

# Verhalten des Globulins zu den Farbenreaktionen.

Von Prof. L. Morochowetz.

Ehe wir zu den Farbenreaktionen des Globulins übergehen, ist es notwendig die Bemerkung vorzuschicken, dass wir in diesem Kapitel nur das äussere Ansehen der Reaktionen im Auge haben. Was die Zersetzungsprodukte und deren Verbindungen sowie die möglichen theoretischen Betrachtungen in diesem oder jenem Falle u. s. w. anbetrifft, so wird dies alles den Gegenstand einer besondern Abteilung unsers Werkes bilden. Inbetreff dieser äusserlichen Wahrnehmungen der Farbenreaktionen muss erwähnt werden, dass die ersten Beobachtungen mit Säuren angestellt wurden.

**Salpetersäure.** Die ersten genaueren Beobachtungen über die Gelbfärbung der Proteinkörper durch Salpetersäure gehörten Fourcroy & Vauquelin, die sie mit der Bildung einer besonderen Säure, welche sie Gelbsäure—acide jaune—nannten (1806, 15 p. 246), verknüpften. Die Autoren führten ihre Untersuchungen an Muskeln aus. Zwar hatte Fourcroy gleich einigen andern Autoren Gelbfärbung des Fibrins auch schon früher (1782, 14 p. 720) beobachtet, doch waren Fourcroy & Vauquelin die ersten, welche die Beobachtung machten, dass die Proteinkörper sich nicht nur gelb färben, sondern dass diese Färbung beim Hineintragen von Ätzkali in das Gemenge in eine rote oder rotbraune übergeht (15 p. 249). Zwei Jahre später beobachtete Hatchett (18 p. 742) bei der Behandlung von geronnenem Eiweiss mit Salpetersäure nicht nur gelbe Färbung sondern beim Zusatz von Ammoniaklösung auch braune. Bostock findet (5 p. 247), dass durch Salpetersäure 0,0005 Protein nachgewiesen werden könne.

Seitdem ist diese Reaktion an allen möglichen Proteinkörpern versucht worden und stets mit demselben Resultat. Die Anwendungsart ist immer dieselbe, und ist der Reaktion die Benennung „Xanthoproteinreaktion“ nach der von Mulder (31 p. 152) der Fourcroy & Vauquelin'schen „Gelbsäure“ gegebenen Benennungs „Xanthoproteinsäure“ geblieben <sup>1)</sup>.

Welcher Herkunft das Globulin auch sei, Salpetersäure bringt stets, besonders bei erhöhter Temperatur, gelbe Färbung der Lösung oder der Niederschläge hervor; unter dem Einflusse von Ätzkali, Ätznatron oder Ammoniakflüssigkeit geht, je nach der Globulinmenge, die gelbe Färbung in eine orangegelbe, rote oder rotbraune über.

**Salzsäure.** Die bei der Einwirkung von starker Salzsäure auf die proteinhaltigen Flüssigkeiten entstehende Färbung hat ebenfalls als charakteristisches Kennzeichen des Proteins gedient. Einer der ersten, der auf die Entstehung dieser Reaktion unter mehr oder weniger bestimmten Bedingungen hinwies, war Fourcroy (1800, 13 p. 144), welcher beobachtet hatte, dass rauchende Salzsäure Blutserum violett färbte. Nach ihm beobachtete Hatchett (18 p. 742), dass proteinhaltige Flüssigkeiten von Salzsäure blau, ins Purpurfarbene spielend, gefärbt wurden. Im

<sup>1)</sup> Sous le nom d'acide jaune Fourcroy & Vauquelin ont décrit un corps particulier, produit par la viande ou la fibrine. Je nomme ce corps

quant à son origine et à sa couleur acide xanthoprotéique (31 p. 152-3).

allgemeinen erhielt man eine bräunlich-purpurrote Färbung. Berzelius (4 p. 32) bemerkte beim Auflösen von Fibrin in Salzsäure und Erwärmen des Gemenges rötlich-violette Färbung der Flüssigkeit. Schübler (41 p. 570) beobachtete dieselbe Reaktion an Casein in reiner konzentrierter Salzsäure bei Zimmertemperatur. Mit Salzsäure spez. Gew. 1,0988 trat die Färbung am dritten Tage ein, wobei sich Casein hellblau, Eiweiss dunkelblau mit violettem Anstrich färbte. Chevreul (8 p. 507) bemerkte, dass Fibrin mit konzentrierter Salzsäure eine rötlich-violette Lösung gab. Auch Colin (9 p. 323) sagt in einem Briefe an Gay-Lussac, dass bei der Behandlung proteinhaltiger Flüssigkeiten mit Salzsäure eine schön rot (d'un beau rouge) gefärbte Flüssigkeit entstehe. Bourdois & Caventou (6 p. 109) erklären, in einem Briefe an Gay-Lussac, dass sie zu derselben Zeit wie Colin die Reaktion mit Salzsäure, dabei aber blaue Färbung wahrgenommen hätten. Orfilla (33 p. 116) widmet eine besondere Schrift seinen Beobachtungen über die Färbung der Proteinkörper unter der Einwirkung von Salzsäure, wobei er findet, dass Blutserum und Hydroceleflüssigkeit eine rotweihnliche, ins Violette spielende Farbe annehmen, während der beim Kochen des Fleisches abgehobene, fast schwarze Schaum die blaue Färbung mit Salzsäure nicht gibt. Das befremdet Orfilla!

