talgdrüsen und ähnlichen Secreten 732.
Octopus-Blut, Hämocyanin 401.
— Hepatopancreas, Nucleoproteid 476.
Oelsäure 66.
— Oelsäuredibromid 67.
— Abscheidung und Trennung aus Fettsäuregemisch 73.
— in Lecithinen 195.
— Oelsaurer Baryt 67.

Ohrenschmalz, Bestandteile und Untersuchung 731.
Olein 99.
Oleinsäure, s. Oelsäure 66.
Onuphin 124, 141.
Onuphis tubicola, Wohnröhren 124, 141.
Opalisin 492.
Ophthalmolithen, Guanin 177.
Optische Activität 24.
Optisch active Substanz, Bestimmung des Gehaltes der Flüssigkeit an 29.
Optische Methoden 20.
Orcin-Salzsäurereaction **127**, 132, 343, 348, 371.
— im Harn 614.
Organe, Reinigen 754.
— Zerkleinern 755.
— Isolierung der Zellen 755.
— Allgemeines 754.
— Muskeln 755.
— drüsige O. 777.
— Gehirn, Rückenmark, Nerven 779.
— Hornhaut, Linse, Glaskörper, Humor aqueus 784.
Organextracte, Bildung von Plasteinen 422.
Organische Stoffe, Allgemeines 52.
— Untersuchung auf Stickstoff 53.
— — auf Schwefel 54.
— — auf Phosphor 54.
— — auf Eisen 54.
— — auf Jod 55.
Ornithin 253.
— aus Putrescin 211.
Ornithursäure 253, **276**.
Orotsäure 167.
Osseoalbumoid 454.
— Nachw. in Knochen 747, 749.
Osseomukoid 344, 497, **505**.
— Verhalten zu Verdauungssäften 505.
— Nachw. in Knochen 747, 749.
Ovalbulmin 398.
— Darstellung von krystallisiertem 398.
— Zusammensetzung 399.
— Phosphor- und Schwefelgehalt 399.
— Coagulation 399.
— optische Eigenschaften 400.
— Verhalten gegen Säuren und Alkalien 400.
— Reductionsvermögen 400.
— Hydrolyse 400.
— Unterschied zu Serumalbumin 400.
— Gehalt an Aminosäuren 518.
Ovarialcysten, Untersuchung 642.
— Allantoin 150.
— Buttersäure 59.
— Pseudomucin 501.
— Paramucin 502.
Ovoglobulin 408.
Ovomukoid 502.
Oxalatsteine im Harn 634.
— Krystallformen im Harn 594.
Oxalsäure 81.
— aus Eiweiss 390.
— Nachw. u. Best. im Harn 594, 595.
Oxalsäure, Isolierung aus Organen 81.
— Normallösung 14.
— Aufhebung der Gerinnung 668.
Oxalursäure 149.
— Nachw. u. Best. im Harn 585.
Oxamid bei der Zersetzung des Eiweiss 390.
Oxyaminobernsteinsäure 253.
Oxyaminokorksäure 253.
— aus Lebernucleoproteid 475.
Oxyaminosäuren der Fettreihe 250.
p-Oxybenzoesäure aus Tyrosin 287.
— aus Eiweiss 390.
β-Oxybuttersäure 78.
— Isolierung 79.
— Nachw. u. Best. im Harn 619.
γ-Oxychinolin 309, s. Kynurin.
γ-Oxy-β-Chinolincarbonsäure 308, s. Kynurensäure.
Oxydasen 536.
Oxydesaminohistidin 261.
Oxydiaminosebacinsäure 253.
— aus Lebernucleoproteid 475.
Oxydierte Eiweissstoffe 430.
Oxydimetrie mittels Permanganat 15.
Oxyfettsäuren 74.
Oxyglutarsäure 243.
Oxyhämocyanin 401.
Oxyhämoglobin 458.
— Darstellung möglichst reinen O. 458.
— — grosser Mengen O.-Krystalle 459.
— Krystalle 459.
— Zusammensetzung 459.
— Eigenschaften 460.
— Umwandlungen und Spaltungen 461.
— Beziehung zum Hämoglobin 462.
— Spectroskopisches Verhalten 462, 463.
— Nachweis 464.
— Trennung (mit Hämoglobin) von Methämoglobin, Hämatin, Hämatoporphyrin 464.
— Gehalt an Aminosäuren 519.
Oxyhydro-p-Cumarsäure 284.
Oxyisobuttersäure 60.
α-Oxyisobutylessigsäure 237.
Oxymandelsäure 284.
Oxyneurin, Betain 207.
Oxyphenacetursäure 283.
p-Oxyphenylenaethylamin 219, **289**.
p-Oxyphenylessigsäure 282.
— Isolierung aus Harn 283.
— Isolierung aus Fäulnisgemisch 308.
— Nachw. im Harn 600.
— aus Tyrosin 287.
— aus Eiweiss 390.
p-Oxyphenylpropionsäure 283, s. Hydro-p-Cumarsäure.
Oxyprolin 264.
l-Oxyprolin, Isolierung aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteine 508, 514.
— Gehalt einiger Proteine an l-O. 518.
Oxypropionsäure 74.
Oxyprotein 430.
Oxyproteinsäure 432.

Oxyprotsulfonsäure 430.
6-Oxypurin 179, s. Hypoxanthin.
Oxy-α-Pyrrolidincarbonsäure 264, s. Oxyprolin.
Oxysäuren, aromatische, Nachw. im Harn 606, Nachw. in Faeces 738.
Oxytryptophan 303.

P.

