

Kleinere Mittheilungen.

Von

Carl Th. Mörner in Upsala.

(Der Redaction zugegangen am 5. November 1902.)

I. Farbenreaction des Tyrosins.

Beim Studium der Hehner'schen Formaldehydreaction¹⁾ machte ich zufällig die Beobachtung, dass eine formalinhaltige²⁾ Tyrosinlösung bei Berührung mit concentrirter Schwefelsäure intensiv grün gefärbt wurde. Diese Beobachtung führte zur Ausarbeitung eines Identificirung und Nachweis von Tyrosin bezweckenden Reagens.

Eine Tyrosinreaction, die sich gleichfalls auf die Anwendung von Formalin und Schwefelsäure gründet, ist, wie ich später erfahren habe, vor einiger Zeit von Denigès³⁾

1) Bei dieser leicht auszuführenden und empfindlichen Reaction, die ursprünglich behufs Nachweisung von Formaldehyd in Milch angegeben worden, wird die verdächtige Milch über 90 bis 95%iger Schwefelsäure geschichtet. Das Auftreten einer blau-violetten Färbung zeigt die Anwesenheit von Formaldehyd an. Das Eiweiss der Milch nimmt an der chemischen Umwandlung Theil, woraus die färbende Substanz hervorgeht (Formaldehydlösung allein reagirt nicht in der angegebenen Weise mit Schwefelsäure). Die Hehner'sche Probe kann daher auch an anderem Untersuchungsmaterial als Milch angewandt werden, wenn dasselbe nur an sich eiweisshaltig ist oder durch Zusatz von z. B. Milch gemacht worden.

2) Formalin = ca. 40%ige Wasserlösung von Formaldehyd.

3) Compt. rend., Bd. 130 (1900) S. 583. Als Reagens wird eine Mischung von 2 Vol. Formalin mit 100 Vol. concentrirter Schwefelsäure benutzt. Ueber das Reactionsresultat sagt der Verfasser: «Quand à 2 ccm ou 3 ccm de ce réactif on ajoute un peu de tyrosine, il se développe lentement à froid, instantanément vers 50–60°, une coloration feuille morte, prenant finalement un ton rougeâtre. Par addition au liquide du double de son volume d'acide acétique cristallisable et ébullition, la teinte passe au vert.» In demselben Aufsatz beschreibt Denigès auch eine Tyrosinreaction, die sich auf Anwendung von Acetaldehyd und Schwefelsäure basirt.

angegeben worden, da aber das Verfahren, das sich aus meinen Versuchen ergeben hat, ein charakteristischeres Reactionsresultat liefern und etwas einfacher sein dürfte, mag dasselbe hier kurz beschrieben werden.

Das einzige erforderliche (bei Aufbewahrung haltbare) Reagens ist eine Mischung von:

1	Volumen Formalin,
45	» destillirten Wassers,
55	» concentrirter Schwefelsäure.

Wird eine Portion von ein paar Cubikcentimetern mit ein wenig Tyrosin (gleichviel ob in fester Form oder in Lösung) versetzt und die Mischung dann bis zum Kochen erhitzt, so stellt sich gleich oder einige Secunden nach Beginn des Kochens eine schöne, lange andauernde Grünfärbung ein. Die oben angegebene Proportion zwischen Säure und Wasser hat sich am vortheilhaftesten erwiesen. Wenn das Reagens wasserreicher gemacht wird, so ist ein längeres Kochen erforderlich (wobei doch endlich, wenn die Säure die nöthige Concentration erlangt hat, die grüne Färbung sich in charakteristischer Weise einstellt); bei erheblich grösserem Schwefelsäuregehalt kann man nicht bis zum Kochen erhitzen, sondern muss eine gewisse Vorsicht bei der Erwärmung beobachten, wobei trotzdem Missfärbung ins Bräunlich-schwarze leicht erfolgt.

Geprüft an etwa 100 verschiedenartigen Substanzen, in erster Linie den ihrer chemischen Constitution nach mit dem Tyrosin nahe verwandten,¹⁾ hat dies Reagens in keinem Fall das gleiche Reactionsresultat, wie mit Tyrosin oder ein demselben ähnliches ergeben.

Wie sich das Reagens zu den beiden dem Tyrosin nahestehenden Oxysäuren, p-Oxyphenylpropionsäure und p-Oxyphenyl-essigsäure, verhält, habe ich aus Mangel an reinem Material noch nicht ermitteln können.

