

Anilin		<i>p</i> -Nitro-toluol	
184.0°		236.4°	
Fraktionierkolben mit:			
a) langem Hals	b) kurzen Hals	a) langem Hals	b) kurzen Hals
180.2	179.0	231.0	230.0
110	179	140	210
(70-2/2) 35.1	o	(91/2) 45.5	10
145.1	179	185.5	220
155.2	156	200	200
3.6	4.4	5.8	6.9
183.8	183.4	236.8	236.9

**144. Carl Neuberg und Ernst Simon:**  
**Über den Nachweis von Zucker neben Proteinen und die vermeintliche Kondensation von Kohlenhydraten mit Eiweiß.**

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Biochemie in Berlin-Dahlem.]

(Eingegangen am 24. Februar 1927.)

Vor 2 Jahren haben C. Neuberg und M. Kobel<sup>1)</sup> am Beispiel des *d,l*-Alanins und der *d*-Fructose zuerst beobachtet, daß beim Zusammentreffen dieser beiden Stoffe in wäßriger Lösung bei Raum-Temperatur und augenblicklich eine Drehungsänderung erfolgt. Diese Erscheinung tritt bei neutraler Reaktion und ohne Zugabe irgendwelcher Katalysatoren ein. Sodann hat sich gezeigt<sup>2)</sup>, daß die Fructose bei diesem Vorgange durch das Hexose-di-phosphat und verschiedene Mono-phosphorsäure-ester der Zuckerarten ersetzt werden kann, und daß an Stelle des *d,l*-Alanins dessen aktive Formen, ferner aktive Asparaginsäure und Glutaminsäure verwendbar sind. Überall erhält man eine Drehungsänderung gegenüber dem Betrage, der sich aus der Ablenkung der unmischten Bestandteile ergibt.

Neuberg und Kobel haben (l. c.) bereits dargetan, daß es sich trotz dieser deutlichen Drehungs-Beeinflussung keineswegs um tiefer greifende Veränderungen der Komponenten handelt; denn die Vergärung der Aminosäuren-Zucker-Gemische erfolgt in normaler Weise. Wir haben nun gefunden, daß auch die Gemische mit stärkster Drehungs-Beeinflussung ohne chemische Eingriffe in ihre Bestandteile zerlegt werden können. So wird aus einer Lösung von 3-*m*. Fructose + 2-*m*. Natrium-glutaminat, die eine über die Summation der Komponenten herausgehende erhebliche Drehungsänderung nach links aufweist, durch Fällung mit Alkohol und mehrfaches Umlösen der anfangs sirupös ausgeschiedenen Substanz reines Glutaminat, ohne Spur einer Beimengung von Zucker, gewonnen. So ist es ferner möglich, aus einer Lösung von  $m/2$ -hexose-di-phosphorsaurem Magnesium + 2-*m*. Asparaginat, in der trotz der lävogyren Funktion des Asparaginats

<sup>1)</sup> C. Neuberg und M. Kobel, Biochem. Ztschr. **162**, 496 [1925].

<sup>2)</sup> C. Neuberg und M. Kobel, Biochem. Ztschr. **174**, 464 [1926], **179**, 451 [1926].

eine gewaltige Drehungsänderung nach rechts geschehen ist, einfach durch Chlorcalcium in der Wärme die Hexose-di-phosphorsäure als unlösliches Calciumsalz niederzuschlagen, das nach dem Auswaschen mit heißem Wasser stickstofffrei und so vollkommen von der Amino-säure getrennt ist, daß die typische Reaktion mit Triketo-hydrinden-Hydrat ausbleibt. Das steht durchaus im Einklange mit den Berechnungen, die v. Euler und Brunius<sup>3)</sup> nach kryoskopischen Messungen vorgenommen haben; nach diesen wäre der Umsatz der Komponenten nur minimal.

