

lationsprodukte der Cellulose und Braunkohle (1903, 1908, 1910), beteiligte sich an der Diskussion über die Bildung der Salzlagerstätten in Mitteldeutschland und wies erstmalig das vordem vergeblich gesuchte Jod in der Urlauge der Kalisalze nach (1908, 1910), damit die Ansicht von der maritimen Herkunft der Salzlager zum endgültigen Siege führend.

Er ermittelte ferner die Konstitution der Leinölsäure (1909) und kam hierdurch zu Versuchen über Fetthärtung durch Wasserstoff, wobei er wohl irrtümlich ein Nickeloxydul als wirksamen Katalysator glaubte gefunden zu haben (1910 u. folg.). Anerkennung hat seine neue Methodik der Gasanalyse durch Kühlung mittels flüssiger Luft gefunden (1910).

Nach einem Jahrzehnt vielseitiger Experimentalarbeit, neben der er zugleich seine Lehrtätigkeit als Dozent treulichst ausübte, hat sich Erdmann in den folgenden Jahren vornehmlich der Chemie der Braunkohle und der Mineralöle zugewendet und in mustergültiger Weise auf wissenschaftlicher Grundlage technische Interessen zu fördern gesucht.

Seine Ansichten über die Entstehung der natürlichen Kohle faßte er in einer wichtigen Abhandlung „Der genetische Zusammenhang von Braunkohle und Steinkohle auf Grund neuer Versuche“ im Jahre 1924 zusammen.

Die organisatorischen Fähigkeiten Erdmanns fanden bei der ehrenamtlichen Geschäftsführung des „Halleschen Verbandes für die Erforschung der mitteldeutschen Bodenschätze und ihrer Verwertung“ ein Feld aufopfernder Betätigung.

Bei der Herausgabe des Jahrbuches des Halleschen Verbandes (seit 1917) war er ein gewandter Stilist und oft auch ein scharfer Kritiker. Er hinterläßt ein nahezu fertiges, größtenteils im Druck stehendes, mit hervorragenden Mitarbeitern verfaßtes umfangreiches Werk über die Chemie der Braunkohle. Hoffentlich kann der Verleger Wilhelm Knapp in Halle das Werk bald der Öffentlichkeit übergeben.

Wir verlieren in Ernst Erdmann einen viel gewandten, ideenreichen und temperamentvollen Forscher und Lehrer! Einen stets hilfsbereiten Kollegen!

Er hat wesentlich dazu beigetragen, die technische Chemie als Lehrfach auf preußischen Universitäten zur Anerkennung zu bringen. Das von den Brüdern Erdmann geschaffene, jetzt unser Hallesches Universitätslaboratorium für technische Chemie wird weiter bestehen und, wenn bessere Zeiten kommen, auch groß und größer werden zum Nutzen unserer Studierenden der Chemie und zur Förderung der Chemischen Industrie.

Halle a. S., im September 1925.

Vorländer.

Über Blutfarbstoff und einige Porphyrine.

Von Prof. Dr. HANS FISCHER.

Aus dem Organisch-chemischen Institut der Technischen Hochschule München.

Auf Einladung des Bezirksvereins Frankfurt a. M. vorgetragen im Hörsaal der Höchster Farbwerke am 1. Mai 1925.

(Eingeg. 4./7. 1925.)

Der Blutfarbstoff ist eine zusammengesetzte Verbindung; zu 96 % besteht er aus einem Eiweißkörper und zu 4 % aus einem Farbstoff, der etwa 10 % Eisen enthält. Wir behandeln hier nur den Farbstoff. Die Funktion des Blutfarbstoffs ist in erster Linie die, den Sauerstoff an die Oxydationsstätten zu bringen, und daraus ergibt sich die ungeheure Wichtigkeit dieser Verbindung, denn demgemäß ist ohne Blutfarbstoff das Leben der Mehrzahl der Tiere unmöglich.

Der Blutfarbstoff gehört zu den Körpern, die das höhere Tier ununterbrochen synthetisch aufbaut. Unausgesetzt gehen nicht unbeträchtliche Mengen Blutfarbstoff zugrunde unter Bildung von Gallenfarbstoff, der mit den Fäces abgeht.

Warum dieser ständige Umsatz des Blutfarbstoffs erfolgt, ist vielleicht klar durch die neueren Untersuchungen von Warburg¹⁾, wonach die Atmungsfermente eisenhaltig sind, und wenn Blutfarbstoff in den eisenfreien Gallenfarbstoff übergeht, so wird hierbei eben das Eisen abgelagert. Der Abbau des Blutfarbstoffs in Gallenfarbstoff erfolgt nun nicht nur in der Leberzelle, sondern in allen Zellen des Körpers, wie durch biologische Versuche von Aschoff und seiner Schule sowie Mann an der Mayo-Klinik in Rochester gezeigt wurde. Auf chemischem Wege wurde dies mit Reindel bewiesen, indem wir zeigen konnten, daß das Hämatoidin, das in alten Blutextravasaten häufig zu beobachten ist, mit Bilirubin identisch ist. Demgemäß hat dieses tägliche Zugrundegehen des Blutfarbstoffs vielleicht den Zweck, das für fermentative Prozesse notwendige Eisen in die

Gewebe zu transportieren. Aber nicht nur nach der Funktion, sondern auch nach der Menge ist der Blutfarbstoff von großem Interesse. Nehmen wir das Körpergewicht des erwachsenen Menschen im Durchschnitt zu 60 kg an, so besitzt dieser etwa 3 l Blut, die 15 g Häm in entsprechen. Die Gesamtbevölkerung der Erde wurde 1911 zu 1500 Mill. Menschen veranschlagt, die dann einen Vorrat von rund 22 Mill. kg besitzen. Da in spätestens 70 Tagen der gesamte Blutvorrat des Menschen regeneriert bzw. umgesetzt wird, beträgt die Jahresproduktion 110 Mill. kg. Der Weltkonsum in Teerfarben wurde nach einer freundlichen Privatmitteilung von Prof. H. K. Meyer, Direktor der Badischen Anilin- & Sodafabrik, im Jahre 1913 auf 70–90 Mill. kg 100 % ige Ware geschätzt. Die Blutfarbstoffproduktion der Menschen allein übersteigt also die der künstlichen Farbstoffe bei weitem; bei Mitrechnung aller Wirbeltiere verschiebt sich das Verhältnis natürlich noch mehr zugunsten des Blutfarbstoffs. Der Blutfarbstoff ist also nach Chlorophyll der Farbstoff, der weitaus in größter Menge täglich synthetisiert wird. Aus all diesen Gründen ist die Chemie des Blutfarbstoffs von besonderer Wichtigkeit, und es kann hier nur kurz darauf hingewiesen werden, daß wohl auch eine sinngemäße Therapie der zahlreichen Bluterkrankungen erst dann möglich sein wird, wenn die Konstitution des Blutfarbstoffs einmal feststeht. Die Aussichten, therapeutisch vorzugehen, sind meiner Ansicht nach gerade bei diesen Krankheiten deshalb möglich, weil eben der Blutfarbstoff täglich, stündlich, minütlich synthetisiert wird, und demgemäß durch Verabreichung der physiologischen Bausteine vielleicht doch eine systematische Beeinflussung dieses für das Leben unentbehrlichen Prozesses möglich sein wird (vgl. unten).

