Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel, sowie der Gebrauchsgegenstände.

Heft 11.

1. Dezember 1910.

20. Band

Das Wesen der Ley'schen Reaktion.

Von

Dr. Conrad Amberger.

Mitteilung aus der Kgl. Untersuchungsanstalt Erlangen.

[Eingegangen am 18. September 1910.]

Vor 7 Jahren hat H. Ley¹⁾ versucht, mit Hilfe des nach ihm benannten Reagens Kunsthonige oder verfälschte Honige von Naturhonigen bezw. unverfälschten Honigen zu unterscheiden. Die Brauchbarkeit des Reagens für die Beurteilung des Honigs ist viel umstritten worden, und wenn sie auch kein vollkommen zuverlässiges und einwandfreies Unterscheidungsmerkmal zwischen verfälschten und unverfälschten Honigen bildet, so ist ihr bei der so schwierigen Beurteilung des Honigs auf Grund der Analyse jedenfalls ein gewisser orientierender Wert nicht abzuspochen. Der Zweck vorliegender Arbeit ist nun weniger der, zu den zahlreichen Untersuchungen über die Brauchbarkeit des Reagens eine neue hinzuzufügen, sondern zu versuchen, das Wesen der Ley'schen Reaktion auf experimentellem Wege festzustellen.

Das Ley'sche Reagens ist bekanntlich eine ammoniakalische Silberlösung, die durch Ausfällen des Oxydes aus Silbernitrat mittels Natronlauge und durch Lösen des abgeschiedenen und durch Waschen gereinigten freien Silberoxydes in Ammoniak gewonnen wird. 100 g des Reagens enthalten 5,8 g $\text{Ag}_2\text{O} = 5,4 \text{ g Ag}$.

Die Ausführung der Reaktion setze ich als bekannt voraus, bezw. verweise auf die schon erwähnte Arbeit.

Ley selbst war sich über die Natur der nach ihm benannten Reaktion vollkommen im unklaren, behauptete jedoch, daß die von ihm beschriebene Silberreaktion durch flüchtige Stoffe bedingt werde, welche wohl im Aroma der Naturhonige, nicht aber im Kunsthonig anzutreffen seien.

M. Koebner²⁾ hat bereits darauf hingewiesen, daß die grünlich fluoreszierende Lösung, die man mit Naturhonigen erhält, nichts weiter ist als eine kolloidale Lösung von Silber, und er begründet dies damit, daß, wenn man in die verdünnte mit Ley'schem Reagens behandelte Honiglösung mit der Lupe ein Bündel Sonnenstrahlen hineinsendet, man den Verlauf desselben erkennen kann. Die Behauptung Koebner's entspricht sicher den tatsächlichen Verhältnissen; sie wissenschaftlich zu beweisen und die die Bildung des kolloidalen Silbers bewirkenden Schutzkolloide festzustellen, ist Gegenstand nachstehender Erörterungen.

Kolloidale Lösungen sind bekanntlich keine wahren, sondern Pseudolösungen, die dadurch charakterisiert sind, daß das in der Lösung vorhandene Kolloid nicht

¹⁾ Pharmazent. Ztg. 1903, 48, 603.

²⁾ Chem.-Ztg. 1908, 32, 89.

diffundiert und durch starke Elektrolyte ausgeschieden wird. Daß es sich bei kolloidalen Lösungen, den sogenannten flüssigen Solen, um Suspensionen feinsten Teilchen handelt, zeigt das Ultramikroskop, durch welches die Suspensionen in Gestalt von die Brown'sche Bewegung zeigenden leuchtenden Scheibchen sichtbar gemacht werden. Auch das Tyndall'sche Phänomen weist auf die Natur der Sole als feinste Suspensionen hin.

Wir unterscheiden nun bekanntlich zwischen reinen Hydrosolen, die im Lösungsmittel nur ein Kolloid enthalten, und sogenannten Adsorptionsverbindungen. Derartige Adsorptionsverbindungen sind insbesondere bekannt von gewissen Metallen und Metallverbindungen in Kombination mit hochmolekularen organischen Substanzen kolloidaler Natur. Sie sind beständiger wie die einheitlichen Sole und lassen sich vermöge der Schutzwirkung der organischen Komponente in fester Form mit teilweise hoher Konzentration des anorganischen Kolloids gewinnen.

Das durch das Ley'sche Reagens im Honig erhaltene flüssige Silberhydrosol ist nun kein einheitliches Hydrosol, sondern wird gebildet mit und durch die spezifisch schützende Wirkung eines im Honig vorhandenen Schutzkolloides, das, wenn die Behauptung Ley's, der sich übrigens auch Koebner anschloß, richtig wäre, in den flüchtigen aromatischen Stoffen des Honigaromas zu suchen wäre.

Im Jahre 1902 und den folgenden Jahren hat C. Paal¹⁾ in seinen grundlegenden Arbeiten uns eine neue Bildungsweise kolloidaler Metalle und Metallverbindungen mit Hilfe von Eiweißspaltungsprodukten — Protalbin- und Lysalbin-Säure als Schutzkolloide — kennen gelehrt und unter anderem auch gezeigt, wie Adsorptionsverbindungen von Silber²⁾ in hoher Konzentration der anorganischen Komponente in fester, haltbarer Form zu gewinnen sind. C. Paal hat die kolloidale Natur seiner Präparate einwandfrei an dem dialytischen Verhalten seiner Silbersalze bewiesen.

In ähnlicher Weise nun läßt sich auch für die mit dem Ley'schen Reagens behandelte Honiglösung zeigen, daß ihre Farbe durch das flüssige Hydrosol des Silbers veranlaßt ist; und es läßt sich weiter aus einer solchen Honiglösung das feste Hydrosol des Silbers in Form einer sogenannten Adsorptionsverbindung von relativ großer Beständigkeit und hohem Silbergehalt darstellen.

