

## Ueber die densimetrische Bestimmung des Eiweisses.

Von

**Huppert und Zähler.**

Mitgetheilt von Huppert.

(Aus dem medicinisch-chemischen Laboratorium der deutschen Universität in Prag.  
(Der Redaction zugegangen am 20. April 1888.)

Alle bisherigen Versuche, die Menge des in einer Lösung befindlichen Eiweisses aus der bei der Entfernung des Eiweisses eintretenden Dichteabnahme der Flüssigkeit zu bestimmen, beruhten auf der Voraussetzung, dass die Verminderung der Dichte unter allen Umständen der Menge des gefällten Eiweisses direkt proportional sei. Dementsprechend galt der Faktor, mit welchem der beobachtete Dichteunterschied zu multipliciren ist, um die Menge des gefällten Eiweisses zu finden, als constant.

Budde<sup>1)</sup> hat aber gezeigt, dass diese Annahme eine irrige ist. Zum leichteren Verständniss der folgenden, von Budde gegebenen Auseinandersetzung wolle man sich erinnern, dass man die Dichte einer Flüssigkeit erhält, wenn man das Gewicht derselben dividirt durch ihr Volumen, das Volumen dagegen, wenn man ihr Gewicht dividirt durch die Dichte. Es seien in 100 gr. Lösung enthalten  $x$  gr. Eiweiss, die Lösung habe eine Dichte  $v$  und das Eiweiss eine Dichte  $v_2$ . Aus diesen Daten soll die Dichte der vom Eiweiss befreiten

1) Budde, Bibliothek for Laeger, Bd. 20, 1870; das Wesentliche davon in Pflüger's Archiv, Bd. 37, S. 498, und Bd. 40, S. 137. — Dr. Budde hat die grosse Gefälligkeit gehabt, mir einen ausführlichen deutschen Auszug seiner Abhandlung zur Verfügung zu stellen.

Flüssigkeit,  $v_1$ , berechnet werden. Es ist also zu dividiren das Gewicht der eiweissfreien Flüssigkeit  $100 - x$  durch ihr Volumen. Dieses ist aber das Volumen der ursprünglichen Lösung  $\frac{100}{v}$  weniger dem Volumen des entfernten Eiweisses  $\frac{x}{v_2}$ .

Man erhält also:

$$v_1 = \frac{100 - x}{\frac{100}{v} - \frac{x}{v_2}}$$

Die Auflösung dieser Gleichung für  $x$  ergibt:

$$x = \frac{100 v_2}{v(v_2 - v_1)} (v - v_1).$$

Wollte man aus der Dichteabnahme  $v - v_1$ , welche bei der Entfernung des Eiweisses eingetreten ist, die Menge des Eiweisses berechnen, so hätte man  $v - v_1$  zu multipliciren mit  $\frac{100 v_2}{v(v_2 - v_1)}$ . Dieser Bruch wäre der gesuchte Faktor.

In demselben können wenigstens  $v$  und  $v_1$  in jedem einzelnen Falle andere Grössen sein, der Faktor ist demnach nicht constant, sondern abhängig von den Werthen, welche  $v$  und  $v_1$  im einzelnen Falle besitzen, und wenn  $v_2$  gleichfalls nicht constant wäre, auch vom Werthe dieses. Man würde also zu unrichtigen Zahlen für  $x$  gelangen, wenn man die Dichteabnahme mit einem constanten Faktor multiplicirte.

Um die Bedeutung der Variablen  $v$  und  $v_1$  für die Veränderlichkeit des Faktors anschaulich zu machen, hat Budde ein Beispiel gegeben, welchem folgendes nachgebildet ist.

Es seien in 200 gr. Wasser 4 gr. Eiweiss und 4 gr. Na Cl gelöst; die Dichte des Eiweisses sei nach C. Schmidt 1,28, die des Salzes 2,15. Wenn die bei der Lösung eintretende Contraction der gelösten Körper unberücksichtigt bleibt, was für diese Ueberschlagsrechnung gestattet ist, so nehmen

200 gr. Wasser	}	den Raum ein	von	200	chem.
4 » Eiweiss				3,125	»
4 » Na Cl				1,860	»
208 gr. Lösung				204,985	chem.

Es ist dann die Dichte

$$v = \frac{208}{204,985} = 1,0147.$$

Nach Entfernung des Eiweisses beträgt das Gewicht der Lösung nur noch 204 gr., ihr Volumen 201,86, und die Dichte  $v_1$

$$\text{ist demnach} \quad = \frac{204}{201,86} = 1,0106,$$

$$\text{somit} \quad v - v_1 = 0,0041.$$

In einem anderen Fall seien in 200 gr. Wasser gleichfalls 4 gr. Eiweiss, dagegen 8 gr. NaCl gelöst. Es ist dann

$$v = \frac{212}{206,845} = 1,0249,$$

$$v_1 = \frac{208}{203,72} = 1,0210,$$

$$\text{und} \quad v - v_1 = 0,0039.$$

Im ersten Fall enthält die Lösung in 100 gr. 1,9231 gr. Eiweiss und der Faktor  $\frac{x}{v - v_1}$  wäre = 468, im zweiten Fall beträgt der Eiweissgehalt 1,8868 ‰ und der Faktor wäre = 482.

