

Studie über die dem Tryptophan zugeschriebenen Eiweißreaktionen.

Von

Dr. **Franz Bardachzi.**

Mit drei Kurvenzeichnungen im Text.

(Aus dem Prager deutschen medizinisch-chemischen Universitätslaboratorium.)

(Der Redaktion zugegangen am 15. Mai 1906.)

Die im Titel genannten Eiweißreaktionen, von welchen die Adamkiewicz'sche und Liebermann'sche Reaktion bereits lange Zeit zur Charakterisierung von Eiweiß Verwendung gefunden haben, sind in den letzten Jahren durch die schönen Arbeiten von Hopkins und von Cole¹⁾ als Tryptophanreaktionen charakterisiert worden. Vorher hatten sie wiederholt die verschiedensten Interpretationen erfahren, indem Furfurol, Furfurol mit dem Tyrosin und Phenol liefernden Komplexe, Indol, Skatol, Skatolcarbonsäure, Kohlehydrate, von verschiedenen Autoren²⁾ als reagierende Gruppen aufgefaßt worden waren. Nur Krukenberg³⁾ scheint die Adamkiewicz'sche Reaktion, als «der labilsten Atomgruppe im Eiweißmolekül» zukommend, in ihrer Bedeutung erkannt zu haben.

Versetzt man nach Adamkiewicz die Lösung eines Eiweißkörpers in überschüssigem Eisessig mit konzentrierter Schwefelsäure, so tritt ein schönes an rosa anklingendes Violett auf, bei der spektroskopischen Untersuchung zeigt sich in der Lösung ein dem, Urobilin wie dem Choletelin analoger Absorp-

¹⁾ Hopkins und Cole, (engl.) Journal of Physiology, Bd. XXVII, S. 418; Cole, ibid., Bd. XXX, S. 311; vergl. auch Hopkins und Cole, Proceedings of the Royal Soc., Bd. LXVIII, S. 21.

²⁾ Vergl. Diese Zeitschrift, Bd. XII, S. 221 und 395 (Salkowski und v. Udransky), Bd. XXIV, S. 167 (Hofmeister).

³⁾ Krukenberg, Unters. z. wissensch. Med., S. 98, 101 u. 186.

tionsstreifen zwischen b und F.¹⁾ Nach Liebermann wird Eiweiß mit Alkohol ausgekocht, dann 3—4mal mit Äther gewaschen, hierauf mit reiner rauchender Salzsäure erwärmt, wobei es sich prächtig tiefviolettblau färbt.²⁾ Hopkins und Cole³⁾ haben nun erwiesen, daß die Reaktion nach Adamkiewicz durch die Gegenwart von Glyoxylsäure in dem Eisessig bewirkt ist, und haben dasselbe für die Reaktion Liebermanns wahrscheinlich gemacht. Cole⁴⁾ hat überdies letzthin gezeigt, daß die vor Liebermann geübte Eiweißprobe (durch Erwärmen von Eiweiß mit Salzsäure entstehende Purpurfarbe) als Reaktion der Skatolgruppe — also auch des Tryptophans, und zwar mit Furfurol — zu deuten sei.

Wenn dadurch zwar aus dem Gewirr der blauen und roten Farbreaktionen dieser Kategorie das Wesentliche eruiert ist, so wird doch jeder Beobachter, der diese Reaktionen mit reinem Tryptophan einerseits, andererseits mit Eiweiß ausgeführt hat, bemerkt haben, daß die Färbungen in den beiden Fällen verschiedene sind. Am auffallendsten tritt dies bei der mit Glyoxylsäure und Salzsäure angestellten Probe hervor. Während sie bei Verwendung von Tryptophan rein blaue Töne liefert, gibt sie mit Eiweiß nur violette Lösungen. Osborne und Harris⁵⁾ haben in dieser Hinsicht verschiedenartige reine Eiweißkörper vergleichend auf die Intensität dieser Reaktion untersucht und dabei (statt der reinen Salzsäure wurde 50%ige Schwefelsäure verwendet) auch nur Violettfärbungen erhalten.

Bei der Empfindlichkeit und dem Werte dieser Proben schien es von Interesse zu sein, eine vergleichende Untersuchung über sie durchzuführen, zumal man erwarten kann, durch solche Studien ein Urteil über die Menge des Tryptophans resp. dieses farbbildenden Komplexes in verschiedenen Eiweißkörpern zu gewinnen.