Jüngst haben nun Neuberg und Kobel<sup>4)</sup> mitgeteilt, daß im Gegensatz zu den Amino-säuren genuines Eiweiß, z. B. das des Pferde-Serums, nur sehr spärliche Drehungs-Alterationen beim Zusammentreffen mit Zuckerarten erfährt. Nach den beiden zuletzt erwähnten Feststellungen — geringfügigen optischen Effekten beim Eiweiß und leichter Zerlegbarkeit der Amino-säuren-Zucker-Gemische — schien es uns nun überraschend, daß die Zucker mit Eiweißkörpern bzw. hochmolekularen Proteosen eine äußerst beständige feste Verbindung eingehen sollen. Dies haben neuerdings H. Pringsheim und M. Winter<sup>5)</sup> angegeben, die eine augenblickliche, bei neutraler Reaktion sich vollziehende Kondensation der verschiedensten reduzierenden Hexosen mit fast allen Eiweißkörpern sowie Albumosen und Peptonen behaupten. Dem Kondensat schreiben sie eine solche Beständigkeit zu, daß beim Kochen mit Fehlingscher Lösung ein Teil des Zuckers sich nicht mehr offenbart. Auf den Ausfall dieser analytischen Reaktion gründen die Autoren die Annahme einer momentan beim Zusammentreffen der Komponenten ablaufenden Zucker-Eiweiß-Kondensation und ziehen für deren Produkt glucosidische Struktur in Erwägung. Nun ist nach den Ergebnissen unserer optischen Prüfungen die Reaktionsfähigkeit der Eiweißkörper im Vergleich mit Amino-säuren hinsichtlich der Drehungseffekte sehr schwach, und da sich schon die Aminosäuren-Zucker-Gemenge bei neutraler Reaktion (siehe vorher) wieder aufteilen lassen, so schien uns dies ein beinnerkenswerter Unterschied zu den Angaben von Pringsheim, denen zugleich für die Chemie der Eiweißkörper und Zuckerarten sowie für die Physiologie eine große Bedeutung zukäme. Zur Klärung dieses Widerspruchs haben wir, zugleich gestützt auf eigene ältere und abweichende Erfahrungen auf diesem Gebiete, eine Nachprüfung der Daten von Pringsheim und Winter vorgenommen und geben im Folgenden eine wesentlich einfacherere Erklärung. Sie besteht darin, daß eine feste Bindung von Zucker an Eiweiß durch Tücken der Methodik vorgetäuscht ist.

Als Grundlage für die Annahmen von Pringsheim und Winter dient die Voraussetzung, daß je 1 g der verschiedenen echten Eiweißkörper sich mit 30 mg Hexosen-monosaccharid kondensiert<sup>6)</sup>; denn das ist die Menge reduzierender Zucker, die bei der Titration mit Fehlingscher Lösung unter allen Umständen bei  $p_H \geq 6.4$  nicht wiedergefunden werden soll, wenn in 90 ccm Wasser ca. 150 mg Zucker und 1 g Eiweiß zugegen sind. Errechnet wird

<sup>3)</sup> H. v. Euler und E. Brunius, Ztschr. physiol. Chem. **161**, 267 [1926].

<sup>4)</sup> C. Neuberg und M. Kobel, Biochem. Ztschr. **182**, 273 [1927].

<sup>5)</sup> H. Pringsheim und M. Winter, B. **60**, 278 [1927].

<sup>6)</sup> Albumosen sollen pro g sogar bis 52 mg, Peptone bis 63 mg Glucose fixieren; über das Lösungsvermögen, das gerade solche Proteosen für Cu<sub>2</sub>O besitzen, siehe bei C. Neuberg u. M. Ishida, Biochem. Ztschr. **37**, 142 [1911] u. **43**, 503 [1912].

dieses Manko aus der Titration von 5 ccm obiger Mischung, die im ganzen 7.6 mg Zucker enthielt; diese entsprechen 15.3 mg Kupfer bei der Bertrand-Bestimmung. Der Unterschied im Titrationswert der eiweiß-haltigen Lösungen gegenüber dem rein wäßriger Zucker-Lösungen gleicher Konzentration wird durchschnittlich auf 3.1—3.9 mg Cu beziffert.