Die Chemie des Blutfarbstoffs beginnt mit der Entdeckung der Häminkristalle durch Teichmann. Teichmann beobachtete, daß, wenn man Blut mit Eisessig-Kochsalz auf dem Objektträger erhitzt, charakteristische „Häminkristalle“ erscheinen, eine Reaktion, die heute noch Bedeutung in der gerichtlichen Medi-

¹⁾ B. 58, 1001 [1925].

zin besitzt, da die Reaktion noch mit den kleinsten Blut-
mengen gelingt. Besonders von Schälfejeff, später
Willstätter und Piloty wurde die Reaktion ins-
große übertragen, und heute noch wird sie in erster Linie
für die Gewinnung des Blutfarbstoffs benutzt.

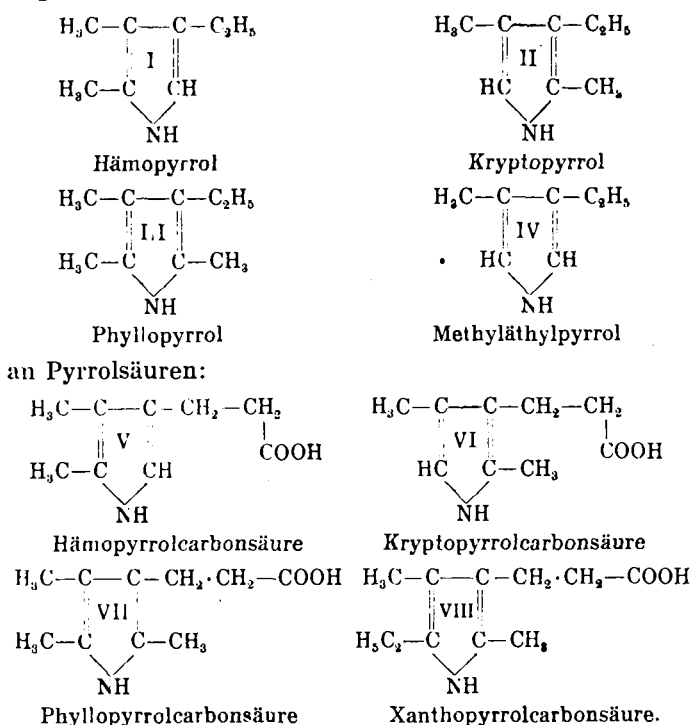
Es ist einerlei, welche Art von Blut als Ausgangs-
material genommen wird, alle höheren Wirbeltiere ent-
halten das gleiche Hämin (Küster), selbst die Fische
haben noch den gleichen Blutfarbstoff, wie mit Hahn ge-
zeigt werden konnte.

Das Molekulargewicht des Hämins ist 600, die empi-
rische Formel $C_{34}H_{30}N_4O_4FeCl$; das Eisen ist komplex ge-
bunden, der Sauerstoff in Form von zwei Carboxylgruppen
vorhanden. Hämin hat in ätherischer Lösung eine Ab-
sorption im Rot; sowie das Eisen entfernt wird, tritt das
Porphyrinspektrum auf, das bei neutraler Reaktion aus-
gezeichnet ist durch vier charakteristische Absorptions-
banden, während mit Mineralsäuren ein Umschlag in ein
dreibandiges Spektrum erfolgt. An diesen Spektral-
erscheinungen kann leicht die Anwesenheit von Porphy-
rinen festgestellt werden.

Für den ersten Einblick in die Konstitution des
Hämins waren drei Methoden der analytischen Zertrüm-
merung besonders fruchtbar:

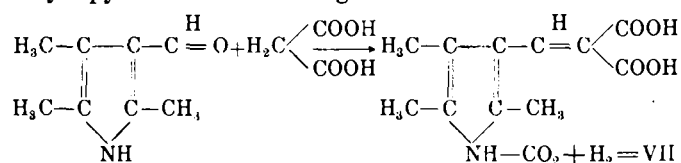
1. die von Nencki zuerst angewandte Reduktion mit
Eisessigjodwasserstoff,
2. die von Küster zuerst angewandte Oxydation und
3. die alkylierende Spaltung (Fischer u. Röse).

Bei der Reduktion mit Eisessigjodwasserstoff erhält
man ein Gemisch von Basen und Säuren, an Pyrrolbasen
folgende:

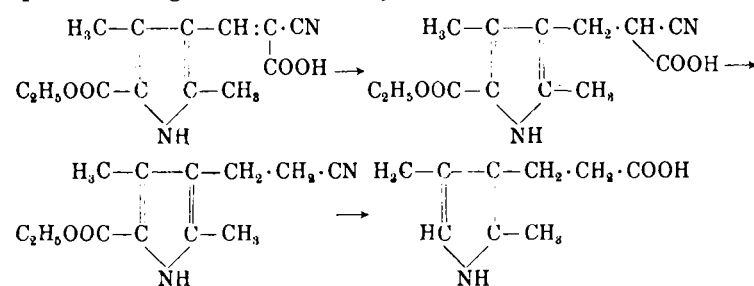


Die Konstitution der meisten dieser Bausteine ist
durch Synthese bewiesen. Kryptopyrrol wurde aus
2,4-Dimethyl-3-acetylpyrrol von Knorr und Heß²⁾
durch Reduktion mit Hilfe von Hydrazin und Natrium-
äthylat gewonnen, und damit die Konstitution II sicher-
gestellt. Die Aufklärung der Konstitution der übrigen
basischen Pyrrole und ebenso der Säure VII gelang durch
Arbeiten mit Bartholomäus. Wir fanden, daß man
in den Pyrrolkern Alkylgruppen einführen kann durch
Erhitzen mit Natrium- oder Kaliummethylat und insbe-

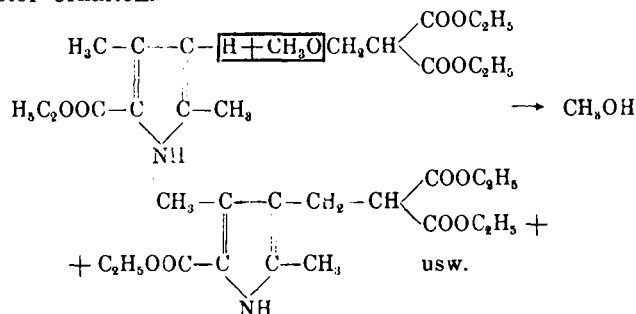
sondere das Phyllopyrrol und die Phyllopyrrolcarbonsäure
sind so synthetisch leicht zugänglich³⁾. Hämopyrrol
wurde dann durch Piloty und Blömer⁴⁾ syntheti-
siert. Die Synthese der sauren Spaltprodukte gelang
durch neuere Arbeiten. Mit Zerweck wurde gefunden,
daß der Aldehydrest in die alkylierten Pyrrole nach der
Gattermannschen Blausäuresynthese leicht einfüh-
rbar ist und mit Nenitzescu wurden dann die Kondensa-
tionsbedingungen des Trimethylpyrrolaldehyds mit
Malonsäure gefunden, die unter Kohlensäureabspaltung
zur Acrylsäure führten, die dann durch Reduktion die
Phyllopyrrolcarbonsäure ergab.



