

Kleinere Mitteilungen.

Von

E. Salkowski.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität zu Berlin.)
(Der Redaktion zugegangen am 16. Oktober 1910.)

I. Über das Verhalten des Hefegummi bei der Autolyse und alkoholischen Gärung.

Wiederholt habe ich mich dahin ausgesprochen, daß die Autolyseflüssigkeit aus Hefe Hefegummi enthalte (Mannan, vielleicht mit Beimischung von etwas Dextran), jedoch keine genaueren Angaben über die Isolierung dieses Gummi und seine Mengenverhältnisse gemacht. Im folgenden möchte ich diese Lücke ausfüllen.

Es wurden in der Regel 50 g Preßhefe mit 500 ccm Chloroformwasser (ohne weiteren Chloroformzusatz) auf der Schüttelmaschine gut durchgeschüttelt, dann ca. 70 Stunden bei 40° digeriert, die Mischung durch ein Filter Schleicher und Schüll 597 filtriert. Durch wiederholtes Zurückgießen event. durch nochmaliges Filtrieren des Filtrates, nachdem es einen Tag lang gestanden hatte, gelang es fast immer, ein ganz klares Filtrat zu erhalten. Auf diesen Punkt ist besonderer Wert zu legen, da im anderen Falle — bei Gegenwart von Hefezellen im Filtrat — der Nachweis von Hefegummi nicht beweisend gewesen wäre.

Es wurde nun versucht, aus diesem, durch Eindampfen von Chloroform befreiten und konzentrierten Filtrat auf dem sonst von mir¹⁾ eingeschlagenen Wege durch Zusatz von Fehlingscher Lösung und Natronlauge und Erwärmen die Kupferverbindung des Gummi und aus dieser durch Behandeln

¹⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XXVII, S. 499 (1894).

mit Salzsäure und Alkohol das Gummi zu isolieren. Dabei erwies sich aber das in reichlicher Menge ausgeschiedene Kupferoxydul als sehr störend, da es einerseits durch das Filter ging, anderseits zur Auflösung des auf dem Filter bleibenden bei der Schwerlöslichkeit des Kupferchlorürs viel Salzsäure und Wasser erforderlich waren. Das Verfahren erwies sich als ungeeignet. Von der Fällung des Gummis durch andere Metallsalze wurde abgesehen, da man von keinem derselben eine ausschließliche Fällung des Gummis erwarten konnte. Mit geringer Hoffnung auf Erfolg versuchte ich schließlich die vorgängige Ausfällung des Gummis mit Alkohol: ganz gegen meine Erwartung lieferte dieses Verfahren ein befriedigendes Ergebnis.

250 ccm des Filtrates wurden auf etwas weniger als 25 ccm eingedampft, im Meßzylinder durch Wasserzusatz auf 25 ccm gebracht, dann in 200—220 ccm Alkohol absolutus eingegossen, der Meßzylinder mit einigen Tropfen Wasser nachgespült. Nachdem die Mischung 24 Stunden gestanden hatte, hatte sich am Boden des Becherglases ein zäher, festhaftender Niederschlag ausgeschieden, von dem sich die alkoholische Lösung ohne jeden Verlust abgießen ließ. Der Niederschlag wurde mit Alkohol abgespült, dann durch Aufgießen einer geringen Quantität von warmem Wasser gelöst: es resultierte eine fast ganz klare Lösung. Dieselbe wurde mit frischbereiteter Fehlingscher Lösung und etwas Natronlauge versetzt und einige Zeit erwärmt; es schied sich der charakteristische bläulich-weiße Niederschlag der Gummikupferverbindung aus, der sich allmählich so zusammenballte, daß die Flüssigkeit ohne merklichen Verlust abgegossen werden konnte. Der Niederschlag wurde in möglichst wenig Salzsäure unter vielfachem Umschwenken ohne Erwärmen gelöst, die Lösung sofort mit einer relativ reichlichen Quantität Alkohol absolutus versetzt und bis zum nächsten Tage stehen gelassen. Um die Abscheidung des Gummis zu befördern, wurde öfters noch etwas Äther hinzugefügt. Nicht immer gelang es indessen, die Trennung der Gummikupferverbindung durch einfaches Abgießen der Flüssigkeit zu bewirken, der Niederschlag mußte dann abfiltriert und auf dem Filter in Salzsäure gelöst werden. Da man nur wenig nachwaschen darf, ist das Gummi dabei

natürlich nicht vollständig erhalten worden. — Nach eintägigem Stehen wurde filtriert, der Niederschlag mit Alkohol säurefrei gewaschen, dann der Alkohol durch Äther verdrängt. Nach dem Trocknen an der Luft oder über Schwefelsäure unter Luftverdünnung wurde so das Hefegummi als schneeweißes Pulver erhalten, indessen immer nur in geringer Quantität.