1) Pflügers Arch. f. Physiol., Bd. IX, S. 156; Arch. f. exp. Path., Bd. III, S. 423.

2) Zentralbl. f. d. med. Wiss., 1887, S. 321, 450.

3) l. c. Proc. Royal Soc.

4) l. c. J. of Physiol., Bd. XXX.

5) Journ. of the American Chem. Soc., Bd. XXV, S. 853.

Versuche, die gebildeten Farbstoffe zu isolieren, führten allerdings infolge ihrer großen Zersetzlichkeit zu keinem Resultat.

Die Farblösungen wurden dargestellt aus gewogenen Mengen von Tryptophan mit reiner rauchender Salzsäure unter 1. Zusatz von altem Äther, der die Liebermannsche Reaktion in ausgezeichneter Weise hervorbrachte; 2. unter Zusatz von Glyoxylsäure; ¹⁾ 3. unter Zusatz von Furfurol.

Die analogen Reaktionen wurden mit verschiedenen Eiweißkörpern ausgeführt, nur daß bei 3. der Furfurolzusatz meist unterblieb. Von anderen Modifikationen dieser Proben konnte ich absehen, umsomehr als orientierende Versuche keine Vorzüge solcher Modifikationen ergaben.

Die Tryptophanproben 1 und 2 entfärbten sich schon vor der Neutralisierung durch Alkalien, bei der Verdünnung mit Wasser, Alkohol und Äther; mit Aceton trat eine Veränderung der Farbe ins Rote ein, die wahrscheinlich einer Reaktion des Acetons mit der Salzsäure (vergl. Beilstein, Handbuch, 3. Aufl., Bd. I, S. 1013) zukommt. Beim Aussalzen mit verschiedenen Neutralsalzen trat gleichfalls Entfärbung oder geringe Gelbfärbung ein. In konzentrierteren Lösungen wurde gelegentlich ein blaugefärbter Niederschlag beobachtet, doch war seine Menge gering, bei den Isolierungsversuchen entfärbte er sich oder gab schmutzig gelbe bis grüne Farbentöne. Mit viel Salzsäure konnte aus solchen Lösungen gelegentlich eine Restitution der blauen Färbung eintreten, meistens aber war dann die Lösung trübe und violett gefärbt. Weniger empfindlich gegen Wasser erwies sich die Tryptophan-Furfurolprobe, jedoch auch diese Probe wurde bei Entfernung der Salzsäure entfärbt und eine Isolierung des Farbstoffs gelang nicht.

Daß ich neben der Glyoxylsäure auch den «wirksamen» Äther verwendet habe, hat darin seinen Grund, daß nach meinen Erfahrungen die beiden Reaktionen nicht in gleicher Weise vor sich gehen. Die Reaktion mit dem Äther tritt in aller Intensität fast momentan, auch bei Zimmertemperatur ein, während die Glyoxylsäurereaktion erst nach einiger Zeit, bei Zimmertemperatur nach mehreren Stunden, ihre volle Höhe erreicht, auch wenn reiner Äther mit der Glyoxylsäure zugegeben wurde. Ich habe alten, sehr wirksamen Äther aus Drogerien erhalten; künstlich konnte ich weder durch Wasserstoffsperoxyd und Belichtung noch durch Ozon einen gleich wirksamen herstellen.

¹⁾ Herren Kinzelberger & Cie., chemische Fabrik in Prag, bin ich für die Überlassung einer größeren Menge wässriger Glyoxylsäure zu besonderem Danke verpflichtet.

Daher möchte ich die Frage nach dem wirksamen Bestandteil des Äthers als noch nicht erledigt ansehen.

Zur vergleichenden Charakterisierung der vorliegenden Farbstoffe blieb als der einzige Weg, möglichst sorgsam ihre optischen Qualitäten durch spektrophotometrische Untersuchung zu eruieren. Diese Methode hat Vierordt¹⁾ wiederholt empfohlen und mit Erfolg verwendet, in der neueren Zeit ist sie durch v. Hüfner so ausgestaltet worden, daß sie als quantitative Methode eine weitgehende Verwendung finden kann. Dadurch daß die Lichtextinktion in dem größten Teil des sichtbaren Spektrums bestimmt wird, ergeben sich auch für solche Farbstoffe, die das Licht nur diffus auslöschen, Charakterisierungsmomente, welche bei der spektroskopischen Beobachtung fehlen, da bekanntlich diffuse Lichtauslösungen, selbst höheren Grades, bei dieser nur wenig auffallen.

