

Zum Verhalten der Aldehyde, des Traubenzuckers, der Peptone, der Eiweisskörper und des Acetons gegen Diazobenzolsulfonsäure.

Von

Dr. Petri.

(Mittheilung aus dem Laboratorium der Heilanstalt des Dr. Brehmer in Görbersdorf.)
(Der Redaktion zugegangen am 12. März 1884)

Schon vor länger als einem Jahre fand ich, dass Diazobenzolsulfonsäure sowohl mit Traubenzucker als auch mit Peptonen in alkalischen Lösungen intensive Farbenreaktionen giebt. Noch bevor ich dies veröffentlichte, erschien die erste Arbeit¹⁾ Penzoldt's über die neue Traubenzuckerreaktion. Penzoldt und Fischer²⁾ haben alsdann nachgewiesen, dass letztere Reaktion eine neue allgemeine Aldehydreaktion ist. Das Spectrum des fraglichen rothen Farbstoffs habe ich zuerst untersucht und kurz beschrieben in meiner ersten Arbeit über die Diazosäure³⁾. Der Spektralbefund wurde bestätigt in einer späteren Arbeit von Escherich⁴⁾. Weitere Erfahrungen über das Verhalten der Säure gegen Peptone, sowie über das Spectrum der bez. Farbstoffe sind von mir zuletzt Ende vorigen Jahres in einer Arbeit niedergelegt, die gerade jetzt im Druck erschienen⁵⁾.

Bemühungen, die fraglichen Farbstoffe zu isoliren, blieben bisher resultatlos. Beim weiteren Studium der gefärbten Lösungen ist es mir aber gelungen, einige charakteristische Reaktionen derselben zu finden. Ferner habe ich

1) Berliner klinische Wochenschrift 1883, Nr. 14.

2) Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft 1883, S. 657.

3) Zeitschrift für klinische Medicin 1883, Bd. VI, H. 5.

4) Deutsche medicinische Wochenschrift 1883, Nr. 45.

5) Zeitschrift für klinische Medicin 1884, Bd. VII, H. 5.

die gewiss nicht uninteressante Entdeckung gemacht, dass der rothbraune Farbstoff, welchen Peptone und in anscheinend etwas schwächerem Masse auch die löslichen Eiweiss-substanzen mit der Diazosäure geben, übergeführt werden kann in einen prachtvoll fuchsinrothen Körper, der sehr wahrscheinlich mit dem Traubenzucker-Aldehyd-Farbstoff identisch ist.

Nachstehend theile ich meine neuen Erfahrungen über die Reaktionen, nebst den betreffenden Spektralbefunden in Kürze mit.

I. Die Traubenzucker-Aldehyd-Reaktion.

Die Aldehyde der Fettreihe und der Traubenzucker¹⁾ geben in verdünnter Lauge gelöst, mit der alkalischen Lösung der Diazobenzolsulfonsäure versetzt, nach 10 bis 20 minutenlangem Stehen eine schön fuchsinrothe Reaktion. Man kann das Hervortreten der Färbung durch vorsichtiges Anwärmen beschleunigen. Nothwendig ist die Gegenwart fixer Alkalien. Mit Ammoniak gelingt die Reaktion nicht. Hat man zwischen Aldehyd (oder Zucker) Diazosäure und Alkali das richtige Verhältniss getroffen, so ist die Lösung rein fuchsinroth und liefert den nachstehenden Spektralbefund am deutlichsten. Ist die Menge des Aldehyds zu gross, die Lauge zu stark, so bilden sich leicht harzige, gelbe bis braune Nebenprodukte, welche den Farbenton sehr ändern. Durch Schütteln mit Chloroform kann man diese gelben Substanzen entfernen. Ist die Diazosäure in grösserem Ueberschusse vorhanden, oder die Aldehydmenge zu gross, so blässt die Färbung bald ab. Gut getroffene Reaktionen behalten ihre schöne Fuchsinfärbung tagelang, während diese andernfalls fast unter den Händen verschwinden kann. Die aromatischen Aldehyde geben, wie Penzoldt und Fischer gefunden, erst bei gleichzeitiger Anwendung von Natriumamalgam die Reaktion. Diese Substanz beschleunigt ebenfalls das Zustandekommen der Färbung bei den fetten Aldehyden und beim Traubenzucker.