Unterwirft man eine Honiglösung, welche in der Kälte mit Ley'schem Reagens behandelt wurde, der Dialyse gegen Wasser, so ist innerhalb kurzer Zeit Silber im Außenwasser nachweisbar; denn das Silberoxydammoniak besitzt als echte Lösung die Fähigkeit, zu diffundieren. Wird nun aber die mit Ley'schem Reagens versetzte Honiglösung erhitzt, so tritt Reduktion des Silberoxydammoniaks zu elementarem Silber ein. Daß sich hierbei das Silber nicht in unlöslicher Form abscheidet, sondern kolloidal gelöst bleibt, beruht lediglich auf der Schutzwirkung eines im Honig vorhandenen Kolloides. Das Ammoniak bildet nun im Gegensatz zur nicht reduzierten Lösung kein Lösungsmittel mehr für Silber und selbst bei wochenlanger Dialyse bis zur nahezu völligen Entfernung des anwesenden Zuckers ist Silber im Außenwasser nicht nachweisbar — ein Beweis dafür, daß das Silber weder in anorganischer noch organischer Bindung vorhanden ist, sondern als nicht diffundierbares Kolloid.

¹⁾ Ber. Deutsch. Chem. Gesellsch. 1902, **35**, 2206; 1904, **37**, 124, 3862; 1905, **38**, 526, 534, 1388, 1398; 1906, **39**, 1436, 1545, 1550.

²⁾ Ber. Deutsch. Chem. Gesellsch. 1902, **35**, 2224.

Die Isolierung dieses durch die Ley'sche Reaktion gebildeten Silberhydrosols in Gemeinschaft mit der adhärirten Schutzkomponente aus dem Honig und die Überführung in festes, hochprozentiges, lösliches kolloidales Silber geschieht auf nachstehend beschriebene Art:

Man dialysiert 750 ccm $33\frac{1}{3}\%$ -ige, mit 50 g Ley'schem Reagens behandelte Honiglösung bis zur fast völligen Entfernung des Zuckers, d. h. bis das eingeeengte Diffusat nicht mehr süß schmeckt und Fehling'sche Lösung erst beim Kochen reduziert. Der elektrolytfreie Dialysatorinhalt wird auf dem Wasserbade bei einer Temperatur von etwa 50° eingeeengt und im evakuierten Exsiccator über Schwefelsäure getrocknet. Der Trockenrückstand bildet eine zähe, stark hygroskopische, braunrotgefärbte Masse, die sich leicht und vollkommen in kaltem Wasser löst. Die Lösung zeigte die dem kolloidalen Silber eigentümliche Farbe, sie war im auffallenden Lichte undurchsichtig, braun, mit grünlicher Fluoreszenz, im durchfallenden Lichte in dünner Schicht feurigrot.

Die Silberbestimmung des so erhaltenen, noch Zucker einschließenden Präparates lieferte folgendes Ergebnis:

Analyse: $\left\{ \begin{array}{l} \text{Angew. Substanz: } 0,205 \text{ g} \\ \text{Gefunden: } 0,055 = 26,8\% \text{ Silber.} \end{array} \right.$

Das so erhaltene feste Kolloid enthält außer seiner Schutzkomponente noch alle anderen Stoffe des Honigs, welche nicht oder nur schwer diffundierbar sind. Um sie von diesen zu trennen und zu einem reineren, höherprozentigen Präparate zu gelangen, wurde die Substanz in Wasser gelöst und durch Zugabe einiger Tropfen Essigsäure in dieser Lösung die Adsorptionsverbindung in reiner Form gefällt. Das ausgeschiedene, feste Hydrosol wurde auf einem gehärteten Filter gesammelt, mit Wasser nachgewaschen und getrocknet. Im trockenen Zustande bildete das Produkt geruchlose, metallisch weißglänzende, harte, spröde Körner mit hohem Silbergehalt.

Analyse: $\left\{ \begin{array}{l} \text{Angew. Substanz: } 0,1 \text{ g} \\ \text{Gefunden: } 0,086 \text{ g} = 86,0\% \text{ Silber.} \end{array} \right.$

Auch dieses 86% Silber enthaltende Präparat löste sich unter Zusatz von einigen Tropfen Natronlauge noch vollständig, wenn auch langsam in Wasser. Der Umstand, daß das Präparat nur unter Zusatz von Natronlauge in Lösung ging, weist auf die saure, salzbildende Eigenschaft des Schutzkolloides hin.

In interessanter Weise lassen sich auf analogem Wege und unter Einhaltung von Versuchsbedingungen, wie sie von C. Paal zur Darstellung seiner Kolloide angewendet wurden, durch Honig bzw. durch die im Honig vorhandenen Schutzkolloide die Hydrosole auch anderer Metalle erhalten. Gibt man z. B. zu 5 ccm einer $33\frac{1}{3}\%$ -igen Honiglösung einige Tropfen einer 10%-igen Goldchloridlösung und einen geringen Überschuß der zur Bindung des Chlors nötigen Menge Natronlauge, so erhält man bei vorsichtigem Erwärmen das Hydrosol des Goldes mit seiner charakteristischen Rubinfarbe.

In gleicher Weise gewinnt man das Hydrosol des elementaren Palladiums, wenn man zu 10 ccm einer $33\frac{1}{3}\%$ -igen Honiglösung 5 Tropfen Palladiumchlorürlösung und einen geringen Überschuß der zur Bindung des Chlors nötigen Menge Natriumhydroxyd hinzugibt. Auf Zusatz eines Tropfens 50%-igen Hydrazinhydrates geht die gelbe Farbe momentan ohne Sedimentbildung in Braunschwarz über und es entsteht eine Lösung von kolloidalem Palladium, die im reflektierten Lichte schwarz und undurchsichtig, im durchfallenden Lichte durchsichtig braunschwarz erscheint.