Die Theorie ergibt also unzweifelhaft, dass der Faktor eine veränderliche Grösse ist. Eine andere Frage ist aber die, inwieweit sich die thatsächlichen Verhältnisse der Theorie anpassen. Darüber ein Urtheil zu gewinnen, war Aufgabe der vorliegenden Untersuchung.

Dazu waren von Eiweisslösungen ihr Gehalt an Eiweiss, sowie die Dichten vor und nach der Entfernung des Eiweisses zu bestimmen. Wir haben uns in die Arbeit so getheilt, dass von Zähler die Eiweiss-, von mir die Dichtebestimmungen ausgeführt wurden.

Die Eiweisslösungen wurden zunächst auf denjenigen Säuregrad gebracht, bei welchem alles Eiweiss durch Erhitzen coagulirte. Es wurden dann von den Lösungen mit der Burette zwei gleiche Volumen abgemessen, die Flüssigkeit wenn nöthig verdünnt, zuerst im Wasserbad, dann noch bis zum Sieden über freier Flamme erhitzt, das Gerinnsel auf getrockneten aschefreien Filtern gesammelt, mit heissem Wasser salzfrei und endlich noch mit Alkohol und Aether gewaschen. Die Filter

wurden darauf wieder bei 115—120° so lange getrocknet, bis die Gewichtsabnahme von einem Tag auf den andern nur 0,1—0,2 mgr. betrug. Das trockne Eiweiss wurde zuletzt verascht und die Asche vom Trockengewicht in Abzug gebracht. Aus den beiden so gewonnenen Resultaten wurde das Mittel genommen.

Záhoř besass bei der Anstellung dieser Analysen bereits eine sehr grosse Uebung und hat auf die Bestimmungen die möglichste Sorgfalt verwendet. Gleichwohl waren in den Milligrammen Abweichungen der einzelnen Resultate von einander nicht zu vermeiden. Wenn man nun berücksichtigt, dass das Eiweiss meist nur in 5—10 ccm. Lösung bestimmt wurde, so wird man zufrieden sein müssen, wenn in den Analysenpaaren die Eiweissprocente nur in der zweiten Decimale von einander abweichen.

Dieselbe Flüssigkeit, von welcher ein Theil zur Bestimmung des Eiweisses verwendet wurde, diente auch zur Dichtebestimmung. Sie wurde mittelst eines Sprengel'schen Pyknometers mit eingeschmolzenem Thermometer ausgeführt. Die Füllung desselben geschah immer bei derselben Temperatur (17,5°), und es wurde dafür gesorgt, dass das Wasser, in welches das Pyknometer getaucht war, in allen Schichten die gleiche Temperatur hatte. Die Einstellung der Flüssigkeit auf die Marke des Pyknometers und die Wägung wurden stets wenigstens noch einmal wiederholt, und wenn diese zwei Wägungen um mehr als 0,1 mgr. verschieden waren, noch einmal. Das Pyknometer fasste gegen 13 gr. Wasser und die durch falsche Wägung bedingten Fehler in der Bestimmung der Dichte fielen dann erst in die 5. oder 6. Decimale. Es versteht sich von selbst, dass die Wägungen erst vorgenommen wurden, wenn das Pyknometer die Temperatur des Wageraumes angenommen hatte. In dieser Weise wurde ebensowohl mit den eiweisshaltigen, wie mit den enteiweissten Flüssigkeiten verfahren.

Zur Abscheidung des Eiweisses wurden die Lösungen in Medicinflaschen von ungefähr 300 ccm. Inhalt gefüllt, in die Flaschen mit Natronlauge ausgekochte und vollständig gewaschene weiche Kautschukstopfen eingebunden, die Flaschen in Wasser gelegt, dieses zum Sieden erhitzt und 10—15 Min. im Sieden erhalten. Alsdann wurde das Glas aus dem Wasser gehoben. Nach dem Erkalten wurde das Gerinnsel durch ein Faltenfilter abfiltrirt. Um dabei die Verdunstung zu verhindern, war der Trichter mittelst eines durchbohrten Korkes fest in ein Kölbchen eingesetzt und der Trichter mit einer Glasplatte bedeckt. Es ist dazu zu bemerken, dass die Dichte der enteiweissten Flüssigkeit wegen der Löslichkeit des Glases in Wasser etwas zu hoch ausgefallen ist.

Im Ganzen wurden 20 Eiweisslösungen verschiedenen Ursprungs untersucht.

Von diesen waren No. 5, 7, 10, 12, 13, 17 und 20 native Ascitesflüssigkeiten, welche unmittelbar vor ihrer Verwendung filtrirt wurden.