Auch Berzelius (4-a p. 65) beobachtete, dass trocknes Fibrin durch konzentrierte Salzsäure in eine geléeartige Masse umgewandelt wurde, die sich nach und nach blau färbte. Raspail (37 p. 198) zerlegt die Reaktion mit Salzsäure in einzelne Momente, wobei er auch der Wärme eine gewisse Bedeutung zuschreibt. Zuerst sei die Färbung eine purpurrote, dann erst trete die blaue (puis d'un superbe bleu — ib. p. 201) ein. Caventou (7 p. 326), dem obiges unbekannt gewesen zu sein scheint, schreibt die ersten Beobachtungen über die Blaufärbung des Proteins durch Salzsäure sich selbst zu. Interessant ist es aber, wie Caventou als erster beobachtete, dass, zum Unterschied von den Leimsubstanzen, nur die Proteinkörper diese Färbung geben. Frémy & Valancienne (16 p. 473) bemerkten, dass auch die Proteine des Eigelbs durch Salzsäure eine violett-blaue Färbung erhalten. Eine eben solche Färbung erhielt Denis (10 p. 128) mit den Substanzen der Blutkörperchenstromata, und beobachtete Smee (43 p. 617) eine analoge Färbung an dem Protein, welches sich aus Eiweiss bei Durchleitung von Sauerstoff ausgeschieden hatte. Damit die Farbenreaktion mit Salzsäure unfehlbar erfolge, empfiehlt Liebermann (27 p. 322) die ausgefallten Proteinflocken in Alkohol, darauf in Äther zu kochen und erst dann die Salzsäure zuzusetzen; die Flüssigkeit färbe sich dabei schön dunkelviolettblau, was besonders gut in einer Porzellanschale hervortrete, namentlich wenn das Protein in Pulverform genommen werde. Le Nobel bestätigt Liebermann's Angaben (32 p. 625).

Meine eignen Beobachtungen haben mir gezeigt, dass verhältnismässig unbedeutende Protein- und Salzsäuremengen eine schöne dunkelviolettblaue Färbung geben, wenn das Gemenge auf einer Porzellanplatte abgedampft und dann, wenn nötig, noch weiter über der offenen Flamme erhitzt wird.

**Schwefelsäure.** Die ersten Beobachtungen über Schwefelsäure beschränken sich, wie wir es z. B. bei Fourcroy (13 p. 144) sehen, auf die Braunfärbung der proteinhaltigen Flüssigkeiten und Verkohlung des Proteins. Doch findet Berzelius (4 p. 33), dass Fibrin sich in mit 6 Teilen Wasser versetzter Schwefelsäure mit roter Farbe auflöst. Unter denselben Umständen beobachtete Schübler (41 p. 570) dunkelrote Färbung. Auch Colin (9 p. 323) sagt in seinem Briefe an Gay-Lussac, dass er bei der Behandlung von Proteinkörpern mit verdünnter Schwefelsäure nach der Überführung derselben in den geléeartigen Zustand und dem Auswaschen auf dem Filter in den Waschwässern successive Färbung ins Blaue, Grüne und Rote beobachtete. Bourdois & Caventou (6 p. 109) beobachteten bei der Behandlung

mit Schwefelsäure bräunlich-dunkelrote Färbung. Orfila fand bei der Probe vieler Gewebe und Flüssigkeiten des tierischen Organismus auf Schwefelsäure, dass dieselben sich violett färbten und an die Farbe von Malaga erinnerten (34 p. 450).

Auch hier geht unsern Beobachtungen nach die Reaktion, natürlich wenn die Schwefelsäure nicht besonders stark ist, leichter und besser beim Erwärmen nach vorhergegangenem Abdampfen vor sich. Eine scharf ausgeprägte Reaktion, wie in dem soeben beschriebenen Falle mit Schwefelsäure, so auch in den oben erwähnten mit Salzsäure und Salpetersäure, gestattet auch die umgekehrte Reaktion zu erhalten: bei einem geringen Säuregehalt und, natürlich, in einfachen Flüssigkeiten kann nämlich mit ausgeschiedenem reinem Globulin die Gegenwart irgend einer von diesen Säuren nachgewiesen werden. Beim Abdampfen der säurehaltigen Flüssigkeit mit dem Globulin zuerst auf dem Dampfbade und dann, wenn nötig auch bei vorsichtigem Erhitzen, färbt sich der Rückstand mit Salpetersäure gelb, bei Gegenwart von Alkalien rötlich-orange und mit Schwefelsäure rot, wobei aber die rote Färbung bald in eine schwarze übergeht. Salzsäure endlich verleiht dem Rückstand eine schöne dunkelviolette Farbe.