Daß es sich in der Tat um Hefegummi handelte, wurde durch folgendes Verhalten festgestellt: 1. die heiß bewirkte wässerige Lösung gab mit Fehlingscher Lösung wieder den charakteristischen bläulich-weißen Niederschlag; 2. beim Kochen der Lösung mit dem gleichen Volumen Salzsäure von 1,124 D während einer Minute im Reagenzglas wurde eine die Fehlingsche Lösung unter Ausscheidung von rotem Kupferoxydul reduzierende Lösung erhalten; 3. die Lösung blieb bei Zusatz von Ammoniak und Silbernitratlösung völlig klar, enthielt also keine Purinbasen, die eigentlich zu erwarten gewesen wären. — Das erhaltene Gummi war aschefrei.

Um zu sehen, ob in den Alkoholauszug kein Gummi übergegangen war, wurde derselbe verdunstet, der Rückstand in Wasser und Natronlauge gelöst, die Lösung mit Fehlingscher Lösung geprüft; es konnte kein Gummi nachgewiesen werden.

Andererseits überzeugte ich mich von dem Gehalt des alkoholischen Auszuges an Purinbasen. Der beim Verdunsten desselben gebliebene Rückstand wurde mit Wasser unter Zusatz von Salpetersäure — um etwaige die Fällbarkeit der Purinbasen störende Substanzen zu zerstören — erwärmt, mit Ammoniak alkalisiert und mit Silbernitrat versetzt: es entstand ein reichlicher Niederschlag der Silberverbindung der Purinbasen, aus dem diese selbst auf dem üblichen Wege isoliert werden konnten.

In einigen Fällen wurde das Gummi auf einem gewogenen Filter gesammelt und bei 120° getrocknet. 250 ccm Filtrat gaben 0,0735 resp. 0,085 g, also für das ganze Filtrat 0,147 resp. 0,170 g, oder für 100 g Hefe 0,294 resp. 0,340 g. Auf die Frage, welcher Anteil des Gesamtgehaltes der Hefe an Gummi in Lösung gegangen ist, werde ich weiter unten eingehen. —

Über das Verhalten des Hefegummi bei der alkoholischen Gärung ist meines Wissens nichts bekannt.

Zur Feststellung desselben wurden 50 g Preßhefe mit 1 l 10%iger Zuckerlösung — in anderen Fällen auch nur mit 500 ccm Zuckerlösung — bei 40° digeriert. Es kam teils Rohrzucker, teils Traubenzucker zur Anwendung, im letzteren Falle die Handelssorte «wasserfrei, käuflich» von Kahlbaum. Da es mir auf eine möglichst energisch verlaufende Gärung ankam, so wurde folgendermaßen verfahren: 50 g Hefe wurden zuerst in 500 ccm Wasser durch kurzes Schütteln mit der Schüttelmaschine aufs feinste verteilt, dann die 50° warme Lösung von 100 g Zucker in 500 ccm Wasser hinzugesetzt. Schon nach einer halben Stunde war die Gärung in vollem Gang, nach 22stündigem Verweilen im Thermostaten bei 40° war sie beendet, wenigstens insoweit, als direkte Proben mit Fehlingscher Lösung keine Reduktion mehr gaben.

Auch hier gelang es, durch wiederholtes Zurückgießen ganz klare Filtrate zu erhalten, jedoch dauerte die Filtration sehr lange. Da sich diese Filtrate erfahrungsmäßig sehr schnell unter Bakterienentwicklung trüben, mußte ich darauf Bedacht nehmen, die Bakterienentwicklung zu verhindern. Zu dem Zweck wurde in den Zylinder, der das Filtrat aufnahm, etwas Chloroform gegossen, dieses mit den ersten Anteilen des Filtrates geschüttelt und während der Filtration ab und zu umgeschwenkt. Dies reichte aus, um die Filtrate, die schwach weingelbe Färbung zeigten, ganz klar zu halten.

Die Verarbeitung auf Gummi geschah in derselben Weise wie bei der Autolyseflüssigkeit. Dabei machte sich aber ein wesentlicher Unterschied bemerkbar. Der durch Alkohol in dem eingeeengten Filtrat bewirkte Niederschlag war nicht, wie dort, zäh und am Boden haftend, sondern flockig, sodaß Filtration nicht zu umgehen war. Der mit Alkohol gewaschene Niederschlag wurde durch Aufgießen von heißem Wasser, wiederholtes Zurückgießen und schließlich Auswaschen mit wenig Wasser — soweit er aus Hefegummi bestand — gelöst. Da ich das Volumen der Lösung möglichst gering zu halten wünschte, ist dabei wohl nicht alles Gummi gelöst; die Zahlenangaben sind

also etwas zu niedrig. Das weitere Verfahren war ebenso wie bei der Autolyse; es lieferte gleichfalls ein schneeweißes Pulver, das sich als Gummi charakterisierte.