Die Kryptopyrrolcarbonsäure VI wurde mit Weiß ent-
sprechend folgendem Schema synthetisiert:

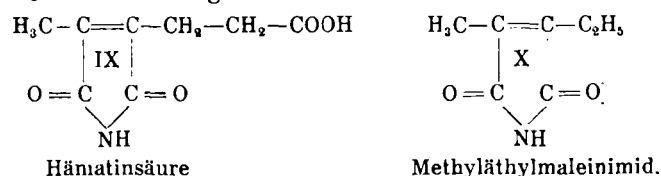


Sie wurde neuerdings auf einfacherem Wege mit
Nenitzescu durch direkte Kondensation des 2,4-Di-
methyl-5-carbäthoxypyrrols mit Meth-Oxymethylmalon-
ester erhalten.



Durch Verseifung und Abspaltung von zwei Carbäth-
oxyresten (mit + bezeichnet) gelingt es dann leicht, die
Kryptopyrrolcarbonsäure VI zu erhalten.

Auf ähnlichen Wegen wurde dann mit Klarer die
Xanthopyrrolcarbonsäure VIII synthetisiert, so daß nur
noch die Synthese der Hämopyrrolcarbonsäure aussteht.
Die oxydative Spaltung des Blutfarbstoffs wurde von
W. Küster durchgeführt, und es gelang ihm die Häma-
tinsäure zu isolieren, deren Konstitution er durch Syn-
these bewies in folgendem Sinn IX:



Aus Hämopyrrol hatte Küster Methyläthylmaleinimid
erhalten, dessen Konstitution auch von ihm durch Syn-
these im angegebenen Sinne X bewiesen wurde.

²⁾ B. 44, 2758 [1911].

³⁾ B. 45, 466 [1912]; vgl. auch A. Hahn, Z. f. Biol., 64,
148—160 [1914].

⁴⁾ B. 47, 2159 [1914].

Durch direkte Oxydation des Blutfarbstoffs erhält man Methyläthylmaleinimid nicht. Als Spaltprodukt von Pyrrolfarbstoffen wurde es zuerst von Willstätter aus den Chlorophyllporphyrinen isoliert, sodann durch H. Fischer aus Mesobilirubinogen, einem Reduktionsprodukt des Gallenfarbstoffs, und dann gleichzeitig durch W. Küster und H. Fischer und Meyer-Betz aus Mesoporphyrin. Hierauf kommen wir nachher noch zurück.

Die alkylierende Spaltung des Blutfarbstoffs, d. h. die totale Aufspaltung des Moleküls durch Natrium- bzw. Kaliummethylat gelang Fischer und Röse. Sie erhielten Phyllopyrrol III und Phyllopyrrolcarbonsäure VII, ein Resultat, das die oben erwähnten Ergebnisse der reduktiven Spaltung durchaus bestätigt. Denn, wie schon auseinandergesetzt, werden ja trisubstituierte Pyrrole durch Natrium- oder Kaliummethylat glatt am Kohlenstoff methyliert.

Die Ausbeuten bei der reduktiven wie bei der alkylierenden Spaltung sind so, daß mit Bestimmtheit der Rückschluß zu ziehen ist, daß im Hämin vier Pyrrolkerne enthalten sind, zwei basische und zwei saure Pyrrolkerne.

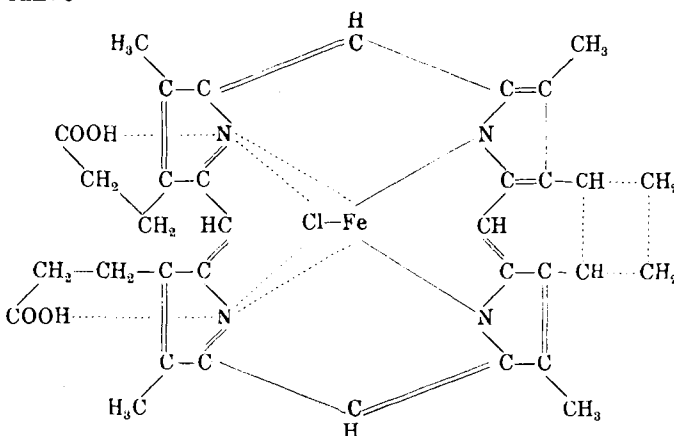
Für die weitere Konstitution des Blutfarbstoffs wäre es nun außerordentlich wichtig, Zwischenprodukte zwischen Hämin und diesen Bausteinen zu erhalten. Bis jetzt sind nur hochmolekulare Umwandlungsprodukte erhalten worden, die in der Molekulargröße mit dem Ausgangsmaterial — dem Hämin — übereinstimmen und die noch alle vier Pyrrolkerne enthalten. Als solche sind hauptsächlich zu erwähnen das Hämatoporphyrin und das Mesoporphyrin, die beide von Nencki rein gewonnen sind, weiterhin das Ätioporphyrin Willstätters.

Hämatoporphyrin wird durch Einwirkung von Eisessigbromwasserstoff auf Hämin erhalten, wobei das komplex gebundene Eisen zur Abspaltung gelangt, gleichzeitig oder zuvor eine Anlagerung von Bromwasserstoff erfolgt und sekundäre Hydrolyse. Führt man statt der Hydrolyse Alkoholyse mit Methylalkohol durch, so erhält man das schön kristallisierende Tetramethylhämatoporphyrin (Küster, Willstätter). Das Hämatoporphyrin hat die empirische Formel $C_{34}H_{36}$ (oder $H_{36})N_4O_6$. Es enthält zwei Carboxylgruppen und zwei alkoholische Hydroxylgruppen. Hieraus oder auch direkt aus Hämin erhält man durch Reduktion das Mesoporphyrin, dem die empirische Formel $C_{34}H_{38}O_4N_4$ zukommt.

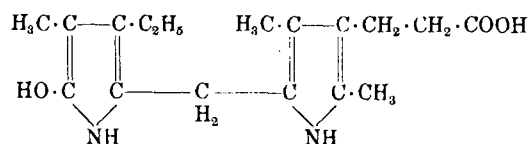
Das Mesoporphyrin nimmt leicht, wie Zaleski zeigte, Eisen komplex auf und geht so in Mesohämin über, das, wie der Name sagt, dem Hämin überaus ähnlich ist; damit war ein weiterer Beweis geliefert für den nahen Zusammenhang zwischen den Porphyrinen und dem Blutfarbstoff. Das Mesoporphyrin oder Mesohämin sind einfache Reduktionsprodukte des Hämins, wie aus den analytischen Resultaten hervorgeht, ferner aus der Tatsache, daß Mesohämin direkt durch katalytische Reduktion des Hämins erhalten werden kann und ebenso durch Behandlung mit Kaliummethylat. Wie bereits erwähnt, gibt Mesoporphyrin bei der Oxydation außer der Hämatinsäure noch Methyläthylmaleinimid, allerdings nur in der Ausbeute, die einem Pyrrolkern entspricht, woraus hervorgeht, daß mindestens ein „basischer Pyrrolkern“ durch Reduktion stabilisiert worden ist, denn bei der Oxydation des Hämins gehen ja die beiden basischen Pyrrolkerne verloren. Von besonderer Wichtigkeit ist das Ätioporphyrin, das von Willstätter aus den Chlorophyllporphyrinen bzw. Phyllinen und aus Hämatoporphyrin auf dem Umweg über Hämatoporphyrin erhalten wurde. In der Blutfarbstoffreihe entsteht es durch Decarboxylierung des zuletzt genannten Porphyrins und neuerdings

haben wir es auch durch Decarboxylierung des Mesoporphyrins erhalten. Nach Willstätter besitzt es die Formel $C_{31}H_{36}N_4$; wir halten die Formel $C_{32}H_{38}N_4$ für wahrscheinlicher. Die Wichtigkeit des Ätioporphyrins ist dadurch gegeben, daß es ein gemeinsames hochmolekulares Spaltprodukt zwischen Blut- und Blattfarbstoff ist. Sein Entdecker Willstätter macht jedoch selbst darauf aufmerksam, daß es nicht richtig sein kann, hieraus auf weitgehende Verwandtschaft zwischen Blut- und Blattfarbstoff zu schließen und zwar deshalb, weil beim Übergang des Blattfarbstoffs zu den Porphyrinen tiefgreifende Umgestaltungen des Moleküls erfolgen, die bis jetzt noch in Dunkel gehüllt sind. Auf die Konstitution des Ätioporphyrins kommen wir nachher zurück.