1. Reaktion auf Schwefelsäure und Zucker. Weit grösseres Interesse bietet das Verhalten der Schwefelsäure zu den proteinhaltigen Flüssigkeiten bei Gegenwart einiger organischen Substanzen. In dieser Beziehung nimmt der Zucker sowohl vom historischen Standpunkte aus als auch der Intensität seiner Reaktion nach die erste Stelle ein. So verleiht Raspail (37 p. 198) der Reaktion auf Schwefelsäure eine grössere Deutlichkeit und Intensität, indem er Zucker hinzuzieht. Bei der Behandlung von Protein einfach mit Schwefelsäure bedingt ein Überschuss letzterer bald eintretende schwarze Färbung; wurde aber vorher in der Säure eine gewisse Menge Zucker aufgelöst, so färbt sich das proteinhaltige Gemenge purpurrot und zwar um so intensiver, je mehr Säure und Zucker genommen wurden <sup>1)</sup>. Bei der Verdünnung mit Wasser verschwindet die Reaktion.

Später schlug Pettenkofer (35 p. 90) dieselbe Reaktion auch für die Gallensäuren vor. Offenbar kannte der Autor Raspail's Arbeit nicht. Will (48 p. 504), dem Raspail's Beobachtungen ebenfalls unbekannt waren, wollte bei der Anwendung von Pettenkofer's Reaktion die Entdeckung gemacht haben, dass alle wirbellosen Tiere Galle besitzen! Sogar Infusorien hätten ihm die Reaktion auf Galle gegeben (ib. p. 509)! Dieselbe Reaktion gäben auch die Muskeln (ib. p. 504—5).

Vergleicht man Raspail's und Pettenkofer's Reaktionen, so unterliegt natürlich keinem Zweifel, dass in Will's Fällen das Protein die Reaktion gegeben hatte, die er für eine Reaktion auf Galle ansah. Selbstverständlich fanden Will's Beobachtungen beizeiten ihre Erklärung und zwar durch Schulze (42 p. 266), welcher bewies, dass nicht nur die niederen Organismen, sondern auch die Proteinsubstanzen diese Reaktion geben. Schulze rät, nicht über 50° zu erwärmen.

Bemerken wir hier gleich, dass Strecker die Reaktion auf Schwefelsäure bei Gegenwart von Zucker, wie das Gesagte zeigt, fälschlich Schulze zuschreibt (44 p. 573).

Um den Unterschied zwischen der Färbung des Proteins und der Galle in Raspail's und Pettenkofer's Reaktionen herauszufinden, studirten Koschlakoff & Bogomoloff (22 p. 529) die spektroskopischen Eigenschaften der Flüssigkeiten, welche bei den erwähnten Reaktionen erhalten werden; sie fanden, dass die Gallen-

<sup>1)</sup> Mais si l'on a eu soin de dissoudre préalablement dans l'acide une certaine quantité de sucre, l'albumine se colore en purpurine d'autant

plus intense que les quantités de sucre et d'acide employées sont plus grandes (37 p. 198).

säuren bei vorsichtigem Zusatz von Schwefelsäure oder, im Notfalle, mit Essigsäure und bei mittleren Konzentrationen folgende Absorptionslinien gaben: eine scharfe links von *E*, eine zweite in *F*, eine dritte zwischen *D* und *E*, näher zu *D*, und eine vierte—ganz in der Nähe von *D*. Konzentrierte Lösungen lassen einen deutlichen Schatten bei *E*, einen schwächeren zwischen *D* und *E* und einen sehr schwachen zwischen *E* und *F* erkennen; sehr stark konzentrierte Lösungen geben einen ununterbrochenen dunklen Schatten; unter denselben Bedingungen gibt eine Albuminlösung Absorptionslinien zwischen *E* und *F*. Zugleich bemerkten die Autoren, dass unter gleichen Bedingungen bei Gallensäuren Dichroismus beobachtet wird, bei Proteïn aber nicht. Doch bedienten sich die Autoren auch hier der Essigsäure zur Verdünnung, da, ihren Worten nach, mit Essigsäure die Reaktion besser von statten geht. Fröhde (17 p. 376; 17-a p. 58) beobachtete seinerseits, dass der Zusatz von Molybdänsäure zur Schwefelsäure blaue Färbung bedingt.