Unseren Befunden gemäß kann diese Differenz kaum etwas anderes als das Äquivalent der in kolloidaler Lösung verbliebenen Menge Kupferoxydul darstellen.

#### Beweise:

α) Kocht man von einer Lösung, die 1 g Eier-Albumin (Merck) nebst 30 mg Glucose oder Fructose in 90 ccm Wasser enthält und die nach Pringsheim und Winter absolut nicht reduzieren soll, 5 ccm mit 2 ccm Fehlingscher Mischung 1 Min. und erwärmt dann 3 Min. im siedenden Wasserbade, so setzt sich deutlich Kupferoxydul ab. Die Fehlingsche Lösung, sowie die Eiweiß-Flüssigkeit für sich schieden kein Kupferoxydul aus.

β) Am klarsten gestalten sich die Verhältnisse bei Benutzung des auch von Pringsheim und Winter verwendeten Caseins; denn dieser Eiweißstoff liegt in dem nach Hammarsten hergestellten käuflichen (und evtl. noch einmal umgefällten) Präparat in reinem, kohlenhydrat-freiem Zustande vor. Kocht man 5 ccm einer Mischung, die 1 g Casein in 15 ccm Kalkwasser, sowie 30 mg Glucose oder Fructose in einem mit Wasser auf 90 ccm ergänzten Volumen enthält, mit 2 ccm Fehlingscher Lösung, so fällt sowohl bei 3 Min. langem Sieden als bei der vorhin erwähnten Methodik des kürzeren Erhitzens und nachfolgenden Erwärmens im Wasserbade regelmäßig Kupferoxydul nieder, das bei Vornahme der Operationen in engen Reagensgläsern bei ruhigem Stehen den Boden als verhältnismäßig hohe Schicht bedeckt.

γ) Auch mit der halben Menge Zucker, d. h. mit 15 mg, gelingen die Versuche. Also selbst die Hälfte jener Zuckermenge, die nach Pringsheim und Winter der kompletten Kondensation anheimfallen soll, wird vom Eiweiß nicht gebunden. (Manchmal kann man durch Verwendung einer mit neutralem Natriumsulfat versetzten Fehlingschen Mischung die Kupferoxydul-Ausscheidung noch besser veranschaulichen; notwendig ist ein solches Vorgehen jedoch nicht.)

Mit gleichem Resultat haben wir verwendet (soweit nötig, in verd. NaCl-Lösung): Eier-Albumin pulverisiert und in Stücken (von Kahlbaum), Ovalbumin (Merck), Eier-Albumin nach Krause getrocknet und nicht im geringsten denaturiert, Blut-Albumin (Kahlbaum und nach Krause), Casein nach Hammarsten (von Kahlbaum), Blut-Globulin und Vitellin (eigener Herstellung), sowie krystallisiertes Edestin.

Das abweichende Ergebnis der Autoren dürfte dadurch zustande gekommen sein, daß sie die Art der Prüfung anscheinend anders vorgenommen und evtl. bei ihren Analysen zu früh filtriert haben.

Damit soll nun keineswegs gesagt sein, daß man bei hinreichendem Zuwarten alles dem Zucker entsprechende Kupferoxydul findet; denn deutlich bleibt ein Teil desselben kolloidal gelöst. Ein von Pringsheim und Winter angeführter Versuch, der die Unlöslichkeit von Kupferoxydul in Eiweiß-Material darstellen soll, erscheint unzulänglich. Die Autoren kochen vorher abgeschieden gewesenes  $Cu_2O$  mit einer Lösung von reinem Eiweiß. Es bedeutet selbstverständlich einen Unterschied, ob entstehendes Kupferoxydul in Lösung gehalten wird, oder fertiges Kupferoxydul gelöst werden soll. Ferner handelt es sich in praxi nicht um Lösungen von reinem Eiweiß, sondern wegen des Laugengehaltes der Fehlingschen Mischung um Alkali-Albuminat bzw. -Peptonat. Schon ersteres ist aber eines der besten

Schutzkolloide für nascierendes Kupferoxydul, das damit kolloidal gemacht wird. Die bekannte Methode von Paal und Dexheimer<sup>7)</sup> zur Gewinnung von löslichem  $Cu_2O$  beruht ja auf Verwendung einer alkalischen Albumin-Lösung, deren in Säuren unlösliche bzw. lösliche Anteile als Protalbinsäure und Lysalbinsäure bekannt sind.

