

# Ueber den Nachweis des Peptons und eine neue Art der quantitativen Eiweissbestimmung.

Von

**Dr. Luigi Devoto,**

Assistenten an der medicinischen Klinik in Genua.

(Aus dem medicinisch-chemischen Laboratorium der deutschen Universität in Prag.)  
(Der Redaction zugegangen am 28. März 1891.)

Dem Ammonsulphat in gesättigter Lösung kommt bekanntlich die Eigenschaft zu, alle Eiweisskörper, mit Ausnahme der von Kühne Pepton genannten Substanz und der von der Protalbumose abstammenden Deuteroalbumose, zu fällen. Zu den fällbaren gehören alle im Blut und pathologischen Harn vorhandenen Eiweisskörper (Hämoglobin, Serumalbumin, Globulin), ferner die übrigen Albumosen, das Pepton von Brücke und, wie ich hinzufügen kann, das Nucleoalbumin. Diese Eiweisskörper zerfallen wieder in zwei Gruppen, in solche, welche in höherer Temperatur coaguliren, und in solche, die das nicht thun; nicht coagulabel sind von ihnen die secundären Albumosen und das Pepton von Brücke<sup>1)</sup>.

Ich habe mir nun die Frage gestellt, ob es nicht möglich sei, auf diese zwei Eigenschaften der genannten Eiweisskörper,

<sup>1)</sup> Wiewohl nach Neumeister (Zeitschr. f. Biologie, Bd. 26, S. 339), sowie nach Hofmeister (Zeitschr. f. analyt. Chemie, Bd. 30, S. 110) von den Albumosen namentlich die Deuteroalbumosen einen wesentlichen Bestandtheil des Peptons nach Brücke ausmachen, führe ich doch dieses Pepton noch neben der Albumose an, weil das Brücke'sche Pepton in selbstständiger Weise chemisch charakterisirt ist und dieser Begriff sich eingebürgert hat, und weil ferner die Definition der Albumosen vor der des Peptons nach Brücke nichts voraus hat.

nämlich die Fällbarkeit aller durch Ammonsulphat und die Coagulirbarkeit nur einiger, ein Verfahren zu einer scharfen Scheidung der coagulablen von den nicht coagulablen zu gründen, und habe diese Frage unter Leitung des Herrn Prof. Huppert zum Gegenstand einer Untersuchung gemacht. Bei dieser hat sich ergeben, dass sich in der That die Eiweisskörper des Blutserums und der Transsudate, das Acidalbumin, der im normalen Harn vorkommende Eiweisskörper und das Nucleoalbumin der Synovia nach einem sehr einfachen Verfahren, aber mit analytischen Zwecken völlig genügender Schärfe von den secundären Albumosen und dem Pepton nach Brücke trennen lassen. Ungenügend dagegen erfolgt die Abscheidung des Hämoglobins und der Heteroalbumose.

Das Verfahren ist folgendes:

Man versetzt die eiweisshaltige Flüssigkeit in einem Becherglas auf 100 ccm. mit 80 gr. krystallisirtem Ammonsulphat — d. i. so viel Salz, als die Flüssigkeit zur Sättigung in der Kälte braucht — und bringt zunächst das Salz in der Wärme (in einem Wasserbad) unter Rühren und Zerdrücken der Krystalle mit einem Glasstab zur völligen Lösung. Dazu sind 10—15 Minuten erforderlich. Alsdann setzt man das Glas noch 30—40 Minuten dem Dampf siedenden Wassers aus, worauf die Coagulation vollendet ist. Lässt man das Glas noch länger, bis 2 Stunden, im Dampf verweilen, so wird das Coagulum dichter, und das Filtriren und Auswaschen gehen dann schneller von statten.

Wichtig für das Verfahren ist es nun, dass das Gelingen der vollständigen Coagulation unabhängig von der Reaction der Eiweisslösung ist. Das Eiweiss in Blutserum oder Transsudat wird bei alkalischer Reaction ebenso vollkommen coagulirt, als wenn die Flüssigkeit mit so viel oder mehr Essigsäure angesäuert wird, als zur Abscheidung des Eiweisses durch Kochen allein erforderlich ist. Auch der Harn bedarf keiner weiteren Vorbereitung.