Die Flüssigkeit 18 war aus 20 durch Zusatz von Kochsalz (2,5 gr. zu 100 ccm.) hergestellt worden. No. 6 war ein Pleuratrassudat. In zwei anderen Flüssigkeiten wurde das Fibrin künstlich in Lösung erhalten. Von diesen war No. 14 Pferdeblutplasma, welches durch Mischen von 1 Vol. einer 25proc. Lösung krystallisirten Magnesiumsulfats mit 3,5 Vol. Blut und darauf folgendes Centrifugiren dargestellt worden war. Bei No. 15, einer Ascitesflüssigkeit, wurde die Gerinnung, welche bei dieser Flüssigkeit wie bei allen Transsudaten überhaupt eintrat, durch Zusatz von Säure verhindert. Das kann man unbeschadet der Coagulationsfähigkeit des Eiweisses. Denn wenn man, wie Brücke<sup>1)</sup> gezeigt hat, die Säure durch Alkali wieder abstumpft, so bleibt nicht nur das Fibrinogen in Lösung, sondern es kann auch alles Eiweiss durch Kochen zur Abscheidung gebracht werden. Von der Ascitesflüssigkeit wurden 500 ccm. mit 5 ccm. Salzsäure von 1,12 Dichte versetzt, und nach  $\frac{1}{4}$  Stunde 1,75 ccm. der Säure durch Natronlauge zurücktitrirt. Auf 1 Liter Transsudat kamen dann noch 7,5 ccm. der Säure, so viel, als ein Transsudat in der Regel braucht, um es auf denjenigen Säuregrad zu bringen, bei welchem es in der Wärme alles Eiweiss abscheidet. In der That war das auch bei dem opalin gewordenen Transsudat der Fall.

Die übrigen Flüssigkeiten wurden aus Eiereiweiss dargestellt, welches durch Zusatz von 14 ccm. Salzsäure von 1,12 Dichte auf 1 Liter und Filtriren vom grössten Theil des Globulins befreit war. Der Säurezusatz war damit zugleich so getroffen, dass das Filtrat beim Kochen vollkommen coagulirte. Vom Filtrat wurden 500 ccm. mit 100 ccm. gesättigter Kochsalzlösung vermischt und aus dieser Lösung durch systematisches Verdünnen mit Wasser Lösungen anderer Concentration dargestellt (No. 19, 16, 11, 9, 8, 4, 2, 1). Die Lösung 3 war in derselben Weise, aber ausser der Reihe, bereitet. Die Eiereiweisslösungen sind in der Tabelle mit \* bezeichnet.

Die Flüssigkeiten waren also sehr mannichfacher Art. Sie enthielten Serumalbumin neben Serumglobulin und grössere oder kleinere Mengen Fibrinogen, Eieralbumin mit sehr wenig Globulin; eine enthielt Eiweiss, welches der Einwirkung von Salzsäure ausgesetzt gewesen war. Nicht minder verschieden waren sie nach Salzgehalt und Dichte. Je weiter die Grenzen der Versuchsbedingungen gezogen sind, um so verlässlicher müssen die Resultate erscheinen.

In der nachstehenden Tabelle sind diese mitgetheilt.

Die einzelnen Fälle sind nach der Dichteabnahme geordnet. Die Buchstaben in den Reihenüberschriften haben folgende Bedeutung: x —

<sup>1)</sup> Brücke, Virchow's Archiv, Bd. 12, S. 189, 1857.

‰ Eiweiss,  $v_x$  = gr. Eiweiss in 100 ccm.,  $v$  die Anfangsdichte der Flüssigkeit,  $v_1$  die Dichte derselben nach Entfernung des Eiweisses,  $v - v_1$  die Dichteabnahme,  $F$  der Faktor, berechnet nach  $v_x : (v - v_1)$  und  $x : (v - v_1)$ , und  $v_2$  die Dichte des in Lösung befindlichen Eiweisses; diese Grösse ergibt sich aus der aus der Budde'schen Formel abgeleiteten Gleichung:

$$v_2 = \frac{xv v_1}{xv - 100(v - v_1)}$$

Tabelle I.

	vx	x	v	v <sub>1</sub>	v - v <sub>1</sub>	F		v <sub>2</sub>
						vx	x	
1*	0,5951	0,5922	1,004890	1,003296	0,001594	373,3	371,5	1,370
2*	1,0690	1,0609	7677	4676	3001	356,2	353,5	1,397
3*	1,1620	1,1509	9646	6491	3155	368,3	364,8	1,382
4*	1,4738	1,4517	15172	11425	3747	393,3	387,2	1,356
5	1,5565	1,5382	11867	7516	4351	357,7	353,5	1,399
6	1,6540	1,6342	12105	7456	4649	355,8	351,4	1,402
7	1,7935	1,7716	12336	7259	5077	353,3	348,9	1,405
8*	2,0940	2,0578	17569	12083	5486	381,7	375,1	1,371
9*	2,6145	2,5591	21627	14878	6749	387,4	379,2	1,368
10	2,7105	2,6690	15556	8224	7332	369,6	364,0	1,382
11*	3,2100	3,1286	26028	18029	7999	401,3	391,1	1,356
12	3,0055	2,9595	15552	7623	8007	375,4	369,6	1,374
13	3,0419	2,9955	15467	7107	8359	363,9	358,4	1,389
14	4,1888	3,9723	54478	44963	9514	440,3	417,4	1,352
15	3,8695	3,7974	18994	8913	10076	384,0	376,9	1,364
16*	4,2083	4,0670	34744	24276	10468	402,0	388,5	1,363
17	4,1560	4,0794	18773	7689	11084	375,0	367,9	1,374
18	4,7250	4,5537	37609	25964	11642	405,8	391,2	1,361
19*	5,2570	5,2570	43153	30476	12677	414,7	397,6	1,358
20	4,8220	4,7245	20633	7840	12793	376,9	369,3	1,371

\* Eiereiweiss.