2. Reaktion auf Schwefelsäure und Essigsäure.—Wenn Koschlakoff & Bogomoloff (22 p. 529) die Essigsäure eine zwar untergeordnete, aber schon merkliche Rolle spielen lassen, so hält Adamkiewicz deren Gegenwart zum Entstehen der von ihm vorgeschlagenen Reaktion für durchaus notwendig. Zuerst studierte Adamkiewicz (1 p. 156) den Einfluss der Schwefelsäure allein, in Abhängigkeit von dem Proteïngehalt, und fand dabei, dass mit dem Steigen des Proteïngehalts das Gemenge in der konzentrierten Säure ihre Farbe von grün bis dunkelviolett wechselte, indem sie nacheinander gelb, orange-gelb und rot wurde. Bei genauerer Bestimmung fand Adamkiewicz, dass bei 1,5% Proteïngehalt die Flüssigkeit grün und gelb, bei 7%—orange-gelb, bei 15%—rot, bei 21%—violett und bei 32%—trübe wurde (ib. p. 156). Alle genannten Farben fluoreszieren: bei einfallendem Licht erscheint eine schöne grüne Färbung, namentlich im Sonnenlicht. Etwas ganz anderes beobachtet man bei der Mitwirkung von Essigsäure an der Reaktion. Wurde anfänglich Eisessig eingetragen, so bewirkt der Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure an der Grenze zwischen dieser und dem proteïnhaltigen Gemenge die Bildung eines violetten Ringes mit einem grünen Rande an der unteren Seite. Beim Umschütteln nimmt die ganze Flüssigkeit eine hellviolette Färbung an. Diese Reaktion ist so empfindlich, dass bei einem Proteïngehalt von 0,0004 grm. dieselbe noch deutlich zu erkennen ist. Doch hängt diese Reaktion sowohl von der Menge des Proteïns als von derjenigen der Säuren ab. Bei einem gleichen Gehalt an beiden Säuren erhält man die mittleren Farben der oben gegebenen Skala—ein helles oder lebhaftes Rosa—in dem Fall, wenn die Essigsäure vom spec. Gew. 1,060, die Schwefelsäure—1,8095 und nicht weniger als 0,04% Proteïn in der Lösung ist. Bei einem Überschuss—bis zum 15-fachen—von Essigsäure entsteht eine lila Färbung; ist Schwefelsäure im Überschuss vorhanden, so entstehen die Färbungen in umgekehrter Reihenfolge, wie mit Schwefelsäure allein.

Besonders schöne Färbungen werden beobachtet, wenn an dieser Reaktion Schwermetallsalze teilnehmen; so gibt z. B. Kupfersulfat—eine violett-blaue, Goldchlorid—eine rote, Silbernitrat—eine gelbe Färbung (1 p. 160). Um diese letztere Operationen zu bewerkstelligen, empfiehlt Adamkiewicz das Proteïn zuerst mit dem Salze zu fällen, den Niederschlag in konzentrierter Essigsäure aufzulösen und dann erst Schwefelsäure zuzusetzen. Salpetersäure oder Alkalien würden die Färbungen vernichten (1 p. 160—1). Was die spektralen Beziehungen anbetrifft, so beobachtete man in der Flüssigkeit einen Absorptionsstreifen vom gelben bis zum blauen Teil des Spektrums, nämlich zwischen den Linien *E* und *F* (1 p. 162).

Dogel (11 p. 337) beobachtete dieselben Färbungen bei der Behandlung der Linse von Hunden, Katzen, Kaninchen und Fischen zuerst mit Essigsäure, dann mit

Schwefelsäure wie bei den Proteinkörpern. Eine eben solche violette Färbung erhalte man auch bei blosser Einwirkung von Salzsäure in der Wärme. Andererseits bemerkte Dogel, dass auch die Linsen nach der Behandlung zuerst mit Essigsäure, dann mit Chlorwasserstoffsäure beim Liegen an der Luft sich zuerst blau, dann violett färbten. Dasselbe beobachtete man auch bei der Einwirkung von rauchender Salzsäure allein. Dies bewog Dogel auf Proteinlösungen in Essig- und Salzsäure Ozon einwirken zu lassen; dabei veränderte die Lösung ihre Farbe und wurde, wie die der Schrift beigegebene Tabelle zeigt, nacheinander grün, violett, rot und zuletzt gelb (11 p. 337).

Hammarsten empfiehlt die Ausführung von Adamkewitz's Reaktion etwas abzuändern (17-b p. 389), und zwar eine geringe Menge der Lösung oder der Substanz mit einem Gemenge aus 1 Vol. konzentrierter Schwefelsäure und 2 Vol. Essigsäure zu erwärmen.

Palm findet jedoch (35 p. 35), Adamkewitz's Reaktion sei trotz ihrer Empfindlichkeit und Deutlichkeit für das Protein nicht charakteristisch, da die Olein- und Gallensäuren und auch Amylalkohol dieselbe Reaktion geben.

3. Reaktion auf Schwefelsäure und einige andre Agentien.—Ballas & Podobiedoff, die in unserm Laboratorium (3 p. 162), die von Molisch (30 p. 915; 30-a p. 34 und p. 49), zum Nachweis unbedeutender Zuckermengen vorgeschlagene Reaktion näher studirten, fanden, dass auch Protein beim Erwärmen mit einer 5—20%-igen alkoholischen  $\alpha$ -Naphthol- oder Tymollösung und Schwefelsäure eine violette, ins Purpurrote fallende Färbung gab. Doch finden sie, dass sowohl Tymol als Naphthol an sich selbst, wenn auch schwächer, dieselbe Färbung geben (3 p. 162). Daraufhin empfehlen sie bei Anwendung dieser Reaktion die mit destillirten Wasser und mit der Versuchsflüssigkeit erhaltenen Färbungen mit einander zu vergleichen: eine stärkere Färbung zeige die Gegenwart von Protein an. Anstatt Schwefelsäure wandten die Autoren nach Molisch's Vorgehen mit demselben Erfolge, wenn  $\alpha$ -Naphthal benutzt wurde (3 p. 169), Salzsäure an.