Definitive Konstitutionsbeweise können nur durch Synthesen erbracht werden, und wir untersuchten deshalb bereits vor 14 Jahren systematisch die Bindungsarten von Pyrrolen in bezug auf ihre Ähnlichkeit mit dem Blutfarbstoff und kamen zu dem Resultat, daß die bereits von Colaccici⁵⁾ synthetisierten Dipyrrylmethane in ihrem Verhalten am besten dem Blutfarbstoff entsprechen. Um diese Zeit veröffentlichte Küster die nachstehende Formel auf Grund der oben erwähnten analytischen Befunde



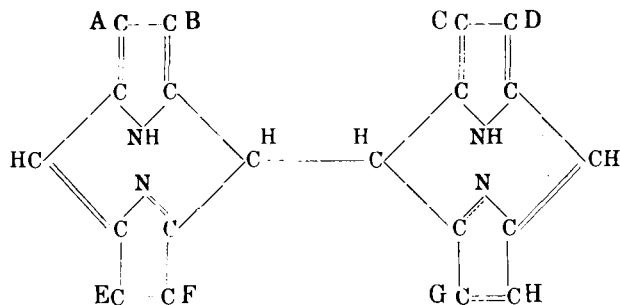
Ein Beweis für das Vorkommen von Kohlenstoffbindungen zwischen den Pyrrolkernen in α -Stellung wurde nicht erbracht. Für diese Bindungsart wurden schärfere Anhaltspunkte gewonnen durch den analytischen Abbau des Gallenfarbstoffs, der mit Röse durchgeführt wurde. Wir erhielten die Bilirubinsäure (etwas später auch von Piloty und Thannhauser erhalten), deren Konstitution in folgendem Sinn bewiesen wurde:



In ihr sind also die beiden Pyrrolkerne durch eine Methylengruppe miteinander verknüpft, genau so, wie bei oben genannten Dipyrrylmethanen. Sie zerfällt reduktiv in „basisches“ und „saurer“ Pyrrol, nämlich Kryptopyrrol (II) und Kryptopyrrolcarbonsäure (VI). Bei der Oxydation gibt sie Methyläthylmaleinimid (X) und Hämatinsäure (IX). Die Bilirubinsäure ist ein farbloses Produkt, und es gelang dann auch aus Blutfarbstoff und aus Mesoporphyrin ein farbloses, hochmolekulares Reduktionsprodukt — das Porphyrinogen — zu isolieren, das sich als Leukoverbindung des Mesoporphyrins herausstellte, womit die Brücke zu den farblosen Dipyrrylmethanen geschlossen war. Mit dem Konstitutionsbeweis der Bilirubinsäure folgte gleichzeitig für den Blutfarbstoff mit größter

⁵⁾ C. 1912, I, S. 143.

zu beobachten, ebenso wenig wie Kupfersalz XI und alle komplexen analogen Kupfersalze von Methenen in ihren spektroskopischen Erscheinungen dem Kupfersalz des Ätioporphyrins ähnlich sind, was wohl der Fall sein müßte, wenn einfach eine Brücke C=C, die die vier Pyrrolkerne verknüpft, die Ursache des charakteristischen spektroskopischen Verhaltens der Porphyrine wäre. Wir glauben deshalb und sind auch mit synthetischen Versuchen nach dieser Richtung hin beschäftigt, daß im Blutfarbstoff noch zwei freie Methingruppen die Pyrrolkerne miteinander verknüpfen, demgemäß das Ätioporphyrin durch Vereinigung von zwei Dipyrromethenen durch eine Brücke C—C entsteht, wie folgende Formel erläutert:



Es ergibt sich nun weiter die Frage nach der Konstitution der Seitenketten im Ätioporphyrin (mit A—H bezeichnet) und in den Porphyrinen ganz allgemein.

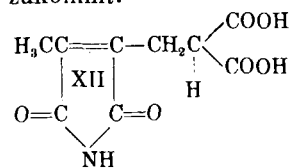
Wir haben nun oben gesehen, daß das Studium der Chemie des Blutfarbstoffs durch Isolierung des bimolekularen Spaltprodukts der Bilirubinsäure für die Konstitutionsaufassung des Blutfarbstoffs grundlegend war. Überhaupt hat das Studium des physiologischen Abbauprodukts des Blutfarbstoffs, des Gallenfarbstoffs in hohem Maße befruchtend auf die Chemie des Blutfarbstoffs eingewirkt. Die hier zur Verfügung stehende Zeit erlaubt nicht hierauf näher einzugehen. Aus diesen Gründen wurde schon frühzeitig das Augenmerk auf weitere biologische Umwandlungsprodukte des Blutfarbstoffs gerichtet, da bei deren Abbau vielleicht neue Anhaltspunkte für die Konstitution des Blutfarbstoffs gewonnen werden konnten. Ganz besonders erweckte mein Interesse die Porphyrinurie, eine Krankheit, bei der Hämatothorphyrin, wie in der Literatur allgemein angegeben war, ausgeschieden wird. Ich machte zwar schon im Jahre 1912 darauf aufmerksam, daß absolut kein Grund dafür vorläge, gerade die Ausscheidung von Hämatothorphyrin anzunehmen, ebenso gut könnte man z. B. Mesoporphyrin in Betracht ziehen, was jedoch wenig Beachtung erfuhr. Die Porphyrinurie schien nun auch deshalb von besonderer Wichtigkeit zu sein, weil sie nicht nur angeboren auftritt, sondern auch durch allherhand Chemikalien, vor allen Dingen durch Sulfonal und Blei, künstlich erzeugt werden kann, mithin man von vornherein die Annahme machen darf, daß es sich bei diesen Porphyrinen nicht um pathologische, sondern um physiologische Objekte handelt, die normalerweise in geringer Menge auftreten, unter pathologischen Umständen aber eine starke Vermehrung erfahren.

Es ist wünschenswert, daß die experimentelle Porphyrinurie eine eingehende Bearbeitung von medizinischer Seite erfährt, denn gerade durch das Studium der Porphyrinurie werden sich vielleicht für die Therapie der Blutkrankheiten nähere Anhaltspunkte ergeben können, denn hier findet ja zweifellos eine Beeinflussung des Blutfarbstoffwechsels statt, allerdings nach einer falschen Richtung.

Im Jahre 1915 gelang es mir dann durch das Entgegenkommen von Prof. Krause, damals in

Bonn, den von ihm entdeckten und von Günther⁶⁾ beschriebenen Fall von Porphyrinurie (Fall Petry) zu untersuchen.

