Untersuchungen über die Kolloide der „Leibeshöhlenflüssigkeit“ und des Blutes der Seetiere.

Von Prof. Filippo Bottazzi, Neapel.

(Aus dem Laboratorium der Zool. Station und dem Laboratorium für experim. Physiologie der K. Universität Neapel.)

In der Literatur ist noch keine systematische Untersuchung über die kolloiden Eigenschaften des „Blutes“ und der „Leibeshöhlenflüssigkeit“ der Wirbel- und wirbellosen Seetiere veröffentlicht, und so sah ich mich veranlaßt, diesbezügliche Untersuchungen vorzunehmen und so die Literatur in dieser Hinsicht zu ergänzen.

Wie aus der Zusammenstellung der zahlreichen Versuche ersichtlich ist, habe ich zur Darstellung meines Materials die gebräuchliche Methode der Kolloidforschung des Serums der höheren Tiere angewendet, und zwar:

a) Die Dialyse der Flüssigkeit von kürzerer resp. längerer Dauer in einer Tube aus künstlichem Pergamentpapier oder „Viscose“-Tube (Leune) gegen Chloroformwasser (in einigen Fällen zuerst gegen verdünntes Meerwasser, dann gegen Trinkwasser und endlich gegen destilliertes Wasser). Die Dialyse geschah in einer Flasche mit eingeschliffenem Stöpsel, an deren Boden sich eine Schicht Chloroform befand. Das Wasser wurde täglich mehrmals durchgerührt; während der ersten Periode der Dialyse wurde es täglich zweimal, dann täglich und zuletzt alle drei resp. zehn Tage erneuert. Fäulniserscheinungen waren nur sehr selten zu beobachten, in solchem Falle wurde die Flüssigkeit weggegossen.

b) Die Behandlung der Flüssigkeiten mit Alkohol, verdünnten Säuren, verdünnter Kupfersulfatlösung, kolloidem Eisenhydroxyd und kolloidem Arsensulfid usw.

c) Kataphorese; durch den Apparat — welchen ich in einer anderen Abhandlung beschrieben¹⁾ — ging ein Gleichstrom von 110 Volt; ein eingeschalteter Milliampèremeter ließ durch die Flüssigkeit nie mehr wie $\frac{1}{10}$ Milliampère hindurchgehen.

Ich fasse hier kurz in Form eines Schemas die Resultate meiner zahlreichen Untersuchungen zusammen, wobei ich die vergleichenden Versuche, die ich am Serum der Säugetiere (Blutserum von Hunden, Schweinen und Ochsen) angestellt habe, nicht anführe; ich werde auf diese bei der Zusammenfassung meiner Resultate zurückkommen.

A. Untersuchung der Leibeshöhlenflüssigkeit von *Holothuria Poli*.

Ich lasse sie spontan gerinnen und filtriere.

1. Untersuchung des frischen Filtrats.

1. Die Fällungsreaktionen auf Eiweißsubstanzen fallen negativ aus, und zwar:

- a) Die Heller'sche Probe mit Salpetersäure;
- b) Versetzen mit einem gleichen Volumen ges. Ammonsulfatlösung;
- c) Versetzen mit Essigsäure in der Kälte;
- d) Erhitzen bis zum Sieden, nachdem die Flüssigkeit vorher mit verdünnter Essigsäure neutralisiert wurde.

2. Die Leibeshöhlenflüssigkeit gibt mit kolloiden Lösungen von Arsensulfid und Eisenoxydhydrat ein reicheres Präzipitat wie das gleiche Volumen Meerwasser.

Es scheint also, daß die Leibeshöhlenflüssigkeit von *Holothuria* nach der Gerinnung und erfolgtem Abfiltrieren keine durch die gewöhnlichen Reaktionen nachweisbare Eiweißstoffe enthält.

II. Ein größeres Quantum Leibeshöhlenflüssigkeit wurde in einer Tube aus künstlichem Pergamentpapier 5 Monate lang gegen Chloroformwasser dialysiert. Am Boden der Tube sammelt sich ein geringes Präzipitat zusammen, welches sodann abfiltriert wurde. — Das Filtrat ist klar. — Untersuchung des Filtrats.

Es gelingt mit keiner Reaktion die Anwesenheit von Eiweißstoffen nachzuweisen.

B. Untersuchung der Leibeshöhlenflüssigkeit von *Sipunculus nudus*.

Ich habe eine größere Quantität zentrifugiert, filtriert und in einer Tube aus künstlichem Pergamentpapier gegen Chloroformwasser, ca. 5 Monate lang, dialysiert. Die Flüssigkeit wurde vom Niederschlage, welcher sich am Boden der Tube ansammelt, abfiltriert und untersucht. Die Anwesenheit von Eiweißstoffen ist mit keiner Reaktion nachweisbar. Wie es scheint enthält also die Leibeshöhlenflüssigkeit von *Sipunculus* keine vermittelt der Dialyse fällbaren Eiweißstoffe.