Durch welche Stoffe im Honig wird nun die Bildung des Silberhydrosols veranlaßt, und welche Körper sind dem flüssigen und festen Hydrosol als Schutzkolloid adhärirt? Sind es, wie Ley und Koebner behaupten, die im Honigaroma sich findenden leicht flüchtigen Stoffe oder sind sie nicht flüchtiger Natur und in den Eiweißkörpern oder Dextrinen des Honigs zu finden?

Die Beantwortung dieser Fragen schien mir nur möglich, wenn es gelang, die Adsorptionsverbindung des Silberhydrosols aus dem Honig von den übrigen Stoffen zu trennen und in der isolierten Adsorptionsverbindung das anorganische Kolloid vom organischen Schutzkolloid zu scheiden und zu identifizieren.

Im vorstehenden wurde gezeigt, daß es durch Dialyse und durch Ausfällen der eingengteten von Zucker größtenteils befreiten kolloidalen Lösung mit Essigsäure möglich ist, die Adsorptionsverbindung des Silberhydrosols von den übrigen an seiner Bildung nicht beteiligten Stoffen zu befreien. Dagegen ist ein Verfahren, kolloide Metalle wie Gold, Silber, Platin von den organischen Schutzkolloiden zu trennen, wenn sie in Gestalt sogenannter Adsorptionsverbindungen vorliegen, bisher nicht bekannt gewesen. Bei kolloidalem Silber könnte man an die Anwendung von verdünnter Salpetersäure denken, welche das feinverteilte Silber in Silbernitrat überführt, das durch Diffusion entfernbar wäre. Der Umstand aber, daß Salpetersäure möglicherweise nitrierend oder oxydierend oder als starker Elektrolyt gelbildend auf die organische Substanz wirken könnte, ließ diese Methode als wenig geeignet erscheinen.

Dagegen führt die Anwendung von Cyankalium zum Ziele — ein Verfahren, dessen Anwendung mir von Herrn Professor C. Paal empfohlen wurde. Bekanntlich werden Edelmetalle, wenn sie in feinsten Verteilung vorliegen, durch Cyankalium unter Mitwirkung des Luftsauerstoffs in die Salze der betreffenden Metallecyanwasserstoffsäuren übergeführt, die leicht durch Dialyse zu entfernen sind. (Auf diesem Verhalten beruht bekanntlich das Verfahren, Gold aus goldarmen Erzen zu extrahieren.)

Die Honige, die ich für meine Versuche benutzte, verdanke ich dem lebenswürdigen Entgegenkommen des Kgl. Landesinspektors für Bienenzucht, Herrn Hofmann, in Erlangen. Sie zeigen in ihrer Zusammensetzung nachstehendes analytisches Bild:

Eigenschaften, Bestandteile u. s. w.	Honig I.	Honig II.
Äußere Beschaffenheit { Farbe	gelb	gelb
Konsistenz	kandiirt	zähflüssig
Geruch und Geschmack	stark aromatisch	stark aromatisch
Spez. Gewicht der 33 1/3 %-igen Lösung	1,1157	1,1186
Polarisation des Honigs { vor der Inversion	—2,05°	—3,3°
(100 ccm im 200 mm-Rohr) { nach der Inversion	—2,5°	—3,4°
Gesamt-Trockensubstanz	81,2 %	82,8 %
Wasser	18,8 „	17,2 „
Saccharose	1,7 „	0,42 „
Qualitative Reaktionen:		
Reaktion nach Beckmann auf Stärkesirup	normal	normal
Reaktion auf Albumine nach Lund	normal	normal
Reaktion nach Fiehe	negativ	negativ
Ley'sche Silberprobe { im Honig	Bildung des Silberhydrosols Abscheidung von elementarem Silber	
im Destillat		
im Destillationsrückstand		

I. Darstellung und Isolierung der durch die Ley'sche Reaktion gebildeten Adsorptionsverbindung des kolloidalen Silbers.

500 g Honig wurden in 1000 ccm Wasser gelöst und 100 g Ley'sches Reagens zur 33 $\frac{1}{3}$ ⁰/₀-igen Honiglösung gegeben. Die Reduktion durch den anwesenden reduzierenden Zucker erfolgt langsam in der Kälte, innerhalb weniger Minuten durch Erhitzen der Lösung im siedenden Wasserbade. Zur Entfernung des Zuckers wurde die rotbraun gefärbte Lösung vier Wochen der Dialyse gegen Wasser bei täglich zweimaligem Wechsel des Außenwassers unterworfen. Nach Entfernung des Zuckers, soweit dies möglich war, wurde der Dialysatorinhalt, wie vorstehend beschrieben, eingeengt und zur Trockne gebracht. Es wurden 6,2 g einer festen, stark hygroskopischen, braunroten Masse erhalten, die sich leicht und vollständig mit der dem kolloidalen Silber eigenen Farbe in Wasser löste.

Zur Isolierung der Adsorptionsverbindung wurde der gesamte Trockenrückstand in 250 ccm Wasser unter Zusatz weniger Tropfen Natronlauge gelöst und durch einige Tropfen Essigsäure das Silber mit der Schutzkomponente als festes Hydrosol gefällt und durch Filtration von der überstehenden schwach gelb gefärbten Flüssigkeit getrennt. Die Menge des getrockneten noch löslichen kolloidalen Silbers betrug nunmehr nur noch 3,4 g. Der Silbergehalt betrug:

Analyse: { Angew. Substanz: 0,384 g
Gefunden: 0,344 g = 89,5 % Silber.

Die Schutzkomponente betrug also 10,5 %. Die Schutzwirkung des organischen Kolloids war demnach eine sehr hohe.