Es wurden nun die Photographie des Petry und zweier weiterer Kranker projiziert. Bei diesen Bildern fällt auf, daß die dem Licht nicht ausgesetzten Partien des Körpers von tadelloser Beschaffenheit sind, während Gesicht und Hände schwerste Veränderungen aufweisen, wie man sie sonst nur bei Lupus, Syphilis und Lepra sieht. Es erscheint hiernach wahrscheinlich, daß diese Veränderungen durch das Licht erfolgen. Es fragt sich nun, ob durch Farbstoffe im Licht überhaupt so schwere Veränderungen hervorgerufen werden können. Diese Frage ist unbedingt mit ja zu beantworten. v. Tappeiner und seine Schule haben gezeigt, daß, wenn man Eosin, Methylenblau und viele andere fluoreszierende Farbstoffe mit Paramäcien zusammen dem strahlenden Licht aussetzt, dann diese Tiere im Licht binnen kürzester Zeit sterben, während analog angesetzte Dunkelkontrollen tagelang am Leben bleiben. Auch beim höheren Tier wurden ähnliche Resultate erhalten. Hausmann verdanken wir dann die wichtige Feststellung, daß Hämatothorphyrin weiße Mäuse lichtkrank macht, und Hausmann stellte dasselbe auch fest mit dem noch unreinen Farbstoffgemenge, das aus dem Harn eines Porphyrinpatienten isoliert war⁷⁾. Ich konnte bald feststellen, daß bei der Porphyrinurie im Harn zwei verschiedene Farbstoffe vorhanden sind und beide Farbstoffe besitzen die Fähigkeit, Tiere lichtkrank zu machen, allerdings in verschiedenem Maße, insofern, als Uroporphyrin viel stärker sensibilisiert als Koproporphyrin. Wie diese beiden Namen sagen, ist das eine Porphyrin aus Harn isoliert worden (Uroporphyrin), das zweite aus Kot (Koproporphyrin), jedoch kommt das Koproporphyrin auch im Harn vor und wurde auch aus Harn zuerst isoliert. Uroporphyrin hat die Formel $C_{40}H_{38}N_4O_{16}$ und Koproporphyrin $C_{38}H_{36}N_4O_{14}$. Ersteres enthält acht Carboxylgruppen, letzteres vier Carboxylgruppen. Bald gelang es, Uroporphyrin durch Decarboxylierung in Koproporphyrin überzuführen, so daß der nahe Zusammenhang zwischen beiden Porphyrinen bewiesen ist. Beide Porphyrine gehen bei der Reduktion in Leukoverbindungen über, die wieder die unveränderten Farbstoffe bei der Oxydation regenerieren. Bei der energischen Oxydation des Uroporphyrins wurde eine carboxylierte Hämaminsäure erhalten, bei der des Koproporphyrins Hämaminsäure, und es ist demnach sehr wahrscheinlich, daß der carboxylierten Hämaminsäure folgende Formel zukommt:



eine Anschauung, die weiter gestützt wird durch den Abbau der carboxylierten Hämaminsäure zu Methyläthylmaleinimid (X) und Hämaminsäure (IX).

Aus den Tatsachen der Isolierung dieser oxydativen Spaltprodukte mit gesättigten Seitenketten folgt, daß auch im ursprünglichen Molekül der Porphyrine die Seitenketten in gesättigtem Zustand vorhanden sein müssen, und daß im Uroporphyrin die Carboxylgruppen gerade so angeordnet sein müssen wie in der carboxylierten Hämamin-

⁶⁾ D. Arch. klin. Med. 105, 89 [1911]; Erg. d. Path. 20. Jahrg. 1. Abtlg. [1922].

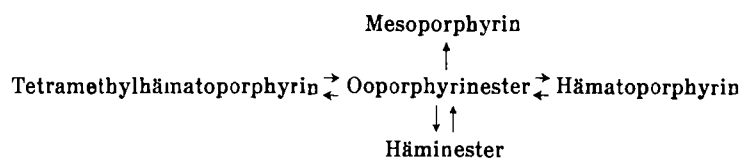
⁷⁾ Nähere Angaben über diese interessanten Verhältnisse sind bei Hausmann: Grundzüge der Lichtbiologie und Lichtpathologie einzusehen, Urban & Schwarzenberg [1923].

säure. Im Einklang damit steht, daß wir neuerdings durch bloßes Erhitzen auf 160° die Decarboxylierung des Uroporphyrins zum Koproporphyrin durchführen konnten. Es fragt sich nun weiter, wie Uro- und Koproporphyrin zum Blutfarbstoff stehen. Zunächst schien es, als ob kein sehr naheliegender Zusammenhang mit dem Blutfarbstoff vorhanden wäre, denn es ergab sich, daß beim totalen Abbau sowohl durch Oxydation wie durch Reduktion sich kein Anhaltspunkt für das Vorkommen einer Basenfraktion ergab. Dieser negative Befund erklärt sich sehr einfach dadurch, daß eben im Uro- und Koproporphyrin nur „saure Pyrrolkerne“ enthalten sind. Dieser Nachweis und gleichzeitig die nahe Verwandtschaft der beiden Porphyrine mit dem Blutfarbstoff wurde bewiesen durch die totale Decarboxylierung. Diese ergab Willstätters Ätioporphyrin prachtvoll kristallisiert (mit Hilger). Hieraus folgt, und das stimmt auch mit den elementar-analytischen Resultaten überein, daß ein enger Zusammenhang zwischen den Porphyrinen des Blutfarbstoffs, denen des Chlorophylls (Willstätter) und diesen „pathologisch-physiologischen“ Porphyrinen besteht. Uroporphyrin ist ein Ätioporphyrin, das acht Carboxylgruppen trägt ($C_{32}H_{38}N_4 + 8CO_2$), Koproporphyrin ein solches mit vier Carboxylgruppen ($C_{32}H_{38}N_4 + 4CO_2$) und Mesoporphyrin ein solches mit zwei Carboxylgruppen ($C_{32}H_{38}N_4 + 2CO_2$). Aber auch für die Konstitution von Willstätters Ätioporphyrin können wir weitere Schlußfolgerungen ziehen. Willstätter hat das Ätioporphyrin in bezug auf eine Seitenkette ungesättigt formuliert; nachdem Uro- und Koproporphyrin und mit großer Wahrscheinlichkeit auch Mesoporphyrin als in den Seitenketten gesättigte Gebilde aufgefaßt werden müssen, gilt dasselbe auch für das Ätioporphyrin und in der oben skizzierten Formel können wir für A, C, E und G je einen Methylrest einsetzen, für B, D, F und H je einen Äthylrest. Wir erhalten dann die Formel $C_{32}H_{38}N_4$. Der weitere Abbau des Ätioporphyrins und seine Synthese muß über diese Schlußfolgerungen entscheiden. Die Konstitutionsformel des Koproporphyrins ergibt sich dann aus diesem Schema durch Einsatz von vier Propionsäureresten an Stelle von B, D, F und H, die Konstitutionsformel des Uroporphyrins durch Ersatz derselben Stellen durch $CH_2CHCOOHCOOH$; das Mesoporphyrin trägt dann an Stelle von B, D, F und H zwei Propionsäurereste und wahrscheinlich zwei Äthylreste.