Auch in diesem Falle überzeugte ich mich einerseits von der Vollständigkeit der Fällung durch Alkohol, anderseits von dem Gehalt der sauren Alkohollösung an Purinbasen. In einem Falle wurde der Silberniederschlag quantitativ gesammelt, ausgewaschen und getrocknet. Durch Glühen desselben erhielt ich aus der Hälfte des Filtrats, also 25 g Hefe entsprechend, 0,0928 g metallisches Silber, das sich ganz klar in Salpetersäure löste, auf 100 g Hefe also 0,3712 g. Das entspricht 0,144 g Hypoxanthin. Die Gegenwart von Purinbasen in der Flüssigkeit bei der alkoholischen Gärung hat schon Neuberg¹⁾ angegeben. Sehr bemerkenswert erscheint mir die Löslichkeit der salzsauren Basen, wenigstens unter den bei dem Versuch herrschenden Bedingungen, in Alkohol.

Auch hier wurde das Gummi einigemal bestimmt und fast ganz dieselben Werte erhalten wie bei der Autolyse, nämlich auf 100 g Hefe berechnet 0,3208 resp. 0,360 g. Auf große Genauigkeit machen diese Bestimmungen aus den oben erörterten Gründen natürlich keinen Anspruch.

Welcher Anteil des in der Hefe enthaltenen Gummis geht nun bei der Autolyse resp. Alkoholgärung in Lösung?

Ich habe früher²⁾ angegeben, daß der Gehalt der Preßhefe an Gummi fast genau 2% betrage. Diese Angabe muß ich berichtigen oder wenigstens einschränken. Sie gilt nur für die l. c. angegebenen Bedingungen der Darstellung des Gummis aus Hefe in größerem Maßstabe, aber nicht allgemein. Bei der Verarbeitung kleinerer Mengen von Hefe und Anwendung eines anderen Verfahrens erhält man weit mehr Hefegummi.

50 g Preßhefe wurden durch Schütteln mit 900 ccm Wasser in der Schüttelmaschine aufs feinste verteilt, dann in einer emaillierten Eisenschale unter Zusatz von 100 ccm Natronlauge von 1,34 D erhitzt. Schon nach kurzem Erhitzen löste sich die Hefe scheinbar vollständig zu einer trüben Flüssigkeit auf.

¹⁾ Biochem. Zeitschr., Bd. XXIV, S. 432 (1910).

²⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XXVII, S. 499 (1894).

Dieselbe wurde nach dem Erkalten durch geringen Wasserzusatz auf 1000 ccm ergänzt und längere Zeit in einem hohen Zylinder zur Klärung, die sehr langsam und nicht ganz vollständig erfolgt, stehen gelassen. 100 ccm geben 0,2696 g ganz reines bei 115° getrocknetes Gummi. Das entspricht einem Prozentgehalt von 5,39, also weit mehr als das Doppelte des früher angegebenen. Demnach ist sowohl bei der Autolyse als auch bei der Gärung nur ein verhältnismäßig unbedeutender Bruchteil, etwa $\frac{1}{18}$ — $\frac{1}{15}$, in Lösung gegangen. Dieses Ergebnis ist namentlich bezüglich der Autolyse, bei der man einen weitgehenden Zerfall der Zellen voraussetzen sollte, sehr auffällig.

Die Frage nach dem Verbleib des größeren Anteils des Hefegummis braucht kaum aufgeworfen zu werden. Es liegt kein Grund vor, etwas anderes anzunehmen, als daß es in beiden Fällen — Gärung und Autolyse — unangegriffen bleibt, denn das Gummi ist weder gärungsfähig, noch ist bisher ein hydrolytisches Ferment bekannt, durch welches es angegriffen wird. Tatsächlich enthält die restierende Hefe in beiden Fällen sehr große Mengen Gummi; ob gerade die Quantität, welche der Differenz zwischen der ursprünglich vorhandenen und der in Lösung gegangenen entspricht, habe ich freilich nicht untersucht, ein solcher Versuch würde auch kaum ausführbar sein.

2. Über das optische Verhalten der Milchsäure eines Fleischpräparates.

Ich habe früher mitgeteilt, daß in lange Zeit aufbewahrten Proben eines amerikanischen, Meat-Juice genannten Fleischpräparates die Paramilchsäure mehr und mehr, entsprechend dem Alter des Präparates, in inaktive Milchsäure übergegangen war.¹⁾ Zufällig fand ich kürzlich unter den Beständen des Laboratoriums noch ein Fläschchen des genannten Präparates mit der Aufschrift 1883. Ich habe die Gelegenheit benutzt, um zu sehen, ob vielleicht, wie nach dem Alter des Präparates zu vermuten war, die Fleischmilchsäure vollständig in inaktive übergegangen sei, und zu dem Zweck das etwaige Drehungsvermögen der dargestellten Milchsäure untersucht, was

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LXIII, S. 237.

bisher nicht geschehen war, weil mir der damals zur Verfügung stehende Apparat nicht empfindlich genug erschien.