¹⁾ U. a. die gewöhnlicheren ein- oder mehratomigen Phenole, β -Phenylpropionsäure, p-Oxybenzoesäure, Homogentisinsäure, Anispropionsäure, native Eiweissstoffe, Albumosen, Albumide.

II. Eine Beobachtung betreffs des Ichthylepidins.

In den Schuppen sämmtlicher von mir¹⁾ untersuchten Teleostiern²⁾ konnte Ichthylepidin bei direct angestellter qualitativer Prüfung mit alkalischer Bleilösung resp. Millon's Reagens leicht nachgewiesen werden. Mittels derselben qualitativen Reactionen haben neuerdings Green und Tower³⁾ die Anwesenheit dieser Albumoids substanz in den Schuppen von weiteren 31 Teleostierspecies (aus Amerika) dargethan. Es ist somit klar, dass das Vorhandensein von Ichthylepidin innerhalb dieser Gattung von Fischen allgemein ist, während die fragliche Substanz bei keinem der Elasmobranchier, die Green und Tower einer Untersuchung unterzogen, angetroffen worden ist. Nur bei einem Teleostier — dem Klumpfisch, *Mola mola* (L.) —, der übrigens in gewissen Hinsichten (morphologische Structur der Schuppen, Anzahl und Anordnung der Arterien) den Elasmobranchiern nahe steht, haben die genannten Forscher keinen Ausschlag für Ichthylepidin erhalten.

In den letzten Jahren habe ich die Gelegenheit, wo sie sich mir darbot, benutzt, um die Schuppen einiger der in Skandinavien häufiger vorkommenden Teleostier auf das Vorhandensein von Ichthylepidin zu untersuchen, und habe dadurch meine Kenntniss von der weiten Verbreitung dieser Substanz immer mehr erweitern können.

Indessen habe ich dabei gefunden, dass einer von den allgemeineren europäischen Teleostiern bis zu einem gewissen Grade eine Sonderstellung einnimmt. Es ist dies die Schleie, *Tinca vulgaris* Flem. Bei directer Prüfung der entkalkten Schuppen⁴⁾ mit den obenerwähnten zwei Reagentien hat das Reactionsresultat in keinem Falle die Anwesenheit von Ichthylepidin vermuthen lassen. Nähere Untersuchung eines reichhaltigeren Materials gab indessen an die Hand, dass Ichthy-

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXIV, S. 125.

2) 12 Arten.

3) Diese Zeitschrift, Bd. XXXV, S. 196.

4) Von mehreren, zu verschiedenen Zeiten des Jahres gefangenen Individuen.

lepidin nicht gänzlich fehlt, dass dessen Menge aber so gering ist, dass die qualitativen Reactionen — direct angewendet — versagen. Bei Digestion der entkalkten Schuppen¹⁾ bei $+ 40^{\circ}$ C. mit 0,2%iger Salzsäure resp. Chloroformwasser blieb ein Rest zurück, der, wie sich herausstellte, lose gebundenen Schwefel enthielt und der mit Millon's Reagens tief rubinrote Färbung ergab. Die Menge desselben betrug nur 3,3% (ungefähr $\frac{1}{30}$) von der organischen Trockensubstanz der Schuppen, während der Ichthylepidingehalt der entkalkten Teleostierschuppen, die ich früher analysirt.²⁾ ungefähr $\frac{1}{5}$ des Ganzen entsprach.

Mit der hier besprochenen Ausnahmestellung hinsichtlich des Ichthylepidingehalts dürfte wohl die Thatsache im Zusammenhang stehen, dass die Schuppen der gekochten Schleie in auffallendem Grade weich sind und daher ohne Schwierigkeit verzehrt werden können.

III. Die sogenannten weinrothen Körper der Holothurien.

Da diese Gebilde bisher nicht auf ihre chemische Natur hin näher untersucht worden zu sein scheinen, habe ich mit Vergnügen das Material bearbeitet, das mir Lic. Phil. Oestergren, Upsala, freundlichst zur Verfügung gestellt hat. Ueber die einschlägige Litteratur und die Herstammung des fraglichen Untersuchungsmateriales hat Oestergren Folgendes mitgetheilt.

Bei allen Gattungen der Stachelhäuter (Echinodermata) werden Kalkbildungen in der Lederhaut angetroffen. Bei den Seewalzen (Holothurioidea) bilden dieselben jedoch nie ein zusammenhängendes Skelet, sondern treten als isolirte, mehr oder weniger zahlreiche Kalkkörper auf. Ausser diesen bei fast allen Seewalzen vorkommenden Kalkkörpern finden sich bei den meisten Arten der Gattungen Trochostoma und Ankyroderma Gebilde einer ganz anderen Art, die man früher als „gefärbte Kalkkörper“ bezeichnet hat. Diese haben

1) Schwefelgehalt 0,57%.