Aus der Tabelle ist ersichtlich, dass die Dichtedifferenzen  $v - v_1$  im Allgemeinen in demselben Sinne verlaufen, wie die Eiweissmengen; berechnet man aber aus den Dichteunterschieden und den Eiweissmengen den jeweiligen Faktor, so erhält man sehr verschiedene, zwischen 353 und 440 liegende Werthe. Der Faktor ist also eine veränderliche Grösse und die Erfahrung stimmt in dieser Hinsicht mit der Theorie überein.

Damit ist die theoretische Seite der Frage erledigt. Für die praktische Seite der Frage, die Berechnung des Eiweisses aus der Dichteabnahme, folgt daraus, dass man für jeden einzelnen Fall einen besonderen Faktor braucht. Davon aber, ob es gelingt, ein Verfahren zu finden, nach welchem sich für jeden einzelnen Fall der betreffende Faktor auch ermitteln lässt, hängt die Verwendbarkeit der densimetrischen Methode für die Eiweissbestimmung ab. Im Folgenden berichte ich über meine hierauf gerichteten Bemühungen.

1. Zuerst habe ich nachgesehen, wie gross die Abweichungen zwischen den beobachteten und den berechneten Eiweissmengen (in 100 ccm.) werden, wenn man sich eines gemeinschaftlichen Faktors bedient. Das arithmetische Mittel der Faktoren für vx ist 383; ich habe aber die Rechnung mit dem Faktor 388 ausgeführt, weil mit ihm die Summe der positiven Abweichungen nahezu gleich der Summe der negativen Abweichungen wird. Es ergaben sich dabei unter den 20 Beobachtungen 14 mal Abweichungen in der 1. Decimale, und zwar 6 mal um 1 Einheit (Fall 2, 5, 10, 11, 12 und 20), 6 mal um 2 Einheiten (Fall 6, 7, 13, 16, 17 und 18) und je einmal um 3 und um 5 Einheiten (Fall 19 und 14). Das Resultat ist also ein durchaus ungenügendes. Die Fehler werden im Allgemeinen um so bedeutender, je grösser die Dichte der Eiweisslösung und je grösser die Dichteabnahme ist. Wenn überhaupt, so lassen sich von der Verwendung eines gemeinsamen Faktors also nur dann einigermaßen verwendbare Näherungswerthe erwarten, wenn es sich um die Bestimmung von Eiweiss in Flüssigkeiten handelt, deren Dichten und Dichteabnahmen wesentlich kleiner sind als in den vorliegenden Fällen.

2. Von complicirteren Faktoren habe ich zunächst den von Worm-Müller und Schröter<sup>1)</sup> aufgestellten versucht. Diese Forscher haben nämlich aus der Budde'schen Gleichung

1) Worm-Müller und J. Fr. Schröter, Pflüger's Archiv, Bd. 37. S. 512. 1885.

unter Anwendung einiger Kürzungen folgende andere abgeleitet:

$$x = z(v - v_1) - \alpha x^2,$$

welche für die Berechnung bequem erscheint, weil sie ausser den Constanten  $z$  und  $\alpha$  nur die beobachtete Grösse  $v - v_1$  enthält. Die genannten Autoren haben mit dieser Gleichung das  $x$  nicht berechnet, sie dient ihnen nur dazu, zu zeigen, dass man sich in ihrem Fall (Bestimmung des Zuckers nach Roberts) eines constanten Faktors bedienen kann. Es wird nämlich in diesem Fall  $\alpha x^2$  so klein, dass sie es aus der Gleichung weglassen; dann bleibt nur noch die eine Constante  $z$  übrig, d. h. also, der Faktor ist constant.

Ich habe nun versucht, die ganze Formel zur Ermittlung der Eiweissmengen anzuwenden und dazu die Constanten nach der Methode der kleinsten Quadrate berechnet<sup>1)</sup>. Es ergab sich:

$$z = 279,9, \quad \alpha = -0,0659.$$

Der Gleichung von Worm-Müller und Schröter kann man auch die Form geben:

$$v - v_1 = \frac{x + \alpha x^2}{z}.$$

Setzt man in diese Gleichung die Werthe für  $z$  und  $\alpha$  ein, so erhält man:

$$v - v_1 = \frac{x - 0,0659 x^2}{279,9}.$$

Es wird also der Werth für  $x^2$  negativ und deshalb ist die Gleichung für die Berechnung von  $x$  unbrauchbar. Denn wenn  $x$  den Werth von  $\frac{1}{0,0659} = 15,165$  erreicht, so wird der Zähler des Bruchs = 0 und somit  $v - v_1 = 0$ . Das heisst, wenn der Eiweissgehalt der Lösung 15,165% beträgt, sollte die Flüssigkeit nach der Abscheidung des Eiweisses

<sup>1)</sup> Bei der Lösung dieser und ähnlicher mathematischer Aufgaben, zu deren Bewältigung die Kenntnisse eines Mediciners mit bloss «klassischer» Gymnasialbildung nicht ausreichen, hat mich mein verehrter Collega, Herr Prof. Lippich, durch vielfache Rathschläge und Unterweisungen in der dankenswerthesten Weise unterstützt.

noch dieselbe Dichte besitzen, wie vorher, was unmöglich ist. Es würde ferner  $v - v_1$  bei einem Gehalt der Flüssigkeit an  $\frac{15,165}{2} = 8,5825\%$  das Maximum seines Werthes erreichen und bei einem Gehalt der Flüssigkeit von mehr als  $15,165\%$  würde  $v - v_1$  negativ werden (die Dichte mit der Entfernung des Eiweisses zunehmen). Die Formel giebt nur für relativ kleine Werthe von  $x$  brauchbare Resultate.