Dadurch, dass es nicht nöthig ist, der Eiweisslösung für die Coagulation einen ganz bestimmten Grad der sauren Reaction zu ertheilen, ist das neue Verfahren viel einfacher



und leichter ausführbar, als die Coagulation nach Scherer. Etwas umständlicher ist sie aber durch das Erhitzen der mit Salz gesättigten Lösung im Dampf. Doch ist diese Bedingung leicht zu erfüllen. Ich habe die Bechergläser in den Dampftopf gestellt, dessen sich Soxhlet zum Sterilisiren der Milch bedient. Ohne grössere weitere Vorrichtung lässt sich dazu aber auch jeder andere Topf benützen; man hat die Gläser nur auf eine feste, im Wasser nicht schwimmende Unterlage, z. B. einen kleinen eisernen Klotz, ein Stück Cementplatte zu stellen, oder sie in anderer Weise vor dem Umfallen während des Kochens zu sichern, und den Topf während des Kochens lose bedeckt zu halten.

Das Erhitzen im Dampftopf lässt sich aber nicht umgehen. So genügt es nicht, das Becherglas bloß in ein kochendes Wasserbad einzutauchen; denn in diesem Falle entgeht ein kleiner Theil des Eiweisses der Coagulation, vielleicht deshalb, weil die sich an der Wand des Glases emporziehende Flüssigkeitsschicht nicht auf genügend hohe Temperatur gebracht wird. Ebenso wenig ist die Coagulation eine so vollständige, wie im Dampfbad, wenn man nach dem Sättigen der Lösung mit Ammonsulphat den entstandenen Niederschlag abfiltrirt und das Filter in einem Trockenkasten mehrere, selbst viele Stunden auf  $120^{\circ}$  erhitzt. Es ist dann in beiden Fällen im Waschwasser noch Eiweiss vorhanden.

Nach der Coagulation im Dampftopf ist weder im Filtrat, noch in den Waschwässern, selbst wenn das Auswaschen bis zur vollständigen Entfernung des Salzes fortgesetzt ist, weder durch die Biuretreaction, noch mit Ferrocyankalium und Essigsäure Eiweiss nachweisbar. Eine gleichfalls empfindliche Reaction auf Eiweiss besteht in dem Schichten einer Eiweisslösung auf krystallisirtes Ammonsulphat; bei Gegenwart von Eiweiss bildet sich in der unmittelbar über dem Salz befindlichen Schicht ein weisser, ringförmiger Niederschlag<sup>1)</sup>. Auch

<sup>1)</sup> Bei der Anwendung in dieser Form ist das Reagens empfindlicher, als wenn man die Lösung, wie Kauder (Arch. f. exper. Pathol., Bd. 20, S. 416), sowie Pohl (das., Bd. 20, S. 428) die Eiweisslösung mit 0,1–0,2 ccm. der gesättigten Ammonsulphatlösung mischt.

mit dieser Reaction ist nach der Coagulation kein Eiweiss aufzufinden. Wie natürliche Eiweisslösungen (Blutserum, Transsudat) verhält sich auch der Harn; nur ist auf diesen die Prüfung mit Ammonsulphat nicht anwendbar, weil die Harnsäure eine dem Eiweissniederschlag ähnliche Trübung von Ammonurat giebt. Ich muss jedoch noch erwähnen, dass Filtrat und Waschwässer mit Jodquecksilberkalium eine schwache Trübung geben. Rührt diese von Eiweiss und nicht etwa von anderen Bestandtheilen der natürlichen Eiweisslösungen her, so würde auch bei dieser Art der Coagulation eine Spur Eiweiss nicht gefällt werden. Für die Verwendung des neuen Coagulationsverfahrens zum Nachweis des Peptons neben Eiweiss ist dieser Mangel aber durchaus belanglos; denn wie ich mich durch sehr zahlreiche Versuche überzeugt habe, erreicht die der Fällung entgehende Eiweissmenge niemals eine solche Grösse, dass sie sich durch die typische Peptonreaction, die Biuret färbung, oder eine der anderen angeführten Eiweissreactionen bemerkbar machte. Auch normaler sowie peptonfreier Eiweiss harn giebt nach der Coagulation mit Ammonsulphat die Biuretreaction niemals.