Mit den in Frage stehenden Farblösungen habe ich solche photometrische Untersuchungen unter Benützung eines Hüfnerschen Spektrophotometers ausgeführt; selbstverständlich wurden dabei alle Kautelen beachtet, auf die v. Hüfner und seine Schule aufmerksam gemacht hat.

Als Lichtquelle diente eine Auerlampe, die Breite des Kollimatorspaltes betrug $\frac{1}{20}$ mm, die Eichung des Apparates erfolgte mit den Fraunhoferschen Linien des hellen Tageslichtes. Die Breite des Okularspaltes gab bei der Einstellung der betreffenden Fraunhoferschen Linie auf den linken Schieber die folgenden Werte der Wellenlängen für das gleichzeitig ins Auge gelangende Licht.

C (656,3)	bis	644	$\mu\mu$
D (589,0)	>	579	>
E (527,0)	>	518	>
F (486)	>	481	>

Es sei hervorgehoben, daß, obwohl also verschiedenartige Lichtstrahlen gleichzeitig in das Auge des Beobachters gelangen,

¹⁾ Anwendung des Spektralapparates, Tübingen 1873, Die quantitative Spektralanalyse, Tübingen 1876.

doch das gleichzeitig ins Auge gelangende Licht monochromatisch erscheint.

In den im folgenden mitgeteilten Zahlenwerten wird nur der Wert für die am linken Schieber vorhandene Wellenlänge angegeben werden, da sich unter Berücksichtigung der vorstehenden Daten die Summe der bei jeder Ablesung ins Auge gelangenden Lichtqualitäten hinlänglich genau finden läßt.

Mit großer Sorgfalt mußte auf den Schutz des Objektivnicolprismas vor den Dämpfen der Salzsäure geachtet werden. Es wurde vollständig mit einer Kappe umgeben, welche der Beleuchtungslampe gegenüber eine vertikalstehende planparallele Glasplatte trug. Die zu untersuchende Flüssigkeit wurde in einer gut schließenden gläsernen Absorptionszelle, deren Fugen sicherheitshalber außen mit Kollodium verstrichen waren, beobachtet. Die Dicke der lichtauslöschenden Schichte betrug 10 mm. Ferner wurde sorgsam darauf geachtet, daß nicht etwa während der optischen Untersuchung eine Änderung in der Lichtextinktion eintrat, indem nach der Aufnahme der Lichtextinktion die Untersuchung stichprobenartig in einzelnen Spektralgebieten wiederholt wurde. Selbstverständlich wurden nur vollkommen klare Flüssigkeiten untersucht; Trübungen wurden durch ein dichtgestopftes Glaswollfilter filtriert.

Im folgenden will ich aus der großen Anzahl von Beobachtungen, deren Gesamtmitteilung kaum von Interesse wäre, einige zur Charakterisierung der Farbenercheinungen geeignete anführen. Eine detaillierte Angabe wird erst dann von Wert sein, bis diese Methode zur quantitativen Tryptophanbestimmung ausgebildet vorliegen wird, welche Erwartung mir als nicht aussichtslos erscheint. Die hier mitgeteilten Daten werden aber der letzteren Aufgabe noch nicht gerecht.

I. Versuche mit Tryptophanlösungen.

Das verwendete Tryptophan war aus Casein nach Hopkins und Coles Vorschrift dargestellt und bestand aus feinen weißen, perlmutterglänzenden Plättchen.

0,0036 g Tryptophan wurden wiederholt mit mehreren

Kubikzentimetern eines sehr «wirksamen»¹⁾ alten Äthers übergossen, nach dem Verdunsten desselben bei Zimmertemperatur mit 10 ccm rauchender Salzsäure versetzt und zur photometrischen Untersuchung mit Salzsäure auf das Dreifache verdünnt.

Die Lichtauslöschung²⁾ wurde gefunden (A)

Wellenlänge	φ	ϵ
680	55,6	0,496
659,5	60,4	0,613
640	65,1	0,751
619	67,6	0,838
600	68,5	0,872
580	68,7	0,880
560	67,1	0,820
540	64,2	0,723
520,5	61,7	0,648
500	55	0,484

Es muß hervorgehoben werden, daß scharfe Absorptionsstreifen allerdings in dem Kurvenbilde abgeflacht erscheinen, weil ja Licht verschiedener Wellenlängen und dabei verschiedener Intensitäten als homogen beobachtet wird. Man könnte durch die Vermehrung der Ablesungswerte und noch mehr durch die Verengung des Okularspaltes ein präziseres Bild erhalten, jedoch scheint für die vorliegenden Zwecke die erreichte Genauigkeit hinreichend zu sein.