Untersuchung des Filtrates. Das essigsäure Filtrat wurde auf dem Wasserbade zur Trockne gebracht. Die braunrot gefärbte, feste Masse wurde mit absolutem Alkohol digeriert, nochmal in 5 ccm Wasser gelöst und durch 55 ccm Alkohol gefällt. Der braunrote, feste, hygroskopische Fällungsrückstand löste sich leicht in Wasser, zeigte neutrale Reaktion, reduzierte Fehling'sche Lösung nur langsam in der Siedehitze und drehte den polarisierten Lichtstrahl stark nach rechts. Um die Gegenwart vorhandener, hydrolysierbarer Dextrine zu konstatieren, wurden 0,7 g Fällungsrückstand in 70 ccm Wasser gelöst, mit 7 ccm 24,8⁰/₀-iger Salzsäure 3 $\frac{1}{2}$ Stunden lang auf dem kochendem Wasserbade invertiert. Die erkaltete Inversionsflüssigkeit wurde mit Kalilauge neutralisiert und auf 100 ccm aufgefüllt. 30 ccm mit Fehling'scher Lösung nach Allihn behandelt, lieferten 0,2987 g Kupferoxydul = 0,2388 g Kupfer. Daraus berechnen sich für 0,7 g der angewendeten Substanz = 0,333 g Dextrine.

Die Hälfte des Fällungsrückstandes bestand also aus hydrolysierbare Dextrose liefernden Dextrinen.

Ferner gab der Fällungsrückstand, mit Natrium geschmolzen und die Schmelze in Wasser gelöst, auf Zusatz von Eisenoxydul- und Eisenoxyd-Salzlösung eine starke positive Berlinerblau-Reaktion; auch konnte festgestellt werden, daß die in Wasser gelöste Schmelze auf Zusatz von Nitoprussidnatrium intensiv rot gefärbt wurde. Der positive Ausfall der Prüfung auf Stickstoff und Schwefel deutet auf das Vorhandensein von Proteinstoffen hin. Die Trennung der Dextrine von den Proteinstoffen gelingt durch Dialyse, wobei erstere viel schneller tierische Membranen — wohl infolge ihres relativ kleinen Moleküls — passieren als die Eiweißkörper.

II. Trennung des isolierten kolloidalen Silbers in Schutzkolloid und elementares Silber.

Die in oben beschriebener Weise erhaltenen 3,4 g der durch Fällung erhaltenen festen Adsorptionsverbindung des kolloidalen Silbers wurden in wenig alkalihaltigem Wasser ge-

löst und die so erhaltene Flüssigkeit in eine konzentrierte Cyankaliumlösung gegeben und der Dialyse gegen reines Wasser unterworfen. Beim Eintragen des flüssigen Hydrosols in die Cyankaliumlösung verschwand alsbald das dem kolloidalen Silber eigene Rot und ging in ein Schmutziggdunkelgrün über (Elektrolytwirkung der alkalischen Cyankaliumlösung). Daß in der Tat die Bildung des Kaliumsalzes der Silbercyanwasserstoffsäure sofort begann, ergab sich daraus, daß im Diffusat schon nach kurzer Zeit Silber nachweisbar war. Der Nachweis geschah durch Ansäuern einer Probe des Diffusates mit Salpetersäure, wodurch weißes flockiges Cyansilber gefällt wurde. Im Laufe von 4 Tagen verschwand im Dialysatorinhalt die dunkle Farbe des kolloidalen Silbers vollständig, ein Beweis, daß alles Silber in die Silbercyanwasserstoffverbindung umgewandelt war. Auf diese Weise gelang es im Verlauf von 5—6 Tagen bei täglich zweimaligem Wechsel des Außenwassers den Dialysatorinhalt, eine gelblich gefärbte Flüssigkeit, vom Silber und zugesetztem Cyankalium zu befreien. Während der Dialyse konnten Dextrine im Außenwasser nicht nachgewiesen werden. Der auf dem Wasserbade zur Trockne gebrachte Dialysatorinhalt betrug 0,18 g.

III. Identifizierung des Schutzkolloides.

Der Trockenrückstand war von gelbbrauner Farbe, hart, spröde und leicht pulverisierbar. Er löste sich nur teilweise in Wasser, auf Zusatz von wenig Natronlauge erfolgte jedoch unter gallertartigem Aufquellen Lösung des durch reines Wasser nicht lösbaren Anteils. Wurde die alkalische Lösung mit Essigsäure genau neutralisiert, so erfolgte Fällung eines gelbweißen voluminösen Niederschlages, ein Überschuß von Essigsäure bewirkte wieder Lösung. Fehling'sche Lösung wurde nicht reduziert, sodaß also die Anwesenheit von dextrin- oder zuckerartigen Körpern ausgeschlossen war.

Mit Natriumhydroxyd geschmolzen, gab die in Wasser gelöste Schmelze auf Zusatz von Eisenoxydul- und Eisenoxydsalzlösung nach dem Kochen, Wiederabkühlen und Ansäuern mit Salzsäure eine deutliche Berlinerblau-Reaktion; Nitroprussidnatriumlösungen färbte die Schmelze intensiv rot. Es handelte sich also um Stickstoff-Schwefelverbindungen, die weiterhin nachstehende für Eiweiß charakteristischen Reaktionen gaben:

Eine geringe Menge der Substanz wurde durch Erwärmen mit konzentrierter Salpetersäure intensiv gelb gefärbt unter Bildung von eigentümlichen Nitroverbindungen; auf Zusatz von Kaliumhydroxyd erfolgte Lösung mit intensiv braunroter Farbe: *Xanthoproteinreaktion*.

Eine ganz verdünnte Lösung der Substanz mit Millon'schem Reagens erwärmt, färbte sich intensiv rot, die ausgeschiedenen Teilchen waren ebenso gefärbt.

Kupfervitriollösung gab bei Gegenwart von Ätzkali mit der gelösten Substanz eine violette Färbung: *Biuretreaktion*.

Der in Wasser gelöste Anteil wurde durch Gerbsäure, Pikrinsäure, Metaphosphorsäure, durch Ferrocyanwasserstoffsäure wieder aus seiner Lösung in gelbweißen, voluminösen Flocken gefällt.

Der Stickstoffgehalt der Substanz¹⁾, nach Kjeldahl bestimmt, war folgender:

Analyse: { Angew. Substanz: 0,101 g.
Zur Bindung des Ammoniaks wurden verbraucht 9,0 ccm $\frac{1}{10}$ N.-Schwefelsäure.