Zum Nachweis von Pepton in natürlichen Eiweisslösungen und im Harn unterwirft man von den Eiweisslösungen 50—100 cbcm., vom Harn 200—300 cbcm. zuerst der Coagulation mit Ammonsulphat, den Harn zur Beseitigung des Nucleoalbumins auch dann, wenn er sich sonst als eiweissfrei erweist. Nach dem Erkalten bringt man entweder den Niederschlag sammt dem Antheil Salz, welcher wieder auskrystallisirt ist, auf ein Filter und wäscht mit heissem Wasser aus; oder man giesst die Salzlösung möglichst vollständig vom Niederschlag durch ein Filter ab, spritzt das Filter in das Becherglas zurück und löst den ganzen Inhalt des Becherglases in kaltem Wasser. Mit den einzelnen Portionen des Waschwassers oder mit einem Theil der gesammten Lösung hat man alsdann die Biuretreaction anzustellen, ausserdem nachzusehen, ob nicht andere durch Ferrocyankalium und Essigsäure fällbare Eiweisskörper zugegen sind. Denn selbstverständlich ist nur bei Abwesen-



heit solcher die Biuretprobe für die Gegenwart von Pepton beweisend.

Bei dieser Prüfung mit Ferrocyanwasserstoff ist aber zweierlei zu berücksichtigen.

In der Regel nämlich geben eiweissfreie Ammonsulphatlösungen mit diesem Reagens nach kürzerer oder längerer Zeit eine feine Trübung, welche der von Spuren Eiweiss sehr ähnlich ist. Mit käuflichem Ammonsulphat tritt dieser Niederschlag sehr bald und relativ reichlich auf. Ammonsulphat, welches mit Schwefelammon vom Eisen befreit und wiederholt mit und ohne Zusatz von Ammoniak umkrystallisirt wurde, gab noch eine schwache Trübung nach 5—10 Minuten. Ebenso verhielt sich ein Ammonsulphat, welches aus reinem, aus Salmiak dargestelltem Ammoniak und frisch destillirter Schwefelsäure bereitet war<sup>1)</sup>. Es ist also zu diesen Versuchen möglichst reines, wenigstens mit Schwefelammon behandeltes Ammonsulphat zu verwenden und eine Trübung mit Ferrocyankalium und Essigsäure nur dann auf die Gegenwart von Eiweiss zu beziehen, wenn sie sich innerhalb der ersten Minuten nach Zusatz der Reagentien zeigt. Die Gefahr einer Verwechslung dieses Niederschlags wird übrigens immer geringer, je weiter man das Coagulum auf dem Filter auswäscht; der durch das Salz bedingte Niederschlag bleibt endlich aus, während Eiweiss oder Pepton noch lange nachweisbar sind.

Ferner ist zu berücksichtigen, dass eine mit Ferrocyankalium und Essigsäure sofort entstehende Trübung nicht eindeutig auf Eiweiss bezogen werden kann, sondern dass von den hier in Frage kommenden Substanzen auch die primären Albumosen bei dieser Reaction gefällt werden. Dieser Umstand hat indess für den Nachweis des Peptons nicht viel auf sich. Denn wenn die Coagulation mit Ammonsulphat

<sup>1)</sup> Diese Präparate sind vom Assistenten des Institutes, Herrn Dr. Kossler, dargestellt worden. Hierfür, sowie für mannigfache andere Beihilfe bei dieser Untersuchung spreche ich ihm auch an dieser Stelle meinen Dank aus.

genau nach der gegebenen Vorschrift ausgeführt worden ist, so kann man sich auch darauf verlassen, dass sich kein Eiweiss mehr im Filtrat vorfindet. Tritt dann mit Ferrocyanwasserstoff eine Trübung oder Fällung auf, die auf Eiweiss bezogen werden müsste, so könnte es sich auch um eine primäre Albumose, insbesondere um Heteroalbumose handeln, und diese wäre dann durch eine gesonderte Untersuchung nach bekannter Methode aufzusuchen.