Palmitin 99.
Palmitinsäure 63.
— u. Stearinsäuregemisch, Erstarrungspunkt 64.
— Abscheidung und Trennung 70.
— in Lecithinen 195.
α-Palmitodistearin 100.
Pancreas u. Pancreasautolyse, Ameisensäure 56.
— Cadaverin 213.
— Diastatisches Ferment 531.
— Guanidin 153.
— Kieselsäure 50.
— Lactase 532.
— Lecithinspaltung 198.
— Lipase 533.
— Maltase 532.
— Nucleoproteid 475.
— Oxalsäure 81.
— Pentose 126.
— Phenylalanin 279.
— Skatosin 297.
— Trypsin 527.
— Trockenpräparat nach Kühne 528, s. Trypsin.
— Valin 231.
— Xylose 129.
Pancreassaft 704.
— Bestandteile 704.
— Nachw. d. Fermente 704.
Pancreassteine 705.
Papajotin, Bildung von Plasteinen 422.
Papierfilter 5.
Paracasein 490.
Parachymosin 531.
Paraglobulin 406, s. Serumglobulin.
Paraglykocholsäure 332.
— Trennung von Glykocholsäure und Glykocholeinsäure 330.
Paraglykogen 124.
Parahiston 438.
— aus Nucleohiston 473.
Paralbumin von Scherer 501.
Paramilchsäure 74.
Paramucin 137, 138, 502.
— Glukosamingehalt 134.
Paramucosin 137, 138, 502.
Paramylum 124.
Paramyosinogen 403, s. Myosin.
Paranucleine 488.
Paranuclein aus Casein 490.
— aus Vitellin 292.
Paranucleinsäuren 488, 491.
— aus Casein 490.
Paranucleinsäuren aus Vitellin 492.
— aus Ichthulin 495.
Paranucleoprotagon 348.
Paranucleoproteide 487.
— Nachw. in serös. Flüssigk. 647.
— Vorkommen in Sputis 695.
— — in Fäces 736.
Paraxanthin 168, 183, 184, 185.
— Darstellung aus Harn 188.
— Trennung von Epiguanin, Adenin, Hypoxanthin 189.
Parotisspeichel 691.
Parvolin 218.
Pauly's Probe auf Histidin 262.
— auf Tyrosin 289.
Pennacerin 81.
Pennatulaceenachsenskelett 456.
Pennatulin 456.
Pentamethylendiamin 213, s. Cadaverin.
Pentosane bei der Amylumbest. in Fäces 745.
Pentosen, Vorkommen 126.
— Eigenschaften 127.
— Reactionen 127.
— Arabinose 128.
— l-Xylose 129.
— Rhamnose 130.
— Nachw. u. Best. im Harn 615.
— — — d. gebund. P. in Muskeln 763.
— Best. nach Tollens 764.
Penzold's Probe auf Aceton im Harn 616.
Pepsin 521.
— Vorkommen 521.
— Zymogen 521.
— Darstellung d. Pepsins aus Hundemagensaft 522.
— Zusammensetzung 523.
— Eigenschaften 523.
— Veränderung durch Wärme 523.
— Fermentwirkung 523.
— Bestimmung d. relativen eiweissverdauenden Kraft 524.
— Quantitative Pepsinbest. 525.
— Darstellung einer peptischen Verdauungsflüssigkeit 525.
— Untersuchung eines peptischen Verdauungsgemisches 525.
— Producte d. Pepsinverdauung 526.
— Käufliche Präparate 525.
— Glycerinauszug der Magenschleimhaut 525.
— Bildung von Acidalbuminen 412.
— — von Albumosen u. Peptonen 413.
— Verhalten zu Bence-Jones' Eiweisskörper 411.
— — zu Fibrin 411.
— — zu Hemiprotein 411.
— — zu Polypeptiden 424.
— — zu Histonen 434, 437.
— — zu Protaminen 441.
— — zu Keratinen 445.
— — zu Koilin 448.
— — zu Elastin 449.
— — zu Ichthylepidin 449.

Pepsin, Verhalten zu Collagen u. Glutin 450, 452.
— — zu Reticulin 453.
— — zu Knorpelalbumoid 454.
— — zu Membranin 455.
— — zu Conchiolin 456.
— — zu Cornein 456.
— — zu Pennatulin 457.
— — zu Oxyhämoglobin 462.
— — zu Nucleoproteiden 471.
— — zu Thymusnucleoproteiden 473.
— — zu Pancreas 476.
— — zu Gehirnnucleoproteiden 477.
— — zu Thymonucleinsäure 483.
— — zu Paranucleoproteiden 488.
— — zu Casein 490.
— — zu Opalisin 492.
— — zu Vitellin 492.
— — zu Vitellin-Lecithinverbindg. 493.
— — zu Ichthulin 494, 495.
— — zu Gallennucleoalbumin 496.
— — zu Submaxillar-Mucin 498.
— — zu Ovomukoid 503.
— — zu Chondro-, Tendo-, Ligamento-, u. Osseomukoid 505.
— — zu Amyloid 506.
— — zu Helicoproteid 507.
— Nachw. im Harn 628.
— — im Mageninhalt 702.
— Quantitative Schätzung d. verdauend. Kraft 702.
Pepsinfibrinpepton α u. β 420.
Pepsinglutinpepton 420.
Pepsinogen 521.
Peptone 389, 414, 415.
— Darstellung nach Siegfried 419.
— — nach Hofmeister 422.
Percaglobulin 409.
Pergamentschlauch 4.
Pericardialflüssigkeit, Untersuchung 642, s. seröse Flüssigkeit.
— Milchsäure 74.
Peritonealflüssigkeit, Untersuchung 642, s. seröse Flüssigkeit.
Permanganat, Titration mit 15.
Peroxyprotsäure 430.
Pettenkofer's Probe auf Gallensäure 323.
Phaseomannit 271.
Phenacetursäure 278.
— Darstellung aus Pferdeharn 278.
Phenole 265.
— Isolierung aus Flüssigkeiten 266.
— Abtrennung von p-Kresol 266.
— Nachweis 267.
— aus Eiweiss 390.
— Isolierung aus Fäulnisgemisch 307.
— Nachw. u. Best. im Harn 595.
— Nachw. in Fäces 736, 738.
Phenolglukuronsäure 342, 343.
Phenolphtalein 13.
Phenolschwefelsäure 339, s. Aetherschwefelsäure.
— Vorkommen 339.
— Darstellung 339.
Phenolschwefelsäure, Darstellung aus Harn 340.
— Eigenschaften 340.
Phenylacetaldehyd 282.
Phenylaethylamin 217, 281, 282.
Phenylalanin 279.
— Darstellung 279.
— — des activen P. 279.
— Eigenschaften 280.
— — optische 281.
— Nachweis 282.
— Umwandlungen 281.
— Verbindungen 280.
— Vorkommen 279.
— charakteristisches Verhalten 281.
— aus Eiweiss 390.
— Isolierung aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteine 280, 508, 512, 514.
— Gehalt einiger Proteine an P. 518.
l-Phenylalanyl-d-Alaninanhydrid 429.
Phenyl-α-Aminoproprionsäure 279, s. Phenylalanin.
Phenylessigsäure 277.
— aus Eiweiss 390.
— Trennung von Phenylpropionsäure 278.
— Darstellung und Isolierung aus Fäulnisgemisch 277, 278, 308.
Phenylhydrazinprobe auf Zucker 111.
— im Harn 603.
Phenylisocyanatverbindung der Aminofettsäuren 226.
Phenylmaltosazon 115.
Phenylpropionsäure 277.
— aus Eiweiss 390.
— Darstellung und Isolierung aus Fäulnisgemischen 278, 308.
— Trennung von Phenylessigsäure 278.
Phloroglucin-Salzsäure Reaction 127, 132, 343, 471.
— im Harn 614.
Phloroglucin-Vanillin, Nachw. der freien Salzsäure im Mageninhalt 699.
Phönicinschwefelsäure 304.
Phosphatide, Allgemeines 190.
— Vorkommen 190.
— Darstellung 191.
— Eigenschaften 191.
— Nachw. in Organen u. Flüssigkeiten 192.
— Nachw. u. Best. in serösen Flüssigkeiten 660, 662.
— — in roten Blutkörperchen 670.
— — im Eiter und Eiterserum 688, 689.
— — in Sputis 695.
— — im Pancreassaft 704.
— — in Galle 710, 713.
— Trennung von gallensauren Salzen 715.
— Nachw. u. Best. in Milch 721, 725, 726.
— — in Fäces 736.
— — in Knochen 748.
— — in Muskeln 763.
Phosphatid, kohlehydrathaltig, aus Pflanzen 200.