¹⁾ Durch Wiederholung der Versuche mit 2 kg Honig wurden noch weitere 0,58 g Substanz gewonnen.

Demnach gefunden: 12,46% Stickstoff = 77,87% Stickstoff-Substanz.

Der Aschengehalt der Substanz, die mit dem charakteristischen hornartigen Geruch verbrannte, betrug:

Analyse: { Angew. Substanz: 0,1016 g.
 { Gefunden: 0,0038 g = 3,7 % Asche (grünlichweiß).

In der Asche konnten Kalium, Kieselsäure und Eisen nachgewiesen werden.

Der Schwefelgehalt der Substanz war ein außerordentlich geringer. Die Bestimmung geschah nach Carius:

Analyse: { Angew. Substanz: 0,24 g.
 { Gefunden: $\text{BaSO}_4 = 0,00837$ g, entsprechend $0,0011$ g = 0,48% Schwefel.

Hinsichtlich der physikalischen Eigenschaften sei bemerkt, daß die schwach alkalische Lösung des Körpers den polarisierten Lichtstrahl stark nach links drehte. Das isolierte Schutzkolloid ist somit auf Grund seiner Zusammensetzung und Reaktionen als Eiweißsubstanz anzusprechen und zwar liegt voraussichtlich kein einheitlicher Körper, sondern ein Gemisch derselben vor. Möglicherweise hat auch durch die Anwendung von Alkalien (Ammoniak und Cyankalium) partielle Hydrolyse der im Honig vorhandenen Proteinstoffe stattgefunden.

Durch vorstehende Untersuchungen ist der Beweis geführt, daß der durch die Ley'sche Reaktion erzeugte Farbumschlag durch das flüssige Hydrosol des Silbers in Adhäsion mit einem Schutzkolloid bewirkt wird und daß in den Eiweißkörpern des Honigs die schützende organische Komponente zu suchen ist. Daß die Dextrine des Honigs nicht an der Bildung des kolloiden Silbers beteiligt sind, ist ersichtlich aus dem Umstand, daß die durch Essigsäure gefällte Adsorptionsverbindung keine Dextrine enthielt und doch vollständig ihren kolloidalen Charakter bewahrte. Bei Anwesenheit von Dextrinen in der durch Essigsäure gefällten Adsorptionsverbindung müßten dieselben wegen ihrer relativ leichten Diffundierbarkeit während der Dialyse mit Cyankalium im Außenwasser nachweisbar geworden sein.

Auch Zucker enthielt das hochprozentige kolloidale Silber nicht; doch spielt derselbe infolge seiner reduzierenden Eigenschaft eine Rolle bei der Reduktion des Silberoxydes aus der ammoniakalischen Silberlösung zu elementarem Silber.

Im folgenden Teil der Arbeit werde ich zeigen, daß die ursprünglich im Honig vorhandenen, die Bildung des Silberhydrosols veranlassenden Eiweißkörper echte, wasserlösliche Proteine darstellen, die sich im koagulierten Zustande langsam und unter gallertigem Aufquellen unter Bildung von sogenannten Alkalialbuminaten in kaltem alkalischem Wasser ohne tiefergreifende Zersetzung lösen. Der Umstand nun, daß die nach Entfernung des Silbers und nach dem Eindampfen auf dem Wasserbade, also bei 80° Temperatur, gewonnene Eiweißsubstanz sich auf Zusatz von wenig Alkali in der Kälte noch vollkommen löst, bei genauer Neutralisation mit Essigsäure wieder gefällt wird und durch einen Überschuß von Essigsäure — möglicherweise unter Bildung von Acidalbuminen — wieder in Lösung geht, läßt erkennen, daß durch die Behandlung mit Ammoniak (ammoniakalische Silberlösung) tiefergreifende Zersetzungen im Eiweißmolekül nicht vor sich gegangen sind und daß nur mit den sauren, salzbildenden Gruppen im Albuminmolekül durch das Ammoniak in Wasser lösliche, nicht mehr koagulierbare Ammoniumderivate gebildet werden ähnlich den Alkalialbuminaten, welche durch Lösen von Albumin in verdünnter Kalilauge entstehen.

Im vorstehenden habe ich unter I experimentell gezeigt, daß die Schutzwirkung der Honigalbumine eine derart große ist, daß 10,5 g Albumin 89,5 g Silber in kolloidaler Lösung zu halten vermögen. Durch Versuche habe ich ermittelt, daß etwa 25 Tropfen mittlerer Größe des Ley'schen Reagens 1 g wiegen.

Bei Ausführung der Ley'schen Reaktion werden nun zu 5 ccm einer 33 $\frac{1}{3}$ 0/0-igen Honiglösung = 1,8 g Honig (spez. Gewicht der 33 $\frac{1}{3}$ 0/0-igen Honiglösung 1,11) nach Ley 5 Tropfen ammoniakalische Silberlösung zugegeben. Diese wiegen 0,2 g und entsprechen 0,0108 g Silber, da das Ley'sche Reagens, wie ich eingangs der Abhandlung erwähnt habe, 5,4 0/0 Silber enthält.