Aus der Lösung des Meat-Juice wurde die Milchsäure wie gewöhnlich isoliert. Zur Feststellung der Zirkularpolarisation wählte ich die Milchsäure selbst, weil man in der Lage ist, eine möglichst konzentrierte Lösung derselben zu untersuchen, während das Zinksalz bei seiner geringen Löslichkeit nur eine verhältnismäßig dünne Lösung zu untersuchen gestattet. Man ist also, wenn auch die optische Aktivität der Milchsäure selbst weit geringer ist als die des Zinksalzes, immer noch im Vorteil. Die Konzentration der Milchsäurelösung wurde nachträglich durch Titrieren mit $n/10$ -Lauge unter Anwendung von Lacmoid-Malachitgrün und gleichzeitig Lackmuspapier als Indikator bestimmt. Leider ging ein erheblicher Teil der Milchsäure durch einen nicht sichtbaren Riß innerhalb der Fassung der Polarisationsröhre verloren, außerdem wurde die Lösung durch Beimischung von Bestandteilen des Kittes getrübt. Die Entfernung der Trübung unter Beihilfe von Kohle führte natürlich einen weiteren Verlust herbei, sodaß sich der Gehalt der untersuchten Lösung an Milchsäure nicht höher als zu 16,3% ergab. Diese Lösung, in einem größeren Lippichschen Apparat untersucht, zeigte keine sicher bestimmte Rechtsdrehung, jedenfalls nicht mehr als 2—3 Hundertstel eines Grades (bei dem von mir benutzten Apparat geschieht die Ablesung nicht in Graden und Minuten, sondern in Graden und Hundertstel-Graden). Die Racemisierung war also im Laufe der Jahre vollständig oder nahezu vollständig geworden. Als Agens, das die Racemisierung bewirkt hat, könnte man vielleicht den hohen Gehalt des Präparates an primärem Kaliumphosphat ansehen.

Auch in dieser Probe hatte sich ein beträchtlicher kristallinischer Niederschlag von Magnesiumlactat $Mg(C_3H_5O_3)_2 + 3 H_2O$ ausgeschieden, das Gewicht desselben betrug nach dem Umkrystallisieren lufttrocken 1,0014 g (aus dem Inhalt eines Fläschchens), das Mg-Salz wurde, da seine Schwerlöslichkeit keine Bestimmung der Zirkularpolarisation gestattet, durch längeres Erwärmen mit Na_2CO_3 -Lösung (etwa das $1\frac{1}{2}$ -fache der berechneten Menge) in das Na-Salz übergeführt. Das

ausgeschiedene $MgCO_3$ wurde abfiltriert und ausgewaschen. Merkwürdigerweise schied sich beim Eindampfen der Lösung des Na-Salzes immer wieder aufs neue $MgCO_3$ aus, indessen gelang es schließlich, dasselbe fast ganz loszuwerden, eine Spur $MgCO_3$ enthielt allerdings die untersuchte Lösung noch suspendiert, doch hinderte dieser Umstand die Untersuchung nicht, da sich das suspendierte $MgCO_3$ bei der horizontalen Lage des Beobachtungsrohres allmählich unten ablagerte. Die untersuchte Lösung hatte ein Volumen von 6 ccm. Eine Drehung war absolut nicht zu konstatieren. Wenn man die geringen, durch die mehrfachen Filtrationen herbeigeführten Verluste — es wurde stets sorgfältig nachgewaschen — nicht in Betracht zieht, enthält die untersuchte Lösung 0,7642 g Milchsäure = 11,7% oder 0,786 g wasserfreies Natriumlactat = 13,1%. Eine optische Wirksamkeit hätte sich in dieser Lösung, wenn vorhanden, jedenfalls bemerkbar machen müssen. In Übereinstimmung mit dem früheren Ergebnis bestand also auch diese Ausscheidung ausschließlich aus dem Mg-Salz der inaktiven Milchsäure.

3. Über Phytosterin und Cholesterin.

1. Hoppe-Seyler hat wiederholt auf das Vorkommen eines cholesterinartigen Körpers — man würde jetzt sagen: eines in die Reihe der Sterine gehörenden Körpers — in Pflanzenölen hingewiesen. Er hielt denselben für identisch mit dem Cholesterin aus Gallensteinen, was sehr erklärlich ist, da andere Cholesterine damals nicht bekannt waren und Hoppe-Seyler den cholesterinartigen Körper augenscheinlich nicht näher untersucht hat.

