

Ueber die Silbersubstanz in der Haut von *Alburnus lucidus*.

Von

Albrecht Bethe.

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts in Berlin.)
(Der Redaction zugegangen am 5. März 1895.)

In den Schuppentaschen der meisten Knochenfische finden sich kleine, irisirende Krystallplättchen, welche durch Interferenzerscheinungen diesen Thieren ihr silberglänzendes Aussehen verleihen. Die Technik hat sich dieser Erscheinung schon seit Langem bemächtigt und stellt aus den isolirten, mit einer Wachsmasse zusammengeschmolzenen Krystallen falsche Perlen her.

Schon 1833 versuchte Rose auf Veranlassung von Ehrenberg, die chemische Beschaffenheit dieses Körpers zu ergründen. Er kam zu dem Resultat, dass die Krystalle aus einer organischen Substanz bestehen, weil sie sich beim Erhitzen auf dem Platinblech verflüchtigen, ohne einen Rückstand zu hinterlassen. Die Resultate der nächsten Untersucher weichen von diesem Befunde wesentlich ab. Nach Schnitzlein besteht unser Körper aus phosphorsaurem Kalk, nach Mathias aus phosphorsaurer Magnesia. Auch Brücke sprach sich ähnlich aus.

Wittich hielt die Krystalle für eine Verbindung einer stickstoffhaltigen Substanz (Geruch nach angebranntem Horn beim Erhitzen) mit anorganischen Salzen (da sie eine Asche hinterlassen, die aus kohlensaurem und phosphorsaurem Kalk, Kochsalz und Eisen besteht).

Barreswil (Compt. rend. 1861, T. 53, S. 246) fand, dass die Reactionen des Körpers in allen Punkten mit den Reactionen

des Guanin übereinstimmen. Er erklärt ihn deshalb als krystallisirtes Guanin. Er verspricht in seiner Mittheilung Analysenresultate bei nächster Gelegenheit zu publiciren; so weit mir bekannt, ist aber eine derartige Mittheilung nicht erfolgt. Zwei Jahre später untersuchte v. Voit, veranlasst durch v. Siebold, die Silbersubstanz der Fische von Neuem. (v. Siebold: Die Süßwasserfische von Mitteleuropa, Leipzig 1863, und v. Voit: Zeitschrift f. wissenschaftliche Zoologie, Bd. 15, 1865.) Er fand, offenbar unabhängig von Barreswil, dass die Reactionen der Silbersubstanz (besonders das Verhalten gegen Salpetersäure beim Eindampfen und nachheriges Befeuchten mit Ammoniak) mit denen des Guanins identisch sind. Die Krystalle hinterlassen beim Verbrennen eine bedeutende Menge Asche, welche im Gegensatz zu den neutralen Krystallen alkalisch ist. Sie enthält keine Phosphorsäure, sondern besteht lediglich aus kohlensaurem Kalk. Da es ihm nun gelang, eine Verbindung von Guanin mit Kalk herzustellen, welche allerdings nicht die optischen Eigenschaften der Silbersubstanz zeigte, so folgerte er, dass wir es in der Silbersubstanz mit einer Verbindung von Guanin und Kalk zu thun haben. In der zweiten der erwähnten Arbeiten theilt er mit, dass sich in der Schwimmblase von *Argentia sphyraena* Krystalle vorfinden, welche das gleiche Aussehen wie die der in den Handel kommenden Silbersubstanz zeigten. Diese Krystalle sollen nun aus reinem Guanin bestehen, nicht aus der in den Schuppen vorhandenen Calciumverbindung, und er giebt hier auch das Resultat einer Stickstoffbestimmung, bei der er 45,64% Stickstoff statt der berechneten 46,36% fand.

Späterhin wurden zum Theil amorphe, zum Theil krystallisirte Ablagerungen in der Haut, den Mesenterien, der Retina und des Tapetums des Auges von Fischen, Amphibien und Reptilien durch Kühne und Sewall (Untersuchungen aus d. physiol. Institut zu Heidelberg, III, 1880) und durch Ewald und Krukenberg (Untersuchungen des physiol. Inst. zu Heidelberg, IV, Heft 3; Zeitschrift für Biologie, Bd. XIX), zum Theil als Guanin, zum Theil als Guaninkalk bestimmt.

Da sich alle erwähnten Arbeiten nur auf Reactionen des Guanins (mit Ausnahme der einen Stickstoffbestimmung von Voit) und auf qualitativen Nachweis des Kalkes stützen, so schien es nicht unangebracht, diese Untersuchungen von Neuem in die Hand zu nehmen.