Wenn nun 89,5 g Silber 10,5 g Honigalbumin zur Bildung des Silberhydrosols nötig haben, so müssen in 1,8 g Honig = 5 ccm 33 $\frac{1}{3}$ 0/0-iger Honiglösung mindestens 0,0012 g schützende Eiweißsubstanzen vorhanden sein. Die Menge der koagulierbaren Albumine beträgt, wie aus den unten angeführten Versuchen hervorgeht, durchschnittlich 0,2—0,25 0/0. In 1,8 g Honig sind also bei 0,2 0/0 Albumingehalt 0,0036 g, also das Dreifache der für die Schutzwirkung auf das Silber nötigen Menge an Eiweißkörpern enthalten. Darin liegt nun zum Teil das Unsichere und Unzuverlässige der Ley'schen Reaktion; denn bei solchen und noch eiweißreicheren Honigen wird es möglich sein, diese in betrügerischer Absicht mit der zwei- oder dreifachen Menge eines indifferenten Körpers — Invertzucker — zu verdünnen, wobei die Menge des in dem verfälschten Honig vorhandenen koagulierbaren Honigalbumins immer noch genügend sein wird, die in den 5 Tropfen des Ley'schen Reagens vorhandene Menge Silber (= 0,0108 g) in kolloidaler Lösung zu halten. In der Tat hat auch F. Reinhardt¹⁾ in seiner Arbeit: „Beiträge zur Untersuchung des Honigs“ diese theoretischen Erwägungen dadurch experimentell bestätigt, daß er Naturhonige mit Invertzucker bis zu 50 0/0 vermischte und trotzdem noch eine positive Ley'sche Reaktion, also die Bildung des Silberhydrosols, erhielt.

Diesem auf experimentellem Wege abgeleiteten Befunde, daß die echten Proteine des Honigs das Zustandekommen der Ley'schen Reaktion veranlassen, steht nun die Behauptung Ley's, der sich auch Koebner anschloß, entgegen, daß der positive Ausfall der Reaktion durch flüchtige Stoffe im Honigaroma bedingt werde. Schon die Tatsache, daß nur hochmolekulare Substanzen, die gewöhnlich selbst Kolloide sind, Schutzwirkung auf vorhandene anorganische Sole auszuüben vermögen, weist darauf hin, daß flüchtige Körper nicht in Betracht kommen können. Ich stellte ferner fest, daß im Destillat dieser Honige unter Versuchsbedingungen, wie sie Ley angegeben hat, eine positive Reaktion keineswegs erhalten werden kann, wenn in normaler Weise destilliert wird, insbesondere dafür Sorge getragen wird, daß von den ausgeschiedenen Teilen der stark schäumenden Destillationsflüssigkeit nichts ins Destillat gelangen kann. Gibt man zum Destillat die ammoniakalische Silberlösung in der von Ley angegebenen Menge, so erfolgt nur schwer Reduktion und nur allmählich färbt sich die Flüssigkeit gelb. Ebenso verhält sich aber auch eine entsprechend verdünnte ammoniakalische Silberlösung, wenn sie für sich erhitzt wird. Nach kurzer Zeit entsteht zwar ein Hydrosol, das aber schon nach einer Minute elementares Silber ausflockt. Ley behauptet dann weiter, daß er im Destillationsrückstand durch Zusatz des nach ihm benannten Reagens nur noch eine rotbraune Färbung und keine wirklich positive Reaktion mehr erhalten konnte.

Verdünnt man den Destillationsrückstand soweit, daß wieder eine 33 $\frac{1}{3}$ 0/0-ige

¹⁾ Diese Zeitschrift 1910, 20, 114.

Honiglösung entsteht, und gibt zu 5 ccm der Flüssigkeit 5 Tropfen Ley'schen Reagens, so erfolgt zum größten Teil Gelbbildung, und nur zum geringeren Teil Hydrosolbildung. Filtriert man den entsprechend verdünnten Destillationsrückstand vorher und gibt nach der Filtration Ley'sches Reagens hinzu, so macht man die mir anfangs unerklärliche Wahrnehmung, daß sämtliches Silber beim Erhitzen auf dem Wasserbade elementar in unlöslicher Form abgeschieden wird, sodaß also weder im Destillat noch im Destillationsrückstand eine positive Ley'sche Reaktion zu erhalten war. Diese Tatsache findet darin ihre Erklärung, daß durch das Erhitzen die im Honig vorhandenen schützenden Proteine koagulieren, als braunrotes Gerinnsel abgeschieden werden und so sich größtenteils der Einwirkung des Ley'schen Reagens entziehen. Wird der Destillationsrückstand noch vor Zugabe des Reagens filtriert, so wird die abgeschiedene schützende Substanz aus der Lösung vollends entfernt, die Ley'sche Reaktion wird negativ und das Silber elementar abgeschieden.

Dagegen gibt schon ein geringer Teil des Filtrierrückstandes, wenn er durch wenig Alkali und Wasser in lösliche Form gebracht wird, eine positive Ley'sche Reaktion. Im nachstehenden soll gezeigt werden, daß es mit Hilfe von geringen Mengen Honigalbumin möglich ist, die Hydrosole des Silbers, Goldes und Palladiums mit sehr hohem Gehalt der anorganischen Komponente zu erhalten.

1. Gewinnung der Honigalbumine aus dem Honig.

250 g Honig wurden in 200 ccm Wasser gelöst und durch Dialyse der größte Teil des Zuckers entfernt. Der Dialysatorinhalt, nunmehr etwa 780 ccm, wurde in einer Porzellanschale auf dem Drahtnetz bis auf 120 ccm eingeeengt. Die während des Kochens sich abscheidenden, farbstoffenthaltenden Honigalbumine wurden mittels einer Federfahne von der Oberfläche der siedenden Flüssigkeit in ein Becherglas gebracht, das 100 ccm heißes Wasser enthielt, um sie von den anhaftenden fremden Bestandteilen möglichst zu reinigen. Die auf 120 ccm eingeengte Flüssigkeit wurde in verschiedenen Portionen in das Gläschen D des von Paal und Amberger¹⁾ beschriebenen Dampfdestillationsapparates gebracht, um durch die intensive Wirkung des strömenden Dampfes noch vorhandene Albumine zur Koagulation zu bringen. Die auf diese Weise abgeschiedenen Eiweißkörper wurden mit den in dem Becherglase befindlichen, durch einfaches Kochen gefällten vereinigt, wiederholt mit heißem Wasser digeriert, auf einem gewogenen Filter gesammelt und bei einer Temperatur von 80° getrocknet. Die Ausbeute betrug 0,62 g = 0,24%.