¹⁾ Rend. R. Accad. d. Lincei, Classe Sc. fis., mat. e natur., XVIII (5a), 16. Mai 1909, S. 485.

C. Untersuchung der Leibeshöhlenflüssigkeit von *Aplysia depilans*.

Ich lasse die Flüssigkeit gerinnen und filtriere.

I. Das Filtrat ist klar und gibt mit Salpetersäure (Heller'sche Probe) und Tannin einen sehr geringen Niederschlag.

II. Eine Probe des Filtrats wird in einer Tube aus künstlichem Pergamentpapier ca. fünf Monate lang gegen Chloroformwasser dialysiert. Nach dieser Zeit ist im Dialysator ein beträchtliches Quantum Niederschlag zu sehen. Die überstehende Flüssigkeit wurde dekantiert und filtriert. Die Reaktionen auf Eiweißsubstanzen fallen negativ aus. Der Niederschlag ist unlöslich in $\frac{n}{1}$ NaCl-Lösung, löslich in $\frac{n}{100}$ NaOH. Die alkalische Lösung gerinnt beim Sieden nicht; wird zu der noch warmen Flüssigkeit einige Tropfen $\frac{n}{1}$ NaCl-Lösung hinzugefügt, so entsteht ein flockiger Niederschlag. Alle Eiweißstoffe der Leibeshöhlenflüssigkeit von *Aplysia* präzipitieren also während der Dialyse.

D. Die Leibeshöhlenflüssigkeiten von *Cereanthis aurantiaca* (Aetinie, erhalten durch Durchschneiden der Fühlfäden), von *Astropecten aurantiacus* (erhalten teils durch Durchstechen der anubulacralen Füßchen, teils durch Amputation der Strahlen des gut abgetrockneten Tieres), von *Asterias glacialis* (auf dieselbe Weise gewonnen), von *Sphaerechimus granularis* zeigen ein ähnliches Verhalten wie die Leibeshöhlenflüssigkeit der *Holothuriae* und *Sipunculi*, d. h. sie enthalten entweder keine oder nur eine Spur Eiweißsubstanzen, während des Gerinnungsprozesses oder während der Dialyse nicht präzipitieren.

Die Leibeshöhlenflüssigkeit von *Pleurobranchia Meckelii* verhält sich dagegen wie die der *Aplysia*, d. h. sie enthält auch nach der Gerinnung einen Eiweißstoff gelöst, der jedoch während der langdauernden Dialyse ausfällt.

Alle diese Lösungen geben aber mit einer kaltgesättigten Tanninlösung versetzt einen sehr geringen Niederschlag; ein solcher ist beim Meerwasser nicht zu beobachten. Da aber dieser Niederschlag in einer Probe der nicht dialysierten Flüssigkeiten erscheint, so kann dieser — wenigstens zum größten Teil — von suspendierten morphologischen Elementen herühren, die am Gerinnungsprozeß nicht teilnehmen (er besteht bekanntlich bei diesen Tieren

wesentlich in der Agglutination der Lymphozyten in Gestalt kleinerer und größerer Körnchen und Klümpchen) und zum Teil vielleicht von Eiweißstoffen, die aus der Zerstörung einer gewissen Quantität der Lymphozyten entstehen.

Es läßt sich nur von der Leibeshöhlenflüssigkeit der *Aplysia* mit Sicherheit behaupten, daß sie — unabhängig von den morphologischen Elementen — ein gelöstes Protein enthält. Es präzipitiert jedoch, wie wir sahen, vollständig während der Dialyse.

E. Untersuchung des Blutes von *Maja squinado*.

Das Material wurde dargestellt durch Amputation der Gelenke. Ich lasse es gerinnen und filtriere. Das Filtrat ist klar und schön blau gefärbt.

I. Untersuchung des frischen Filtrats.

1. Auf Lackmus reagiert es alkalisch, auf Phenolphthalein neutral.

2. In der Hitze voluminöse Gerinnung (wie das Eiereiweiß); das Koagulum ballt sich langsam zusammen, die Flüssigkeit ist farblos und opaleszent.

3. Reichlicher Niederschlag mit

a) 97prozentigem Alkohol;

b) 10prozentiger Essigsäure;

c) verdünnter resp. konzentrierter Salzsäure, in welcher sich der Niederschlag beim Erwärmen auflöst;

d) mit Salpetersäure in der Kälte (Xanthoproteinreaktion);

e) mit einem gleichen Volumen einer gesättigten Ammonsulfatlösung usw.

4. Starke Biuretreaktion.

II. Das Blut von *Maja squinado* wurde nach der Gerinnung filtriert und in einer Röhre aus künstlichem Pergamentpapier gegen Chloroformwasser dialysiert.

Nach ca. 1 Monat dauernder Dialyse ist die Flüssigkeit noch immer bläulich gefärbt; das Filtrat ist etwas opaleszent. Im Dialysator ist ein beträchtliches Quantum Präzipitat zu sehen. Das Filtrat reagiert nicht auf rotes Lackmus.