3. Aus meinen eigenen Versuchen zur Auffindung eines empirischen Faktors berichte ich zunächst über die Bemühungen, für  $v_2$  in der Budde'schen Gleichung

$$x = \frac{100 v_2}{v(v_2 - v_1)} (v - v_1)$$

einen brauchbaren Näherungswerth zu finden. Denn  $v_2$ , die Dichte des in Lösung befindlichen Eiweisses, ist, wie Tafel I zeigt, keine constante, sondern eine veränderliche Grösse.

Gegen diesen Satz könnte man einwenden, dass die Dichten des in Lösung befindlichen Eiweisses ja nur unter den von Budde gemachten Voraussetzungen berechnet sind. Es lässt sich aber zeigen, dass die Budde'sche Theorie sehr wohl mit unabhängig von ihr gewonnenen Thatsachen übereinstimmt. Die Gleichung

$$v_2 = \frac{xv_1}{vx - 100(v - v_1)}$$

sagt u. A. aus, dass die Dichte des in Lösung befindlichen Eiweisses beeinflusst wird von der Eiweissmenge  $x$  und von der Dichte des Lösungsmittels  $v_1$ . Nun ist bekannt, dass Eiweiss durch gewisse Salze chemisch unverändert abgeschieden wird, wenn die Concentration der Salzlösung eine gewisse Höhe erreicht. Weiter hat Kauder<sup>1)</sup> gezeigt, dass das Globulin bei um so geringerem Salzzusatz fällt, je mehr Globulin sich in Lösung befindet. Die Fällbarkeit des Eiweisses ist also abhängig von der Concentration der Salzlösung und dem Gehalt der Lösung an Eiweiss. Es ist nun nicht anzunehmen, dass Salzlösungen von geringerer Concentration, als zum Fällen des Eiweisses erforderlich ist, ohne allen Einfluss auf die Verdichtung des Eiweisses seien; man wird sich vielmehr vorzustellen haben, dass mit dem Anwachsen des Salzgehaltes der Lösung die Contraction des Eiweisses zunimmt bis zu dem Punkte, wo es sich abscheidet, und demgemäss darf angenommen werden, dass die Dichte des in Lösung befindlichen Eiweisses je nach dem Gehalt der Lösung

1) Kauder, Archiv f. exper. Pathologie, Bd. 20, S. 420. 1886.

an Eiweiss und an Salz verschieden sein wird, wie das ja die Budde'sche Formel ausdrückt.

Die Thatsachen gehen sogar über das, was aus der Formel folgt, noch hinaus, da bei der Fällung des Eiweisses ausser der Concentration der Salzlösung auch noch die Natur des Salzes von Bedeutung ist.

Diese Veränderlichkeit der Dichte des Eiweisses hat ihr Analogon in der Abhängigkeit der specifischen Drehung optisch-activer Substanzen von der Concentration ihrer Lösungen und der Natur des Lösungsmittels.

Der Versuch, in der Budde'schen Formel  $v_2$  durch das Mittel aus allen Beobachtungen, 1,3747, zu ersetzen, hatte ein unbefriedigendes Ergebniss, da die Abweichungen in den Eiweisszahlen bis zu 2 Einheiten in der ersten Decimale gingen. Es musste daher der jeweilige Werth von  $v_2$  aufgesucht werden.

Bei der Betrachtung der Tabelle stellt sich heraus, dass die beobachteten Werthe von  $v_2$  für eine grössere Anzahl der Fälle in umgekehrtem Sinne wie die von  $v$  und  $v_1$  verlaufen, für  $v_1$  noch etwas häufiger als für  $v$ . Es wurde deshalb  $v_2$  berechnet zunächst nach

$$(1) \quad v_2 = \alpha + \beta(v_1 - 1)$$

worin  $\alpha$  und  $\beta$  Constanten sind und  $v_2$  als lineare Funktion von  $v_1$  aufgefasst wird<sup>1)</sup>.  $v_1 - 1$  wurde statt  $v_1$  lediglich der bequemeren Rechnung wegen gesetzt. Es ergab sich dabei:

$$\alpha = 1,3879, \quad \beta = -0,9946.$$

Die hiernach berechneten Werthe von  $v_2$  wurden in die Budde'sche Gleichung eingesetzt und dann weiter die in 100 ccm. enthaltenen gr. Eiweiss berechnet nach

$$vx = \frac{100 v_2}{v_2 - v_1} (v - v_1).$$

In Tabelle II sind die Werthe für  $100 v_2 : (v_2 - v_1)$  unter F und die für das Eiweiss unter vx angeführt. Die mit — versehenen Zahlen der Reihe  $\Delta$  geben an, um wie viel weniger, die mit + versehenen, um wie viel mehr Eiweiss durch die Rechnung gefunden wurde, als durch die Wägung.