Quecksilbernitrat mit Salpetersäure.—Die Geschichte der Reaktion auf die Quecksilbernitrate in bezug auf die Färbung des Proteins geht trotz der allgemein verbreiteten Ansicht bis zum Jahre 1769 hinauf. So finden wir bei Zetzel (49 p. 244) zwei Fälle von Färbung der in zwei Serumproben durch eine Quecksilberlösung in Salpetersäure bewirkten Niederschläge, wobei der eine gelb, der andere dunkelrot gefärbt war, oder die Farbe der menschlichen Haut annahm, wenn sie durch dieselbe Lösung verändert wird <sup>1)</sup>. Auch Fourcroy (12 p. 313) beobachtete, dass Serum von einer Quecksilberlösung in Salpetersäure rosa gefärbt wurde, was er durch die Gegenwart von Kalk erklärt <sup>2)</sup>. Dasselbe beobachtete er auch am Hühnereiweiss <sup>3)</sup>. Diesen Untersuchungen scheint man wenig Aufmerksamkeit geschenkt zu haben. So beschreibt Krimer im Jahre 1823 (23 p. 260) eine Rosafärbung von Serum bei Gegenwart von Quecksilbernitrat. Die Färbung erfolgte in

<sup>1)</sup> Auflösung des Quecksilbers in Salpetersäure in I. ein weisses Geronnenes eben wie Salpetersäure allein. In II. ein käseartiges Geronnenes der ganzen Masse, dunkelroth, oder von der Farbe, die unsere Haut von dieser Auflösung bekommt (49 p. 244).

<sup>2)</sup> Ce liquide parait donc être, d'après ces recherches, un mucilage animal composé d'eau, de bases huileuses acidifiables, de muriate & carbonate de soude, de phosphate calcaire, c'est à ce dernier que parait être dû le précipité rosé que

j'ai obtenu en versant de la dissolution nitrique de mercure dans le serum. Quoique le liquide soit très peu coloré, le mélange de l'acide nitrique et surtout du nitrate de mercure y développe une couleur rose ou gris de lin, que j'ai eu occasion d'observer dans beaucoup d'autres liqueurs animales (12 p. 313).

<sup>3)</sup> L'eau de chaux en précipite du phosphate calcaire, et le nitrate de mercure forme du phosphate de mercure, qui prend une couleur rosée par la dessiccation (12 p. 461).

diesem Falle viel rascher, wenn die Flüssigkeit gewärmt wurde <sup>1)</sup>. Hünefeld (19 p. 261), der Krimer's Beobachtungen über die proteinhaltigen Flüssigkeiten bestätigt, findet ausserdem, dass auch das Glutin mit Quecksilbernitrat diese Reaktion gibt. Doch meint Hünefeld, dass der Erfolg der Reaktion von der Reinheit, dem Säuregehalt u. s. w. in der erwähnten Quecksilbernitratlösung abhängt, so dass die Reaktion mehr oder weniger gut ausfallen könne. Im Jahre 1849 empfahl Millon (29 p. 40) zur Darstellung einer Quecksilberverbindung, welche die proteinhaltigen Flüssigkeiten beim Erwärmen unfehlbar rot färbt, das Quecksilber in der gleichen Gewichtsmenge Salpetersäure aufzulösen. Damit die Auflösung besser vor sich gehe, rät er das Gemenge zu erwärmen und dann mit 2 Vol. Wasser zu verdünnen. Nach einiger Zeit wird die Flüssigkeit vom kristallinen Rückstand abgossen und dient nun zur Reaktion auf Protein unter Erwärmen auf 60°—70° (29 p. 41).

Krukenberg (24 p. 30) schlägt für das Millon'sche Reagens folgendes Rezept vor. Eine gesättigte Sublimatlösung wird mit einer etwas weniger als äquivalenten Menge Silbernitrat behandelt. Das von dem Niederschlage ( $\text{Cl}_2 \text{Ag}_2$ ) abgessene, Quecksilbernitrat [ $(\text{NO}_3)_2 \text{Hg}$ ] enthaltende Filtrat wird in geschlossenen Gefässen aufbewahrt. Je nach Bedarf erwärmt man eine Portion der erhaltenen Lösung nebst einigen Tropfen 1%-igen Kaliumnitrits mit der zu versuchenden Substanz bis zum Sieden.

Alle Präparate aus reinem Globulin geben mit dem sog. Millon'schen Reagens ohne Ausnahme eine rosa bis fleischrote Färbung.

Kupferoxydhydrat mit Alkalien. — Biuretreaktion. Die unter diesem Namen bekannte Reaktion wird eigentlich nicht richtig „Biuretreaktion“ genannt, da sie an den Proteinkörpern früher beobachtet wurde, als derselbe Versuch zum ersten Mal im Jahre 1847—48 (46 p. 255; 47 p. 271) von Wiedemann am Biuret angestellt wurde; denn schon im Jahre 1837 hatte Mitscherlich bemerkt, dass bei der Zugabe einer verdünnten Kupfersalzlösung proteinhaltige Flüssigkeiten Niederschläge ausschieden, welche beim Umschütteln sich zu einer blauen Flüssigkeit auflösten (29-a p. 106). Hauptsächlich aber kannte Lassaigne dieses Verhalten schon im Jahre 1840 und beschrieb es als Reaktion im Jahre 1842 (25 p. 529; 26 p. 257). Lassaigne beschrieb eine Verbindung von Protein mit einem Oxyd und einem Ätzalkali, deren Lösung violett oder violettblau gefärbt war. Um diese Reaktion zu erhalten, empfiehlt Lassaigne Kupferoxydhydrat mit einer wässrigen Proteidlösung zu vermischen und die Mischung dann mit einer Ätzkalilösung zu behandeln; oder Proteidlösungen mit irgend einem löslichen Kupfersalze zu fällen und den erhaltenen Niederschlag in Ätzkali aufzulösen. Anstatt der Alkalien würden mit demselben Erfolge Kalk- oder Barytwasser und auch Kohlensäure, nicht aber doppeltkohlensaure Alkalien genommen werden können, welche letztere grünblaue Färbung geben <sup>2)</sup>. Magnesia bewirke solche Färbungen nicht. Eine Fibrinlösung in