1. Die Fällungs- und Farbenreaktionen der Proteine sind deutlich.

2. Verdünnte Essigsäure erzeugt einen Niederschlag, der im Ueberschuß der Säure löslich ist; das gebildete Säureprotein wird aus der klaren Lösung durch NaCl-Lösung ausgefällt.

3. Ein Tropfen 10prozentige CuSO_4 -Lösung erzeugt in 5 ccm der Flüssigkeit einen im Ueber-

schoß des Fällungsmittels unlöslichen Niederschlag.

4. Das Protein wird durch kolloides Eisenoxydhydrat gefällt, nicht aber durch kolloides Arsensulfid.

5. In der Siedehitze wird die Flüssigkeit opaleszent, fast milchig, jedoch entsteht ein flockiger Niederschlag nur nach Hinzufügen einiger Tropfen 5prozentiger NaCl-Lösung.

6. 97prozentiger Alkohol fällt das Protein nicht; wohl aber nach Zusatz einiger Tropfen einer 5prozentigen NaCl-Lösung.

Nach ca. 2 Monate dauernder Dialyse ergibt die Untersuchung folgendes:

Nach der ersten Fällung hat sich die über dem Niederschlag im Dialysator stehende Flüssigkeit neuerdings getrübt, sie ist milchig geworden und erscheint wie eine ziemlich stabile Suspension.

Ein Teil dieser Flüssigkeit wurde mehrmals filtriert, jedoch gelingt es nicht, ein klares Filtrat zu erhalten. Der Rückstand wurde weiter dialysiert.

Untersuchung des opaleszenten Filtrats.

1. Mit kolloidem Eisenhydrat gibt es einen Niederschlag.

2. In der Siedehitze wird es milchig, aber nur zum kleinen Teil flockig; nach Zusatz einer kleinen Menge $\frac{n}{1}$ NaCl-Lösung entsteht ein reichlicher Niederschlag.

3. Alkohol fällt langsam das suspendierte Kolloid. Wird die Flüssigkeit mit Wasser verdünnt, so wird das Protein durch Alkohol nicht gefällt.

4. Das Filtrat, auch wenn es verdünnt ist, gibt mit einem Tropfen einer 5prozentigen CuSO_4 -Lösung einen Niederschlag.

Untersuchung des mit Wasser verdünnten Filtrates.

5. Ein elektrischer Strom von 110 Volt scheidet das suspendierte Kolloid am positiven Pol ab, wobei sich die Flüssigkeit am negativen Pole klärt und farblos wird. Die Untersuchung dieser klaren Flüssigkeit ergibt, daß sie auch noch einen elektronegativen Eiweißkörper enthält. Sie ist also deshalb klar geworden, weil die Partikelchen des suspendierten Kolloids leichter gegen die positive Elektrode wanderten. Es scheint das allmählich während der Dialyse präzipitierende Kolloid mit dem Chromoprotein

des Blutes von Maja eine große Ähnlichkeit zu haben, da die Flüssigkeit nach und nach weniger gefärbt erscheint.

Im Blute von Maja erfolgt also eine allmähliche Fällung des Kolloids während der Dialyse.

6. Alkohol erzeugt keinen Niederschlag.

Untersuchung der ursprünglichen opaleszenten Flüssigkeit.

7. Minimale Mengen von $\frac{n}{100}$ HCl oder

NaOH genügen, um die Flüssigkeit sofort zu klären. Natürlich verwandelt sich das suspendierte Kolloid in dem einen Falle in Säureprotein, im anderen in Alkaliprotein. Werden diese beiden Lösungen gemischt, so entsteht ein Niederschlag (das Säureprotein fällt das Alkaliprotein und umgekehrt).

8. Die Flüssigkeit wird klar nach Zufügen einiger Tropfen $\frac{n}{1}$ NaCl-Lösung.

Nach ca. fünfeinhalbmonatlicher Dialyse.

Das Filtrat ist opaleszent und zeigt eine schöne Färbung von Tyndallblau. Untersuchung der Flüssigkeit:

1. Alkohol gibt keinen Niederschlag.

2. In der Siedehitze präzipitiert sie nicht und wird auch nicht trübe. Nach Zusatz einer kleinen Quantität $\frac{n}{1}$ NaCl-Lösung entsteht ein reichlicher Niederschlag.

3. Ein Tropfen 5prozentige CuSO_4 -Lösung erzeugt einen Niederschlag.

4. Wird zu der Flüssigkeit in der Kälte ein Tropfen $\frac{n}{1}$ NaCl-Lösung hinzugefügt, so wird sie klar; ein Tropfen $\frac{n}{1}$ BaCl_2 -Lösung ruft dagegen einen Niederschlag hervor.

5. Auf Zusatz eines Tropfens $\frac{n}{100}$ HCl wird die Flüssigkeit trübe und scheidet bald einen Niederschlag ab, welcher im Ueberschuß des Fällungsmittels vollkommen löslich ist.