Im Jahre 1887¹⁾ gelang es mir dann, zu zeigen, daß dieses Cholesterin mit dem inzwischen von Hesse in den Calabar-Bohnen aufgefundenen Phytosterin identisch sei. Ich konnte dieses Phytosterin, das sich außer durch den Schmelzpunkt auch, wie ich fand, durch seine charakteristische mikroskopische Krystallform von dem Cholesterin unterscheidet, aus Rüböl, Leinöl, Baumwollsamöl, Kokosnußfett, Palmkernöl, Olivenöl dar-

¹⁾ Zeitschr. f. analyt. Chem., Bd. XXVI, S. 569 u. ff. (1887).

stellen, dagegen nicht aus dem durch Pressen des Fruchtfleisches der Ölpalme (*Elais guineensis*) gewonnenen Palmöl erhalten. Ob meine aus diesen Beobachtungen abgeleitete Ansicht, daß das Phytosterin nur den Samenölen zukomme, richtig ist, mag hier unerörtert bleiben. Auf die Tatsache, daß in den tierischen Fetten Cholesterin enthalten ist, in den Pflanzenfetten dagegen Phytosterin, gründete ich ein Verfahren zum Nachweis einer Beimischung von Pflanzenfett zu Tierfett, speziell zu dem damals den Ausgangspunkt meiner Untersuchung bildenden Lebertran. Das bei diesem Nachweis eingehaltene Verfahren, das später von Bömer weiter ausgebaut ist, habe ich in allen Einzelheiten beschrieben.

Dieser Tatbestand kommt in der einschlägigen Literatur vielfach nicht zum Ausdruck, und dieser Umstand veranlaßt mich, auf denselben hinzuweisen. Daß die Darstellung des Gegenstandes in der Literatur vielfach unrichtig ist, dafür einige Beispiele. In einer zufällig zu meiner Kenntnis gelangten Dissertation von Hauth, Freiburg 1907, wird die Auffindung des Phytosterins im Baumwollsamensöl Bömer zugeschrieben (Zeitschrift für die Untersuchung von Nahrungs- und Genußmitteln, Bd. II, S. 705, 1901),¹⁾ im Rüböl Schweissinger (Chem. Zentralblatt, 1891, Bd. II, S. 229).¹⁾ Aber weder Bömer noch Schweissinger, noch irgend ein Anderer hat das Phytosterin als Bestandteil der Pflanzenöle entdeckt; ich kann diese Entdeckung vielmehr mit allem Recht für mich in Anspruch nehmen. In einer Übersichtstabelle führt Hauth mich als Autor für das Vorkommen von Phytosterin in «verfälschtem Lebertran» an. Tatsächlich aber habe ich nicht «verfälschten Lebertran» untersucht, sondern ich habe mir selbst Mischungen von Lebertran und Pflanzenölen dargestellt, deren bis dahin unbekanntes Phytosteringehalt ich aufgefunden hatte.

2. Vielfach wird in der Literatur Bömer als derjenige angeführt, der zuerst empfohlen hat, zum Nachweis von Pflanzenfetten in Tierfetten den Phytosteringehalt der ersteren zu benutzen. Tatsächlich habe ich nicht allein die Anregung dazu

¹⁾ Ich zitiere nach Hauth.

gegeben, sondern durch eine Reihe von Versuchen mit Mischungen l. c. die praktische Brauchbarkeit des Verfahrens erwiesen. Der Umstand, daß nach Bömer das Phytosterin dem vorhandenen Cholesterin seine Krystallform aufdrängt, ist dabei gleichgültig, ja im Gegenteil für die Feinheit des Nachweises, der ja nur ein qualitativer ist, förderlich. Daß Bömer die Methode durch Darstellung des Essigesters verbessert hat, kann und soll nicht geleugnet werden, aber als Urheber der Methode genannt zu werden, darauf habe ich Anspruch.

3. Mehrfach habe ich in der Literatur die Angabe gefunden, H. Pribram¹⁾ habe zuerst die Vermutung ausgesprochen, daß der Cholesteringehalt der Blutkörperchen vielleicht den Zweck habe, die Blutkörperchen vor möglicherweise mit der Nahrung eingeführten oder im Organismus gebildeten hämolytischen Substanzen zu schützen. Tatsächlich liegt die Sache so, daß Pribram seine Versuche über die Resorbierbarkeit des Cholesterins, in Öl gelöst, auf meine Anregung und unter meiner Leitung ausgeführt hat — die hämolytischen mit freundlicher Unterstützung von Morgenroth — und ich²⁾ die Pribram zugeschriebene Ansicht bereits einige Zeit vorher ausgesprochen habe, worauf auch ein Zitat von K. Reicher³⁾ hinweist.

4. Über ein eigentümliches Verhalten der Alkaliphosphate.

Gelegentlich der Untersuchung des in der 2. Mitteilung erwähnten amerikanischen Fleischpräparates machte ich die auffallende Beobachtung, daß dasselbe bei reichlichem Zusatz von Natronlauge zu einem Krystallbrei erstarrte. Als eine kleine Quantität des Präparates einige Wochen offen im Bechergläschen, mit einem Uhrglas bedeckt, gestanden hatte und ich mich aufs neue von diesem auffallenden Verhalten überzeugen wollte, trat die beschriebene Erscheinung zu meiner Überraschung nicht mehr ein. Bei näherer Betrachtung zeigte sich der Boden des Bechergläschens bedeckt mit großen, harten.

¹⁾ Biochem. Zeitschr., Bd. I, S. 413 (1906).