In mehrfachen, dem oben angeführten analogen Versuchen ergab es sich, daß die Lichtauslöschungskurve zwar den gleichen Gang hat, daß aber die Intensität der Reaktion relativ großen Schwankungen unterliegt, die zum Teil, wenn nicht ausschließlich, von der Menge des Ätherzusatzes abhängen; auch ein Überschuß des wirksamen Ätherbestandteiles vermindert die Intensität der Farbe.

¹⁾ Als «wirksamer» Äther wird im folgenden ein solcher bezeichnet, welcher die Reaktion Liebermanns gut hervorbringt.

²⁾ In den Tabellen bedeutet φ den Mittelwert des Drehungswinkels, $\epsilon = -\log \cos^2 \varphi$ den Extinktionskoeffizienten (vergl. Hüfners Anleitung zum Gebrauche des Spektrophotometers, Tübingen, Pietzckers Verlag). Der Übersichtlichkeit halber sind die Werte unter dem in Klammern beigesetzten Buchstaben bildlich dargestellt.

Die gleiche Beobachtung wurde mit wässriger Glyoxylsäure gemacht. Es sei hier eine Lichtauslöschungskurve mitgeteilt, welche dem erhaltenen Wirkungsmaximum entspricht.

0,0114 g Tryptophan wurden in 100 ccm reiner rauchender Salzsäure gelöst. Je 4 ccm dieser Lösung wurden mit gemessenen Mengen einer 0,025 % Glyoxylsäure enthaltenden Salzsäure gemischt. Nach mehreren Stunden war die stärkste Färbung beim Zusatz von 2 ccm des Reagens eingetreten. Die Lösung wurde mit Salzsäure auf 10 ccm verdünnt (sie enthielt in 10 ccm 0,456 mg Tryptophan) und photometriert. Es wurden folgende Werte erhalten: (B)

Wellenlänge	φ	ϵ
680	45,5	0,309
659,5	50,2	0,388
639,6	54,7	0,476
619	60,9	0,626
600	63,6	0,704
580	63,9	0,713
560	62,0	0,657
540	58,5	0,564
520,5	54,0	0,462
500	48	0,349

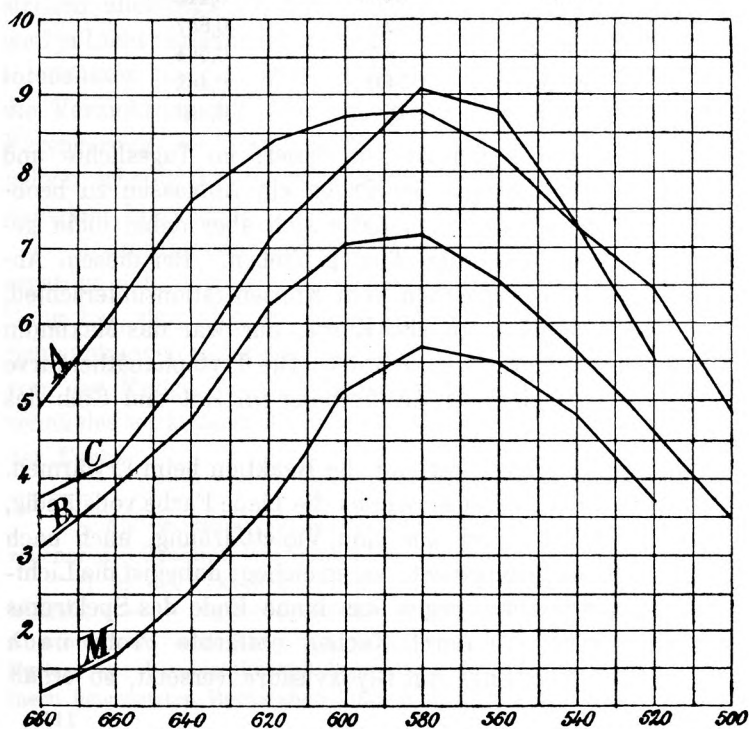
Nach einigen Tagen war in dieser, im Tageslichte und an der Luft stehen gelassenen Probe ein Abblässen zu beobachten. Der blaue Farbenton hatte sich aber dabei nicht geändert, die Probe war auch klar geblieben. Bei diesem Abblässen zeigte sich, abgesehen vom Konzentrationsunterschied, die fast gleiche photometrische Kurve, nur war das Maximum bei 580 $\mu\mu$ nicht so scharf ausgeprägt. Die Tryptophanätherkurve dagegen gibt eine stärkere Auslöschung im Rot und Gelb des Spektrums.