<sup>1)</sup> Merkwürdig war mir immer die Erscheinung, die ich bei dem Zusatze von salpetersaurer Quecksilber-Auflösung zum Serum beobachtete; nachdem nämlich Anfangs ein weisser grumöser Niederschlag entstanden war, wurde dieser allmählig zuerst auf dem Grunde des Gefässes dann von unten bis nach der Oberfläche der Masse in abnehmender Schattirung dunkel rosenroth von ausnehmend schöner Farbe. Wurde diese Zusammensetzung mässig erwärmt, so erfolgte jene Färbung nicht allein schneller, sondern auch voll-

kommen und erschien nach einigen Stunden als schönes Scharlachroth, doch die Farbe am Boden immer viel stärker als nach der Oberfläche zu (23 p. 260).

<sup>2)</sup> Nous proposons de désigner sous ce nom (Albuminate de cuivre et de potasse) la combinaison soluble que l'on forme directement en traitant, à la température ordinaire, l'hydrate de bioxyde de cuivre délayée dans une solution aqueuse d'albumine par une solution de potasse. La dissolution de l'oxyde s'opère peu à peu et

Salpeter gab dieselben Reaktionen (26 p. 258—60). Im Jahre 1854 zeigte, Maurel's Worten (28 p. 60) nach, Icery (21 p. 60), dass proteinhaltige Flüssigkeiten durch eine Mischung von Kupfersulfat und einem Alkali, Icery's Reagens genannt, violett gefärbt werden. Humbert (20 p. 272), dem Lassaigne's Arbeiten offenbar unbekannt waren, beschrieb im Jahre 1855 seinerseits dieselbe Reaktion, die er übrigens ganz zufällig an Proteinkörpern und Flüssigkeiten aus Cysten beobachtet hatte, indem er die proteinhaltige Flüssigkeit zuerst mit Kalilauge, dann mit Kupfersulfat oder mit einem Gemenge dieser Substanzen behandelte; dasselbe sieht man auch in Barreswill's Lösungen, der eine violettgefärbte Flüssigkeit erhielt. Zugleich fand Humbert, dass Serum, Speichel, Eiweiss u. s. w. sich ebenso verhalten. Auf diese Weise glaubte er  $\frac{1}{100}$  Protein in Flüssigkeiten nachweisen zu können (20 p. 273). Dasselbe meinte auch Piotrowsky (36-a p. 335), nämlich dass es Vintschgau als erstem gelungen war an gewöhnlichen Proteinpräparaten Violettfärbung bei Gegenwart von Kupfersulfat und Alkalien zu erhalten. Piotrowsky beobachtete dieselbe Reaktion auch an festen Proteinpräparaten. Vogel & Reischauer (45 p. 534) benutzten zu derselben Reaktion Schweizer's Reagens, d. h. eine ammoniakalische Kupferoxydhydratlösung und beobachteten dabei Rotfärbung der Proteinkörper. Ritthausen (38 p. 208) führte diese Reaktion mit vegetabilischen Proteinen etwas anders aus, indem er nämlich die verdünnten Protein- und Kupfersulfatlösungen vermischte, ein Alkali im Überschuss hineintrug und das Gemenge bis zum Sieden erhitzte; es erfolgte eine violettblaue Färbung. In der Folge fand Ritthausen (39 p. 449), dass proteinhaltige Flüssigkeiten unter denselben Bedingungen violettrote Färbung zeigten. Ein Jahr darauf empfahl Ritthausen (40 p. 376), nachdem ihm Humbert's Arbeit (20 p. 273) bekannt geworden war, und er die Reaktion nach den Angaben dieses Autors abgeändert hatte, den zu versuchenden Körper in Alkalien aufzulösen und dann schon 1—2 Tropfen Kupfersulfat zuzusetzen: die Flüssigkeit färbe sich sogleich violett. Dabei fand Ritthausen für überflüssig dieselbe zu erwärmen, meinte aber, dass bei Gegenwart von Zucker oder Dextrin die violette Farbe einen bläulichen Ton annehmen könne. Nach Ritthausen's Ansicht sei es möglich, mittels dieser Reaktion 0.001—0.002 grm. Protein nachzuweisen (40 p. 377). Maurel (28 p. 60) benutzte zu dieser Reaktion die Fehling'sche Lösung.