Beweise: Kocht man frisch abgeschiedenes Kupferoxydul mit einer Lösung von Casein-Pepton, so gehen merkliche Mengen von Kupfer in Lösung. In verstärktem Maße ist dies der Fall bei Verwendung von alkalisiertem Pepton. Die von Kupferoxydul durch Zentrifugieren und Filtrieren getrennten Flüssigkeiten enthalten nach dem Veraschen deutlich Kupfer.

Aus der physiologisch-chemischen Praxis ist das besondere Lösungsvermögen der Proteosen für Kupferoxydul bekannt; auch Paal und Dexheimer verwiesen darauf, daß bei Anstellung der Fehling'schen Probe mit eiweiß-haltigen Zucker-Harnen sich das Phänomen der Entstehung kolloidalen Kupferoxyduls geltend macht. Es ist dieses eine sehr alte Erfahrung der Biochemiker, die bis zur Entdeckung der Trommerschen Reaktion zurückreicht.

Daß tatsächlich keineswegs 30 mg reduzierendes Monosaccharid mit 1 g gelöstem Eiweiß ein Kondensationsprodukt liefern, läßt sich nun auf 4 verschiedene Weisen einwandfrei zeigen, nämlich: 1. durch Ausdialysierung des Zuckers, 2. durch Enteiweißung bei neutraler Reaktion mit kolloidalem Eisenhydroxyd, wobei der Zucker in Lösung bleibt, 3. durch Ausfällung des Eiweißes aus dem Protein-Zucker-Gemisch mittels Alkohol, 4. durch titrimetrische Bestimmung des Zuckers nach einer Methode, bei der das durch Reduktion gebildete  $Cu_2O$  nicht abgeschieden zu werden braucht.

#### Beweise zu I.

a)

α) 3 g nicht denaturiertes Ovalbumin wurden zusammen mit 90 mg Glucose in 200 ccm Wasser gelöst; β) 90 mg Glucose in 200 ccm Wasser; γ) 3 g Ovalbumin in 200 ccm Wasser.

Zu sämtlichen Proben, die sich in Fischblasen befanden, wurde 1 ccm Toluol gegeben. Die Dialyse geschah gegen destilliertes toluoliertes Wasser, das nach 24 Stdn. gewechselt und durch frisches Wasser ersetzt wurde. Nach 48 Stdn. wurde das 1. und 2. Dialysat bei niedriger Temperatur unter Zugabe einer kleinen Menge Essigsäure konzentriert. In den Dialysaten wurden durch Titration nach Bertrand<sup>8)</sup> festgestellt: in α) 79.4 mg Zucker, in β) 78.7 mg Zucker, in γ) 0 mg Zucker.

Somit ergibt sich, daß aus einer Lösung, die nach den Angaben von Pringsheim und Winter sämtlichen zugesetzten Traubenzucker hätte binden müssen, rund 90% durch Dialyse frei werden. Das Manko von 10%, das auch bei reiner Zuckerlösung konstatiert wurde, beruht auf unvollkommener, nur bis zum Ausgleich von Innen- und Außenflüssigkeit geschehener Dialyse.

b)

α) 3.5 g Witte-Pepton und ca. 90 mg Fructose in 60 ccm Wasser; β) 90 mg Fructose in 60 ccm Wasser; γ) 3.5 g Witte-Pepton in 60 ccm Wasser.

Dialyse wie zuvor. Gef. in α) 72.5 mg Zucker, in β) 80.5 mg Zucker, in γ) 0 mg Zucker.

Wie man sieht, diffundieren im Zucker-Pepton-Ansatz 90% der Zuckermenge, die aus reiner wässriger Lösung diosmiert, obgleich auch ein Teil des Witte-Peptons die Membran durchdringt und die nachträgliche Titration erschwert, da es  $Cu_2O$  z. T.