Die auf diese Weise gewonnenen Albumine bilden eine braune, hornartige Masse, deren Schmelze mit metallischem Natrium die bekannte Berlinerblau-Reaktion auf Stickstoff und die bekannte Schwefelreaktion mittels Nitroprussidnatrium zeigte.

Der Stickstoffgehalt betrug 13,16% (nach Kjeldahl bestimmt).

Analyse: { Angew. Substanz: 0,256 g.
Zur Bindung des Ammoniaks wurden verbraucht 24,0 ccm $\frac{1}{10}$ N.-Schwefelsäure.
Also Stickstoffgehalt: 13,16%.

Die Schwefelbestimmung nach Carius ergab:

Analyse: { Angew. Substanz: 0,19 g.
Gefunden: Bariumsulfat 0,0078 g, entsprechend 0,0010 g = 0,57% Schwefel.

¹⁾ Diese Zeitschrift 1909, 17, 26.

Der Aschengehalt betrug:

Analyse: { Angew. Substanz: 0,12 g.
Gefunden: 0,002 g = 1,5 % Asche.

In der Asche ließen sich mittels Ferrocyankaliums Spuren von Eisen nachweisen.

C. Paal¹⁾ gibt den Stickstoffgehalt seiner Eiweißspaltungsprodukte, der Protalbinsäure, zwischen 13,46—14,58 %, der Lysalbinsäure zwischen 15,11—15,66 %, auf aschefreie Substanz berechnet, an. Der Stickstoffgehalt der in vorstehender Weise gewonnenen Honigalbumine beträgt, auf aschefreie Substanz berechnet, 13,36 %. Aus diesem Stickstoffgehalt würden sich unter Zugrundelegung des Faktors 6,25 für 100 Teile Koagulationsniederschlag 83,5 g Albumin berechnen, sodaß der Niederschlag nicht aus reinem Honigalbumin, sondern aus etwa 83,5 % reinem Albumin und 16,5 % Nicht-Stickstoffsubstanz bestand; in Übereinstimmung damit steht auch der relativ hohe Aschengehalt. C. Paal gibt für seine Protalbin- bzw. Lysalbinsäure nur 0,04 bzw. 0,77 % Asche an.

In 3 anderen reinen Honigen habe ich die Menge der durch Erhitzen im Dampfstrom des oben erwähnten Apparates koagulierbaren Albumine ohne vorherige Dialyse bestimmt. Die Menge des ausgeschiedenen, ausgewaschenen und bei 80° getrockneten Niederschlages war folgende:

Honig I	Honig II	Honig III
0,220 %	0,189 %	0,262 %.

Aus Fütterungshonigen, die von Bienen eingetragen wurden, welche mit Fructose gefüttert waren, konnten nach dem vorstehend beschriebenen Verfahren Albumine nicht oder nur in sehr geringen Mengen zur Abscheidung gebracht werden, sodaß also der Proteingehalt derartiger Honige jedenfalls ein sehr geringer war.

Die durch Koagulation abgeschiedenen und bei 80° getrockneten Albumosen waren, wie alle Albumine, in kaltem und in heißem Wasser nicht mehr löslich. Dagegen erfolgte Lösung, wenn man zu den in Wasser suspendierten Albuminen einige Tropfen Kalilauge hinzugab. Dabei quoll die Substanz zunächst zu einer äußerst voluminösen Gallerte auf, welche erst nach eintägigem Stehen vollkommen in Lösung ging. In ihrem sonstigen chemischen Verhalten gaben sie die an anderer Stelle bereits beschriebenen Reaktionen. Aus der alkalischen Flüssigkeit waren sie nach genauer Neutralisation mit Essigsäure wieder fällbar, Tanninlösung erzeugte gelbweiße, Pikrinsäure rein gelbe Fällungen, Kupfersulfatlösung mit darauffolgendem Zusatz von Natronlauge färbte die Flüssigkeit violett unter Bildung von kolloidalem durch Eiweiß geschütztem Kupferhydroxyd.

2. Darstellung von kolloidalem Silber, Gold und Palladium in Gegenwart der Honigalbumine als Schutzkolloide.

In nachfolgend zu beschreibender Weise lassen sich bei Einhaltung der von C. Paal²⁾ angegebenen Bedingungen die festen Hydrosole des Silbers, des Goldes und Palladiums mit hohem Gehalt an diesen Metallen unter Anwendung der im Honig vorhandenen Albumine und des Invertzuckers gewinnen. Im Nachfolgenden sei die Dar-

¹⁾ Ber. Deutsch. Chem. Gesellsch. 1902, **35**, 2199.

²⁾ Ber. Deutsch. Chem. Gesellsch. 1902, **35**, 2224, 2236; 1904, **37**, 133.

stellungsweise angegeben. Diese Entstehung der Metallhydrosole liefert den weiteren Beweis dafür, daß an der Ley'schen Reaktion, wie schon ausgeführt, die Proteinstoffe und die reduzierenden Zucker beteiligt sind.

a) Darstellung von kolloidalem Silber¹⁾.

0,03 g Honigalbumin wurden in 10 ccm Wasser unter Zusatz von Natronlauge gelöst und zur erwärmten Flüssigkeit 5 ccm ammoniakalische Silberlösung, welche 0,09 g Silber enthält, zugegeben. Die nunmehr gelb gefärbte Flüssigkeit wurde auf dem siedenden Wasserbade erwärmt. Die Reduktion erfolgte äußerst langsam und, um die reduzierende Wirkung der alkalischen Eiweißlösung zu unterstützen, wurden einige Tropfen einer 10%-igen Invertzuckerlösung zugegeben. Die Reduktion erfolgte nunmehr fast momentan, die Flüssigkeit färbte sich rotbraun; im auffallenden Lichte zeigte sie den charakteristischen grünlichen Schimmer.