6. CaCl_2 -Lösung wirkt wie BaCl_2 .

7. Eine 2prozentige KHSO_4 -Lösung erzeugt einen reichlichen Niederschlag, der sich im Ueberschuß des Fällungsmittels löst.

8. Wird zu der Flüssigkeit zuerst eine kleine Portion $\frac{n}{1}$ NaCl-Lösung, dann etwas Alkohol hinzugefügt, so entsteht ein Niederschlag.

9. Wird die Flüssigkeit nach Zusatz von $\frac{n}{1}$ NaCl-Lösung aufgeköcht, so entsteht ein flockiger Niederschlag.

10. Wird durch die Flüssigkeit ein elektrischer Strom geschickt, so wandert das elektronegative Kolloid zum positiven Pole und scheidet sich dort ab.

Nach ca. siebenmonatlicher Dialyse.

Wie schon gesagt, hat sich während der Dialyse ein reichlicher Niederschlag gebildet, der durch Filtrieren entfernt wurde, das Filtrat wurde dann wiederholt dialysiert. Während der letzten Periode der Dialyse entsteht ein Niederschlag von minimaler nicht nennenswerter Menge. Die Flüssigkeit blieb stets etwas bläulich gefärbt und opaleszent.

Die Untersuchung dieser Flüssigkeit ergab folgendes (die Reaktionen wurden an ca. 2 ccm der Flüssigkeit ausgeführt):

1. Wird Alkohol im Ueberschuß hinzugesetzt, so entsteht im Momente keine Opaleszenz.

2. Zwei Tropfen $\frac{n}{100}$ HCl erzeugen einen reichlichen Niederschlag, der nach Zusatz von weiteren drei Tropfen sofort verschwindet.

3. Ein Tropfen 10prozentige Kupfervitriollösung erzeugt einen reichlichen Niederschlag.

4. Auf Zusatz von zwei Tropfen $\frac{n}{1}$ BaCl₂-Lösung entsteht eine leichte Trübung, die nach Zufügen von weiteren wenigen Tropfen verschwindet. Ein überschüssiger einziger Tropfen ruft eine starke Trübung hervor; bald erscheint ein Niederschlag, der sich im Ueberschuß des Fällungsmittels löst.

5. In der Siedehitze trübt sie sich nicht; es genügt ein Tropfen $\frac{n}{1}$ NaCl-Lösung, um einen reichlichen Niederschlag zu bewirken.

6. Ein Tropfen 2prozentige KHSO₄-Lösung bewirkt zuerst einen Niederschlag, der beim Schütteln verschwindet.

7. Ein Tropfen $\frac{n}{1}$ CaCl₂-Lösung bewirkt eine starke Färbung, die noch stärker zu sein scheint, als die durch BaCl₂ hervorgerufene; es entsteht bald ein Niederschlag, der im Ueberschuß der Säure unlöslich ist.

8. Nach Zusatz von einem Tropfen NaCl-Lösung geschieht in der Kälte nichts. Beim Kochen gerinnt dagegen die Flüssigkeit sofort.

9. Wird die Flüssigkeit elektrolysiert, so wandert das Protein zur positiven Elektrode und scheidet sich dort ab.

Es ist also aus diesen Reaktionen ersichtlich, daß die Flüssigkeit eine beträchtliche Menge eines noch stark elektronegativen Eiweißkörpers enthält.

Nach ca. ein Jahr dauernder Dialyse. Untersuchung der wasserklaren Flüssigkeit.

1. In der Siedehitze entsteht kein Niederschlag wird aber (vor oder nach dem Aufkochen) eine kleine Quantität $\frac{n}{1}$ NaCl-Lösung hinzugefügt, so erscheint dieser sofort.

2. Alkohol erzeugt keinen Niederschlag.

3. Eine 5prozentige CuSO₄-Lösung bewirkt einen geringen Niederschlag.

4. Der elektronegative Eiweißkörper scheidet sich am positiven Pol ab.

Nach fünfzehnmonatlicher Dialyse.

Da ich während der letzten zwei Monate sah, daß die Flüssigkeit stets ein elektronegatives Protein enthielt, kehrte ich wieder zur Dialyse gegen Chloroformwasser zurück, das täglich erneuert wurde. Infolgedessen bildete sich im Dialysator ein neuer reichlicher Niederschlag. Die darüberstehende Flüssigkeit ist sehr klar und stets etwas blau gefärbt.

Untersuchung dieser Flüssigkeit.

1. In der Siedehitze gerinnt die Flüssigkeit nicht, sie wird nicht einmal opaleszent. Eine ganz geringe Menge $\frac{n}{1}$ CaCl₂-Lösung erzeugt einen reichlichen Niederschlag. Die Flüssigkeit enthält also trotz der langdauernden Dialyse noch viel Protein.

2. Alkohol bewirkt keinen Niederschlag; wird aber ein kleines Quantum $\frac{n}{1}$ CaCl₂-Lösung zugesetzt, so entsteht ein Niederschlag.