Das Pepton wird mittels der Biuretprobe nachgewiesen, und zwar, da zugleich Ammonsulphat vorhanden ist, nach Kühne's Vorschrift unter Zusatz von viel concentrirter Natronlauge. Bei der Untersuchung von serösen Flüssigkeiten auf Pepton kann man zum Nachweis desselben auch so verfahren, dass man das Waschwasser auf krystallisirtem Ammonsulphat stehen lässt; bei Anwesenheit von Pepton zeigt sich dann über dem Salz eine weisse Zone, gleich der bei Gegenwart von Eiweiss; nur auf Harn ist die Prüfung mit Ammonsulphat nicht anwendbar, des Niederschlags von Ammonur wegen, der hier, wie bereits bemerkt, entsteht. Wäscht man das Coagulum auf dem Filter aus, so nimmt die Menge des sich lösenden Peptons mit der Verdrängung des Salzes und bis zu einer gewissen oberen Grenze mit der Menge des vorhandenen Peptons zu. Verwendet man also die Waschwässer zum Aufsuchen des Peptons, so ist bei einem negativen Ausfall der ersten Proben die Prüfung der einzelnen Portionen des Waschwassers noch fortzusetzen, namentlich wenn man über die Abwesenheit des Peptons Gewissheit haben will. Tritt die Peptonreaction einmal in einer Probe auf, so ist sie dann auch noch in den nächsten und selbst in einer grösseren Zahl derselben zu sehen.

Bei der Untersuchung von Harn sind die ersten Waschwässer farblos; wenn das Wegwaschen des Salzes aber fortschreitet, beginnt auch der gefällte Harnfarbstoff in Lösung zu gehen und die Filtrate fangen an, sich zu färben. In der Regel tritt aber bei Gegenwart von Pepton die Biuretprobe schon in den farblosen Antheilen auf und da, wegen der Abwesenheit des Farbstoffes, in einer Reinheit, wie man sie



nach dem Fällen des Peptons mit Phosphorwolframsäure nie beobachtet. Auch die gefärbten Waschwässer geben die Probe, wenigstens die schwach gefärbten, noch mit grosser Deutlichkeit;

Wiewohl das Hämoglobin nach dem beschriebenen Verfahren nicht vollständig coagulirt wird, lässt es sich doch noch bei einiger Vorsicht auf den Nachweis von Pepton auch in bluthaltigen Flüssigkeiten anwenden. Ist nämlich Pepton zugegen, so geht dieses beim Auswaschen des Niederschlags früher in Lösung, als der nicht coagulierte Theil des Blutfarbstoffs, und die ersten Filtrate pflegen dann mit Ferrocyankalium und Essigsäure keine Reaction, aber eine deutliche Biuretfärbung zu geben.

Selbstverständlich würde nach dem geschilderten Verfahren auch die von Kühne Pepton genannte Substanz dem Nachweis nicht entgehen. Sie wäre im salzgesättigten Filtrat aufzusuchen. Doch muss ich bemerken, dass sie mir bei meinen Untersuchungen nicht begegnet ist und dass ich sie auch bei eigens darauf gerichteten Versuchen im Harn nicht nachweisen konnte. Der dazu verwendete Harn stammte von 4 Fällen von Pneumonie und je 1 Falle von Phthisis mit Cavernen, Empyem und Abscessbildung. Diese sieben Harne ergaben bei der Untersuchung nach Hofmeister sowohl als nach meiner Methode einen Gehalt an Pepton. Schulter<sup>1)</sup> hat gleichfalls das Pepton nach Kühne im Harne nicht nachzuweisen vermocht, und zwar bediente er sich zur Abscheidung dieses Peptons der Phosphorwolframsäure; da jedoch das Pepton Kühne's durch diese Säure nur unvollständig gefällt wird, so konnte es ihm entgangen sein. Ich habe deshalb die Fällung mit Tannin vorgenommen.