²⁾ Berl. klin. Wochenschr., 1906, Nr. 14. Sitzung der Gesellsch. der Charit.-Ärzte am 1. Febr. 1906.

³⁾ Berl. klin. Wochenschr., 1908, Nr. 41 u. 42.

glänzenden Krystallen. Nachdem die überstehende Flüssigkeit abgegossen, die Krystalle durch Abspülen und Absaugen auf Filtrierpapier und Liegenlassen an der Luft gereinigt und getrocknet waren, betrug ihr Gewicht nicht weniger als 2,352 g aus ca. 50 ccm Meat Juice. Die Krystalle, von denen eine zerriebene Probe bei 110° nicht an Gewicht abnahm, schmolzen am Platindraht zu einer klaren, beim Erkalten sich trübenden Perle, gaben intensive Kaliflamme. Die stark sauer reagierende Lösung gab Niederschläge mit Platinchlorid, sowie mit Natriumkobaltinitrit, enorme Phosphorsäurereaktion, keine Chloridreaktion, die Krystalle bestanden also augenscheinlich aus Monokaliumphosphat. Es lag nahe, anzunehmen, daß das Ausbleiben des Erstarrens beim Natronlaugezusatz mit dem Auskrystallisieren des Kaliumphosphats in Zusammenhang stehe. War diese Vermutung richtig, so mußte die Lösung der Krystalle die Erscheinung des Erstarrens bei Zusatz von Natronlauge zeigen; das war in der Tat der Fall.

Es ist meines Wissens nicht bekannt, daß Lösungen von Kaliumphosphat bei Natronlaugezusatz erstarren. Bei einigen Versuchen, die ich hierüber mit KH_2PO_4 anstellte, zeigte sich, daß eine 10%ige Lösung bei Zusatz von etwa $\frac{1}{3}$ — $\frac{2}{5}$ Volumen Natronlauge von 1,34 D sofort oder doch sehr schnell erstarrte, eine 5%ige nach einiger Zeit, eine $2\frac{1}{2}$ %ige nicht mehr. Zusatz größerer Mengen Natronlauge beschleunigte den Eintritt der Erscheinung.

Verdünnt man den Krystallbrei mit wenig Wasser, sodaß er filtrierbar wird, und saugt ihn dann ab, so bleibt eine asbestartig verfilzte Krystallmasse zurück, die natürlich stark natronhaltig ist. Die Krystalle sind in Wasser äußerst leicht löslich, das anhängende Natriumhydroxyd läßt sich also nicht durch Waschen mit Wasser entfernen. Dagegen erhält man sie ziemlich frei von anhängendem Natriumhydroxyd, wenn man die 5%ige Lösung von KH_2PO_4 mit $\frac{1}{3}$ Volumen Natronlauge von 1,34 D versetzt oder ein wenig mehr, dann, sobald die Masse erstarrt ist, das mehrfache Volumen 50%igen Alkohols hinzusetzt, gut durchrührt, absaugt und zuerst mit 50%igem, dann mit 90%igem Alkohol nachwäscht. Man erhält so einen weißen

zusammenhängenden Krystallkuchen äußerst feiner Nadeln, die sich sehr leicht mit stark alkalischer Reaktion in Wasser lösen.

Ich hatte erwartet, daß diese Verbindung Natriumkaliumphosphat sein werde, zu meiner Überraschung stellte sich aber heraus, daß sie nicht die geringste Spur Kalium enthält. Die Reaktion mit Platinchlorid und mit Natriumkobaltinitrit fiel gänzlich negativ aus.

Zur Analyse wurde das Salz aus Wasser umkrystallisiert. Der beim Eindampfen der Lösung erhaltene Krystallbrei wurde mit 50%igem Alkohol angerührt, abgesaugt, damit gewaschen, dann mit 90%igem und an der Luft getrocknet. Der Verbindung kommt die Formel $\text{Na}_3\text{PO}_4 + 10 \text{H}_2\text{O}$ zu, ca. 9 Moleküle Wasser entweichen beim Trocknen bei $115-120^\circ$, das letzte erst bei gelinder Rotglut.

1. 0,6816 g verloren bei $115-120^\circ$ 0,3396 g = 49,82% (berechnet 49,69%), beim Glühen im ganzen 0,3566 g = 52,32% (berechnet für 10 Moleküle 52,33%).

Der beim Glühen gebliebene Rückstand im Gewicht von 0,325 g gab $0,2122 \text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 41,75\% \text{P}_2\text{O}_5$ (berechnet 43,29%).

2. 0,7206 g verloren beim Erhitzen zu schwacher Rotglut 0,3766 g Wasser = 52,26% (berechnet für 10 Moleküle 52,32%).

Der Phosphorsäuregehalt entspricht allerdings nicht ganz dem berechneten Gehalt; vermutlich hängt dies von einer nachweisbaren Beimischung von Na_2CO_3 ab, die wohl kaum ganz zu vermeiden ist. Trotz dieser Differenz dürfte an der Zusammensetzung nicht zu zweifeln sein.