Alle Präparate aus reinem Globulin färben sich sowohl im festen Zustande als in alkalischen Lösungen bei geringem Proteingehalt violett, wobei bei grösserem Kupfergehalt blaue Färbung eintritt. Sehr geeignet für den Versuch der Proteinkörper auf die Biuretreaktion ist eine gesättigte, durch Kupfersulfatlösung stark blaugefärbte, Ätzkali- oder Ätznatronlösung. Wird diese Lösung zu der Versuchsflüssigkeit tropfenweise zugesetzt, so kann der Kupfer- und Alkaligehalt allmähig gesteigert und zugleich die Farbenveränderung beobachtet werden. Am Anfang der siebziger Jahre schlug Paschutin ein ähnliches Reagens auf Zucker vor. „Um das Kupferkalireagens zu bereiten“ sagt Paschutin (36 p. 10), „löste ich gegen 3 grm. Kupfersulfat in 1 Liter Wasser auf und setzte beinahe 10 Gewichtsteile Ätznatron hinzu; der erhaltene, aus Kupferoxyd bestehende, Niederschlag löste sich zum

---

il en résulte une liqueur colorée en un beau violet ou bleu pensée. Ce composé se forme aussi en versant peu à peu une solution de potasse sur le précipité blanc bleuâtre occasionné par les sels de cuivre solubles dans la solution d'albumine. Le précipité est à l'instant redissous par suite de sa décomposition et sa transformation en albumine double de cuivre et de potasse.

Cette combinaison, remarquable par sa belle couleur, avait déjà été signalée par nous en 1840 lorsque nous fimes agir de l'eau de chaux et de l'eau de baryte sur les composés d'albumine et de sels de cuivre. Les solutions de chaux et de baryte agissent de la même manière sur le bioxyde de cuivre hydraté en présence de l'albumine (26 p. 257-8).

Teil, und es wurde eine ziemlich tief blaue Flüssigkeit erhalten“. Das von uns oben vorgeschlagene Rezept ist in betreff sowohl der Bereitung als der Anwendung weit geeigneter.

Oxyde der andern Schwermetalle im Verein mit Alkalien färben das ausgeschiedene Globulin oder dessen Lösung gleich dem Kupferoxyd. Indem man zu einer Globulinlösung eine ziemlich verdünnte Lösung irgend eines Metallsalzes und dann eine konzentrierte Alkalilösung zugießt, gewahrt man eine hübsche Färbung der vollkommen klaren Flüssigkeit. So verleiht Kobalt eine blaue, bei Steigerung des Oxydgehalts eine kirschrote Farbe; mit Wasser allein gibt dieselbe Reaktion eine blaue Färbung, die in eine schmutzig-grüne übergeht. Cadmium gibt der Flüssigkeit eine schöne Perlmutterfarbe, Nickel eine ins Grünliche spielende; Uran färbt sie grünlich-gelb, Palladium—grün, Eisen—dunkelrot, Silber bei einfallendem Lichte—braunrot, in schwarzbraun übergehend, Platin—gelb, Gold—bei einfallendem Lichte violett, in dunkelviolet übergehend. Es muss darauf aufmerksam gemacht werden, dass beim Vermischen irgend eines Schwermetallsalzes mit der Globulinlösung und dann mit einem Alkali häufig zuerst Alkalissalz-Globulinverbindungen entstehen, welche erst dann in Verbindungen übergehen, in denen das Schwermetalloxyd unmittelbar mit dem Globulin verbunden ist und im allgemeinen eine Verbindung vorstellt, welche dem Schema 23 u. 24 № 93—100 p. 297—8 entspricht. Zugleich muss erwähnt werden, dass in vielen Fällen eine auf irgend eine Weise erhaltene Verbindung des Metalls mit einem Alkali und einem Schwermetalloxyd sich beständig in dem Sinne verändert, dass Reduktion stattfindet und schliesslich eine Globulinverbindung mit den niedrigsten Sauerstoffverbindungen der Alkali- und andern Metalle entstehen, wie wir es z. B. bei dem Quecksilber und Kupfer gesehen haben.

Die übrigen Farbenreaktionen. Unter den weniger bekannten Reaktionen erwähnen wir der von Colin beobachteten, dass nämlich die Proteinstoffen durch Zucker bei Gegenwart von Kamphersäure blau gefärbt werden (9. p. 323).

Unser Zeitgenosse Axenfeld (2 p. 209) hat vorgeschlagen, 1‰ Goldchloridlösung in eine angesäuerte Proteidlösung einzutragen: beim Erwärmen des Gemenges trete anfänglich Rosafärbung ein, die bei weiterem Zusatz in eine purpurorote, dann bläuliche, ferner blaue Farbe übergehe und noch weiter einen blauen Niederschlag ausscheide. Das Ansäuern müsse durchaus mit Ameisensäure geschehen; die Reaktion soll so empfindlich sein, dass ein Proteingehalt von 1 : 1000000 zu entdecken wäre! Offenbar ist Adamkiewicz's Arbeit (№ 93—100 p. 317) Axenfeld nicht genügend bekannt gewesen.

Reichl (37-a p. 132) bemerkte Blaufärbung proteinhaltiger Flüssigkeiten bei Gegenwart von Schwefelsäure, Eisensulfat und einer alkoholischen Lösung von Benz-Aldehyd.