Phosphatid, Galactosegehalt 113.
— aus Eisbärengalle 201.
Phosphatsteine im Harn 634.
Phosphor, Nachw. in organischen Stoffen 54.
Phosphorfleischsäure 421, 497.
— Nachw. in Muskeln 757.
Phosphorgehalt der Nucleoproteide 471.
— der Nucleinsäuren 478.
Phosphorhaltige Proteide, Nachw. in serösen Flüssigkeiten 646.
Phosphorsäure, Vorkommen 48.
— Eigenschaften 49.
— Nachw. in den Aschen 542.
— Best. 554.
— — gewichtsanalytisch 554.
— — alkalimetrisch 554.
— Nachw. im Harn 567.
— Best. im Harn (Titration mit Uranylacetat) 574.
— — in Knochen 748, 750.
— Best. der in Proteiden der Muskeln enthaltenen 776.
Phosphorwolframate der Aminofettsäuren 224.
Phosphorwolframsäure, Reagens 787.
Photomethämoglobin 468.
Phrenosin 348.
Phylloerythrin 374.
— Abhängigkeit v. Chlorophyllgehalt der Nahrung 375.
— Cholohämatin 374.
Phymatorhusin 384.
Physetölsäure 66.
Physikalische Methoden 17.
Phytin 271.
Phytosterin 312, 318.
— Reductionsproducte 317.
Pigmente 383.
Pigmentsteine der Galle 715.
Pigmentzellen, Nachw. in Sputis 696.
Pinit 271.
Pinna nobilis, Conchiolin 456.
Piperazin, Spermin 210.
Piperidin aus Cadaverin 214.
— Einwirkung auf Eiweiss 413.
Piria's Probe auf Tyrosin 288.
Placenta, Nucleoproteid 476.
Plasteine 422.
Platingefässe 8.
Pleuraflüssigkeit, Untersuchung 642.
s. seröse Flüssigkeit.
Polarisationsapparate 26.
Polarisationsprobe auf Zucker 109.
— Traubenzuckernachw. im Harn 604.
— Ausführung bei sehr geringem Zuckergehalt 605.
Polariskop 27.
Polaristrobometer nach Wild 27.
Polypeptide 414, 424.
— Allgemeine Eigenschaften 424.
— Auftreten bei der Säurehydrolyse 425.
— — bei tryptischer Verdauung 425.
— Darstellung aus schwach hydrolysierter Flüssigkeit als Diketopiperazine 425.
Polypeptide, Darstellung als β-Naphthalinsulfo-Verbindung 426.
— — als Polypeptide 426.
— Trypsinverdauung 528.
s. auch Dipeptidanhydride 425.
Polypeptidphosphorsäure 491.
Polysaccharide 119.
Pregl's Substanz aus Harn 433.
Probefrühstück 698.
Probemahlzeit 698.
Primäre Albumosen 415, 417.
Prochymosin 530.
— Darstellung 530.
— Trennung von Propepsin 522.
Profermente 521.
Prolin 263.
— abgekürzte Darstellung aus Gelatine 263.
— aus Eiweiss 390.
l-Prolin, Isolierung aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteine 508, 511, 512.
— Gehalt einiger Proteine an 518.
Propepsin 521.
— Darstellung 522.
— Trennung von Prochymosin 522.
Propionylameisensäure 491.
Propionsäure 58.
— Nachw. 59.
Propylamin 204, 217.
Prostatasteine, Amyloid 506.
Protagon 346.
— Vorkommen und Zusammensetzung 346.
— Darstellung aus Gehirn 347.
— Eigenschaften 348.
— Spaltung 348.
— Cholin 204.
— Nachw. im Eiter 688.
— Vorkommen in Sputis 695.
— Nachw. i. Gehirn 781.
Protagonartige Stoffe in Leukocyten, Sputum, Nebennieren, Nieren 347.
— in Galle 707, 710.
Protalbumose 415, 417, 418.
Protamine 388, 439.
— Vorkommen 439.
— Darstellung 439.
— allgemeine Eigenschaften 440.
— Salze 440.
— andere Verbindungen 441.
— Verhalten zu Fermenten, Hydrolyse 441.
Proteide 388, 457.
Proteinochromogen 299, s. Tryptophan.
Proteinstoffe 388, s. auch Eiweiss.
— Verhalten der Protamine zu P. 441.
— ungefähre Best. der Stickstoffverteilung 520.
— Best. in serös. Flüssigk. 662.
— — d. Gesamtproteinstoffe im Blut 673.
— — in Milch 722.
— — in Muskeln 776.

Proteinstoffe, Nachw. in Galle 711.
— in Talgdrüsen und ähnlichen Secreten 732.
— im Gehirn 780.
Protelastose 449.
Proteolytische Fermente der Gewebe 529.
Protocatechusäure aus Adrenalin 270.
Protokeratinose 446.
Protokyrine 414, 423.
Protone 441, 444.
Protosponginose 457.
Pseudoglobulin 406.
— Best. in serös. Flüssigk. 650.
Pseudomucin 501.
— Glukosamin 134.
— Guanidin 153.
— Lävulinsäure 88.
— Nachw. in serös. Flüssigk. 647.
Pseudonucleine 488, s. Paranucleine.
Pseudopepton von Neumeister 502, s. Ovomukoid.
Psyllaalkohol 93.
Psyllasäure 66, s. Psyllostearylsäure.
Psyllostearylsäure 66.
Ptomainbase $C_3H_6N_2O$, Isolierung 223.
Ptomaine 216, 390.
— einzelne P.-Basen 216 ff.
— Isolierung v. P. 221.
Ptyalin 531, s. diastatisches Ferment.
— Nachw. i. Speichel 690, 692.
Purin 168.
Purinbasen, Darstellung aus Harn 188.
— Best. d. P. u. Harnsäure im Harn 590.
— — d. P. im Harn 592.
— — nach Salkowski 592.
— — indirecte Verfahren 593.
— Isolierung a. autolysiert. Organen 778, s. auch Nucleinbasen.
Purinderivate 168.
Purindesamidase 535.
Purpurin 381.
Putrescin 211, 212, 217.
— Isolierung von P. und Cadaverin aus Harn 211, 212.
— — aus Harn, Fäces, faulenden Substanzen 211.
— — aus Fäulnisgemisch 221.
— Trennung von Cadaverin 222, 223.
— Nachw. i. Harn 631.
— — in Fäces 742.
— Isolierung a. autolysiert. Organen 778.
Putrin 220.
— Isolierung aus Fäulnisgemisch 224.
Pyknometer 18.
Pyocyanin 220, 387.
— im Eiter 688.
— im Eiterserum 689.
Pyogenin 351.
— Eiterserum 689.
Pyosin 351.
— im Eiterserum 689.
Pyoxanthose 388.
Pyridin, aus Melanoidinen 385.
Pyrimidin 162.
Pyrimidinbasen 162.
— in Nucleinsäuren 478.
— Isolierung von P. und Nucleinbasen aus d. Thymonucleinsäure 486.
— — aus autolysierten Organen 778.
Pyrimidinderivate 162.
Pyromucinornithursäure 253.
Pyrophosphorsäure 50.
Pyrrol aus Hämatin 356.
— aus Hämatoporph. 363.
— aus Molluskenfarbstoff 374.
— bei der Zersetzung d. Eiweiss 390.
— -ähnliche Körper aus Melanoidin 385.
Pyrrol-Reaction, s. Fichtenspahn-R.
Pyrrolidin aus Putrescin 213.
— aus Ornithin 254.
α-Pyrrolidincarbonsäure 263, s. Prolin.
Pyrrolidoncarbonsäure aus Glutaminsäure 243.