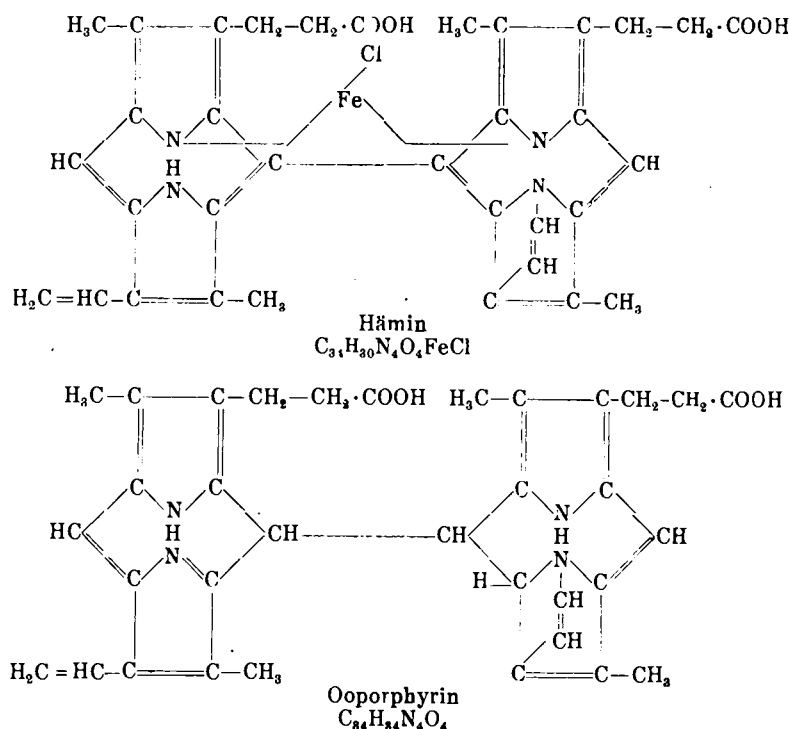
Hatte das Studium dieser pathologisch-physiologischen Porphyrine auch für die Konstitution des Blutfarbstoffs Bedeutung, so gilt dasselbe ebenso für die Ergebnisse bei einem weiteren biologischen Porphyrin, dessen Studium aus diesen Gründen auch energisch betrieben wurde.

Es ist bekannt, daß die Eierschalen der im Freien brütenden Vögel gefleckt sind, wie das besonders bei den Kiebitz- und Möveneiern auffällt. Der Farbstoff ist schon ziemlich frühzeitig von englischen Autoren und in den achtziger Jahren besonders von Liebermann untersucht worden. Liebermann hielt ihn für einen Gallenfarbstoff. Wenn man jedoch die Abbildung des Spektralbefundes in Liebermanns Arbeit in den Berichten sich ansieht, so kann es keinem Zweifel unterliegen, daß es sich hier um ein Porphyrin handelt. Mit Kögl wurde nun das Ooporphyrin, wie wir es nannten, aus Kiebitz- und Möveneierschalen in kristallisiertem Zustand dargestellt und seine analytische Zusammensetzung entsprechend $C_{34}H_{44}N_4O_4$ festgestellt. Seine Stellung zum Hämin wurde klar ermittelt durch Überführung auf reduktivem Wege in Mesoporphyrin und mit

Eisessigbromwasserstoff in Hämatoporphyrin. Mit Lindner wurde die Untersuchung dann weiter fortgesetzt und festgestellt, daß durch Einführung von Eisen man vom Ooporphyrinester zum gewöhnlichen Häminester gelangt, mithin das Ooporphyrin nichts anderes ist als Blutfarbstoff des Eisens beraubt. Sehr gefördert wurde diese Untersuchung durch parallelgehende biologische Untersuchungen von Prof. Kämmerer. Kämmerer fand, daß durch eine bestimmte Bakterienflora der Blutfarbstoff des Eisens beraubt wird und in Porphyrin übergeht. Dieses — Kämmerer-Porphyrin, wie ich es nannte — haben wir kristallisiert dargestellt und seine Identität mit Ooporphyrin nachgewiesen. — Für die weitere Konstitutionsaufklärung des Hämins war dann besonders wichtig die Ermittlung der Stellung des Ooporphyrins zum Hämatoporphyrin. Wir fanden, daß Hämatoporphyrin durch Abspaltung von genau 2 Mol Wasser in Ooporphyrin übergeht, charakterisiert als Ester, der einerseits in Häminester überführbar ist und andererseits in Mesoporphyrin. Behandelt man den Oo-Ester mit Eisessigbromwasserstoff und nach Abdampfen dieses mit Methylalkohol, so lagern sich 2 Mol Methylalkohol an und man erhält das Tetramethylhämatoporphyrin (mit Lindner und Müller). Folgende Tafel gibt eine kurze Übersicht über die experimentellen Resultate.



Aus Gründen, auf die ich hier nicht näher eingehen kann, ist es nun in hohem Maße wahrscheinlich, daß in dem Hämatoporphyrin eine gesättigte und eine ungesättigte Seitenkette enthalten ist, d. h. ein Oxäthyl- und Oxyvinylrest. An diesen beiden Resten nun erfolgt die Wasserabspaltung beim Übergang in Ooporphyrin, wobei eine Acetylggruppe und eine Vinylgruppe entstehen muß. Man kann auch statt der Acetylggruppe eine Brückenbindung zwischen Kohlenstoff und Stickstoff annehmen, so wie sie Willstätter formuliert hat. Für den Blutfarbstoff und das Ooporphyrin schlagen wir folgende Formeln vor:



Wir nehmen demgemäß an, daß bei der Überführung von Hämin in Ooporphyrin außer der Eisenabspaltung eine Reduktion erfolgt und zwar an der Brücke C—C und dies stimmt auch mit den experimentellen Resultaten überein, indem wir gefunden haben, daß aus Hämochromogen durch Einfluß von Salzsäure allein leicht kristallisiertes Ooporphyrin gebildet wird, ebenso aus Hämin durch Einwirkung von Ameisensäure bei Gegenwart von Palladium, wobei gleichzeitig Mesoporphyrin in guter Ausbeute entsteht (mit Joseph und Pützer).

Die Untersuchungen, über die ich noch zum Schluß berichten will, sind von anderen Gesichtspunkten aus vorgenommen worden. Weniger die Konstitution des Blutfarbstoffs kam hier in Frage sondern die Stellung des Chlorophylls zum Blutfarbstoff.

Von Verdeil bereits wurde die Theorie aufgestellt, daß der Blutfarbstoff sich vom Chlorophyll ableite und diese Theorie ist dann später besonders von Nencki und Marchlewski weiter verfochten worden. Allerdings hielt man damals noch das Chlorophyll für eisenhaltig, während erst die Untersuchungen Willstätters gelehrt haben, daß das Chlorophyll magnesiumhaltig ist, mithin die Beziehungen keine einfachen sein können. Willstätter selbst drückte sich deshalb sehr vorsichtig aus und machte insbesondere darauf aufmerksam, daß beim Übergang des Chlorophylls in Porphyrine allgemein sowohl wie in Ätioporphyrin weitgehende Umgestaltungen des Moleküls stattfinden müssen, denn im ursprünglich intakten Chlorophyll sind sicher keine vier Pyrrolkerne vorgebildet. Diese entstehen erst bei der brutalen Behandlung des Chlorophylls mit Alkalien bei hoher Temperatur im Autoklaven.