Wesentlich anders verläuft die Reaktion beim Erwärmen. Durch längeres Kochen verschwindet die blaue Farbe vollständig, bei kürzerem Kochen ist nur eine Violettfärbung, auch nach neuerlichem Glyoxylsäurezusatz, zu erreichen; dabei ist die Lichtauslöschung beträchtlich gegen das blaue Ende des Spektrums verschoben. Wird die durch Kochen entfärbte Probe nach dem Abkühlen neuerdings mit Glyoxylsäure versetzt, so erhält

man wiederum einen rein blauen Farbenton und auch die ursprüngliche Lichtextinktion. Diese Erscheinung des Entfärbens und Wiederauftretens der Farbe konnte mehrmals mit derselben Probe wiederholt werden. Es sei dies beiläufig mitgeteilt als Stütze für die Anschauung, daß der Chromogenkomplex dieser Reaktion einer tiefgehenden Zersetzung nur langsam unterliegt.

Bei der photometrischen Untersuchung einer so lange erhitzten Probe, daß die Färbung eine rein violette war, wurden folgende Werte erhalten: (C)

Wellenlänge	φ	ϵ
680	49,6	0,377
660	52,0	0,421
640	57,9	0,549
619	63,8	0,710
580	69,3	0,903
560	68,7	0,880
540	64,2	0,723
520	58,0	0,552



Die Proben der Tryptophanreaktion mittels Furfurol und Salzsäure zeigen die der vorigen Probe entgegengesetzte Eigenschaft: ein starkes Nachdunkeln, wobei aber zugleich der Farbcharakter sich ändert. Die frischbereitete Probe gibt schon bei Zimmertemperatur bald eine intensiv weinrote Farbe mit einem Absorptionsband im Blaugrün; schnell tritt aber ein Farbumschlag ins Braunviolette ein. Auch in geschlossenen Absorptionszellen trat das erwähnte Nachdunkeln ein, weshalb eine präzise photometrische Untersuchung sich nicht durchführen ließ. Es wurden im Hinblick auf den zur Furfurolbildung aus Eiweißkörpern dienenden Kohlehydratkomplex mehrfache Versuche ausgeführt, an Stelle des Furfurols verschiedene Zuckerarten zu dieser Reaktion zu verwenden. Verwendet wurden Rohrzucker, Traubenzucker, Lävulose, Arabinose und Glukosamin. Auch bei diesen Versuchen wurde ein Nachdunkeln mit Bildung brauner Farbtöne beobachtet. Die genannten Kohlehydrate gaben auch für sich mit Salzsäure erhitzt Braunfärbung, zum Teil mit Absorptionsstreifen im Blaugrün. Die geringste Färbung gab Glukosamin.

Es sei daher von der Mitteilung der Lichtabsorptionskurven hier abgesehen, im allgemeinen zeigen sie eine vom Rot gegen das Blau fast gleichmäßig zunehmende Verdunklung. Bemerkenswert scheint zu sein, daß man mit Tryptophan, Rohrzucker und Salzsäure beim Erwärmen einen der Pettenkoferschen Gallensäurenprobe täuschend ähnlichen Farbenton — für das freie Auge — erhalten kann,¹⁾ was mir bei der Verwendung von Furfurol nicht gelang.

Bei Proben, denen neben der Glyoxylsäure Furfurol zugesetzt war, traten schlecht charakterisierbare Mischreaktionen auf, Kohlehydrate beeinflussten dagegen bei Zimmertemperatur die Tryptophanglyoxylsäurereaktion nicht. Die Färbung, welche Tryptophan, selbst bei längerem Erwärmen mit Salzsäure, gibt, ist relativ gering. So gab 0,01 g Tryptophan, durch zwei Stunden mit 10 ccm Salzsäure erwärmt, nur Werte von ϵ zwischen 0,2 und 0,3.

¹⁾ Vergl. Kühne und Chittenden, Zeitschrift f. Biologie, Bd. XXII, S. 451; Krukenberg, Chem. Unters. z. wissensch. Med., S. 98.