¹⁾ Wie Traubenzucker verhalten sich auch andere Zuckerarten, sowie Gummisubstanzen (Gummi arabicum, Agar-Agar).

Die entstandenen Lösungen sind fuchsinroth mit leicht bläulichem Schimmer, der ebenso wie ein schön rosarother Schüttelschaum, besonders bei einiger Verdünnung bemerkbar ist.

Concentrirte Lösungen absorbiren scharf schon vor C ab und lassen nur dunkelrothes Licht durch. Beim successiven Verdünnen weicht zunächst die immer noch scharf einsetzende, intensive Absorption nach D hin zurück. An dieser Grenze bleibt sie bei weiterem Verdünnen vorläufig stehen, nur verliert sie an Intensität. Gleichzeitig tritt im Blauen zwischen F und G eine Aufhellung ein. Bei geeigneter Verdünnung zeigt das Spektrum demnach zwei Absorptionsmaxima. Das eine, minder starke, liegt gleich nach D. Von dort bleibt die Absorption ziemlich gleichmässig stark bis F, um dann zur Aufhellung bei F $\frac{1}{2}$ G allmählig abzufallen. Kurz vor G steigt die Absorption wieder etwas steiler an bis zum zweiten stärkeren Maximum, das bei G liegt. Von dort anscheinend gleichmässige Absorption des Violett. Bei weiterem Verdünnen wird die Aufhellung im Blauen grösser, aber die Absorption im Grünen von D ab ist, zuletzt als schwacher Schatten noch so lange constatirbar, als die Lösung einen rosa Schein hat. Später bleibt nur noch die Absorption im Violett, bis endlich auch diese aufgehellt wird.

Gegen Reagentien zeigen die rothen Lösungen übereinstimmend folgendes Verhalten.

Ein Ausschütteln des Farbstoffs oder eines seiner nachstehend erwähnten Umwandlungsprodukte vermittels Aether Chloroform, Benzol, Schwefelkohlenstoff gelingt nicht.

Vorsichtiges Neutralisiren mit einer Mineral- oder organischen Säure bringt den Farbstoff zum Verschwinden. Es entsteht eine gelbe Färbung, die von E ab ziemlich scharf beginnende starke Absorption liefert¹⁾. Beim Zusatz von mehr Mineralsäure wird die Farbe wieder roth, jedoch ist dieses Roth von dem ursprünglichen Fuchsinroth der

¹⁾ Im 15 mm. weiten Reagenzrohre.

alkalischen Lösung deutlich verschieden, gibt auch ganz anderes Spektrum. Von D ab ziemlich starke und fast ganz scharf beginnende Absorption, die beim Verdünnen sich abflacht, nach E zurückweicht, und schliesslich in die des zuletzt erwähnten gelben Farbstoffs überzugehen scheint. Im Blauen keine Aufhellung. Dementsprechend zeigt die durch Mineralsäuren hervorgerufene Röthung auch nicht den bläulichen Fuchsinschimmer, sondern einen Stich in das sogenannte Postroth. Organische Säuren rufen dies Roth nicht hervor. Durch Versetzen mit Ammoniak wird dasselbe wieder in gelb übergeführt.

Werden die durch Säuren gelbgemachten Lösungen selbst mit viel Ammoniak versetzt, so gelingt es doch nicht, die vor dem Ansäuern vorhandene schöne Fuchsinfärbung zu regeneriren. Dahingegen lässt Alkalisiren mit fixen Laugen, oder Zusatz von solchen zur ammoniakalischen gelben Lösung den fuchsinrothen Farbstoff mit dem charakteristischen breiten Absorptionsband im Grünen sofort wieder erscheinen.

Brom, Chlor, Jod, schweflige und salpetrige Säure zerstören die Färbung.

Lässt man bei Abschluss der Luft Reduktionsmittel, wie Natriumamalgam oder Zinkstaub auf die fuchsinrothen Lösungen einwirken, so verschwindet die Färbung ebenfalls, kehrt aber sofort wieder, wenn man Sauerstoff Zutreten lässt, z. B. vom Zinkstaub bei Luftzutritt abfiltrirt. Die durch Reduktion entfärbten Lösungen ziehen den Sauerstoff begierig an.