2) Loc. cit.

gewöhnlich eine ellipsoidische Gestalt, seltener sind sie kugelförmig oder spindelförmig. Bei *Trochostoma violaceum* können sie nach Théel¹⁾ mehr als 0,3 mm lang werden, aber in der Regel sind sie doch weit kleiner, so bei *Ankyroderma musculus*, nach Ludwig²⁾ 0,009—0,07 mm. Sie zeigen eine deutliche concentrische Structur und haben eine gelbbraune bis röthliche weinähnliche Farbe (Théel l. c.). Sie sind daher auch als weinrothe Körper bezeichnet worden (Ludwig l. c.). Théel (l. c.) beobachtete, dass die gewöhnlichen ungefärbten Kalkkörper bei *Ankyroderma Marenzelleri* zu solchen gefärbten Körpern umgewandelt werden können, eine Beobachtung, die später betreffs mehrerer anderen Arten gemacht worden. Im Jahre 1883 wies Petit³⁾ nach, dass diese weinrothen Körper in chemischer Beziehung sich anders verhalten, als die ungefärbten Kalkkörper. Sie zischen nicht bei der Berührung mit Säuren, färben sich aber ab. In Essigsäure schwellen und platzen sie; durch anhaltende Behandlung mit Schwefelsäure werden sie zerstört. Diese Beobachtungen wurden 1891 von Ludwig bestätigt (l. c.), der in Folge dessen die Ansicht aussprach, dass diese Körper «jedenfalls nicht mehr ohne Weiteres als gefärbte Kalkkörper bezeichnet werden dürfen». Ihre wirkliche chemische Natur ist indessen noch immer unermittelt, weshalb eine eingehendere Untersuchung wünschenswerth wäre.

Das in Rede stehende Untersuchungsmaterial umfasst einige vom Zoologischen Museum in Kopenhagen erhaltene Exemplare eines nicht näher bestimmten *Trochostoma*, dessen Haut grosse Mengen von weinrothen Körpern, aber verhältnissmässig wenig Kalkkörper enthält. Von ersteren sind viele aus der Haut ausgefallen und bilden ein Lager auf dem Boden des Gefässes, worin die Thierchen verwahrt werden — möglicher Weise ist die Haut in dem ziemlich schwachen Spiritus

1) Report on the Scientific Results of the Voyage of H. M. S. «Challenger», Zoology, Vol. XIV, Part XXXIX, London, 1886.

2) Zeitschrift f. wissenschaftl. Zoologie, Bd. 51, Leipzig, 1891.

3) Bulletin de la Société philomatique de Paris, 7e Série, 6, 7, Paris, 1883.

etwas macerirt worden. Diesem schönen Material werden zum Vergleich einige Exemplare von *Trochostoma boreale* aus dem nördlichen Eismeer beigelegt.

Aus dem Gefäss, worin die erstgenannten *Trochostoma*-Exemplare aufbewahrt werden, wurde das schwere, rothbraunviolette Sediment heraufgeholt und durch mehrmals wiederholtes Schlämmen mit verdünntem Spiritus bezw. destillirtem Wasser von specifisch leichteren Gewebebestandtheilen gereinigt. Das so erhaltene Pulver (circa 1.5 g), das sich unter dem Mikroskop als aus typischen, weinrothen Körpern von wechselnder Grösse bestehend erwies — durch vereinzelte ungefärbte Kalkkörper und etwas farblosen Kieselsand verunreinigt —, wurde zwei Monate lang über Schwefelsäure getrocknet.

Bei qualitativer Prüfung der in verdünnten Mineralsäuren leichtlöslichen, in 10⁰ oiger Essigsäure aber nur äusserst schwerlöslichen¹⁾ Körner fiel das reichliche Vorkommen von Eisen (als Ferriverbindung) und Phosphorsäure auf. Ferner wurde die Anwesenheit von Calcium und Kohlensäure deutlich dargethan (bei Behandlung der Körner mit nicht allzu grossem Flüssigkeitsvolumen von z. B. verdünnter Salzsäure wurde ein sehr schwaches, aber continuirliches Entweichen von Gasblasen bis zu völliger Auflösung beobachtet). Magnesium kam in ganz geringer Menge vor, organische Substanz spurenweise. Mangan, Zink und Kupfer konnten nicht nachgewiesen werden. Bei gelindem Glühen entwich Wasser und der Rückstand zeigte den tiefrothen Farbenton des Eisenoxydes.