3. Mit einer verdünnten CuSO₄-Lösung gibt sie einen reichlichen Niederschlag.

4. Die Kataphorese der Flüssigkeit, die vom Chloroform sorgfältig befreit wurde, habe ich in folgendem Gefäßsystem angestellt. Drei Wägegäßen wurden miteinander durch zwei stimmgabelartige Röhren verbunden. Im mittleren Gefäß befindet sich die kolloide Lösung, in den beiden äußeren destilliertes Wasser und die Elektroden. Die Röhren sind auch mit

destilliertem Wasser gefüllt. Nach 18 stündiger Kataphorese (110 Volt, $\frac{1}{10}$ Milliampère) ist das Kolloid im mittleren Gefäß ausgefallen; man sieht, daß die Fällung im rechten Schenkel des Röhrchens erfolgt, eine Wanderung des elektro-negativen Kolloids hat jedoch nicht stattgefunden, weil es während jenes Versuches, nach dem positiven Pol zu wandern, niedergeschlagen würde. Wird die Flüssigkeit geschüttelt, so suspendiert sich das niedergeschlagene Kolloid wieder, jedoch ist die Flüssigkeit im Gegensatz zur ursprünglichen stark opaleszent. Diese opaleszente Flüssigkeit zeigt folgende Eigenschaften:

1. Nach Zusatz von $\frac{n}{1}$ NaCl oder CaCl_2 -Lösung, $\frac{n}{100}$ NaOH oder H_2SO_4 wird sie wieder sehr klar, offenbar weil sich das flockig gewordene Kolloid wieder auflöst.

2. Im Gegensatz zur ursprünglichen Flüssigkeit gerinnt die opaleszent gewordene Flüssigkeit, wenn sie dem elektrischen Strom ausgesetzt wird; sie wird flockig in der Siedehitze.

3. Die durch Zusatz von $\frac{n}{1}$ NaCl- resp. CaCl_2 -Lösung klar gewordene Flüssigkeit wird in der Wärme flockig.

4. Die durch Zusatz von $\frac{n}{100}$ NaOH klar gewordene Flüssigkeit wird in der Wärme nur nach Zufügen von etwas $\frac{n}{1}$ CaCl-Lösung flockig.

Untersuchung des zuletzt im dialysierten Blute von Maja gebildeten Niederschlages.

Der Niederschlag ist leicht löslich, wenn etwa $\frac{n}{1}$ NaCl oder $\frac{n}{100}$ NaOH vorhanden ist.

E. Eine neue Portion Blut von Maja squinado nach 11tägiger Dialyse.

Untersuchung der Flüssigkeit:

1. Im Dialysator hat sich ein reichlicher Niederschlag gebildet.

2. Das Filtrat ist ganz klar aber stark (blau) gefärbt.

3. Der Einwirkung eines elektrischen Stromes (110 Volt) ausgesetzt, erscheint bald ein schneeweißes flockiges Präzipitat um die (+) Elektrode herum, von welcher es sich bald ablöst und zu Boden sinkt; die Flüssigkeit (+) scheint sich mehr als die andere zu färben. Mithin ent-

hält die Flüssigkeit ein elektro-negatives Kolloid.

4. CuSO_4 bewirkt einen reichlichen Niederschlag.

5. Kolloides Arsensulfid bewirkt keinen Niederschlag, kolloides Eisenhydrat ruft aber sofort einen reichlichen Niederschlag hervor.

F. Frisches Blut von Homarus vulgaris nach der „ersten Gerinnung“ filtriert. Ganz klar, stark gefärbt.

Untersuchung des frischen Blutes.

1. Reichlichen Niederschlag bewirken Alkohol, 10prozentige CuSO_4 -Lösung, konzentrierte Mineralsäuren, konzentrierte Essigsäure, gesättigte Ammonsulfatlösung usw.

2. In der Wärme koaguliert die Flüssigkeit und wird hart wie gekochtes Eiweiß.

3. Xanthoproteinreaktion positiv.

4. Verdünnte Essigsäure ruft eine leichte Trübung hervor; bei vorsichtigem Hinzusetzen von konzentrierter Essigsäure im Ueberschuß klärt sich die Flüssigkeit, es bleiben aber darin Flocken und Fäden von fibrinösem Aussehen suspendiert.

Das auf die vorhin beschriebene Weise vorsichtig angesäuerte Blut gerinnt nicht mehr in der Wärme (infolge Bildung von Säureprotein), es bildet Flocken nach Zusatz einer 10prozentigen NaCl-Lösung (Fällung des Säureproteins). Wird konzentrierte Essigsäure in kleiner Menge, aber auf einmal hinzugesetzt, so wird das Blut gelatinös; wird dieses erhitzt, so koaguliert der Eiweißkörper und die darüberstehende Lösung wird jetzt fast eiweißfrei.