Um ein Maass für die Empfindlichkeit der Probe zu gewinnen, habe ich in verdünntem Blutserum auf 1500 Theile 1 Theil Witte'sches Pepton gelöst. Trotz dieser grossen Verdünnung der Peptonlösung habe ich bei Verwendung von nur 30 cbcm. des Serums das Pepton in mehreren Portionen der ersten Waschwässer durch die Biuretfärbung mit aller

<sup>1)</sup> Schulter, Jahresb. f. Thierchemie, 1886, S. 228.

Sicherheit nachweisen können; diese 30 cem. Lösung enthielten aber nur 2 mgr. Witte'sches Pepton.

Weiter habe ich in Bezug auf die Empfindlichkeit mein Verfahren mit dem Hofmeister's verglichen und zu diesem Zweck das Pepton in einer und derselben, mittels Pepsin-salzsäure dargestellten Verdauungsflüssigkeit nach beiden Methoden polarimetrisch bestimmt. Wurden die beobachteten Drehungen auf gleiche Anfangsvolume berechnet, und die bei dem Hofmeister'schen Verfahren beobachtete Drehung gleich 10 gesetzt, so betrug die Drehung der nach meinem Verfahren isolirten Peptonmengen in verschiedenen Versuchen zwischen 10,8 und 15,0. Nach meinem Verfahren wurde also immer mehr Pepton gefunden, als nach Hofmeister's Verfahren. Das Verhältniss zwischen den beiden Mengen der beiden Peptone war zudem kein constantes, es schwankte je nach den Bedingungen, unter welchen der Verdauungsversuch angestellt worden war. Der Unterschied in der Drehung liegt nun nicht etwa daran, dass die nach meinem Verfahren gewonnenen Lösungen wegen ihres Gehaltes an Ammonsulphat stärker drehten, denn ich habe mich überzeugt, dass die specifische Drehung des Peptons durch das Ammonsulphat nicht geändert wird, selbst dann nicht, wenn man eine Peptonlösung mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulphatlösung versetzt. Da nun auch, wie bereits angegeben, das Acidalbumin durch mein Verfahren vollständig abgeschieden wird, so kann der Unterschied in den Resultaten, die nach Hofmeister's und meinem Verfahren erhalten werden, nur darin seinen Grund haben, dass nach Hofmeister's Verfahren ein grösserer Antheil der Albumosen aus dem Verdauungsgemisch gefällt wird, als nach meinem Verfahren.

Es lässt sich demnach auch erwarten, dass man das Pepton nach meinem Verfahren mit grösserer Sicherheit findet, als nach dem von Hofmeister. In der That ist dies auch der Fall. Ich habe den Harn von 14 verschiedenen Individuen, nämlich in 6 Fällen von Pneumonie, 2 Tuberculosen, 3 Eiterungen, 1 Rheumatismus und 2 pleuritischen Exsudaten, gleichzeitig nach Hofmeister's und nach meinem Verfahren



auf Pepton untersucht und in allen Fällen nach meinem Verfahren Pepton gefunden, nach Hofmeister auch in 13 Fällen, in einem dagegen nicht.

In diesem Unterschied zwischen den beiden Methoden kann ich nichts Nachtheiliges für mein Verfahren erblicken. Bei der Feststellung der Peptonurie handelt es sich ja um den Nachweis von nicht coagulablen, der Gruppe der Albumosen angehörigen Eiweisskörpern, und dann wäre ein Verfahren, bei welchem die Albumosen minder leicht dem Nachweis entgehen, demjenigen viel mehr vorzuziehen als nachzusetzen, bei welchem der Verlust an Albumosen ein grösserer ist.