Q.

Quantitative Methoden 9.
Quappensperma, Histon 436.
Quebrachit 271.
Quecksilberkaliumjodid-Reagens 786.

R.

Ranovin 495.
Raupen, Vork. v. Ameisensäure 56.
Reductonovain 209.
— Isolierung aus Harn 632.
Reichert-Meissl'sche Zahl 101.
Reichl's Probe 392.
Reptilieneierschalen, Keratin 447.
Resorcin, Seliwanoff's Reaction 112.
Reststickstoff, Best. in seröser Flüssigkeit 651.
— Best. in Milch 730.
Rete Malpighi, Pigmente 383.
Reticulin 453.
Retina, s. Netzhaut.
Rhamnose 130.
Rhizocholsäure 314, 322.
Rhodanwasserstoff, s. Schwefelcyansäure 190.
Rhodizonsäure 272.
Rindergalle, s. Galle.
— Nucleoalbumin 496.
Rippentrichter 6.
Rosen der Auerhähne, Tetronerythrin 386.
Rosige Säure 381.
Rosin's Probe auf Gallenfarbstoff im Harn 629.
Rosolsäure 13.
Rubner's Probe 111, 119.
— im Harn 603, 613.
Rüben, Arginin 255.
— Asparaginsäure 240.
— Betain 207.
— Carnin 187.
— Glutaminsäure 242.
— Glutarsäure 84.
— Guanidin 153.

Rüben, Heteroxanthin 184.
— Isoleucin 238.
— Leucin 234.
— Tyrosin 285.
Rückenmark 779, s. Gehirn.
Rundzellensarkom, lymphatisches, Nucleoproteid 473.

S.

Saccharimeter 32.
Säuren, anorganische 44.
— der Fettreihe 55.
— Mehrbasische 81.
— $C_{16}H_{30}O_2$ 66.
— $C_{18}H_{28}O_2$ 68.
— $C_{18}H_{36}O_3$ 80.
Säureamide, Einwirkung auf Eiweiss 413.
Säurezahl 100.
Salkowski's Probe auf Cholesterin 315.
Salmin 440, 441.
— Gehalt an Aminosäuren 518..
Salpetersäure, Nachw. u. Best. im Harn 568, 575.
— Spec. Gewicht 790.
Salpetrige Säure, Nachw. im Harn 568.
— Nachw. im Speichel 693.
Salzsäure 44.
— Nachw. in Aschen 541.
— Bestimmung 549.
— — gewichtsanalytisch als Chlorsilber 550.
— — titrimetrisch nach Mohr 550.
— — bei Stoffwechselanalysen n. A. Neumann 551.
— Nachweis im Harn 567.
— Best. nach Mohr 571.
— — nach Volhard 571.
— — im eiweisshaltigen Harn 572.
— — im Hundeharn 572.
— gebundene im Mageninhalt 698.
— freie im Mageninhalt 698.
— Nachw. u. Best. der freien 698, 702.
— Best. der Gesamtsalzsäure 700.
— — — nach Sjöqvist 700.
— — — nach Lüttke 701.
— Nachw. u. Best. in Knochen 748, 750.
— Spec. Gewicht 790.
Samandarin 310.
Samandaridin 310.
Samandatrin 310.
Saponinsubstanzen, hämolytische Wirkung 667.
Saprin 219.
Sargdeckelkrystalle (i. Harn) 635.
Sarkin 179, s. Hypoxanthin.
Sarkom, Pigment 383.
— Nucleoproteid 473.
Sarkosin aus Kreatin 157.
— aus Heteroxanthin 185.
Sativinsäure 68.
— Isolierung 73.
Schalenhaut der Vogeleier, Keratin 447.
Scherer's Probe auf Inosit 272, 273 289.
Schilddrüse, Untersuchung 754, 777.
— Jod 45.
— Bernsteinsäure 82.
— Thyreoglobulin 409, 431, 777.
— Thyreojodin 410.
— Nucleoproteid 474.
— Nucleinsäure 480.
Schildpatt, Keratin 445.
Schilfschlauch zum Dialysieren 5.
Schleim, Galactose 113.
Schleimhaut der Luftwege, Mucin 498.
Schmelzpunkt, Bestimmung 19.
— bei hochschmelzenden Substanzen 20.
Schmidt's Probe auf Urobilin u. Bilirubin in Fäces 741.
Schnecken, Mucine der 500.
— Mantelmucin 500.
— Fussmucin 500.
Schneckenschalen, Conchiolin 456.
Schumm's Spektroskop 22.
Schwämme, Farbstoff 383, s Badeschwamm.
Schweineschmalz, Heptadekansäure 65.
Schwefel, Nachw. in organischer Substanz 54.
— Best. des Gesamtschwefels 552.
— — des bleischwärzenden Sch. 553.
— — des Gesamtschwefels im Harn 573.
Schwefelbleiprobe im Eiweiss 393.
Schwefelcyansäure 190.
— Entfernung aus Hundeharn bei Titration nach Volhard 572.
— Nachw. u. Best. im Harn 593.
— Nachw. u. Best. im Speichel 690, 692.
— im Nasensecret 694.
— im Conjunctivasecret 694.
Schwefelhaltige Aminosäuren 243.
Schwefelmethämoglobin 470.
Schwefelsäure, Vorkommen, Eigenschaften 47.
— Nachw. u. Best. in Aschen 541, 552.
— Nachw. im Harn 567.
— Bestimmung im Harn 573.
— — der Gesamtschwefelsäure 573.
— — der Sulfatschwefelsäure 573.
— Normal-Schwefelsäure 14.
— Gepaarte, s. Aetherschwefelsäure.
Schwefelwasserstoff, Vorkommen, Eigenschaften, Nachweis 46.
— aus Cystin 249.
— aus Eiweiss 390.
— in Sputis 695.
— Nachw. in Faeces 743.
Schweiss, Bestandteile 717.
— Allgemeine Eigenschaften 717.
— Untersuchung 717.
— Gewinnung des Untersuchungmaterials 717.
— Ameisensäure 56.
— Essigsäure 58.
— Propionsäure 58.
— Buttersäure 59.
— Caprylsäure 62.
— Hippursäure 275.
— Abscheidung der Fettsäuren 68.
Schwermetalle 40.