Es wurde sodann das Blut in einer Tube aus künstlichem Pergamentpapier dialysiert:

a) 24 Stunden lang gegen ein Gemisch von Meerwasser und Trinkwasser in gleichen Volumen.

b) 48 Stunden lang gegen ein Gemisch von $\frac{1}{3}$ Meerwasser und $\frac{2}{3}$ Trinkwasser.

c) Vier Tage lang gegen Trinkwasser allein. Gegen Ende des vierten Tages der Dialyse ist im Dialysator eine beträchtliche Menge eines flockigen Niederschlages zu sehen.

Die Dialyse gegen Trinkwasser und hierauf gegen destilliertes Wasser dauert fort; der Niederschlag nimmt zu.

Nach einer viermonatlichen Dialyse.

Auf dem Boden des Dialysators ist eine beträchtliche Menge Niederschlag zu sehen.

Die darüberstehende Flüssigkeit ist etwas opaleszent und noch schwach gefärbt.

Untersuchung der Flüssigkeit
(die Reaktionen werden an 1 ccm derselben ausgeführt).

1. Ein Tropfen einer 5prozentigen CuSO_4 -Lösung ruft einen reichlichen Niederschlag hervor.

2. Alkohol bewirkt nicht einmal eine schwache Trübung.

3. In der Siedehitze wird das Protein nicht gefällt, jedoch flockt es nach Zusatz eines Tropfens $\frac{n}{1}$ NaCl-Lösung.

4. Auf Zusatz von einem Tropfen $\frac{n}{1}$ CaCl_2 - oder BaCl_2 -Lösung entsteht eine Trübung.

5. Wird in die Flüssigkeit Kohlensäure eingeleitet, so trübt sie sich sofort, dann scheidet sie Flocken ab.

6. Ein Tropfen $\frac{n}{100}$ -Lösung von HCl und H_2SO_4 bewirkt sofort die Bildung eines flockigen Niederschlages, der beim Schütteln der Flüssigkeit verschwindet; die Bildung des Säureproteins erfolgt sofort.

7. Dieselbe Wirkung hat eine 2prozentige KHSO_4 -Lösung.

Nach ca. fünfmonatlicher Dialyse.

Bedeutender Niederschlag am Boden des Dialysators. Die darüberstehende Flüssigkeit ist ganz klar.

Untersuchung dieser Flüssigkeit.

1. Ein Tropfen 5prozentige CuSO_4 -Lösung gibt einen Niederschlag.

2. Alkohol erzeugt keine Fällung.

3. In der Siedehitze wird sie schwach opaleszent, nach Zusatz einer geringen Menge $\frac{n}{1}$ NaCl-Lösung flockt das Protein sofort.

4. Ein Tropfen $\frac{n}{100}$ HCl bewirkt einen körnigen Niederschlag, der im Ueberschuß des Fällungsmittels löslich ist; nach Zusatz von etwas $\frac{n}{1}$ Kochsalzlösung wird das Säureprotein sofort flockig.

5. $\frac{n}{1}$ CaCl_2 - und BaCl_2 -Lösungen verursachen schwache Trübungen.

6. Der elektrische Strom (110 Volt; Dauer der Kataphorese 18 Stunden) treibt das elektro-negative Protein nach dem Gefäß hin, in welchem sich die positive Elektrode befindet.

G. Blutserum von *Scyllium stellare*.

Ich lasse das Blut spontan gerinnen, sodann wird das Serum abgenommen und filtriert und in einer Tube aus künstlichem Pergamentpapier gegen Chloroformwasser dialysiert.

Nach dreitägiger Dialyse.

Es hat sich ein reichlicher Niederschlag gebildet. Ein Teil des Serums wird filtriert; das Filtrat ist etwas opaleszent.

Untersuchung des Serums.

1. Die Farben- und Fällungsreaktionen der Eiweißkörper sind deutlich positiv.

2. Alkohol bewirkt einen reichlichen Niederschlag.

3. In der Siedehitze wird es stark opaleszent, aber nicht flockig, auch nicht nach Zufügen von etwas 4prozentiger Kochsalzlösung. Dies darf uns nicht wundern, da sich auch frisches dialysiertes Serum ähnlich verhält, d. h. keine Flocken bildet, sondern nur opaleszent wird, um nach erfolgter Abkühlung gelatinös zu werden. Wenn man das frische Serum mit Salzsäure ansäuert, so treten diese Erscheinungen auch hervor. Es handelt sich hier um die Gelatinierung des Alkaliproteins oder des Säureproteins.

Das Blutserum vom *Torpedo* gerinnt dagegen in der Siedehitze.

4. Kolloides Arsensulfid und kolloides Eisenhydrat geben Niederschläge; mit letzterem tritt die Niederschlagsbildung rascher ein als mit Arsensulfid.

Nach ca. einmonatlicher Dialyse.

Der Niederschlag hat zugenommen. Das Filtrat ist etwas opaleszent.

1. Das Serum enthält sehr wenig Protein.

2. Alkohol bewirkt sofort einen Niederschlag.

3. Beim Kochen wird die Flüssigkeit opaleszent, bildet aber keine Flocken.

Nach ca. 6 Monaten.