II. Versuche mit Eiweißkörpern.

Mit altem «wirksamen» Äther und Salzsäure gaben schon in der Kälte blauviolette Färbungen verschiedene Eiweißkörper, Gelatine und Hämoglobin ausgenommen, und Albumosenpräparate. Bei ersteren haftete der Farbstoff an den ungelösten Substanzen, bei letzteren wurden schon bei Zimmertemperatur klare blauviolette Lösungen erhalten. Erstere verwandelten sich, durch einige Minuten im Wasserbade erhitzt, in klare Lösungen, bei längerem Erhitzen wurden diese rotviolett. Mit Glyoxylsäure traten erst beim Erwärmen Färbungen auf, und zwar gleich violette Farben.

Im übrigen sind die mit beiden Reagentien erhaltenen Resultate näherungsweise die gleichen, auch betreffend das Abblässen bei Zimmertemperatur, analog den entsprechenden Tryptophanproben.

In optischer Hinsicht zeigte sich aber zwischen den Tryptophan- und den Eiweißreaktionen ein beträchtlicher Unterschied, indem die Lichtauslöschungen, auch das Extinktionsmaximum, dem kurzwelligen Ende des Spektrums näher gerückt waren. Es mögen hier zwei Aufnahmen Platz finden, von I. 0,0548 g Ovalbumin, mit Äther übergossen, in 10 ccm Salzsäure unter kurzem Erwärmen gelöst (D), II. von 0,0255 g Casein, erwärmt mit etwa 1,5 mg Glyoxylsäure und 10 ccm Salzsäure (E).

I.			II.		
Wellenlänge	φ	ϵ	Wellenlänge	φ	ϵ
680	38,2	0,209	680	44,7	0,300
646,5	51,4	0,410	660	52,3	0,427
626	58,4	0,561	640	58,5	0,564
592	64,5	0,732	620	63,9	0,713
559	64,8	0,742	600	69,1	0,900
532	60,3	0,610	580	71,5	0,997
510	54,6	0,474	560	71,6	1,002
			540	68,9	0,887
			520	64,5	0,732

Werden diese Proben durch längere Zeit erhitzt, so tritt keine Entfärbung ein wie bei Tryptophanlösungen, sondern die

Purpurfärbung, welche Cole¹⁾ der Tryptophanfurfurolreaktion zuschreibt. Die letzteren Lösungen zeigen kein rasches, auffallendes Nachdunkeln wie die Tryptophanfurfurolreaktionen; daher mögen zwei Untersuchungen hier Aufnahme finden.

I. 0,0228 g Ovalbumin in 10 ccm Salzsäure (H).			II. 0,0911 g Casein in 10 ccm (J).	
Wellenlänge	φ	ϵ	φ	ϵ
680	44,6	0,310	36,0	0,184
646,5	49,7	0,378	41,2	0,247
626	52,2	0,425	43,8	0,283
592	59,3	0,584	47,3	0,337
559	65,3	0,758	54,8	0,479
528	72,1	1,025	62,2	0,663
510	73,3	1,083	63,5	0,701

Durch eine Übereinanderlagerung der Tryptophanglyoxylsäurereaktion mit der soeben charakterisierten ließe sich vielleicht die Verschiedenheit der Spektren von Tryptophanglyoxylsäure und Eiweißglyoxylsäure erklären. Aber die beim Kochen von Eiweiß mit Salzsäure eintretende Färbung braucht geraume Zeit zu ihrer Entstehung; es ist nicht anzunehmen, daß die Gegenwart der Glyoxylsäure auf letztere Reaktion beschleunigend wirkt. Inwieweit diese Verschiebung in der Lichtauslöschung durch die Erwärmung der Proben bewirkt ist, dürfte aus den folgenden Versuchen hervorgehen.

Eine mit Glyoxylsäuresalzsäure angestellte Eiweißprobe wurde im Wasserbade solange erhitzt, bis die Blauviolett färbung eben durch eine rote Farbe verdrängt wurde. Dann wurde die Probe stark mit Salzsäure verdünnt und bei Zimmertemperatur mit Glyoxylsäure versetzt. Bei geeignetem Zusatze trat nach einigen Stunden eine der analogen Tryptophanreaktion sehr ähnliche Farbe und Lichtauslöschung auf, der rote Ton war fast völlig zurückgedrängt.

