Nachweis und Bestimmung von Eiweissstoffen und Pepton. Ueber ein neues Verfahren zum Nachweis des Peptons und eine neue Art der quantitativen Eiweissbestimmung hat L. Devoto*) berichtet. Die durch Sättigung mit Ammonsulfat fällbaren Eiweissstoffe sind mit Ausnahme der secundären Albumosen und des Peptons von Brücke**) durch Erhitzen coagulirbar. Darauf gründet Devoto ein Verfahren, welches eine quantitative Scheidung der secundären Albumosen und des Peptons von Brücke von allen in Blutserum, Transsudaten, Synovia und Harn sonst vorkommenden eiweissartigen Substanzen ermöglicht und nur bei Gegenwart von Hämoglobin und Heteroalbumose sich als ungenügend erweist. Man versetzt die eiweisshaltige Flüssigkeit in einem Becherglas auf 100 cc mit 80 g krystallisiertem Ammonsulfat, das ist mit so viel Salz, als die Flüssigkeit zur Sättigung in der Kälte braucht, bringt das Salz im Wasserbad in 10—15 Minuten zur Lösung und setzt sodann das Glas 30—40 Minuten dem Dampf siedenden Wassers aus. Dann ist die Coagulation, unabhängig von der Reaction der Flüssigkeit, vollendet. Lässt man den Wasserdampf länger, zum Beispiel 2 Stunden einwirken, so wird das Gerinnsel dichter und lässt sich besser abfiltriren und auswaschen. Das Erhitzen im Wasserdampf (es genügt ein beliebiger lose bedeckter Topf) ist weder durch Eintauchen des Becherglases in ein zum Sieden gebrachtes Wasserbad, noch auch durch nachträgliches, anhaltendes Erhitzen des in der Kälte mit Salz ausgefallten Eiweissniederschlags, selbst bei 120°, zu ersetzen. In diesen Fällen enthält das Waschwasser des Niederschlags stets Eiweiss, während nach Coagulation im Dampftopf weder im Filtrat, noch in den Waschwassern jemals Eiweiss nachweisbar ist. Zur Prüfung auf Eiweiss benutzt Devoto bei Abwesenheit von Pepton ausser der Ferrocyankaliumprobe auch das Schichten über krystallisiertes Ammonsulfat, über welchem sich bei Anwesenheit von fällbarem Eiweiss ein ringförmiger Niederschlag bildet; doch ist diese Probe bei Harn wegen Bildung von Ammonurat nicht anwendbar. Während diese Reagentien nach Coagulation im Dampftopf keine Spur Eiweiss im Filtrat erkennen lassen, kann darin Jodquecksilberkalium eine schwache Trübung erzeugen. Es ist nicht festgestellt, ob dieselbe auf der Fällung entgangene Eiweiss Spuren zu beziehen ist; für den Nachweis des Peptons ist sie jedenfalls belanglos.

*) Zeitschrift f. physiolog. Chemie **15**, 465; auch *Annali di chimica e farm.* **12**, 85 und *Rivista generale ital. di clinica medica* 1890, 289.

) Betreffend den Ausdruck Pepton vergl. diese Zeitschrift **30, 110.