Das Serum enthält nunmehr eine so geringe Menge Protein, daß die Reaktionen undeutlich werden. Man möchte sagen, alle Eiweißkörper seien während der langen Dialyse gefällt oder durch die Wand des Dialysators hindurchgegangen.

H. Untersuchung des Blutserums von *Conger vulgaris*.

Ich lasse das Blut spontan gerinnen. Das filtrierte Serum ist ganz klar.

Untersuchung des frischen Serums.

1. Beim Kochen gerinnt es; die Flüssigkeit wird opaleszent.
2. Die Farbenreaktionen der Eiweißkörper sind deutlich positiv.
3. Alkohol erzeugt einen reichlichen Niederschlag.
4. Auf Lackmuspapier reagiert es alkalisch; nicht auf Phenolphthalein.

Nach viermonatlicher Dialyse.

Im Dialysator ist ein reichlicher Niederschlag von blaßgelber Farbe. Die darüberstehende Flüssigkeit ist ganz klar und enthält so wenig Protein, daß alle Reaktionen undeutlich verlaufen.

1. Alkohol bewirkt keinen Niederschlag.
2. Eine 5prozentige CuSO_4 -Lösung verursacht eine schwache Trübung.
3. Es trübt sich beim Kochen nur nach Zusatz einer kleinen Quantität $\frac{n}{1}$ NaCl-Lösung.

Untersuchung des Niederschlages.

Das am Boden des Dialysators angesammelte Präzipitat wird mit destilliertem Wasser gewaschen und in letzteren suspendiert.

1. Der Niederschlag ist unlöslich in 0,5 n. NaCl-Lösung.
2. Er ist löslich in $\frac{n}{100}$ NaOH-Lösung und noch leichter in konzentrierter NaOH.
2. Er ist nicht löslich (wenigstens nicht sofort) in $\frac{n}{100}$ HCl.

Schlußfolgerungen und allgemeine Ueberlegungen.

Wie die Versuche und Resultate zeigen, enthält die Leibeshöhlenflüssigkeit der niedrigsten wirbellosen Seetiere entweder gar keine Eiweißkolloide gelöst (Echinodermen usw.) oder nur eine sehr geringe Menge (Aplysiae usw.), außer denjenigen, welche eventuell aus der Auflösung eines Teiles der morphologischen Elemente stammen. Das Blut der Krustazeen ist dagegen sehr reich an Eiweißstoffen²⁾. Wenn man sein Verhalten während der Dialyse betrachtet, so ist anzunehmen, daß es zwei verschiedene Kolloide enthält, die einen verschiedenen Sta-

bilitätsgrad, d. h. Widerstand gegen die Dialyse besitzen. In der Tat bemerkt man im Dialysator während der ersten 4 bis 5 Tage der Dialyse, Bildung eines Niederschlags; dauert aber die Dialyse ein Jahr lang, so scheidet sich langsam ein weiterer Niederschlag ab, und zwar um so langsamer, je weniger intensiv die Dialyse ist. Das in der ersten kurzen Periode der Dialyse gefällte Kolloid ist wahrscheinlich ein Eiweißkörper, der den Globulinen des Blutserums der höheren Tiere entspricht. Das allmählich während der langdauernden Dialyse abscheidende Kolloid ist wahrscheinlich Hämözyanin. Und in der Tat verschwindet die Farbe der Flüssigkeit um so mehr, je größer die ausgeschiedenen Mengen werden.

Die hier angestellten Untersuchungen ergeben, daß das Hämözyanin des Blutes der Krustazeen ein elektronegativer Eiweißkörper ist, der seine elektronegative Ladung hartnäckig festhält. Ich konnte das Vorhandensein eines elektropositiven Eiweißkörpers im Blut dieser Tiere nicht konstatieren. Es ist auffallend, daß es nach länger als ein Jahr dauernder Dialyse nicht gelingt, elektrisch neutrales Hämözyanin zu erhalten³⁾. Ich muß jedoch bemerken, daß die Dialyse nicht überaus stark war. Bei einer neuen Reihe von Untersuchungen, die ich eben am Blute von Maja und an dem von Octopus macropus anstelle, wird das Wasser des Dialysators täglich erneuert.

Wenn wir annehmen, daß das Hämözyanin in den bisher ausgeführten Untersuchungen elektronegatig geblieben ist, weil die Dialyse, obwohl sie lange dauerte, jedoch nicht genug stark war, ferner, daß es mit einer stärkeren Dialyse gelingen wäre, elektrisch neutrales Hämözyanin zu erhalten, so können wir behaupten, daß dieser Stoff seine elektronegative Ladung hartnäckig festhält, welche die Stabilität ihrer Lösung bedingt.

Zur Erklärung der allmählichen Fällungen des Hämözyanins, die ich während der Dialyse beobachtete, müssen wir einstweilen annehmen, daß es so lange in Lösung bleibt, als es seine elektronegative Ladung behält, daß es aber aus der Lösung ausfällt, sobald es seine elektrische Ladung einbüßt und so die Konzentration der Lösung am Hämözyanin proportional abnimmt.