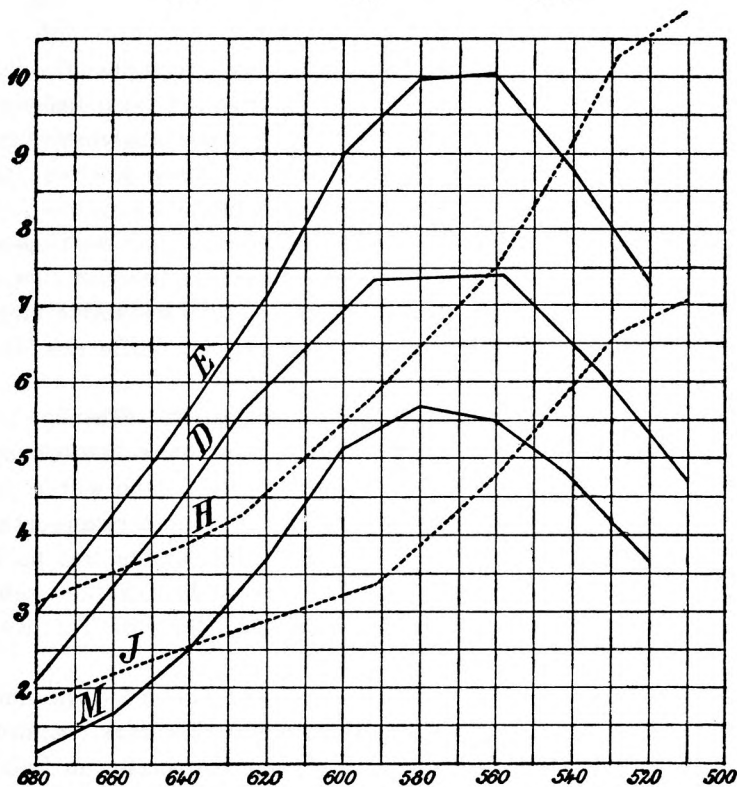
Ferner wurde Heteroalbumose, welche schon Kühne und Chittenden²⁾ als durch intensive, violette Bromreaktion ausgezeichnet beschrieben haben, bei Zimmertemperatur in Salzsäure gelöst, mit Glyoxylsäure versetzt und nach einigen Stunden

¹⁾ (Engl.) Journ. of Physiology, Bd. XXX, S. 314.

²⁾ Zeitschrift f. Biologie, Bd. XX, S. 46.

spektrophotometrisch untersucht. Bei Verwendung von 0,0103 g Heteroalbumose mit 0,0004 g Glyoxylsäure in 10 ccm rauchender Salzsäure wurden folgende Werte erhalten (M):

Wellenlänge	φ	ϵ
680	29,0	0,116
660	34,3	0,166
640	41,7	0,254
619	49,4	0,373
600	56,4	0,514
580	58,7	0,569
560	57,9	0,549
540	54,9	0,481
520	49,3	0,371



Es ergab sich also, daß die Reaktion von der mit freiem Tryptophan bei Zimmertemperatur verschieden ist, jedoch nicht in dem Maße, als die der erhitzten Lösungen. Beim Er-

hitzen dieser Heteroalbumosenprobe trat eine stärkere Verschiebung der Lichtextinktion gegen das Blau des Spektrums auf. Analoge Resultate wurden mit einem Peptonpräparate unbekannter Herkunft erhalten, welches bei längerem Erhitzen mit Salzsäure allein nur eine geringe weinrote Färbung gegeben hatte. Die Lichtauslöschung der erhitzten Probe wurde fast vollkommen übereinstimmend gefunden mit der bis zur Violettfärbung erhitzten Tryptophan-Glyoxylsäureprobe.

Es ist daher eine Superposition der dem Furfurol zugeschriebenen Tryptophanreaktion über die Lichtauslöschung, welche Glyoxylsäure hervorbringt, bei der usuellen Ausführung der Probe auszuschließen und ebenso zeigt sich, daß die Verlagerung der Lichtauslöschung nicht ausschließlich auf Wärmewirkung zurückzuführen ist.

Ich möchte aus diesen Versuchen den Schluß ziehen, daß die Bindungsform des Tryptophans einen Einfluß auf den Farbenton, resp. die Lichtauslöschung der Probe habe, und daß bei den genuinen Eiweißkörpern resp. ihren höheren Spaltungsprodukten eine verschiedene Bindung des Tryptophankomplexes vorhanden ist.

Mit Beziehung auf die jüngst erschienene interessante Mitteilung von F. A. Steensma¹⁾ über die Modifikation einiger Eiweißreaktionen durch geringfügigen Nitritzusatz möchte ich hervorheben, daß die verwendeten Präparate und Reagentien nitritfrei waren.