Scomberhiston 436.
Scombrin 442.
Scombron 444.
Scyllit 271, 273.
Scymnol 338.
Scymnolschwefelsäure 337.
Sebacinsäure 67.
Secrete, Untersuchung 689.
— — Speichel 689.
— — Speichelstein, Zahnstein 693.
— — Nasensecret 694.
— — Nasensteine 694.
— — Tränen 694.
— — Sputa 694.
— — Magensaft und Mageninhalt 696.
— — Pancreassaft 704.
— — Pancreassteine 705.
— — Darmsaft 705.
— — Galle 706.
— — Gallensteine 715.
— — Schweiss 717.
— — Milch 718.
— — Talgdrüsen u. ähnl. Secrete 731.
— — Sperma 733.
Sedimente s. Harnsteine bezw. Gallensteine
Sedimentum lateritium 381, 564.
Seehasensperma, Cyclopterin 443.
Seehundfett, Säure aus 66.
Seeigelsperma, Arbacin 438.
Sehnen, Untersuchung 753.
— Elastin 448.
— Collagen 449.
— Tendomukoid 504.
— Ligamentomukoid 505.
Sehpurpur 387.
Seide, Alanin 229.
— Fibroin 455.
— Sericin 445.
— Serin 250.
Seidel's Probe, Inosit 273.
Seidenleim 455.
Seife 66, s. Fettsäure.
— Best. in seröser Flüssigkeit 663.
— in Galle 707.
— — Best. 714.
— Vorkommen in Fäces 736.
— — in Muskeln 756.
Selachierorgane, Harnstoff 144.
Seliwanoff'sche Zuckerreaction 112.
— im Harn 613.
Semiglutin 452.
Sepiamelanin 384.
Sepsin 219.
Sericin 455.
— Gehalt an Aminosäuren 519.
Sericoin 455.
Serin 250.
— Darstellung durch Synthese 251.
— — des optisch activen 251.
— Eigenschaften 251.
— — optische 252.
— Nachweis 252.
— Oxydationen u. Reductionen 252.
— Umwandlungen 252.
Serin, Verbindungen 251.
— Vorkommen 250.
— aus Eiweiss 390.
l-Serin, Isolierung aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteine 508, 512.
— Gehalt einiger Proteine an 518.
Seröse Flüssigkeit, Allgemeines 642.
— Bestandteile 643.
— allgemeine Eigenschaften 643.
— Consistenz 644.
— Klarheit 644.
— Best. d. Trockenrückstandes 644.
— Nachweis u. Best. d. anorg. Salze 645.
— — der Proteinstoffe 646.
— — der Glukoproteide, phosphorhaltigen Proteide 646.
— — d. Serumalbumins, Serumglobulins, Fibrinogens 647.
— — der Albumosen 648.
— Best. d. gerinnbaren Eiweissstoffe 649.
— — d. Albumin + Globulin 649.
— — d. Albumin, Globulin 649.
— — d. Fibrinogens 650.
— — d. Gesamtstickstoffs u. Reststickstoffs 651.
— Nachweis u. Best. d. Ammoniaks 651.
— — — d. Harnstoffs 651.
— — — d. Kreatins 654.
— — — d. Kreatinins 654.
— — — d. Harnsäure 654.
— — d. Amino- u. Diaminosäuren 655.
— — u. Best. d. Zuckers 655.
— Entfernung von Eiweiss 656.
— Nachweis u. Best. der ätherlöslichen Substanzen (Fett, Phosphatide, Cholesterin) 660.
— Best. d. Glycerins 660.
— Nachweis v. Farbstoffen 661.
— Abscheid. u. Nachweis von Fettsäure 69, 661.
— Nachweis u. Best. d. Milchsäure 661.
— — von Bernsteinsäure 661.
— — von Allantoin 661.
— — von Kreatin 661.
— — von Inosit 661.
— Isolierung und Nachweis von Gallensäuren 334, 661.
— quantitatiye Analyse 662.
Serolin 319.
Serosamucin 499.
Serumalbumin 395.
— Vorkommen 395.
— Darstellung aus Blutserum oder pathologischen Transsudaten 395.
— Darstellung von krystallisiertem S. 395.
— Zusammensetzung 396.
— Coagulation 396.
— optische Eigenschaften 397.
— Verhalten zu Säuren 397.
— — zu Alkalien 397.
— Hydrolyse 398.
— Unterschied von Ovalbumin 397.

Serumalbumin, Gehalt an Aminosäuren 518.
— Nachweis in seröser Flüssigkeit 646, 647.
— Best. 649, 650.
Serumglobulin 403, 406.
— Darstellung 406.
— Einheitlichkeit 406.
— Gehalt an Kohlehydratcomplex 407.
— Gehalt an Aminosäuren 518.
— Best. im Harn 623.
— Nachweis u. Best. in seröser Flüssigkeit 646, 647, 649, 650.
Siedepunkt, Bestimmung 20.
Sinistrin, tierisches 125, 126.
Skatocyanin 376.
Skatol 295.
— Darstellung aus Fäulnisgemisch. 307.
— Trennung von Indol 296, 738.
— Nachweis 296.
— Nachweis u. Best. in Fäces 736, 738.
— aus Tryptophan 302.
— aus Melanoidinen 385.
— aus Eiweiss 390.
Skatolcarbonsäure 297.
Skatolessigsäure 298.
Skatolrot, Unterschied von Urorosein 382.
Skatosin 297.
Skatoxyl 297.
Skatoxylschwefelsäure 342.
Smegma, Bestandteil u. Untersuchung 731.
Soxhlet's Extractionsapparat 15.
— Fettbest. in Milch 727.
— Tabelle dazu 794.
Specifische Drehung 29.
Specifisches Gewicht 18.
— Tabellen 789.
Speckhaut 669.
Spectralanalyse 21.
— quantitative 23.
Spectrophotometrie 23.
Spectroskop nach Schumm 22.
— nach Browning 22.
Speichel, Allgemeines 689.
— Bestandteile 689.
— allgemeine Eigenschaften 690.
— pathologische Veränderungen 690.
— Secrete der einzelnen Speicheldrüsen 691.
— Nachw. der Proteinstoffe 691.
— — der Fermente 691.
— — u. Best. der Schwefelcyansäure 190, 692.
— — der salpetrigen Säure 693.
— — des Ammoniaks 693.
— — des Harnstoffs 693.
— — der Harnsäure 693.
— — des Leucins 693.
— — der Milchsäure 693.
— — der anorganischen Salze 693.
Speichelkörperchen 690.
Speichelsecret, Maltase 532.
Speichelsteine 693.
Sperma 733.
Sperma, Trennung in Zwischenzellenflüssigk. und Spermatozoen 733.
— — der Spermatozoen in Köpfe und Schwänze 733.
— Untersuchung 734.
Spermin 210, 217.
Sphingomyelin 201.
Sphingosin 349.
Spinnenexcremente, Guanin 176.
Spinnenseide 455.
— Gehalt an Aminosäuren 519.
Spongin 431, 457.
— Gehalt an Aminosäuren 519.
Spongosterin 312, 317.
Sputa 694.
— Bestandteile 694.
— allgemeine Eigenschaften 695.
— Nachw. u. Best. des Mucins 695.
— — u. Best. der Fettsäuren 696.
— — der Farbstoffe 696.
Stärke, lösliche 125.
Steapsin s. Lipase.
Stearin 99.
Stearinsäure 63.
— in Lecithinen 195.
— aus Cerebrin 351.
— aus Homocerebrin 351.
— Stearin- u. Palmitinsäuregemisch, Erstarrungspunkt 64.
— Abscheidung und Trennung 70.
Stickoxydhämoglobin 466.
Stickstoff, Nachweis in organischen Substanzen 53.
— — nach Lasseigne 53.
— Bestimmung des Gesamtstickstoffs nach Kjeldahl 560.
— — im Harn 560.
— — bei eiweisshaltig. Substanzen 562.
— — bei starkem Stossen 562.
— — des Gesamtstickstoffs im Harn nach Liebig-Pflüger 578.
— Ungefähre Bestimmung der Verteilung in Proteinen 520.
Störsperma, Sturin 443.
— Sturon 444.
Stokes'sche Lösung, Reagens 787.
Strontium, Vorkommen 38.
Stützgewebe, Knochen, Zahnsubstanzen und Verkalkungen 747.
— Knorpelgewebe 752.
— Bindegewebe 753.
Sturin 440, 443.
— Gehalt an Aminosäuren 518.
Sturon 444.
Sublingualisspeichel 691.
Submaxillardrüse, Nucleoproteid 476.
— Mucin 498.
Submaxillarmucin 498.
— Glukosamingehalt 133.
Submaxillarisspeichel 691.
Sulfatschwefelsäure, Best. im Harn 573.
Sulfhämoglobin 469.
Sulfocyansäure s. Schwefelcyansäure.
Suprarenin, s. Adrenalin 268.