II. Die neuen Pepton-Eiweiss-Reaktionen.

1. Werden Peptone oder Eiweisskörper in wässriger Lösung mit der Diazosäure versetzt, so entsteht nur eine schwache Gelbfärbung. Versetzt man die Lösung aber mit Ammoniak oder fixem Alkali, so tritt je nach der Concentration eine orangegelbe bis tief braunrothe Färbung auf. Am intensivsten erscheint diese Farbenreaktion, wenn man eine concentrirte, alkalische Peptonlösung mit

einer frisch bereiteten alkalischen Lösung der Diazosäure versetzt. So ist die Färbung tief braunroth, mit blutrothem Schüttelschaum. Serumeiweiss, käufliches Albumin, Kasein, Eiereiweiss zeigen alle eine gelbe bis orangegelbe Färbung. Die Reaktion scheint bei Peptonlösungen besonders intensiv zu sein. Ammoniak scheint die Reaktion zu begünstigen, liefert aber schon für sich mit der Diazosäure gelbe Produkte. Der gelbe Farbstoff ist sehr haltbar.

Spektroskopisch zeigen eben durchsichtige Lösungen scharfe Absorption von B $\frac{1}{2}$ C ab. Successives Verdünnen lässt die in ihrer Steilheit noch wenig beeinträchtigte Absorption allmähig bis nach D zurücktreten. Bei noch weiterem Verdünnen setzt die Absorption vorläufig immer noch in D oder gleich nach D ein, verliert aber an Steilheit. Weiter verdünnt, zieht sie sich unter Abflachung ganz allmähig nach dem Violett hin zurück, ohne dass ein Absorptionsband oder eine Aufhellung zu Tage tritt.

Von der gelben, ebenfalls ziemlich intensiven Färbung, welche Ammoniak allein mit der Diazosäure gibt, ist die Peptonreaktion (abgesehen von den weiter zu erwähnenden Differenzen) durch das rothe, resp. orangene Colorit unterschieden. Spektroskopisch zeigt denn auch die gelbe Ammoniakreaktion selbst in ziemlich dicken Schichten, resp. in starker Concentration scharfe Absorption erst von nahe E ab, während die gelben Strahlen und ein Theil der grünen noch hindurch gelassen werden. Erst bei starken Verdünnungen verschwindet der orangerothe Ton der Peptonreaktion, und ist das entstandene Gelb von dem Gelb der Ammoniakreaktion ununterscheidbar¹⁾.

Wie durch den geschilderten Spektralbefund, so ist die neue Peptoneiweissreaktion auch in ihrem Verhalten gegen Reagentien von der zuerst beschriebenen Aldehydraubenzuckerreaktion verschieden.

Ausschüttelungsversuche misslingen auch hier.

1) Ueber die Empfindlichkeit dieser Reaktion in reinen Lösungen, siehe meine Arbeit: Zeitschrift für klinische Medicin, Bd. VII, H. 5.

Mit Säuren verschwindet die roth-orange Färbung um einem hellen Gelb Platz zu machen. Mineralsäuren im Ueberschuss verändern dies nicht. Sowohl auf Zusatz von Ammoniak wie durch fixe Lauge ist die ursprüngliche braun-rothe oder orangene Färbung sofort wieder herstellbar.

Freie Haloide, salpetrige Säure etc. zerstören auch diesen Farbstoff.

2. Bei Anwendung von metallischen Reduktionsmitteln, wie Natriumamalgam oder Zinkstaub unter gleichzeitigem Zutritt des Luftsauerstoffs verschwindet die eben beschriebene Reaktion ganz allmählig, um einer intensiven Fuchsinfärbung Platz zu machen, die sich spektroskopisch, sowie durch ihr Verhalten gegen Säuren, Ammoniak, fixe Alkalien etc. in Nichts von der zuvor geschilderten Aldehydzuckerreaktion unterscheidet.