Mittels dieser Reaktion könne  $\frac{1}{15}\%$  Protein in nicht sehr verdünnten Lösungen nachgewiesen werden.

## L I T E R A T U R.

- 1) **Adamkiewicz**.—Pflüger's. Arch. 1874, Bd. 9. 2) **Axenfeld**.—Centrbl. für med. Wiss. 1885. Jahrg. 23. 3) **Ballasse & Podobiedow** (Балласъ и Подобѣдовъ).—Труды физiol. Инстит. Москов. Унив. 1887 т. 1. 4) **Berzelius**.—Ann. de chimie ou Recueil etc. 1813, t. 88. 4-a) **Id.**—Lehrbuch der Thierchemie. Dresden. 1831. 5) **Bostock**.—Journ. of Natural Philos. 1805, vol. 11. 6) **Bourdois & Caventou**.—Ann. de chim. et de phys. 1826, t. 31. 7) **Caventou**.—Ann. de chim. & de phys. 1843, t. 8. 8) **Chevreul**.—Dictionnaire des sciences natur. Levrault, Strassb. & Paris. 1820, t. 16. 9) **Colin**.—Ann. de chim. & Phys. 1825, t. 30. 10) **Denis**.—Nouvelles études chim., physiol. etc. Paris. 1856. 11) **Dogiel** (Догель).—Pflüger's Arch. 1879, Bd. 19. 12) **Fourcroy**.—Eléments d'histoire natur. Paris. 1794 ed. 5, t. 4. 13) **Id.**—Système des connaissances chim. etc. Paris. 1801, t. 9. 14) **Id. & Thouvenel**.—Leçons élément. d'histoire natur. etc. 1782, t. 2. 15) **Id. & Vauquelin**.—Journ. für Chemie u. Physik, Berlin. 1806. 16) **Frémy & Valancienne**.—Compt. rend. 1854, t. 38. 17) **Fröhde**.—Liebig's Ann. 1867, t. 145. 17-a) **Id.** Bull. Soc. chim. 1868, t. 10. 17-b) **Hammarsten**.—Pflüger's Arch. 1885, Bd. 36. 18) **Hatchett**.—Philos. Trans. Abridged. 1800, vol 18. 19) **Hünefeld**.—Physiolog. Chemie. 1826, t. 1. 20) **Humbert**.—Journ. de Chimie et de Pharm. 1855, t. 27. 21) **Icery**.—Gazette méd. de Paris. 1880, t. 2. 22) **Koschlawow & Bogomolow** (Кослаковъ и Богомоловъ).—Centrbl. f. med. Wiss. 1868, Jahrg. 6. 23) **Krimer**.—Versuch einer Physiologie des Blutes. 1823, t. 1. 24) **Krukenberg**.—Grundr. d. med. chem. Analyse. 1884. 25) **Lasaigne**.—Compt. rend. 1842, t. 14. 26) **Id.**—Journ. de chimie médic. 1842, t. 8. 27) **Liebermann**.—Centrbl. f. med. Wissen. 1887. 28) **Maurel**.—Gaz. médic. de Paris. 1880, t. 2. Série 6. 29) **Millon**.—Compt. rend. 1849, t. 28. 29-a) **Mitscherlich**.—Pogg. Ann. 1837, Bd. 40. 30) **Molisch**.—Sitzber. Wiener Academie. 1886. 2 Abth. 30-a) **Id.**—Centrbl. f. m. W. 1887. 31) **Mulder**.—Bull. des Sciences physiq. en Neerelände. 1838 année 4. 32) **Le Nobel**.—Centrbl. f. med. Wissensch. 1887. 33) **Orfila**.—Journ. de Chim. médic. 1829, t. 5. 34) **Id.**—Ibid. 1850, t. 2. Série 3. 35) **Palm**.—Zeitschr. f. anal. Chemie. 1887. Jahrg. 26. 36) **Paschutin** (Пашутинъ).—Военно-меднц. Журналь. 1871 часть 110. 36-a) **Piotrowsky**.—Wien. Sitzungsber. 1857, Bd. 24. 37) **Raspail**.—Nouveau Système de Chimie. 1833. Paris. 37-a) **Reichl**.—Sitzungsber, Wien. 1889, Bd. 93. 38) **Ritthausen**.—Journ. f. prakt. Chemie. 1862, Bd. 85. 39) **Id.**—Ibid. 1866, Bd. 99. 40) **Id.**—Ibid. 1867, Bd. 102. 41) **Schübler**.—Deutsch. Archiv f. Physiol. Meckel's. 1818, Bd. 4. 42) **Schultze**.—Ann. der Chem. & Pharmac. 1849, Bd. 71. 43) **Smee**.—Proceed. of the Royal Soc. of London. 1863, v. 12. 44) **Strecker**.—Liebig's Handwörterb. 1850. Supplem. 45) **Vogel & Reichschauer**.—Neues Repert. f. Pharmac. 1859, Bd. 8. 46) **Wiedemann**.—Journ. f. prakt. Chem. 1847, Bd. 42. 47) **Id.**—Ibid. 1848, Bd. 43. 48) **Will**.—Arch. f. Anatomie & Phys. v. Müller. 1848. 49) **Zetzell**.—Abhand. der kön. schwed. Akademie. 1774, Bd. 32.