Synovia, Untersuchung 642, s. seröse Flüssigkeit.
Synoviaflüssigkeit, Serosamucin 499.
Synovin 500.
Syntonine s. Acidalbumine 412.
— Gehalt an Aminosäuren 518.

T.

Talgdrüsensecret, Bestandteile und Untersuchung 731.
Taschenspectroskop nach Browning 22.
Taurin 243.
— Darstellung aus Galle 244.
— Best. in der Galle 714.
— Nachw. in Muskeln 762.
Taurocarbaminsäure 245.
Taurochenocholsäure 337.
Taurocholeinsäure 336.
Taurocholsäure 333.
— Vorkommen 333.
— Darstellung 333.
— — aus Dorschgalle 333.
— — aus Hundegalle 334.
— — aus Rindergalle 334.
— Isolierung d. Gallensäuren aus tierischen Flüssigkeiten (Harn, seröse Flüssigkeiten) 334.
— Eigenschaften 335.
— — optische 336.
— Salze 335.
— Spaltung 336.
— Nachw. 336.
— Nachw. neben Glyko- und Cholsäure 335.
Teelauge, Adenin 181.
Teichmann'sche Häminkrystalle 356.
— Häminprobe 674.
Tendomukoid 344, 497, 504.
— Verhalten zu Verdauungssäften 505.
Terpene, Cholesterin Farbenreactionen 315.
Tetanin 220.
Tetanotoxin 217.
— hämolytische Wirkung 667.
Tetrabenzoylglukosamin 135.
Tetrabromstearinsäure 68.
Tetramethylendiamin s. Putrescin 211.
— aus Ornithin 254.
— Isolierung aus Fäulnisgemisch 223.
Tetraoxyaminocapronsäure 252.
Tetraoxystearinsäure 68.
Tetrapeptid aus Seidenfibroin 427.
Tetronerythrin 386.
Theobromin 168.
— aus Xanthin 176.
Theophyllin 168, 184.
Thermometer nach Zincke 19.
α-Thiomilchsäure aus Cystin 250.
— aus Keratin 446.
β-Thiomilchsäure aus Cystin 250.
Thioschwefelsäure 48.
Thiosulfatlösung, Titerstellung nach Volhard 102.
Thymin 162.
— Vorkommen 163.
— Darstellung 163.
— — aus Nucleinsäure 163.
— Eigenschaften 163.
— Verbindungen 164.
— Umwandlung 164.
— Nachweis 164.
Thyminsäure 483.
Thymolglukuronsäure 342.
Thymonucleinsäure 153, 478.
— Darstellung nach Schmiedeberg aus Lachsmilch 479.
— — aus Thymus 480.
— — nach A. Neumann 480.
— Zusammensetzung 481.
— Eigenschaften 482.
— — optische 482.
— Umwandlung durch Erhitzen mit Wasser 482.
— — durch Fermente 483.
— Hydrolyse 483.
— secundäre Spaltungsproducte 483.
— Oxydation 484.
— Nachweis 484.
— Isolierung der Nuclein- und Pyrimidinbasen aus T. 486.
— Lävulinsäure 88.
— Thymin 162.
— Cytosin 164.
Thymus, Ameisensäure 56.
— Bernsteinsäure 82.
— Histon 435.
— Parahiston 438.
— Nucleoproteide 472.
— Thymonucleinsäure 478.
— Arginase 534.
— Nuclease 534.
Thymusleukocyten, Valin 231.
Thyreoglobulin 409, 431, 777.
Thyreoidea, Untersuchung 754, 777.
— Jod 45.
— Bernsteinsäure 82.
— Thyreoglobulin 409, 431.
— Thyreojodin 410.
— Nucleoproteid 474.
— Nucleinsäure 480.
Thyreojodin 410.
Tierische Membranine 454.
Tierisches Dextran 125.
— Gummi, s. Gummi tierisches 137.
— Sinistrin 125, 126.
Tintenfisch, Sepiamelanin 384.
Titrationen 11 ff.
Titrierflüssigkeiten 11.
Tollens' Reaction zur Unterscheidung von Pentosen u. Glukuronsäure im Harn 615.
Torpedo marmorata, Ichthulin 495.
Tränen 694.
Transsudate, Untersuchung 642, s. seröse Flüssigkeiten.
— Palmitinsäure 63.
— Stearinsäure 63.
— Glycerinphosphorsäure 94.