Die Silbersubstanz stellte ich aus Schuppen von *Alburnus lucidus* dar, welche ich kiloweise von Herrn A. Reimer und Co. in Stettin bezog. Die Schuppen wurden in einer Glasflasche mit reinem Wasser etwa zu gleichen Theilen 10 bis 20 Minuten geschüttelt, durch feine Gase geseiht und dann der Schüttelprocess noch 2 bis 3 Mal wiederholt. Beim Schütteln lösen sich alle Krystalle von den Schuppen und dem Gewebe ab und gehen nachher mit dem Wasser durch die Gase durch, während die Schuppen zurückbleiben. Die abfiltrirte Flüssigkeit enthält noch vielerlei Verunreinigungen, besonders Epithelien und dergleichen mehr. Durch mehrfaches Centrifugiren wird die Substanz wesentlich gereinigt. Mikroskopische Präparate (Antrocknen einer Probe des Krystallbreies auf dem Deckglas über der Flamme und Nachfärben mit warmer Methylenblaulösung, wobei sich die Verunreinigungen blau färben, während die Krystalle den Farbstoff nicht aufnehmen) zeigen, dass trotzdem noch bedeutende Mengen von Verunreinigungen vorhanden sind. Durch Verdauen mit alkalischer Trypsinlösung wird ein Theil der noch übrigen Verunreinigungen beseitigt. Noch besser verfährt man, wenn man den Krystallbrei vier bis fünf Wochen mit 10% Ammoniaklösung stehen lässt, dann wiederholt mit Wasser centrifugirt, mit Alkohol auswäscht und trocknet.

Trotz dieser Behandlung erhält man die Substanz nie ganz rein. Sie zeigt immer noch färbbare Verunreinigungen und hinterlässt beim Lösen mit Säuren eine nicht unbeträchtliche Menge membranöser Residuen, welche aus dem Gewebe der Schuppen und der Haut herrühren.

Die Krystalle sind in Wasser, Alkohol, Aether, Ammoniak und concentrirter Essigsäure nicht löslich. Dagegen lösen sie sich, wie die Autoren schon angegeben haben, in verdünnter und concentrirter Kali- und Natronlauge und in Salzsäure.

Schwefelsäure und Salpetersäure leicht auf. Aus diesen Lösungen krystallisiren beim Eindampfen lange nadelförmige Krystalle aus. Fügt man zu den alkalischen Lösungen Essigsäure im Ueberschuss oder zu den sauren Ammoniak, so fällt ein rein weisses amorphes Pulver aus, welches mit Salpetersäure eingedampft und mit Ammoniak befeuchtet die Guaninreaction zeigt. Die Krystalle des salzsauren Salzes (sie bilden sich zuerst in der Form langer Nadeln, bei weiterem Eindampfen häufig als kleine dicke Tafeln) zeigen unter gekreuzten Nikols eine Auslöschungsrichtung, welche mit den Prismenkanten den für salzsaures Guanin charakteristischen Winkel von 27° bildet. Aus den abfiltrirten und wieder in verdünnter Salzsäure gelösten Krystallen erhält man durch Neutralisiren mit Ammoniak ein reinweisses amorphes Pulver, welches zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl und zur Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmung verwendet wurde.

Die gefundenen Resultate stellen es ausser allen Zweifel, dass die in den Krystallen enthaltene Base thatsächlich Guanin ist:

Stickstoff, berechnet:	46,35 %	gefunden:	46,32 %
Kohlenstoff	39,7	»	39,4
Wasserstoff	3,3	»	3,6

Die Asche der auf vorher beschriebene Weise gereinigten Silbersubstanz besteht nicht aus reinem kohlen-sauren Kalk, sondern enthält nebenbei deutlich nachweisbare Mengen von Phosphorsäure und Eisen. Da diese Mengen aber gegenüber dem Kalk ausserordentlich gering sind, so habe ich sie bei der quantitativen Kalkbestimmung nicht in Rechnung gezogen. Der Kalk wurde im Platintiegel als Calciumsulfatanhydrid bestimmt.

Die Silbersubstanz zeigt nun je nach ihrem Reinigungsgrade verschiedenen Gehalt an Calcium, nämlich 3,66 % Ca, 3,2 % Ca und 2,9 % Ca.