Wenn man sich nun doch auf den Boden der oben entwickelten Theorie stellen will, so war zu erwarten, daß bei niederen Tieren der Blutfarbstoff vielleicht eine andere Zusammensetzung besäße. Von diesem Gesichtspunkt aus habe ich schon seinerzeit, wie erwähnt, mit Hahn Fischblut untersucht mit negativem Erfolg. Durch die Untersuchungen des englischen Chemikers Church, die von A. W. Hoffmann im Jahre 1870 in der Deutschen Chemischen Gesellschaft in Berlin referiert worden sind (abgedruckt Bd. 3) war bekannt das Turacin, das in 20 Arten der in Afrika vorkommenden Helmvögel (Turaci) in den Schwungfedern vorkommt.

Church hat dieses Turacin mit Hilfe von Ammoniak aus den Federn extrahiert und es der Elementaranalyse unterworfen. Er fand folgende Zahlen:

C 53,69%, H 4,60%, N 6,96%, O 27,74%, Cu 7,01%.

Wie man sieht, handelt es sich um ein Kupfersalz eines stickstoffhaltigen Farbstoffs und Church wies nach, daß nach Einwirkung von konzentrierter Schwefelsäure auf dieses Turacin das Hämatoporphyrinspektrum entsteht. Laidlaw behauptete dann die Identität des Turacins mit dem Kupfersalz des Hämatoporphyrins. Bei Betrachtung der Churchschen Analysenzahlen fiel mir nun der hohe Sauerstoffgehalt dieser Verbindung auf und brachte mich auf den Gedanken, daß es sich hier um das Kupfersalz des Uroporphyrins handeln könne. Die Übereinstimmung der analytischen Daten ist überraschend. Kupfersalz des freien Uroporphyrins:

C 53,95%, H 3,85%, N 6,30%, O 28,67%, Cu 7,14%.

Mit Hilger wurde dann das Turacin einer näheren Untersuchung unterzogen. Durch reduzierende Behandlung mit Amalgam gelang es unter Abspaltung von Kupfer die Leukoverbindung eines Farbstoffs zu erhalten, der bei der Reoxydation dann leicht in kristallisierten Uro-

ester überführbar war. In den Vogelfedern der Turaci kommt also dasselbe Porphyrin vor wie beim pathologischen Menschen, wahrscheinlich in einer besonderen Bindung, denn der Farbstoff in der Feder zeigt ein vom extrahierten Farbstoff abweichendes spektroskopisches Verhalten, wie schon Church gefunden hat und wir bestätigen können. Irgendwelche Zeichen von Lichtempfindlichkeit zeigt der Turacus nicht und dies ist verständlich, denn die Kupfersalze der Porphyrine wirken alle nicht sensibilisierend. Man könnte also Kupfersalze für die Entgiftung von solchen Porphyrinenpatienten auch zur Anwendung vorschlagen, indessen zeigt eine Berechnung, daß in der täglichen Nahrung schon genügend Kupfer vorhanden ist, um diese Entgiftung durchzuführen. Warum sie gerade beim kranken Menschen nicht erfolgt, darüber müssen noch weitere Untersuchungen Aufklärung geben.

Im weiteren Verfolg der angeführten Entwicklungstheorie haben wir dann weiter Hefe auf Porphyrin untersucht mit Schneller, Hilger und Fink. Das Ergebnis der Untersuchungen war eindeutig Koproporphyrin. Diese Untersuchung war ganz besonders schwierig, und zwar deshalb, weil es sich bald herausgestellt hat, daß die Sommerhefe mehr Porphyrine enthält als die Winterhefe, mithin eine sekundäre Bildung von Porphyrinen aus Blutfarbstoff von Insekten, die in die Maische hineingeraten waren, möglich ist. In der Tat wird Blutfarbstoff unter bestimmten Bedingungen, mit gärender Hefe zusammengebracht, glatt umgewandelt zu Porphyrin, aber nicht in Koproporphyrin, sondern in Ooporphyrin. Dieses Ooporphyrin kann aber sekundär in Hämatoporphyrin übergehen, das spektroskopisch mit Koproporphyrin so gut wie identisch ist. Es war deshalb notwendig, das Koproporphyrin kristallisiert abzuscheiden und außerdem mit Reinkulturen von Hefe in porphyrinfreiem Nährboden zu arbeiten. Wir gingen so vor, daß die Minimalmenge von Hefe festgestellt wurde, in der eben noch Porphyrin nachweisbar ist — das sind 5 g. Diese Menge haben wir dann in garantiert porphyrinfreiem Nährboden wachsen lassen, wobei eine Vermehrung bis auf 15 g eintrat und in dieser Menge von Hefe war nun eine gewaltige Steigerung an Koproporphyrin festzustellen. Die Hefe vermag also die primäre Synthese des Koproporphyrins durchzuführen. Daß es sich wirklich um Koproporphyrin handelt und nicht um Hämatoporphyrin, haben wir durch Isolierung des Porphyrins in kristallisiertem Zustand als Ester bewiesen. Der Schmelzpunkt dieses und ebenso die kristallographische Messung von Prof. Dr. Steinmetz stimmten mit Koproester überein. — Neuerdings haben wir auch noch die Analyse des Koproporphyrins erreichen können. Prof. Lüers arbeitete hier über Cymocasein, einen sauren Hefe-Eiweiß-Körper; das Koproporphyrin als Säure begleitet diesen und von diesem Cymocasein stellte uns Prof. Lüers 1 kg, entsprechend 50 kg Hefe, zur Verfügung. Hieraus konnten wir 21 mg reines Koproporphyrin-Kupfer isolieren. Die Elementaranalyse stimmte auf Koproporphyrinkupfer. Daß hier das Porphyrin als Kupfersalz vorhanden ist, ist ein Zufall, bedingt dadurch, daß bei der Verarbeitung der Hefe in der Brauerei kupferhaltiges Material verwendet wurde. Es kann also keinem Zweifel mehr unterliegen, daß tatsächlich Koproporphyrin in der Hefe vorhanden ist, Koproporphyrin, das seiner chemischen Konstitution nach zwar in nahen Beziehungen zum Blutfarbstoff steht, aber doch vor allen Dingen durch die Anzahl der Carboxylgruppen — es hat zwei Carboxylgruppen mehr — sich sehr scharf vom Blutfarbstoff unterscheidet. Ein weiterer prinzipieller

Unterschied zwischen ihm und dem Blutfarbstoff besteht darin, daß das Koproporphyrin in allen vier Pyrrolkernen in den Seitenketten gesättigt ist, während beim Blutfarbstoff zwei ungesättigte Seitenketten vorhanden sind. Wenn wir nun weiter berücksichtigen, daß Koproporphyrin offensichtlich entwicklungsgeschichtlich älter ist wie das Hämin, so läßt sich der Gedanke nicht von der Hand weisen, daß die Entwicklung des Hämins über ein Zwischenprodukt läuft, das ursprünglich zum Koproporphyrin geführt hat, daß aber dieser Koproporphyrinweg sich nicht als zweckmäßig erwies und deshalb verlassen wurde. Als solches Zwischenprodukt käme vielleicht das Ooporphyrin in Betracht. Nach dem heutigen Stand der Forschung würde Ooporphyrin bei Anlagerung von 2 Mol Ameisensäure und gleichzeitiger Hydrierung Koproporphyrin ergeben. Diese beiden Umsetzungen sind zur Häminsynthese nicht mehr notwendig, denn Ooporphyrinester mit Eisen behandelt ergibt ja direkt Häminester. Die Porphyrinurie mitsamt ihrem Reaktionsmechanismus könnte demgemäß als ein Atavismus aufgefaßt werden; ein längst vergessener Reaktionsmechanismus, der nur noch rudimentär besteht, tritt plötzlich stark in den Vordergrund, zum Unheil des Betroffenen, denn durch die Lichtgiftigkeit der entstehenden Porphyrine wird der befallene Organismus schwer geschädigt, weiterhin wird durch die Porphyrinsynthese eine sekundäre Anämie erzeugt, indem dieser zwangsläufige Prozeß das für die Regenerierung des Blutfarbstoffs notwendige Ooporphyrin oder die Bausteine hierfür wegnimmt. Näherer Einblick in diese Prozesse wird sich durch weitere Untersuchungen bei Porphyrinurien bzw. bei den Turakusvögeln und durch Aufklärung der Porphyrinsynthese bei der Hefe ergeben müssen.