Mein Verfahren unterscheidet sich weiter von dem Hofmeister's durch seine grössere Einfachheit in der Ausführung, namentlich insofern, als das gesonderte Ausfällen des Eiweisses in Wegfall kommt. Dieses erfordert nicht nur grosse Sorgfalt und Uebung, sondern, was besonders hervorzuheben ist, versagt auch manchmal vollständig, wodurch in solchen Fällen die Untersuchung auf Pepton unausführbar wird. Wer die Hofmeister'sche Methode oft angewendet hat, dem werden, wie mir und Anderen, Harne vorgekommen sein, aus welchen sich eine durch Ferrocyankwasserstoff fällbare Substanz durch Eisenchlorid, auch nach genügendem Zusatz von Bleiacetat, nicht entfernen lässt. Als Vorzug meines Verfahrens wäre noch zu erwähnen, dass bei meinem Verfahren die Biuretprobe in ungefärbten Lösungen ausgeführt werden kann, oder doch wenigstens in Lösungen, die viel weniger gefärbt sind, als die nach Hofmeister's Verfahren gewonnenen; ferner, dass nach meinem Verfahren die Biuretprobe an einem Object nicht bloß einmal, sondern öfter angestellt werden kann.

Wenn ich somit mein Verfahren zum Nachweis des Peptons im Harn für einfacher und sicherer halte, als das Hofmeister'sche, und es deshalb für weitere Verwendung empfehlen zu dürfen glaube, so soll damit jedoch durchaus nicht der Werth, welchen Hofmeister's Verfahren für die grundlegende Erforschung der Peptonurie besessen hat, herabgesetzt und Hofmeister's Verdienst um diese Frage geschmälert werden.

Ist nun das Ammonsulphat zu so vollkommener Fällung der coagulablen Eiweisskörper tauglich, dass neben diesen Pepton nachgewiesen werden kann, so muss es auch zur quantitativen Bestimmung des Eiweisses geeignet sein.

Bei dem für diesen Zweck jetzt allgemein gebräuchlichen Scherer'schen Verfahren hängt die Genauigkeit des Resultats bekanntlich wesentlich davon ab, dass der der Coagulation unterworfenen Eiweisslösung der richtige Grad der sauren Reaction ertheilt wird; sonst entgeht ein Theil des Eiweisses der Bestimmung. Die Coagulation unter Zusatz von Ammonsulphat ist dagegen völlig unabhängig von der Reaction der Lösung. Trotz der Verschiedenheit der Reaction fallen die Bestimmungen doch quantitativ genau aus. Ich habe in gleichen Volumen derselben natürlichen Eiweisslösung das Eiweiss mittels Ammonsulphats coagulirt bei der für die Coagulation geeigneten sauren Reaction, ferner nach Zusatz eines Ueberschusses von Säure und bei stark alkalischer Reaction, und so im Mittel von je zwei Bestimmungen 0,2184, 0,2190 und 0,2172 gr. Eiweiss gefunden, Zahlen, welche von einander nicht weiter abweichen als die zweier einzelner Bestimmungen derselben Lösung nach ein und demselben Verfahren. Weitere Analysen, welche ich sofort anführen werde, haben die gleiche Unabhängigkeit der Resultate von der Reaction der Eiweisslösung ergeben.

Es erschien mir ferner von Wichtigkeit, die Resultate zu vergleichen, welche man bei der Eiweissbestimmung nach Scherer und bei der mittels Ammonsulphat erhält. Es dienten dazu zwei verschiedene natürliche Eiweisslösungen mit verschiedenem Gehalt an Eiweiss. Die Bestimmungen wurden wieder paarweise ausgeführt, die unter Anwendung von Ammonsulphat bei verschiedener Reaction. Es wurde gefunden im Mittel:

	Nach Scherer.	Mit Ammonsulphat.		
		Richtig sauer.	Stark sauer.	Stark alkalisch.
I.	0,1952	0,1997	0,1996	0,1997
II.	0,0817	—	0,0855	0,0862