Um ein möglichst hochprozentiges Präparat zu erhalten, wurde die wässrige rotbraune Lösung durch vorsichtigen Zusatz von Essigsäure gefällt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, mit ganz schwach saurem Wasser nachgewaschen und nach dem Auswaschen in 5 ccm Wasser suspendiert und so viel N.-Natronlauge zugegeben, daß Lösung eintrat. Nach kurzer Dialyse, als im Außenwasser kein Alkali mehr nachweisbar war, wurde der Dialysatorinhalt bei 50° in einer flachen Glasschale vollständig zur Trockne gebracht.

Im trocknen Zustande bildete das Präparat graulich weiße, metallisch glänzende Körner, die sich in Wasser bei gelindem Erwärmen leicht und vollständig lösten.

Aussehen und Farbe der gelösten Substanz glichen vollkommen einer Honiglösung mit positiver Ley'scher Reaktion. Im durchscheinenden Lichte war die Flüssigkeit rotbraun, durchsichtig; im reflektierten Lichte undurchsichtig, schwarzbraun mit grünlicher Fluoreszenz.

Analyse: { Angew. Substanz: 0,05 g.
Gefunden: 0,045 g = 90,00% Silber.

b) Darstellung von kolloidalem Gold²⁾.

0,03 g Honigalbumin wurden unter Zusatz von wenig Natronlauge in 20 ccm Wasser gelöst und 1,5 ccm einer 4%-igen Goldchloridlösung hinzugegeben. Es entstand ein käsiger gelber Niederschlag, der sich auf Zusatz von wenig 10%-iger Natronlauge wieder löste. Durch Erwärmen auf dem Wasserbade wurde die Flüssigkeit gelbrot gefärbt, auf Zusatz weniger Tropfen einer 20%-igen Invertzuckerlösung färbte sich die Flüssigkeit prachtvoll rot mit einem Stich ins Blaue. Aus der dialysierten, auf dem Wasserbade auf 5 ccm eingeeengten Flüssigkeit wurde durch wenig Essigsäure ein dunkler rostbrauner Niederschlag gefällt, der sich nach dem Auswaschen noch vollkommen in wenig verdünntem Alkali löste. Die violettrote Lösung wurde im evakuierten Exsiccator zur Trockne gebracht.

Der Trockenrückstand bildete spröde Körner, welche im Aussehen dem Schwefelkies glichen. Sie lösten sich unter Zusatz von ganz wenig Alkali bei gelindem Erwärmen leicht zu einer im durchfallenden Lichte schön violettrot gefärbten Flüssigkeit.

¹⁾ Vergl. C. Paal: Ber. Deutsch. Chem. Gesellsch. 1902, **35**, 2224.

²⁾ Vergl. C. Paal, Ber. Deutsch. Chem. Gesellsch. 1902, **35**, 2236.

Analyse: { Angew. Substanz: 0,088 g.
Gefunden: 0,029 g = 78% Gold.

c) Darstellung von kolloidalem Palladium¹⁾.

0,03 g Honigalbumin wurden in 10 ccm Wasser gelöst, etwas mehr als die dem zuzusetzenden Palladiumchlorür äquivalente Menge Natronlauge, und dann eine Lösung von 0,05 g Palladiumchlorür = 0,03 g Palladium in schwach salzsäurehaltigem Wasser eingetragen. Die in einem Kölbchen befindliche, dunkelrotbraune Lösung wurde auf dem Wasserbade schwach erwärmt und durch einen Tropfen 50%-igen Hydrazinhydrates reduziert. Schon nach kurzer Zeit erschien die Lösung im reflektierten Lichte schwarz, die Reduktion war innerhalb weniger Minuten beendet. Nach beendigter Reduktion wurde die kolloidale Flüssigkeit zur Reinigung von entstandenen Nebenprodukten dialysiert, die dialysierte Lösung vorsichtig auf dem Wasserbade eingengt und schließlich im Vakuum über Schwefelsäure bei Zimmertemperatur zur Trockne gebracht.

Das Präparat bildete schwarze, glänzende Lamellen, die sich leicht in Wasser zu einer im reflektierten Lichte schwarzen, im durchfallenden Lichte klaren, braunschwarzen Flüssigkeit lösten.

Analyse: { Angew. Substanz: 0,025 g.
Gefunden: 0,0117 g = 48,1% Palladium.

¹⁾ Vergl. C. Paal und Conrad Amberger, Ber. Deutsch. Chem. Gesellsch. 1904, 37, 133.

Über den Nachweis und die quantitative Bestimmung von Salpetersäure in der Milch mit Diphenylamin-Schwefelsäure.

Von

Dr. J. Tillmans, Abteilungsvorsteher.

Mitteilung aus der chemisch-hygienischen Abteilung des Städtischen Hygienischen Institutes Frankfurt a. M., (Direktor: Prof. Dr. M. Neisser).

[Eingegangen am 20. September 1910.]

Im natürlichen Zustande enthält die Milch keine Nitrate. Die meisten natürlichen Wässer enthalten aber diese Salze in mehr oder minder reichlicher Menge. Der Nachweis der Salpetersäure in der Milch wird daher als ein wichtiges Hilfsmittel für die Ermittlung eines Zusatzes von Wasser zur Milch betrachtet. Das gilt jedoch nicht uneingeschränkt, weil von verschiedenen Seiten gegen die Salpetersäure in der Milch als Kriterium einer Wässerung mehrere Einwände erhoben sind.

In manchen Gegenden soll der sogenannte Rübengeschmack der Milch dadurch beseitigt werden, daß man ihr Salpeter zusetzt. Durch unvorsichtiges Umgehen mit Salpeter-Düngemitteln soll Salpetersäure in die Milch gelangen können. Diese Einwände sind jedoch wenig stichhaltig, da es sich in den genannten Fällen zweifellos um weit beträchtlichere Gehalte an Salpetersäure handeln dürfte, als sie durch Wasserezusatz zur Milch hinzugefügt werden. Es ist also wenig wahrscheinlich, daß dadurch eine Täuschung veranlaßt werden könnte.

Mehr Beachtung verdient der zweite Einwand, der behauptet, daß durch Stall-