Zur Prüfung auf Pepton unterwirft Devoto von natürlichen Eiweisslösungen 50—100 cc, von Harn*) 200—300 cc der Coagulation in eben besprochener Weise, bringt nach dem Erkalten entweder den Niederschlag sammt etwa auskrystallisiertem Salz auf ein Filter und wäscht mit heissem Wasser aus, oder er giesst die Salzlösung erst möglichst vollständig vom Niederschlag durch ein Filter ab, spritzt das Filter in das Becherglas zurück und löst den ganzen Inhalt des Becherglases in kaltem Wasser. Mit den einzelnen Portionen des Waschwassers oder mit einem Theile der gesammten Lösung hat man alsdann, wenn die Ferrocyankaliumprobe die Anwesenheit sonstiger Eiweissstoffe ausschliesst, die Biuretreaction anzustellen. Dabei ist zu beachten, dass Ammonsulfatlösungen mit Ferrocyanwasserstoffsäure in der Regel nach kürzerer oder längerer Zeit feine Trübungen geben. Bei Verwendung von mit Schwefelammonium von Eisen befreitem und dann umkrystallisiertem Ammonsulfat ist eine solche Trübung nur dann auf Eiweiss zu beziehen, wenn sie sich in den ersten Minuten nach Zusatz des Reagens zeigt. Wurde genau nach obiger Vorschrift verfahren, so bleibt sie sicher aus oder aber es könnte sich um primäre Albumosen, insbesondere Heteroalbumose, handeln, deren Anwesenheit dann erst durch speciell dahin gerichtete Versuche sicher zu stellen wäre.

Der Nachweis des Peptons mit Hülfe der Biuretreaction in dem an Ammonsulfat reichen Filtrat erfordert den Zusatz von viel concentrirter Natronlauge. Bei Untersuchung von serösen Flüssigkeiten kann der Nachweis durch Stehenlassen des Waschwassers über krystallisiertem Ammonsulfat geführt werden, da sich darüber bei Anwesenheit von Pepton (im älteren Sinne) allmählich eine weisse Zone ausbildet. Die Untersuchung darf sich nicht auf das erste Waschwasser beschränken, da manchmal erst die späteren Portionen deutliche Peptonreaction geben. Bei der Untersuchung von Harn sind die ersten Waschwasser farblos, weshalb hier die Biuretfärbung in besonderer Reinheit auftritt, während die späteren durch in Lösung gehenden Farbstoff für den Nachweis minder günstig sind.

Auch bei Hämoglobin enthaltenden Flüssigkeiten gelingt trotz unvollständiger Coagulation des Farbstoffs der Nachweis in den ersten Filtraten, weil beim Auswaschen das Pepton früher in Lösung geht, als

*) Beim Harn ist die Coagulation wegen der Anwesenheit des Nucleoalbumins (Harnmucins), auch bei Abwesenheit sonstiger Eiweisskörper, angezeigt.

der nicht coagulierte Theil des Blutfarbstoffs, so dass eine deutliche Biuret-reaction bei Abwesenheit der Ferrocyankalium-Essigsäure-Probe eintritt.

Der durch Ammonsulfat nicht fällbare Antheil der Peptone (Kühne's Pepton) würde bei dem geschilderten Verfahren dem Nachweis entgehen. Er wäre im Salzfiltrat zu suchen; doch kommt nach Devoto's sowie Schulter's*) Erfahrungen Kühne'sches Pepton im Harn nicht vor.

Die Empfindlichkeit des Verfahrens gestattet den Nachweis von 2 mg Pepton (von Witte) in 30 cc Blutserum. In Betreff der Untersuchung von Verdauungsgemischen ist es von dem seiner Zeit von mir benutzten Verfahren der Ausfällung mit Eisenacetat**) insofern verschieden, als es einen grösseren Theil der Albumosen ungefällt lässt. Bei Anwendung auf den Harn bietet es, abgesehen von etwas grösserer Empfindlichkeit, den Vortheil, dass die Coagulation niemals versagt, während die Eisenacetatmethode in einzelnen Fällen im Stiche lässt.

Für die quantitative Bestimmung des Eiweiss ist das Verfahren genau das oben beschriebene, nur entfällt die Prüfung der Filtrate, wogegen das völlige Auswaschen, Trocknen und die Wägung des Niederschlags hinzukommt. Das Verfahren ist insofern bequemer wie die übliche Methode von Scherer, als es die genau entsprechende Ansäuerung entbehrlich macht. Ueberdies zeigen Vergleichsbestimmungen, dass es die kleinen Verluste verhütet, welche bei dem Scherer'schen Verfahren durch Uebertritt von Eiweiss Spuren in's Filtrat einzutreten pflegen. Dagegen dürfte das Auswaschen des Niederschlags bis zur völligen Entfernung der Sulfate mehr Zeit in Anspruch nehmen. Auch ist zu bemerken, dass es bei Anwendung auf Blut leicht gefärbte Filtrate liefert.