1) Die lineare Form wurde zur Berechnung der Constanten hier, sowie zur Berechnung der Constanten nach den Gleichungen (3), (4) und (5) deshalb gewählt, weil, wenn man die Werthe von  $v$  als Abscissen, die von  $v_2$  als Ordinaten aufträgt, die Ordinaten viel eher durch eine Gerade als durch eine Curve verbunden werden können.

Tabelle II.

	$v_2$	F	$v_x$	$\Delta$
1	1,3846	363,2	0,5789	- 0,0162
2	1,3832	365,4	1,0966	+ 0,0274
3	1,3814	368,4	1,1623	+ 0,0003
4	1,3765	377,0	1,4126	- 0,0612
5	1,3804	370,2	1,6107	+ 0,0542
6	1,3805	370,1	1,7206	+ 0,0666
7	1,3807	369,8	1,8775	+ 0,0840
8	1,3759	378,2	2,0748	- 0,0192
9	1,3731	383,3	2,5869	- 0,0176
10	1,3797	371,4	2,7231	+ 0,0126
11	1,3700	389,2	3,1132	- 0,0968
12	1,3803	370,4	2,9658	- 0,0397
13	1,3808	369,5	3,0886	+ 0,0467
14	1,3431	450,6	4,2870	+ 0,0982
15	1,3790	372,6	3,5743	- 0,1152
16	1,3637	401,8	4,2060	- 0,0023
17	1,3802	370,5	4,1066	- 0,0494
18	1,3620	405,4	4,7197	- 0,0053
19	1,3576	415,0	5,2610	+ 0,0040
20	1,3801	370,7	4,7424	- 0,0796
				$\Sigma$ - 0,5025
				+ 0,3931

Nur in einem Fall (No. 15) weicht die berechnete Eiweissmenge von der gewogenen um 1 in der ersten Decimale ab, die übrigen Abweichungen sind alle kleiner. Der Werth dieses Resultats ergibt sich aus der weiter unten angestellten Betrachtung.

Die Hoffnung, dass  $v_2$  noch genauer ausfallen könnte, wenn auch  $v$  berücksichtigt würde, hat sich nicht erfüllt. Bei der Berechnung von

$$(2) \quad v_2 = \alpha + \beta(v_1 - 1) + \gamma(v - 1)$$

ergab sich  $\alpha = 1,4051$ ,  $\beta = 0,1916$ ,  $\gamma = -1,4399$ .

Die darnach berechneten Werthe von  $v_x$  überschritten die beobachteten 4 mal um eine Einheit in der ersten Decimale (Fall 11, 16, 17 und 19).

4. Endlich wurden noch die empirischen Constanten für die Berechnung von  $\frac{100 v_2}{v_2 - v_1}$ , des Faktors für  $v_x$  ermittelt, der Reihe nach nach den Gleichungen

$$(3) \quad vx = [\alpha + \beta(v - 1)](v - v_1),$$

$$(4) \quad vx = [\alpha + \beta(v_1 - 1)](v - v_1),$$

$$(5) \quad vx = [\alpha + \beta(v - 1) + \gamma(v_1 - 1)](v - v_1),$$

wo der in [ ] eingeschlossene Ausdruck den Werth von  $100 v_2 : (v_2 - v_1)$  nach den Constanten  $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$  in linearer Funktion abhängig von  $v$ ,  $v_1$  und  $v - v_1$  darstellt, den drei Momenten, welche Einfluss auf die Grösse von  $x$  nehmen. Bei der Berechnung der Constanten wurde gefunden für

$$(3) \quad \alpha = 345,29, \quad \beta = 1677,00,$$

$$(4) \quad \alpha = 359,4, \quad \beta = 1820,8,$$

$$(5) \quad \alpha = 351,424, \quad \beta = 911,44, \quad \gamma = 833,22.$$

Von den Gleichungen giebt (5) bessere Resultate als die beiden anderen, weshalb nur diese in Tabelle III, unter denselben Bezeichnungen wie in Tabelle II, mitgetheilt werden.

Tabelle III.

	F	vx	$\Delta$
1	358,6	0,5717	- 0,0234
2	362,3	1,0873	+ 0,0183
3	365,6	1,1535	- 0,0085
4	374,8	1,4043	- 0,0685
5	368,5	1,6034	+ 0,0469
6	368,7	1,7139	+ 0,0599
7	368,7	1,8719	+ 0,0784
8	378,1	2,0743	- 0,0197
9	383,5	2,5885	- 0,0260
10	372,4	2,7301	+ 0,0196
11	391,1	3,1282	- 0,0817
12	372,0	2,9782	- 0,0273
13	371,4	3,1049	+ 0,0630
14	438,6	4,1724	- 0,0164
15	376,2	3,7901	- 0,0794
16	403,3	4,2219	+ 0,0136
17	374,8	4,1546	- 0,0014
18	407,4	4,7432	+ 0,0182
19	416,2	5,2755	- 0,0185
20	376,8	4,8198	- 0,0021
		$\Sigma$	- 0,3729
			+ 0,3179

Die nach (3) und (4) berechneten Werthe weichen nicht sehr von denen nach (5) berechneten ab, doch stimmen sie weniger gut zu den beobachteten Werthen. In keinem der drei Fälle erreicht die Differenz zwischen dem berechneten und dem gefundenen Eiweiss eine Einheit in der ersten Decimale. Das Maximum der Abweichungen beträgt bei (3)  $-0,0984$ , bei (4)  $0,0981$ , bei (5)  $0,817$ . Die Summe der Fehler macht bei (3)  $-0,4480 + 0,3650 = -0,0830$  und die negativen Fehler überwiegen, während bei (4) die Summe der Fehler  $-0,2892 + 0,4305 = +0,1418$  beträgt und die positiven Fehler überwiegen. Bei (5) gleichen sich die Fehler am besten aus (mit  $-0,0550$ ), sie fallen zwischen die von (3) und (4).