Diese Ueberführung des rothgelben Farbstoffs in den fuchsinrothen gelang mir am Besten mit Zinkstaub. Geschieht dies unter Abschluss des Sauerstoffs, so resultirt eine schwach gelbliche Flüssigkeit, die schon beim Abfiltriren an der Luft sich prachtvoll fuchsinroth färbt. Einleiten und Schütteln mit Sauerstoffgas beschleunigt die Färbung.

Behandelt man Pepton oder Eiweisslösungen ohne vorherige Alkalisierung mit Natriumamalgam und Diazolösung, so scheint der rothe Farbstoff primär zu entstehen, aber viel langsamer und in geringerer Menge.

Der secundäre fuchsinrothe Peptoneiweissfarbstoff ist, wie erwähnt, in allen Stücken dem Aldehydraubenzuckerfarbstoff gleich. Wir stehen also vor dem mir nicht uninteressant scheinenden Faktum, dass sowohl die Zuckerarten, wie die Pepton- und Eiweisskörper anscheinend ohne allzugrosse Eingriffe in ihr Molekül eine ausgesprochene Aldehydreaktion liefern. Die Peptone und Eiweisssubstanzen schliessen sich in ihrem Verhalten den aromatischen Aldehyden an. Beide geben erst bei Gegenwart reducirender Metalle den Farbstoff.

Penzoldt hat die ausserordentliche Empfindlichkeit der Traubenzuckerreaktion dargethan. Dem gegenüber musste erwogen werden, ob nicht etwa Spuren von Zuckerarten in den untersuchten Peptonen waren.

Es wurden deshalb die Peptone wiederholt mit Alkohol umgefällt, und mit Alkohol und Aether gewaschen. So gereinigt gelangen die Reaktionen in unveränderter Intensität.

Ein anderer Versuch bewies ebenfalls, dass die fraglichen Reaktionen dem Peptoneiweissmolekül an sich zukommen.

Eine 20procentige Peptonlösung, die aber wahrscheinlich noch Hemialbuminose enthielt, lieferte mit Natronlauge Diazosäure und Zinkstaub tief fuchsinrothe, klare Lösung mit kirschrothem Schaume. Genau mit Salzsäure neutralisirt, wurde sie gelb und es schied sich ein voluminöser, zartflockiger Niederschlag aus. Das Filtrat hiervon gab mit Natronlauge wieder Fuchsinfärbung, während der zuvor gut ausgewaschene Niederschlag sich in der Lauge fast farblos löste. Diese Lösung mit Zinkstaub und Diazosäure behandelt, wurde wieder fuchsinroth¹⁾.

Die Acetonreaktion.

Aceton gibt in wässriger Lösung mit alkalischer Diazosäure ebenfalls eine tiefrothe Reaktion, der aber der bläuliche Schein fehlt. Dem entsprechend tritt im Spektrum auch nicht die Aufhellung im Blauen hervor. Beim Verdünnen weicht die Absorption unter Abflachung langsam nach dem Violett zurück.

Gegen Reagentien verhält sich dieser Farbstoff hingegen ähnlich dem fuchsinfarbigen Farbstoff. Durch Säuren gebleicht, ist er auch nur mittels fixen Alkalien regenerirbar.

Die Veranlassung zu diesen Untersuchungen gab ursprünglich das Studium der von Ehrlich seiner Zeit in die klinische Chemie eingeführten rothen Harnreaktion. In wie weit der

¹⁾ Diazobenzolsulfonsäure allein gibt mit fixer Lauge und Zink keine Farbenreaktion.

bei dieser Reaktion auftretende rothe Körper mit den hier erwähnten Farbstoffen zusammenhängt, bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten¹⁾.

Es sei noch erwähnt, dass gleichzeitiges Vorhandensein selbst relativ kleiner Mengen gelber Farbstoffe, wie solche im Harn stets vorhanden sind, und bei der Ehrlich'schen Probe stets entstehen, den fuchsinrothen Lösungen ihren charakteristischen, bläulichen Ton leicht benehmen, weil sie im Spektrum an Stelle der Aufhellung im Blauen eine Absorption haben. Alsdann erscheint die Gesamtfarbe mehr postroth.

¹⁾ In Gemeinschaft mit Herrn Lehmann bin ich mit Versuchen über den Körper beschäftigt.

Görbersdorf, den 10. März 1884.