H. Winternitz***) hält den Nachweis von sehr geringen Mengen Eiweiss im Harn nur dann für erbracht, wenn dasselbe durch Ferrocyankalium ausgefällt und der Eiweissgehalt dieses Niederschlags durch die Millon'sche Probe und die Biuretprobe nachgewiesen wurde. Winternitz fällt 150—200 cc Harn mit drei Volumen Alkohol, bringt den Niederschlag nach 24—48 stündigem Stehen auf ein kleines Filter, wäscht ihn mit Wasser aus und behandelt ihn schliesslich mit verdünnter Essigsäure. Die erhaltene essigsäure Lösung wird mit Ferrocyankalium geprüft, der etwa entstandene, auf einem sehr

*) Jahresbericht f. Thierchemie 1886, 228.

**) Diese Zeitschrift 20, 162.

***) Zeitschrift f. physiolog. Chemie 15, 189.

kleinen Filter gesammelte Niederschlag abfiltrirt und seine Eiweissnatur in der Art nachgewiesen, dass ein Theil desselben, mit einem Glasstab in Millon's Reagens gebracht, beim Kochen sofort braunrothe bis dunkelrothe Färbung gibt, ein anderer Theil, mit Alkali gelöst und mit höchst verdünnter Kupferlösung versetzt, die charakteristische Biuretfärbung erkennen lässt. Bei äusserst geringen Mengen gelingt der Nachweis auch, wenn der Ferrocyankaliumniederschlag auf dem Filter mit 1—2 cc kochender Millon'scher Lösung übergossen wird. Er färbt sich dabei bei Anwesenheit von Eiweiss rosen- bis dunkelroth. Normaler Harn auf diese Weise geprüft gibt ein negatives Resultat. Wird er aber mit soviel Eiweiss harn versetzt, dass der Eiweissgehalt auch nur 0,00171 % beträgt, so gelingt bei dem beschriebenen Verfahren sowohl die Millon'sche, als die Biureprobe.

Eine Mittheilung G. Patein's*), welche die Bedingungen bespricht, unter denen die Abscheidung von Eiweiss durch Erhitzen eine möglichst vollständige ist, enthält, was das Analytische betrifft, nur Altbekanntes.

Ueber den Nachweis von Mucoidstoffen hat O. Hammarsten**) bei Gelegenheit einer Untersuchung über deren Vorkommen in Transsudaten Erfahrungen gesammelt. Da dieser Untersuchung zufolge mucinartige Substanzen häufig (vielleicht in kleinen Mengen sogar regelmässig) in Transsudaten vorkommen, so verliert ihr blos qualitativer Nachweis wesentlich von dem ihnen früher zugesprochenen diagnostischen Werth***) und verweise ich in Betreff der Einzelheiten auf die sorgfältigen Ausführungen des Originals. Nur in Kürze sei hervorgehoben, dass zu diesem Nachweis zunächst das Eiweiss durch Sieden und Essigsäurezusatz coagulirt, das eingeengte Filtrat mit Alkohol gefällt, der Niederschlag mit diastatischen Fermenten auf Glycogen geprüft und bei Abwesenheit desselben mit verdünnten Mineralsäuren erhitzt werden muss. Ergibt dann die Trommer'sche Probe Reduction, so liegt ein Mucoid vor.

Der Haematokrit. Nach dem Princip des Laktokrit†) hat M. Blix einen Apparat zur Bestimmung des relativen Volums der rothen

*) Comptes rendus de la société de biologie [9] **3**, 207 (1891).

) Zeitschrift f. physiol. Chemie **15, 202.

***) Man vergl. die älteren Angaben über „Paralbumin“ diese Zeitschrift **16**, 248.

†) Diese Zeitschrift **27**, 89.