Auffallend sind die großen Unterschiede zwischen der Reaktion, welche Tryptophan mit Furfurol und Salzsäure zeigt, und der Reaktion mit Rohrzucker und Salzsäure. Diese Unterschiede führten mich darauf, die Pettenkofersche Gallensäurereaktion, welche gelegentlich mit letzterer Reaktion identifiziert worden ist oder wenigstens in Beziehungen zu anderen Eiweißreaktionen gebracht wurde,²⁾ photometrisch zu untersuchen.

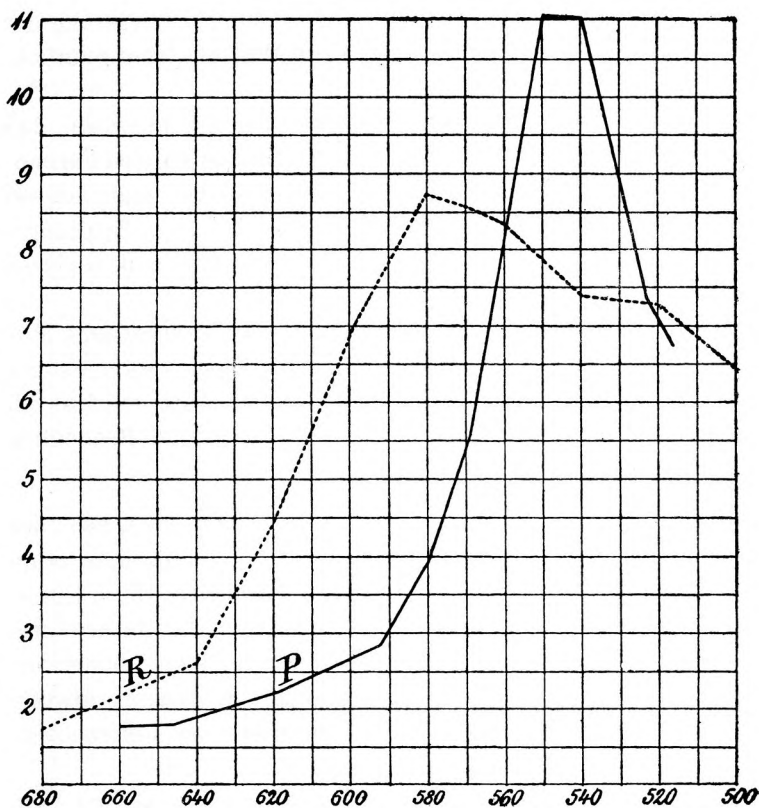
¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLVII, S. 25.

²⁾ Vergl. Kühne und Chittenden, Zeitschrift f. Biologie, Bd. XXII, S. 451; Krukenberg, l. c. S. 98; Cohnheim, Chemie d. Eiweißkörper, 2. Aufl., S. 5, bringt Pettenkofers Reaktion in Beziehung zu der Reaktion von Molisch.

Ich habe die Reaktion, wie in E. Ludwigs Laboratorium schon seit Jahren üblich, mit rauchender Salzsäure ausgeführt an Stelle der gewöhnlich verwendeten Schwefelsäure.

Es ergab sich dabei das überraschende Resultat, daß die Spektralbilder wesentlich verschiedene sind, wenn die Reaktion mit Furfurol und wenn sie mit einer Spur Rohrzucker ausgeführt wird.

Die für beide Reaktionen erhaltenen Lichtextinktionswerte mögen hier Platz finden.



I. Cholsäure mit einer Spur Furfurol (Merck p. anal. zur Prüfung der Margarine) und rauchender Salzsäure, kurz erwärmt (P).

Wellenlänge	φ	ϵ
660	35,5	0,179
646,5	35,7	0,181
619	31,2	0,221
592	43,8	0,283
580	50,2	0,388
569	58,2	0,556
559	68,1	0,857
549	73,8	1,109
540	73,7	1,104
531,8	70,0	0,932
524,3	64,7	0,738
517	62,7	0,680

II. Cholsäure mit 2% Rohrzucker und Salzsäure erwärmt (R).

Wellenlänge	φ	ϵ
680	35,0	0,173
660	39,0	0,219
640	42,0	0,258
619	53,5	0,451
600	63,2	0,692
580	68,4	0,868
560	67,5	0,834
540	64,7	0,738
520	64,5	0,732
500	61,5	0,643

Vergl. eine Bemerkung von Mylius, Diese Zeitschrift, Bd. XI, S. 494.