Was endlich das Blutserum von Scyllium und Conger betrifft, so würde aus meinen

²⁾ Siehe Fil. Bottazzi, Rend. R. Accad. d. Lincei, Classe. Sc. fis., matem. e natur., XVII, 5. Juli 1908, S. 16.

³⁾ Siehe darüber meine bald erscheinende Publikation.

Untersuchungen folgen, daß es in überwiegender Menge Eiweißkörper enthält, die während der Dialyse ausfallen, und eine sehr geringe Menge Eiweißkörper, die auch während der Dialyse in Lösung bleiben.

Dies würde jedoch mit dem, was wir von dem Blutserum der höheren Tiere wissen, in solchem Widerspruch stehen, daß ich mich genötigt sehe, die Experimente zu wiederholen; ich möchte mich darüber überzeugen, ob das beinahe vollständige Verschwinden einer jeden Art von Protein aus dem Serum dieser Tiere während einer langsamen Dialyse mit dem Hindurchtreten der nicht gefällten Eiweißkörper

durch die Wand des Dialysators (Pergamentpapier) zusammenhängt.

Wie dem auch sein mag, sollen mit Dialysatoren von anderer Beschaffenheit angestellte neue Versuche diese verhältnismäßig leichte Diffusion von Eiweißkörpern des Serums von Scyllium und Conger durch das künstliche Pergamentpapier bestätigen; ein solches positives Resultat würde auch deshalb interessant sein, da es als bemerkenswerter Unterschied zwischen diesen Serumproteinen und denen des Blutes der Säugetiere sein würde, da letztere gewiß nicht mit der gleichen Geschwindigkeit durch das Pergamentpapier hindurchtreten.

Gegen Dr. Lüppo-Cramer's Auffassung der verzögernden Wirkung der Bromide in den photographischen Entwicklern als kolloidchemischer Vorgang.¹⁾

Von S. E. Sheppard, London

Jede Vermehrung des Wörterbuchs der wissenschaftlichen Sprache trägt die Gefahr in sich, daß man neue Bezeichnungen, neue Etiketten so zu sagen als Erklärungen zu gebrauchen geneigt wird. Die Begriffe der Adsorption und Adsorptionsverbindungen sind zweifellos nützlich und zweckmäßig; denn sie fassen eine ganze Reihe von Erscheinungen zusammen, in welchen ein gemeinsames, durch die gewöhnlichen diskontinuierlichen Valenztheorien nicht faßbares „Etwas“ besteht. Aber daß dabei in die Natur der Sache weiter eingedrungen wird, ist nicht bewiesen. Die verzögernde Wirkung der Bromide bei der photographischen Entwicklung ist schon längst eine Streitfrage. Doch glaube ich, daß die eigentliche Wirkung (der verzögernde Effekt) durch folgende Annahmen vollständig als rein reaktionskinetische Phänomen erklärt wird. Ich erlaube mir, den Leser auf zwei Mitteilungen betreffs dieser Frage von mir in der Zeitschr. f. wissenschaftl. Photographie²⁾ 1906—1908 hinzuweisen. Es wird da quantitativ festgestellt, daß die Entwicklung eine umkehrbare Reaktion ist. Weiter, daß die eigentliche Geschwindigkeit sowohl von der Diffusion des Entwicklers, als auch von der chemischen Reaktion abhängt, und zwar so, daß bei normaler Entwicklung ersterer Prozeß durchaus maßgebend wird, bei verzögerter, am

Anfange die chemische Geschwindigkeit, die aber nach und nach durch Autokatalyse beschleunigt wird, um eventuell die Diffusionsgeschwindigkeit weit zu übersteigen. Die Ursache der Verzögerung mit Bromiden kann man kaum anders erklären, als durch die von Abegg erwähnte isohydrische Verminderung der Silberionkonzentration durch Verschiebung des Gleichgewichts

nach rechts, womit die quantitativen Versuche in den zitierten Abhandlungen vollkommen in Einklang sind. Es wird auch die Ausgleichung überexponierter Platten durch Bromidzusatz betrachtet, und das einigermaßen reziproke Verhältnis (Belichtung, Bromidzusatz) numerisch dargestellt und erläutert. Diese Wirkung, als kolloidchemische zu bezeichnen, scheint mir demnach unlogisch und inkonsequent zu sein. Vielmehr ist es gerade diese Wirkung, die als rein chemische aufgefaßt werden kann, und welche infolge der Verlangsamung der totalen Reaktionsgeschwindigkeit die Entstehung von kolloidchemisch verschiedenen Silbergele ermöglicht; denn die Kolloidchemie ist dadurch gekennzeichnet, daß eine neue Mannigfaltigkeit von Zeit und Raum in Betracht kommt, und zwar ist der Maßstab ein größerer angesichts dem der gewöhnlichen Chemie. Da-

¹⁾ Koll.-Zeitschr. 4, 92 (1909).

²⁾ loc. cit. 3, 443 (1906) u. 6, 413 (1908).