5. Bevor ich die bisher mitgetheilten Ergebnisse näher bespreche, theile ich noch mit, dass auch daran gedacht wurde, die Eiweissmengen zu berechnen nach

$$(6) \quad vx = \alpha(v - v_1) + \beta(v - v_1)^2 = [\alpha + \beta(v - v_1)](v - v_1)$$

einer Formel, welche, wie bei dergleichen Berechnungen sonst üblich, auch noch die 2. Potenz von  $v - v_1$  berücksichtigt. Eine derartige Rechnung ist aber von vornherein aussichtslos; denn im Faktor  $[\alpha + \beta(v - v_1)]$  wächst die Constante  $\alpha$  stetig um ein Multiplum von  $v - v_1$ , nämlich  $\beta(v - v_1)$ , der Faktor wäre am grössten, wo  $v - v_1$  am grössten, und am kleinsten, wo  $v - v_1$  am kleinsten ist, vorausgesetzt, dass  $\beta$  positiv wäre. Ein solches Resultat entspricht jedoch, wie ein Blick auf Tabelle I zeigt, wo die Fälle nach  $v - v_1$  geordnet sind, den Thatsachen durchaus nicht. Berechnet man  $vx$  mit den hierfür ermittelten Werthen der Constanten  $\alpha = 334,125$ ,  $\beta = 5722,5$

so kommt man zu grossen Differenzen. So ergibt sich z. B. in Fall 14  $vx = 3,7072$  statt  $4,1888$  und im Fall 20  $vx = 5,2109$  statt  $4,8220$ .

Es ist nun auf Grund des vorgelegten Materials zu untersuchen, welchen Grad von Genauigkeit die densimetrischen Eiweissbestimmungen erreichen. Von den Rechnungsergebnissen sind dabei nur die beiden in Tabelle II und III mitgetheilten als diejenigen zu berücksichtigen, welche den Wägungsbestimmungen am nächsten kommen. Die Aufgabe

lässt sich aber noch weiter dadurch vereinfachen, als die Resultate der Tabelle II als die minder genaueren von dem Vergleich ausgeschlossen werden.

Bei II ist die Summe der Abweichungen zwischen den gewogenen und den berechneten Eiweissmengen grösser als bei III, und die negativen Differenzen gleichen sich gegen die positiven nicht so gut aus, als bei III. Eine der Differenzen bei II erreicht die erste Decimale, was bei keiner der Differenzen bei III der Fall ist. Bei III stimmen 11 Fälle besser zu den gewogenen Eiweissmengen als bei II, bei II dagegen nur 8 Fälle besser als bei III; in einem Fall (8.) ist das Resultat in beiden Reihen gleich gut.

Ein Urtheil über die Genauigkeit der indirekt gewonnenen Resultate lässt sich bilden durch eine Vergleichung dieser mit den Differenzen, welche bei den Wägungsbestimmungen die Versuchspaare aufweisen. Tabelle IV enthält unter chem. das Volumen der Eiweisslösung, welches zu den Analysen abgemessen wurde, unter vx die beiden Wägungsergebnisse und unter  $\Delta$  die Abweichungen derselben von einander. Daneben sind unter vx' und  $\Delta'$  die betreffenden Zahlen aus Tabelle III wiederholt.

Tabelle IV.

	chem.	vx		$\Delta$	vx'	$\Delta'$
1	50	0,5972	0,5930	0,0042	0,5717	0,0234
2	20	1,0710	1,0670	40	1,0873	183
3	25	1,1620	1,1620	00	1,1535	85
4	20	1,4750	1,4725	25	1,4043	695
5	10	1,5670	1,5460	210	1,6034	469
6	10	1,6660	1,6420	240	1,7139	599
7	10	1,8050	1,7820	230	1,8719	784
8	10	2,1030	2,0850	180	2,0743	197
9	10	2,6210	2,6080	130	2,5885	260
10	10	2,7230	2,6980	350	2,7301	196
11	7,5	3,2253	3,1947	306	3,1282	817
12	10	3,0160	2,9950	210	2,9782	273
13	8	3,0625	3,0212	413	3,1049	630
14	4	4,2050	4,1725	325	4,1724	164
15	10	3,8810	3,8580	230	3,7901	794
16	6	4,2620	4,1550	1070	4,2219	136
17	5	4,1660	4,1460	200	4,1546	14
18	5	4,7480	4,7020	460	4,7432	182
19	5	5,2860	5,2280	580	5,2755	185
20	5	4,9360	4,7080	0,2280	4,8198	0,0021

Die Wägungsbestimmungen weichen im Mittel um 0,0382 von einander ab, während die mittlere Differenz zwischen Rechnung und Wägung 0,0407 ausmacht. Von den Unterschieden der Wägungsbestimmungen liegen 12 unter 0,03, von den zwischen Rechnung und Wägung dagegen 13. Bei den Wägungsanalysen fallen 2 Differenzen in die erste Decimale, bei den anderen sind alle Differenzen kleiner als 0,1. Dieses Ergebniss erscheint für die densimetrische Bestimmung günstig und wenn man die Zahlen bloss von dem soeben eingenommenen Standpunkt aus betrachtet, so könnte die Genauigkeit beider Methoden als nahezu gleich erscheinen.