Ebenso erstarren 10%ige Lösungen von NaH_2PO_4 und $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ¹⁾ beim Zusatz von $\frac{1}{3}-\frac{2}{5}$ Volumen Natronlauge von 1,34 D zu einem Krystallbrei. Die Schnelligkeit der Ausscheidung des tertiären Natriumphosphats hängt von verschiedenen schwer zu übersehenden Momenten ab. So erstarrt öfters ein Gemisch, dessen Erstarrung zögert, beim Umgießen aus den in der Regel benutzten Bechergläschen in ein Reagenzglas und Schütteln fast momentan. Selbstverständlich tritt die

¹⁾ Da die Molekulargewichte der benutzten Verbindungen einander sehr nahe liegen, habe ich es für überflüssig gehalten, äquimolekulare Lösungen anzuwenden.

Erscheinung auch mit den sekundären Salzen ein (wenigstens dem Na- und NH_4 -Salz, das K-Salz habe ich nicht untersucht), hier sogar noch schneller.

Man sollte annehmen, daß die krystallinische Ausscheidung um so schneller erfolgt, je konzentrierter die Lösung des KH_2PO_4 ist, vorausgesetzt, daß man soviel Natronlauge hinzusetzt, als zur Bildung des Salzes Na_3PO_4 erforderlich ist, bezw. etwas mehr. Das ist aber nicht der Fall, eine 20%ige Lösung braucht weit mehr Zeit. Dies liegt mindestens z. T. an der auftretenden Temperaturerhöhung. Es wurden in der Regel 25 ccm Phosphatlösung angewendet und 8—9 ccm Natronlauge resp. bei 20%iger Phosphatlösung 17—18 ccm. Beim Mischen stieg die Temperatur, wenn die Ausgangstemperatur 22° betrug, bei 10%iger Phosphatlösung auf 35 — 36° , bei 20%iger dagegen auf 45 — 46° .

Wendet man größere Mengen Natronlauge an, z. B. das gleiche Volumen bei 10%iger Phosphatlösung, so erfolgt die Erstarrung momentan. Kalilauge übt keinen Effekt aus. Auch eine konzentrierte Lösung von Liebigschem Fleischextrakt erstarrt bei Zusatz des gleichen Volumens Natronlauge zu einem Brei feiner mikroskopischer Nadeln. Dabei macht sich übrigens starke Ammoniakentwicklung bemerkbar. Beim Absaugen auf Tonplatten bleibt eine weiße Schicht verfilzter Nadeln zurück, die reichlich Phosphorsäure und Natrium enthalten — eine weitere Untersuchung hielt ich für überflüssig —, offenbar gleichfalls Trinatriumphosphat.

5. Über eine Verbesserung der Schererschen Reaktion auf Inosit.

Die Scherersche Inositreaktion wird bekanntlich meistens so angestellt, daß man eine kleine Quantität Inosit in Salpetersäure löst, die Lösung fast bis zur Trockene verdampft, zum Rückstand etwas Ammoniak, dann einen Tropfen Chlorcalciumlösung hinzufügt und vorsichtig zur Trockene dampft: es tritt dann eine rosenrote auf Bildung von Rhodizonsäure beruhende Färbung ein.

Man braucht nicht notwendig so zu verfahren. Vor allem

kann man das Ammoniak¹⁾ ganz fortlassen, die Reaktion wird dadurch nicht beeinträchtigt. Ich habe früher empfohlen,²⁾ die Probe so anzustellen, daß man die für Inosit gehaltene Substanz zuerst mit einigen Tropfen Chlorcalciumlösung abdampft, den Rückstand mit Salpetersäure verdampft und aufs neue verdunstet, da ich mich überzeugt zu haben glaubte, daß die Probe so sicherer eintritt. In neuerer Zeit bin ich aber zweifelhaft geworden, ob diese Art der Ausführung besondere Vorzüge vor der gewöhnlich geübten hat. Das Urteil hierüber wird dadurch erschwert, daß die Scherersche Probe auch bei möglichst genauer Innehaltung derselben Versuchsbedingungen (ohne erkennbare Ursache, vielleicht abhängig von der Art und Stärke des Erhitzens) bald stärker, bald schwächer ausfällt, gelegentlich bei kleinen Mengen Inosit auch wohl einmal ganz oder nahezu versagt.

Es ist mir nun gelungen, ein Verfahren ausfindig zu machen, welches das ursprüngliche an Intensität der Färbung und Sicherheit des Erfolges bei weitem übertrifft. Die Probe wird folgendermaßen angestellt.