Nachdem wir nun das Koproporphyrin in der Hefe gefunden hatten, lag es nahe, weiteres pflanzliches Material auf Porphyrine zu untersuchen. Auch hier konnten eindeutig Porphyrine, wenn auch nur in Spuren, nachgewiesen werden, ihre Identifizierung steht noch aus.

Bei Berücksichtigung aller dieser Verhältnisse scheinen mir diese Befunde möglicherweise ein neues Licht auf die Entstehung des Blutfarbstoffs sowohl wie des Chlorophylls zu werfen. Die Hefe ist ja in ihrem Stoffwechsel in vielen Punkten dem höheren Säugetier sehr ähnlich. Ich erinnere nur an die schönen Untersuchungen von F. Ehrlich einerseits und O. Neubauer andererseits, die gezeigt haben, daß die Aminosäuren durch gärende Hefe abgebaut werden zu den um ein Kohlenstoffatom ärmeren Alkoholen und daß dieser Abbau über die Ketonsäure geht, genau so wie beim höheren Tier. Ebenso enthält die Hefe Glykogen, dann Cymocasein, das dem tierischen Casein sehr nahesteht und Kämmerer hat gezeigt, daß eine deutliche Parallelität besteht zwischen Pankreas- und Hefeantithrypsin. Andererseits ist das enorme synthetische Vermögen der Hefe bekannt und in dieser Hinsicht unterscheidet sich die Hefe kaum von den Pflanzen, kann doch die Hefe genau so wie diese ihren gesamten Organismus aus Kohlehydraten und anorganischem Material aufbauen. So scheint es immerhin erlaubt zu sein, hypothetisch die Hefe als Bindeglied und Stammform der Pflanzen- und Tierwelt aufzufassen und wir nehmen dann an, daß Chlorophyll sowohl wie Hämin vom Koproporphyrin aus oder einer Vorstufe dieses, vielleicht dem Ooporphyrin, sich entwickeln durch weitere Umwandlungen, die sie für ihre Funktionen geeignet machen.

[A. 107.]

Über die Löslichkeit, Aufschließbarkeit und Bewertung der verschiedenen Formen der Phosphorsäure und der phosphorsäurehaltigen Düngemittel.

VON K. SCHARRER UND A. STROBEL.

Aus dem Agrikulturchemischen Institut der Hochschule für Landwirtschaft und Brauerei Weißenstephan bei München.

(Eingeg. 29./5. 1925.)

(Schluß von Seite 958.)

Ein wichtiges Problem der modernen Biochemie ist es, auf Mittel und Wege zu sinnen, um die Menge der wurzellöslichen Phosphorsäure in Böden und Düngemitteln und damit auch die Phosphorsäurebedürftigkeit der Böden festzustellen.

Neben dem noch immer besten Verfahren des exakten Vegetationsversuches sind es bei Böden vor allem drei Methoden, die für die Ermittlung der wurzellöslichen Phosphorsäure in Betracht kommen; nämlich die Methode Neubauer⁹⁶⁾, das Verfahren von Lemmermann⁹⁷⁾ und die Azotobaktermethode nach Christensen-Niklas⁹⁸⁾. Neubauer benützt als Aufschließungsmittel für die wurzellösliche Phosphorsäure sozusagen die Pflanze selbst. Lemmermann arbeitet mit dem Begriff der relativen Löslichkeit und versteht darunter das Verhältnis von in Citronensäure löslicher Phosphorsäure zur Gesamtposphorsäure. Christensen-Niklas schließen aus dem Wachstum und der Art des Gedeihens des Azotobakter *chroococcum* Beijerinck auf die Phosphorsäurebedürftigkeit des betreffenden Bodens.

Die Phosphorsäure in den Düngemitteln wird nach dem Grade ihrer Löslichkeit bestimmt. Neben der Gesamtposphorsäure, die durch Lösen des Düngemittels in Königswasser, Schwefelsäure oder in einem Gemisch von Salpetersäure — Schwefelsäure ermittelt wird⁹⁹⁾, kommen als Bestimmungsformen die citronensäurelösliche, die citratlösliche und die wasserlösliche Phosphorsäure in Betracht. Von den verschiedenen Verbindungen des Calciums mit der Phosphorsäure sind das Monocalciumphosphat in Wasser löslich, das Dicalciumphosphat citratlöslich, das Tetracalciumphosphat citronensäurelöslich, während das Tricalciumphosphat sich im wesentlichen nur in Mineralsäuren löst. Unter Citratlöslichkeit versteht man bekanntlich die Löslichkeit in einer ammoniakalischen Ammoncitratlösung (Petermannsche Lösung), während die Citronensäurelöslichkeit durch das Lösungsvermögen einer 2 %igen Citronensäurelösung definiert ist.

Exakte Ausdrücke für das Lösungs- und Aufnahmevermögen der Pflanzenwurzeln bieten naturgemäß weder

⁹⁶⁾ Neubauer und Schneider, Die Nährstoffaufnahme der Keimpflanzen und ihre Anwendung auf die Bestimmung d. Nährstoffgehalts der Böden. Z. f. Pfl. u. Dü. (A), 1923, 329. — Siehe auch Mitscherlich, Die Bestimmung des Düngedürfnisses der Böden. Berlin 1924. P. Parey. Vgl. hierzu F. Pilz, Die Anwendung der Neubauer'schen Prüfungsmethode auf die Ermittlung der Löslichkeit von Phosphaten und Phosphatdüngern. Ztsch. landw. Versuchswesen in Deutsch-Österreich, 27, 58 [1925].

⁹⁷⁾ Lemmermann, Einecke und Fresenius. Untersuchung über die Feststellung des Wirkungswertes der Bodennährstoffe Phosphorsäure und Kali durch den Vegetationsversuch und die Bestimmung ihrer relativen Löslichkeit durch Säuren. Landw. Versuchsst. 89, 81 [1916].

⁹⁸⁾ H. Niklas und W. Hirschberger. Eine neue Methode zur raschen Ermittlung der Phosphorsäurebedürftigkeit unserer Böden. Z. ang. Ch. 37, 955 [1924]. H. Niklas, Z. f. Pfl. u. Dü. 1925 (A), Heft 4.

⁹⁹⁾ König, Untersuchung landw. und landw.-gewerblich wichtiger Stoffe. — Methoden zur Untersuchung der Kunstdüngemittel (Verein deutscher Düngerfabrikanten).