Allein hält man die Wägungsanalyse von vornherein für die verlässlichere Methode, wie man ja auch nicht anders kann, so fällt der Vergleich zu Ungunsten des densimetrischen Verfahrens aus. Denn von den berechneten Eiweissmengen kommen zwar 5, die letzten der Tabelle, zwischen die beiden gewogenen Eiweissmengen zu liegen und ein 6. Fall (14) fällt mit dem gewogenen Minimum zusammen; aber bei den übrigen densimetrischen Bestimmungen bleiben 9 Resultate noch hinter dem Wägungsminimum zurück und übertreffen 5 noch das Wägungsmaximum, in beiden Fällen bis zu 6—7 Einheiten in der 2. Decimale. Die zu den Wägungen gut stimmenden 6 Rechnungsergebnisse betreffen diejenigen Fälle, in welchen über 4 gr. Eiweiss in 100 ebem. enthalten waren; bei diesen sind die Abweichungen zwischen Wägungsmittel und Rechnung relativ gering und man könnte daher auf den Gedanken verfallen, die bessere Uebereinstimmung sei deshalb zu Stande gekommen, weil die Fehler in den Wägungsbestimmungen relativ kleiner, die Bestimmungen selbst aber richtiger geworden seien. Diese Voraussetzung ist jedoch thatsächlich falsch, denn diese 6 Bestimmungen sind nicht besser ausgefallen, als die übrigen, von ihnen gehören zwei sogar zu den ungenauesten. Die mangelhafte Uebereinstimmung zwischen Wägung und Rechnung bei den übrigen 14 Fällen lässt sich also nicht auf die Abweichungen der einzelnen Wägungsbestimmungen von einander schieben. Auch wenn eine bessere Uebereinstimmung dieser zu erreichen wäre, würde sich für

die densimetrische Methode im Grossen und Ganzen kein günstigeres Endergebniss herausgestellt haben.

Das densimetrische Verfahren liefert also — nach den von mir befolgten Rechnungsweisen — keine mit denen der Wägungsanalyse sehr gut stimmenden Resultate. Im Grunde genommen konnte es ja auch nicht anders sein. Bei der Aufstellung der zur Rechnung dienenden Formeln geht man von Voraussetzungen aus, welche den wirklichen Verhältnissen nicht genau, sondern nur annähernd entsprechen, wie das namentlich bei den Versuchen zur Berechnung von  $v_2$  sehr deutlich ersichtlich ist. Dort wurde von den in der Budde'schen Gleichung enthaltenen Momenten  $v - v_1$  willkürlich vernachlässigt und auf  $x$  konnte der Natur der Sache nach gar keine Rücksicht genommen werden.

Der Wägungsanalyse ist die densimetrische Methode also keineswegs gleich zu setzen, sie liefert nur Näherungswerthe und es kommt nun ganz auf die bei der Eiweissbestimmung angestrebte Genauigkeit an, ob man wägen soll oder rechnen darf.

Dazu kommt noch Eins. Es könnte scheinen, als ob die densimetrische Eiweissbestimmung vor der Wägung einen geringeren Aufwand an Zeit und geringere Anforderungen an die wissenschaftliche Technik voraus habe. Man könnte sich wenigstens vorstellen, man erfahre das Resultat früher als bei der Wägung. Wenn man aber die Dichtebestimmung vornimmt mit dem Sprengel'schen Pyknometer unter Beobachtung aller der Bedingungen, welche allein die Bestimmung richtig ausfallen lassen, dann kann von diesen Vortheilen nicht mehr die Rede sein. Auch an Zeit wird nur unwesentlich gewonnen. Die gewichtsanalytischen Eiweissbestimmungen dauern allerdings bei Anwendung von Papierfiltern lange, weil die Gewichtskonstanz erst nach viele Tage langem Trocknen erreicht wird. Bedient man sich dazu jedoch der neuerdings aufgekommenen Glaswollfilter, so nimmt das Eiweiss schon nach 24-stündigem Trocknen bei 110—120° nicht mehr an Gewicht ab.

Nur dann hätte man einen Vortheil vor der densimetrischen Methode, wenn man die Dichtebestimmung mit dem Aräometer vornähme. Dasselbe muss aber so construirt sein, dass man die vierte Decimale noch mit Sicherheit ablesen kann, und ausserdem muss es einer sorgfältigen Aichung unterzogen werden. Denn selbst aus besten Werkstätten hervorgegangene Aräometer sind nicht absolut verlässlich. Verbessert wird die Methode dadurch nicht, sie büsst vielmehr noch an Genauigkeit ein. Aber man gelangt denn doch erheblich schneller zum Ziele, und wo Eiweiss-schätzungen genügen, in welchen die Decigramme noch richtig sind, die Centigramme dagegen falsch, da wird man sich der densimetrischen Methode mit Vortheil bedienen können.