Bei einer zweiten Versuchsreihe löste ich die Silbersubstanz in verdünnter Salzsäure, filtrirte von den Verunreinigungen ab und bestimmte den Kalkgehalt des Filtrats und des Rückstandes. Dabei fand ich in der Lösung der

mit Trypsin verdauten Substanz 2,03% Ca, in der Lösung der mit Ammoniak behandelten Substanz nur 1,5% Ca.

Da sich nun der Procentgehalt an Ca für Guaninkalk $C_5H_4N_5O$ $\left. \begin{array}{l} \\ \\ \end{array} \right\}$ Ca auf 11,76% berechnet und der Ca-Gehalt der Silbersubstanz auch bei den höchsten gefundenen Werthen noch nicht den dritten Theil der berechneten Menge ausmacht, so ist als sicher anzunehmen, dass eine der obigen Formel entsprechende Verbindung des Guanins mit Calcium nicht vorliegt. Vielmehr muss angenommen werden, dass die Calciummengen, welche in der Asche gefunden werden, aus dem Gewebe, besonders aus den Schuppen, herkommen, von denen sich immer Theile beim Ausschütteln loslösen müssen. Hierfür spricht besonders der Umstand, dass die gefundenen Calciummengen proportional den Mengen der Verunreinigungen sind. Es wäre auch sonderbar, wenn die Silbersubstanz der Fischblasen, welche in ihrem Aussehen ganz der der äusseren Haut gleichkommt, aus reinem Guanin (Voit) bestände, die der äusseren Haut aber eine Calciumverbindung wäre. Da in der Blase keine Kalkablagerungen vorhanden sind, so ist es leicht einzusehen, warum hier die Krystalle reiner, d. h. ohne Kalkbeimischung, erhalten werden. Auch die Spuren von Phosphorsäure und Eisen, welche in der Krystallasche gefunden werden, stammen selbstverständlich aus dem Gewebe. Nach alledem ist es mir nicht zweifelhaft, dass wir es in der Silbersubstanz der Fische mit reinem krystallisirten Guanin zu thun haben.

Ablagerungen von Guanin in der Haut und den Fascien scheinen nach den Untersuchungen von Ewald und Krukenberg bei Fischen, Amphibien und Reptilien eine ziemlich allgemeine Erscheinung zu sein. Jedoch finden sich irisirende Guaninkrystalle nur bei Fischen und ich zweifle nicht, dass die Fähigkeit der Zellen, das Guanin in diesen Krystallen abzuscheiden, eine im Kampf ums Dasein erworbene Eigenschaft ist. Nicht alle Theile der Haut von silberglänzenden Fischen zeigen eine gleichmässige Vertheilung der Krystalle. Sie finden sich vielmehr hauptsächlich an der Bauchseite, so dass der Fisch, wenn er im Wasser schwimmt, von unten gegen die helle

Wasseroberfläche kaum zu sehen ist. Auf der Rückenseite sind an Stelle der Guaninkrystalle Pigmentablagerungen vorhanden, die gemeiniglich im Ton des Untergrundes der Gewässer, in denen die Fische leben, gehalten sind und die ihn bei der Beobachtung von oben her oft kaum vom Boden unterscheiden lassen. Dass sich auch Guaninkrystalle im Innern des Körpers besonders in der Blase vorfinden, spricht nicht wesentlich gegen diese Auffassung, denn es finden sich auch bei vielen Thieren Pigmentablagerungen im Innern des Körpers, wo ihr Zweck nicht klar ist. Ausserdem hat Krukenberg darauf aufmerksam gemacht, dass bei kleinen Vertretern der Clupeiden und Mugiliden, welche keine Guaninkrystallablagerungen in der Bauchhaut haben, wohl aber reichliche im Peritoneum, die Bauchhaut so durchsichtig ist, dass die Thiere von unten her ganz silbern aussehen, obwohl die Krystalle tief im Körper liegen.

Zum Schluss sei bemerkt, dass die Bemühungen, das Guanin in der schönen krystallisirten Form darzustellen, um die «Perlessenz wohlfeiler zu machen» (s. Voit), bei den heutigen Preisen ziemlich aussichtslos sind, da man Guanin aus der Silbersubstanz viel billiger herstellen kann, als es im Handel zu haben ist. (Man kann aus einem Kilo Schuppen (Preis 10 Mark) ungefähr 10 bis 15 gr. Guanin darstellen.)

Herrn Professor Dr. Kossel spreche ich an dieser Stelle für die Anregung zu dieser Arbeit, sowie für seinen vielseitigen Rath meinen besten Dank aus.