Darnach sind bei der Bestimmung nach Scherer die Werthe etwas niedriger ausgefallen, als bei der Bestimmung mit Ammonsulphat, und zwar in der einen Reihe um 2,2%, in der anderen um 4,8%. Dass bei der Bestimmung mit Ammonsulphat mehr Eiweiss gefunden wurde, hätte seinen Grund in einem ungenügenden Auswaschen des Niederschlags oder in einer Beimengung eines schwer löslichen Salzes, z. B. Calciumsulphat, zum Eiweissniederschlag haben können. Aber Beides war nicht der Fall; denn die Niederschläge wurden so lange mit heissem Wasser gewaschen, bis die Filtrate mit Chlorbaryum auch nach längerem Stehen keine Trübung mehr zeigten, und beim Veraschen hinterliessen die mit Ammonsulphat erhaltenen Niederschläge nicht mehr Asche, als die nach Scherer gewonnenen.

Der Grund, warum bei der Bestimmung nach Scherer weniger Eiweiss gefunden wird, ist der, dass dabei etwas Eiweiss der Fällung entgeht. Bei diesen Bestimmungen bin ich so verfahren, dass ich die natürliche Eiweisslösung nach dem Verdünnen mit 2procentiger Kochsalzlösung nach und nach mit Essigsäure versetzte, bis eine Probe nach dem Coaguliren ein Filtrat lieferte, welches durch Essigsäure und Ferrocyankalium nicht mehr getrübt wurde. Von der so hergerichteten Lösung wurde dann ein abgemessener Theil direct zur Coagulation verwendet. Auf diese Weise habe ich es vermeiden können, dass die vom Coagulum abfiltrirte Flüssigkeit Eiweiss in einer durch Ferrocyanwasserstoff nachweisbaren Menge enthielt. Mittels festem Ammonsulphat aber, sowie mit Salzsäure und Phosphorwolframsäure wurden in den Filtraten beträchtliche Trübungen erhalten. Fällt man das Eiweiss aber in der Weise aus, dass man der siedenden Flüssigkeit verdünnte Essigsäure bis zur deutlichen Flockenbildung zusetzt, so kann es, trotz anscheinend vollkommener gelungener Coagulation, geschehen, dass sich das Filtrat auch mit Essigsäure und Ferrocyankalium trübt und eine zweifellose Biuretreaction giebt.

Für die Bestimmung des Eiweisses mit Ammonsulphat wurden eben so grosse Volume abgemessen, wie für die

Bestimmung nach Scherer, und diese dann direct, oder nach stärkerem Ansäuern oder nachdem sie wieder alkalisch gemacht worden waren, zum Versuch verwendet. Hier war nun weder im ersten Filtrat, noch in den Waschwässern, wenn bis zum Verschwinden der Schwefelsäurereaction gewaschen wurde, auf die oben angegebene Art irgend eine Spur Eiweiss nachweisbar.

Die quantitative Bestimmung des Eiweisses mit Ammonsulphat ist also nicht nur bequemer, weil sie die Ertheilung der richtig sauren Reaction überflüssig macht, sondern auch genauer, weil sie Eiweissverluste verhütet. Es hat dabei nichts auf sich, dass das Wegwaschen des Sulphats vielleicht etwas länger dauert, als das Wegwaschen der Chloride bei der Bestimmung nach Scherer.

Das Verfahren ist für die quantitative Bestimmung ganz dasselbe, wie das bereits zur Abscheidung des Eiweisses für das Aufsuchen des Peptons beschriebene. Ist es nöthig, die Eiweisslösung, um kleine Volume genauer abmessen zu können, zu verdünnen, so bediene man sich dazu einer 2procentigen Kochsalzlösung.

Mit natürlichen Eiweisslösungen, wie Blutserum oder Transsudaten, giebt dieses Verfahren ausgezeichnete Resultate. Bei der Coagulation von Blut erhält man jedoch leicht gefärbte Filtrate. Aber auch nach Scherer ist die vorwurfsfreie Ausfällung des Eiweisses aus Blut bekanntlich nicht leicht.

Das klinische Material zu dieser Untersuchung verdanke ich der Gefälligkeit der Herren Professoren v. Jaksch und Przißram; ich unterlasse nicht, ihnen hierfür auch an dieser Stelle meinen besten Dank auszusprechen.