Transsudate, Harnstoff 144.
— Cholesterine 311.
— Fibrinogen 904.
Traubensaft, Inosit 271.
Traubenzucker, Vorkommen 104.
— Darstellung a. diabetischem Harn 105.
— Isolierung 105.
— Eigenschaften 106.
— Verhalten zu Alkalien u. alkalischen Erden 106.
— Verhalten zu Schwermetallen, Reduktionsvermögen 107.
— Verhalten zu Säuren 107.
— Verbindungen 108.
— Gärungen 109.
— Nachw. 109.
— Bildung a. Jecorin 200.
— — aus Fruchtzucker 112.
— Unterscheidung v. Fruchtzucker 112.
— Nachw. im Harn 601.
— Best. im Harn 604.
— — durch Polarisation 604.
— — durch Titration mit Fehling'scher Lösung 605.
— — nach Pavy 607.
— — nach Bang 609.
— — nach Knapp 611.
— durch Gärung 611.
— Nachw. u. Best. in serös. Flüssigkeit. 655.
— — — durch Polarisation 658.
— — — durch Titration nach Bertraud 658.
— — im Mageninhalt 704.
— — in Muskeln 763.
— — des durch Speichelferment gebildeten T. 692.
Trennungsmethoden 2.
Triaethylamin 204, 217.
Triaminomonophosphatid 202.
Triarachin 100.
Trichloraethylalkoholglukuronsäure 131.
Trilaurin 100.
Trimethylamin 203, 209, 217.
— Isolierung aus Fäulnisgemisch 222.
Trimethyloxaethylammoniumhydroxyd 204, s. Cholin.
γ-Trimethyloxybutyrobetain 208, s. Carnitin.
Trimethylvinylammoniumhydroxyd s. Neurin 206.
Trimyristin 100.
Triolein 99.
Trioxybenzoesäure 293, s. Gallussäure.
2-6-8-Trioxypurin 168, s. Harnsäure.
Tripalmitin 99.
Tristearin 99.
Trockengläschen 7.
Trockenpancreas nach Kühne 528, s. Trypsin.
Trockenschrank 7.
Trocknen 7.
Trommer's Probe auf Zucker 110.
— im Harn 601.
— bei geringem Zuckergehalt 602.
Tropäolin, Nachw. d. freien Salzsäure im Mageninhalt 699.
Trypsin 527.
— Vorkommen 527.
— Zymogen 527.
— Darstellung 527.
— Fermentwirkung 527.
— Darstellung tryptischer Verdauungsflüssigkeit 527.
— Untersuchung tryptischen Verdauungsgemisches 528.
— Producte d. trypt. Verdauung 528.
— Nachw. i. Harn 628.
— Bildung von Albumose u. Peptonen 413.
— Verhalten zu nativen Eiweisskörpern 390.
— — zu Fibrin 411.
— — zu Polypeptiden 424.
— — zu Protaminen 441, 444.
— — zu Keratinin 445.
— — zu Koilin 448.
— — zu Elastin 449.
— — zu Ichthylepidin 449.
— — zu Collagen u. Glutin 450, 452.
— — zu Reticulin 453.
— — zu Membranin 455.
— — zu Conchiolin 456.
— — zu Oxyhämoglobin 462.
— — zu Hämoglobin 462.
— — zu Kohlenoxydhämoglobin 465.
— — zu Nucleoproteiden 471.
— — zu Thymonucleinsäure 483.
— — zu Casein 490.
— — zu Vitellin-Lecithinverbindung 493.
— — zu Submaxillar-Mucin 498.
— — zu Ovomukoid 503.
— — zu Chondro-, Tendo-, Ligamento- u. Osseomukoid 506.
— — zu Amyloid 506.
Trypsinfibrinpepton 421.
Trypsinglutinpepton 421.
Trypsinogen, Nachw. in Pancreassaft 704.
Tryptophan 299.
— Darstellung 299.
— — aus Casein 299.
— Eigenschaften 300.
— — optische 302.
— Nachw. 302.
— Umwandlungen 302.
— Verbindungen 301.
— Vorkommen 299.
— aus Eiweiss 390.
— Isolierung aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteine 299.
— Gehalt einiger Proteine an T. 518.
— Beziehung zur Kynurensäure 302, 308.
— — zu schwarzen Farbstoffen 383.
— — zur Xanthoproteinprobe im Eiweiss 392.
— — zur Adamkiewicz'-Probe im Eiweiss 392.
— — zur Furfurolprobe im Eiweiss 392.
— — zu Reichl's Probe im Eiweiss 392.

Tryptophan, Beziehung zu Ehrlich-Neubauer's Probe im Eiweiss 392.
Tryptophanreactionen 392.
Tübinger Galle 331.
Tunicin 126.
Turacin 42, 387.
— aus Hämatoporphyrin 387.
Turacoporphyrin 387.
Typhotoxin 218.
Tyroleucin 238.
Tyrosinase 267, 283, 284, 288, 290, 302, 303, 536.
Tyrosin 285.
— Darstellung 285.
— — aus Seide 285.
— Eigenschaften 286.
— — optische 287.
— Nachweis 288.
— Umwandlungen 287.
— Verbindungen 286.
— Vorkommen 285.
— aus Eiweiss 390.
— Gehalt einiger Proteine an T. 518.
— Isolierung aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteine 515.
— — aus tryptischen Verdauungsgemischen 528.
— — aus Harn 625.
— Nachw. in Harnsteinen 637, 638, 639.
— — in serösen Flüssigkeiten 655.
— — im Eiter 688.
— — in Atherombälgen 732.
— — in Fäces 742.
— Beziehung zu schwarzen Farbstoffen 383.
— aus Melanin 384.
— Derivat von Danilewski 289.
— Hydantoin 289.
— Hydantoinsäure, 289.

U.

Uffelmann'sche Reaction auf Milchsäure 77.
— — im Mageninhalt 699.
Uhrglasapparat 7.
Unterschweflige Säure 48.
— aus Cystin 249.
— Entfernung aus Hundeharn bei Titration nach Volhard 572.
Uracil 162, 167.
— Thymonucleinsäure 483.
— Isolierung aus autolysierten Organen 778.
Uracilcarbonsäure 167, s. Orotsäure.
Urate s. Harnsäure.
— Nachw. in Harnsteinen 637, 638.
Uratsteine im Harn 634.
Uricolytisches Ferment 535.
Urobilin 377.
— Vorkommen 377.
— Entstehung 378.
— Zusammensetzung 378.
— Darstellung aus Harn 378.
— — aus Fäces 379.
Urobilin Eigenschaften 379.
— Spectrum 380.
— Verhältnis zu Hydrobilirubin 380.
— Harnfarbe 565.
— Nachw. im Harn 628.
— — in Galle 707, 711.
— in Gallensteinen 716.
— Nachw. neben Bilirubin im Dünndarminhalt 735.
— — in Fäces 740.
Urobilinähnlicher Körper aus Urochrom 377.
— aus Hämatin 356.
— aus Hämin 361.
— aus Hämatoporphyrin 363.
— aus Mesoporphyrin 365.
— aus Hämopyrrol 366.
— ähnliches Spectrum von Vanessen-Farbstoff 470.
Urobilinogen 380.
— in Galle 707.
— Nachw. in Fäces 740.
Urobutylchloralsäure 131.
Urocaninsäure 310.
— -ähnliche Verbindung von Swain 311.
Urochloralsäure 131, 342.
Urochrom 376, 433.
— Vorkommen 376.
— Darstellung aus Harn 376.
— Zusammensetzung 377.
— Eigenschaften 377.
— Umwandlung 377.
— Verhalten zu Aldehyd 377.
Uroerythrin 381.
— Trennung vom Urobilin 381.
— — von Hämatoporphyrin 381.
Uroferrinsäure 433.
Urofuscohämatin 381.
Uroleucinsäure 290, 292.
— Berichtigung 785.
Uroprotsäure 433.
Urorosein 382.
— Harnfarbe 565.
— Chromogen 297.
— s. auch Indolessigsäure 382.
Urorubrohämatin 381.
Uroxansäure 172.
Ursocholeinsäure 328.
Uvitinsäure aus Cystin 249.

V.

Valeriansäure 60.
d-Valeriansäure 61.
— aus Leucin 237.
— aus Eiweiss 390.
Valin 231.
— Darstellung 232.
— — d. aktiven V. 232.
— Eigenschaften 232.
— — optische 233.
— Nachweis 233.
— Trennung von Leucin 232.
— Verbindungen 232.

Valin, Vorkommen 231.
— Zersetzung 233.
— aus Eiweiss 390.
— Isolierung aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Proteine 508, 511, 512.
— Gehalt einiger Proteine an 518, 519.
Veraschung 531, s. Aschen.
Verkalkungen 747, s. Knochen.
Vernix caseosa, Bestandteile und Untersuchung 731.
— Cholesterinester 318.
Verseifung der Fette 98, **103**.
Verseifungszahl 101.
Vitellin 492.
Vitellin-Lecithinverbindung 493.
Vitellinsäure 492.
Vitellolutein 385.
Vitellorubin 385.
Vitiatin 156.
— Isolierung aus Harn 632.
Vivianit 40.
— im Darminhalt 746.
— in Knochen 747.