Zwecks quantitativer Bestimmung der wichtigsten Factoren wurden drei verschiedene Partien bearbeitet:

1. 0,250 g zur Bestimmung von Phosphor.
2. 0,250 „ „ „ „ Eisen und Glühverlust.²⁾
3. 0,500 „ „ „ „ Calcium und Sand.

¹⁾ Eine kleine Partie wurde unter sehr häufig wiederholtem Wechsel des Lösungsmittels mit 10⁰ oiger Essigsäure behandelt. Tag für Tag gingen Eisen und Phosphorsäure in Lösung, aber noch nach Verlauf eines Monats fanden sich eisen- und phosphorsäurehaltige Körner als ungelöster Rückstand.

²⁾ Die Erhitzung wurde bis zu beginnender Rothgluth getrieben.

Analysendata sämmtlich auf 1,000 g umgerechnet:

Fe	0,236 g
P	0,080 "
Ca	0,022 "
Glühverlust	0,230 "
Sand	0,130 "

Nach Abzug des eingemischten Kieselsandes kommen somit auf die eigene Masse der weinrothen Körper:

Fe	27,1 %
P	9,2 %
Ca	2,5 %
Glühverlust	26,4 %

Da theils die vorhandene Phosphorsäuremenge nicht hinreicht, die ganze Eisenmenge als normales Phosphat vollständig zu binden, theils das Eisen als Ferriverbindung existirt, ist es wahrscheinlich, dass die überschüssige Eisenmenge in Form von Ferrihydrat, $\text{Fe}(\text{OH})_3$, vorhanden ist. Die kleine Menge Calcium dürfte als Carbonat auftreten.

Aus den eben angeführten Verhältnissen gehen folgende procentische Ziffern hervor:

$\text{FePO}_4 + 4 \text{H}_2\text{O}$	66,2
$\text{Fe}(\text{OH})_3$	20,2
CaCO_3	6,4

In Folge der Knappheit des Untersuchungsmateriales musste auf eine nähere Untersuchung der Frage, ob das Ferriphosphat und das Ferrihydrat nur in Mischung mit einander vorliegen, oder ob sie, wenigstens ihrem Hauptpart nach, unter sich zu basischer Verbindung chemisch gebunden sind, wie dies in gewissen Mineralien (Beraunit, Picit, Eleonorit etc.) der Fall ist, verzichtet werden; letztere Annahme dürfte doch die wahrscheinlichere sein. Die gegenseitige Proportion der beiden Eisenverbindungen ist etwa 3 Moleküle FePO_4 : 2 Moleküle $\text{Fe}(\text{OH})_3$ oder das nämliche Verhältniss wie im Beraunite.¹⁾ In Bezug auf den Wassergehalt (Glühverlust), ein Factor, der bei den verschiedenen Ferriphosphatmineralien stark wechselt,

¹⁾ Elemente d. Mineralogie von Naumann (Zirkel), Leipzig 1885. S. 532.

kommt die Substanz der weinrothen Körper (mit 26,4⁰/o) dem Picite¹⁾ (mit 28,0⁰/o) nahe.

Als Hauptresultat dieser Analyse ergibt sich indessen, dass die weinrothen Körper, als zum grössten Theil aus eisen- und phosphorsäurehaltiger Substanz²⁾ bestehend, chemisch mit den calciumcarbonatreichen ungefärbten Kalkkörpern wenig gemein haben, und dass ihre eigenthümliche, rothbraune Farbe nicht von irgend einem organischen Pigment herrührt, sondern ihrem Eisengehalt zu verdanken ist. Ludwig's oben citirte, bereits im Jahre 1891 ausgesprochene Ansicht, dass man die weinrothen Körper «nicht ohne Weiteres als gefärbte Kalkkörper bezeichnen dürfe», hat hierdurch Bestätigung und zugleich eine positivere Grundlage erhalten.

1) Descriptive Mineralogy by Dana. New-York, 1892. S. 849.

2) Eisen und Phosphorsäure wurden auch in den gleichen Bildungen bei *Trochostoma boreale* in reichlicher Menge qualitativ nachgewiesen. Um das Eisen nachzuweisen, genügte es z. B., die dunkelgefärbten Hautpartien mit verdünnter Salzsäure direct zu betupfen und dann Lösung von Ferrocyankalium oder Rhodankalium zuzusetzen.