Man löst eine Spur Inosit resp. die für Inosit gehaltene Substanz in 1—2 Tropfen Salpetersäure von 1,2 D, setzt einen Tropfen 10%ige Chlorcalciumlösung (bezogen auf entwässertes Chlorcalcium), dann einen Tropfen 1—2%ige Platinchloridlösung hinzu und verdampft vorsichtig unter Aufblasen und Umschwenken auf einem Porzellantiegeldeckel. Es tritt eine rosarote bis ziegelrote Färbung ein. Läßt man die Probe liegen, so zieht der Rückstand Wasser an und wird orange. Erhitzt man wieder, so tritt die Rotfärbung aufs neue ein, und zwar mitunter selbst mit blauer Nuance ähnlich der Guaninreaktion mit Salpetersäure und Natronlauge. Erhitzt man stärker, so wird

¹⁾ Das Fortlassen des Ammoniaks hat, wie ich aus Hoppe-Seyler-Thierfelder, 8. Aufl., S. 273 ersehe, schon Bödecker angegeben, dabei aber empfohlen, die Erhitzung bis zum Grau- oder Schwarzwerden fortzusetzen, falls die charakteristische Färbung nicht früher eintritt. Grau- oder Schwarzfärbung ist aber durchaus nicht beweisend, da sie auch auf beginnender Verkohlung beruhen kann.

²⁾ Vgl. Paul Mayer, Biochem. Zeitschr., Bd. II, S. 398 (1907).

der Rückstand schmutzig-grau, bei großem Platinzusatz grau-grünlich, worin natürlich nichts Charakteristisches liegt.

Zur Prüfung der Feinheit der Reaktion stellte ich mir eine 1%ige Lösung von Inosit in Salpetersäure von 1,2 D her. Ein Tropfen derselben, entsprechend nicht ganz $\frac{1}{2}$ mg Inosit, gab die Reaktion in intensivster Weise, ohne Platinchlorid meistens nur schwach, mitunter etwas stärker. Nunmehr wurde 1 ccm dieser Salpetersäurelösung mit 9 ccm Salpetersäure versetzt. 2 Tropfen dieser Lösung, entsprechend ca. $\frac{1}{10}$ mg Inosit, gaben die Reaktion noch ganz befriedigend, aber, was ich nicht verschweigen will, in wechselnder Intensität, 1 Tropfen = $\frac{1}{20}$ mg, mitunter noch deutlich, meistens aber nur eben angedeutet. Bei diesen minimalen Mengen nimmt man zweckmäßig eine etwas schwächere Platinchloridlösung. Was die Rolle des Platins bei der Reaktion betrifft, so wird man wohl annehmen müssen, daß es als Katalysator wirkt.

Die Rolle des Chlorcalciums bei der Reaktion ist einigermaßen unklar: es läßt sich nicht mit demselben Erfolge durch Calciumnitrat ersetzen, man wird also wohl annehmen müssen, daß das Chlor desselben oxydationsbefördernd wirkt. Daß in der Tat das Chlor in Aktion tritt, sieht man, wenn man die Reaktion ohne Platinchlorid in einem Platinschälchen ausführt: beim Eindampfen färbt sich die Lösung gelb durch in Lösung gegangenes Platin. Löst man nach Beendigung des Versuches den Rückstand in Wasser, so bemerkt man, daß das Platin angegriffen ist. Gleichzeitig fiel mir dabei auf, daß die Reaktion weit stärker ausfiel, als im Porzellanschälchen oder Porzellantiegeldeckel, und diese zufällige Beobachtung hat mich darauf geführt, die Anwendung von Platinchlorid bei Anstellung der Reaktion zu empfehlen.

In dieser Beziehung ist nun folgendes Sachverhältnis nicht ohne Interesse.

Scherer hat ursprünglich empfohlen, die Reaktion auf einem Platinblech auszuführen. Scherer hat damit ein die Reaktion förderndes Moment eingeführt, ohne sich darüber klar zu sein. Da die Anstellung der Reaktion auf einem Platinblech unbequem ist, so hat man später wohl stets der Bequemlich-

keit halber und in Anlehnung an die übliche Reaktion der Purinkörper mit Salpetersäure, Porzellantiegeldeckel oder Porzellanschälchen benutzt und damit die Bedingungen für den Eintritt der Reaktion unbewußt verschlechtert. Die Hand- und Lehrbücher sprechen entweder nur von Porzellanschälchen oder lassen die Wahl zwischen Platinblech oder Porzellanschälchen, nur Hammarsten¹⁾ spricht nur von Platinblech.

Übrigens hat die Reaktion im Lauf der Zeit verschiedene Wandlungen durchgemacht. Wie ich aus Heintz, Lehrbuch der Zoochemie, 1853, S. 575 ersehe, hat Scherer ursprünglich keine Salpetersäure bei der Reaktion angewendet, sondern nur Chlorcalcium und Ammoniak. Hier kann eine befördernde Wirkung des Platins also nicht stattgefunden haben. Ähnlich wie Platinchlorid wirkt auch verdünntes Eisenchlorid, doch möchte ich dieses nicht empfehlen, da die Farbe des Rückstandes, den Eisenchlorid beim Verdunsten und Erhitzen hinterläßt, zu Täuschungen Veranlassung geben könnte.

¹⁾ Lehrbuch der physiol. Chem., 7. Aufl., S. 550 (1910).