W.

Wage, Benutzung 10.
Walfischmilch 116.
Walrat 104.
— Laurin 63.
— Myristinsäure 63.
— Stearin 63.
— Palmitin 63.
— Physetölsäure 66.
— Cetylalkohol 92.
— Octadekylalkohol 92.
Wasser, spec. Gewicht bei verschiedenen Temperaturen 791.
Wasserstoff, aus Eiweiss 390.
— in Fäces 736.
Wasserstoffsuperoxyd, Nachw. im Harn 568.
— im Speichel 690.
Wasserstrahlpumpe 6.
Weidel'sche Reaction 164, 166, 167, **176**, 184, 185, 186, 187, **262**, 309.
Weizenkleie, Tyrosinase 267.
Wespenbrutzellendeckel, Fibroin 455.
Weyl's Reaction auf Kreatinin 161.
Wheeler u. Johnson's Reaction auf Cytosin 107.
Windaus' Probe auf Cholesterin 314.
Wittepepton 414.
Wollschweiss, Bestandteile u. Untersuchung 731.
Wollschweiss, Bernsteinsäure 82.
— Carnaubasäure 65.
— Carnaubylalkohol 92.
— Cholesterinester 318.
— Hyaenasäure 65.
— Glutarsäure 84.
— Lanocerinsäure 81.
— Lanopalmitinsäure 80.
— Isocholesterin 317.
— Leucin 233.
— Myristinsäure 63.
— Palmitinsäure, Stearinsäure 63.
Wurster's Probe auf Tyrosin 289.

X.

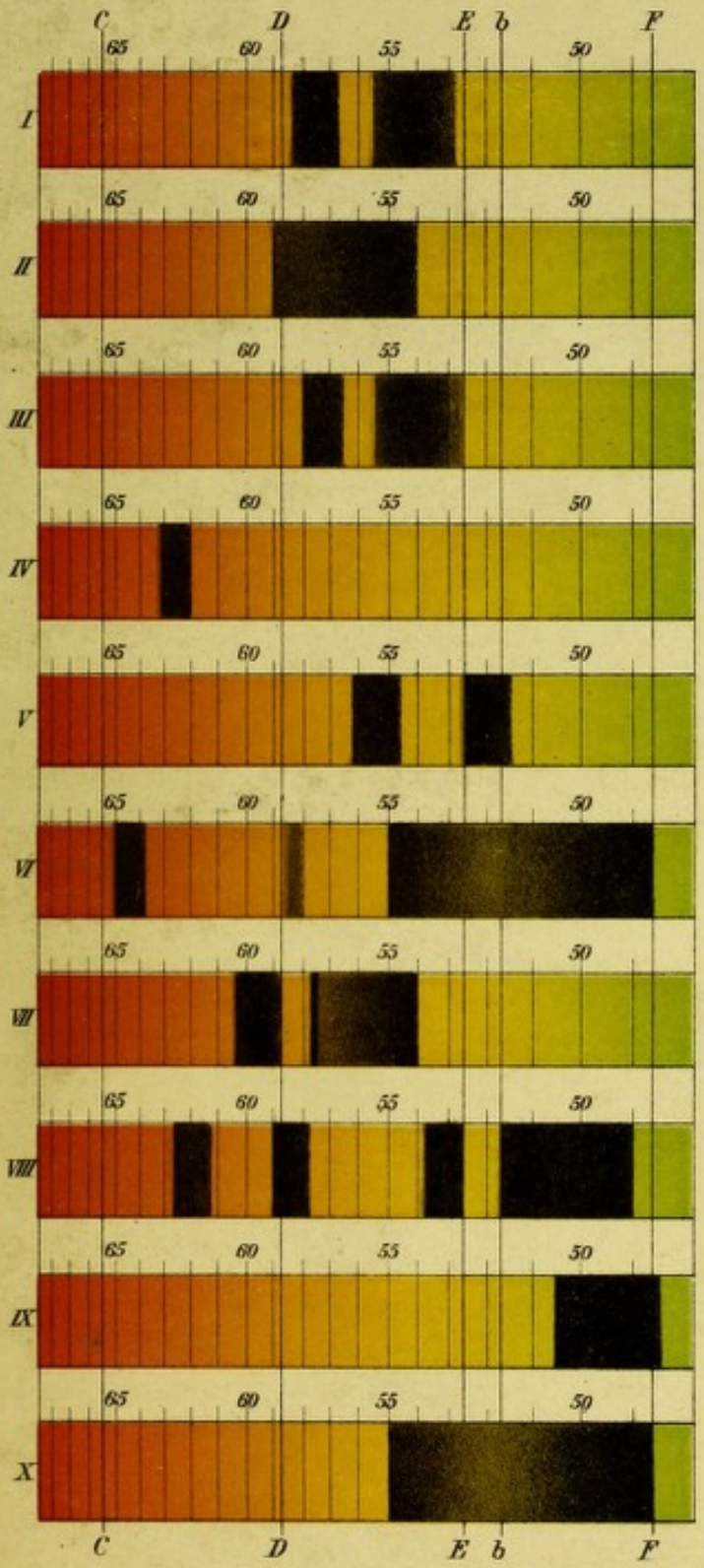
Xanthin, Vorkommen 168, 173, **174**.
— Darstellung 174.
— Eigenschaften 175.
— Verbindungen 175.
— Umwandlungen 176.
— Nachweis 176.
— Darstellung aus Harn 188.
— Trennung von Heteroxanthin und 1-Methylxanthin 188.
— Nachw. in Harnsteinen 637, 640.
— Best. in Muskel 769.
— Trennung von Hypoxanthin 769.
— Methylderivate 183.
Xanthinprobe 176.
Xanthinsteine im Harn 634.
Xanthoprotein 431.
Xanthoproteinreaktion 282, 288, 290, 303, **392**, 470.
Xanthoproteinsäure 431.
Xyliton aus Melanin 384.
l-Xylose **129**, 130.
— aus Lebernucleoproteid 475.
— aus Guanylsäure 485.
— aus Inosinsäure 486.

Z.

Zahncement, Zahnschmelz 747.
Zahnstein 693.
Zahnsubstanzen 747, s. Knochen.
Zellen, Isolierung aus Organen 755.
Zincke's abgekürztes Thermometer 19.
Zink, Vorkommen, Eigenschaften 42.
Zucker 110, s. Traubenzucker, Fruchtzucker usw.
Zuckergärung, Glycerin 93.
Zuckersäure 115.
Zuckerschlempe s. Rüben.
Zymogene 521.

Druck von L. Schumacher in Berlin N. 24.

WELLCOME LIBRARY INSTITUTE



Oxyhämoglobin (S. 463).

Hämoglobin (S. 463).

Kohlenoxydhämoglobin (S. 465).

Methämoglobin (S. 467). Ueber weitere Streifen siehe a. a. O.

Hämochromogen in alkalischer Lösung (S. 353).

Hämatin in schwefelsäurehaltiger alkoholischer Lösung (S. 355).

Hämatoporphyrin in saurer Lösung (S. 362).

Hämatoporphyrin in alkalischer Lösung (S. 363).

Urobilin (S. 380).

Uroerythrin (S. 381).