<sup>7)</sup> C. Paal und A. Dexheimer, B. 47, 2195 [1914]; vergl. auch B. 39, 1553 [1906].

<sup>8)</sup> Die Bertrand-Methode ist stets angewendet (bis auf die Analysen zu Gruppe 4).

in Lösung hält. 3.5 g Pepton sollten aber nach Pringsheim und Winter etwa das Doppelte der überhaupt angewendeten Quantität Zucker infolge Kondensation dem Nachweise gänzlich entziehen.

c)

α) 3.5 g Casein in 50 ccm Kalkwasser und 103 mg Glucose; β) 103 mg Glucose in 50 ccm Wasser; γ) 3.5 g Casein in 50 ccm Kalkwasser.

Dialyse wie angegeben. Ermittelt in α) 78.5 mg Zucker, in β) 81.0 mg Zucker, in γ) 0 mg Zucker.

Auch dieser Versuch lehrt, daß in eiweiß-haltiger wie eiweiß-freier Lösung der Zucker die gleiche osmotische Beweglichkeit besitzt und nicht mit Eiweiß kondensiert ist.

### Beweise zu 2.

a)

α) 7 g Casein (Hammarsten), gelöst in 105 ccm Kalkwasser, wurden mit 210 mg Glucose versetzt und auf 1 l Wasser verdünnt; β) 7 g Casein in 105 ccm Kalkwasser mit Wasser auf 1 l aufgefüllt; γ) 210 mg Zucker in 1 l Wasser.

Zu sämtlichen Lösungen wurden 40 ccm 5-proz. kolloidale Eisenhydroxyd-Lösung (Merck) und zur Vervollständigung der Flockung 0.7 ccm *m*-Phosphorsäure, zu der Probe γ 4 ccm *m*-Phosphorsäure und noch 2 g kohlensaurer Calcium gefügt. Nach kräftigem Umschütteln wurde überall auf 1200 ccm aufgefüllt. Verarbeitet wurden hier wie im Folgenden aliquote Portionen der (evtl. nach Rückgabe der ersten trübe durchgegangenen Anteile) klar filtrierten Flüssigkeiten. Die geflockten Lösungen hatten eine um  $\text{pH} = 6.5$  liegende, also nach Pringsheim und Winter optimale Wasserstoff-ionen-Konzentration. Sie wurden, da jetzt kein Eiweiß mehr vorhanden war, mit Essigsäure schwach angesäuert und im Vakuum konzentriert.

Bestimmt wurden in α) 189.5 mg Glucose, in β) 0 mg Glucose, in γ) 182 mg Glucose.

Innerhalb der Fehlergrenze ist der gesamte angewendet gewesene Zucker wiedergefunden. Die Enteiweißung bei neutraler Reaktion — man kann zur Vervollständigung der Flockung auch alkalisch reagierendes Natriumvanadat benutzen — gibt also innerhalb des natürlichen Spielraums allen Zucker frei. (Zu einem ähnlichen Ergebnis sind schon vor 2 Dezennien L. Michaelis und P. Rona<sup>9)</sup> gelangt.)

b)

α) 7 g Eier-Albumin in 800 ccm Wasser, 195 mg Glucose, 40 ccm kolloidale Eisenlösung, 3 ccm 5-proz. vanadinsaures Natrium, aufgefüllt auf 1000 ccm; β) 195 mg Zucker in 800 ccm Wasser, 40 ccm Eisenlösung, 4 ccm *m*-Phosphorsäure, aufgefüllt auf 1000 ccm und 2 g Calciumcarbonat; γ) 7 g Eier-Albumin in 800 ccm Wasser, 40 ccm Eisenlösung, 3 ccm Natriumvanadat, aufgefüllt auf 1000 ccm.

Gefunden in α) 192 mg Zucker, in β) 194 mg Zucker, in γ) 6 mg Zucker.

c)

α) 7 g Casein in 105 ccm Kalkwasser, 180 mg Fructose, 1 l Wasser, 40 ccm Eisenhydroxyd-Lösung, 0.7 ccm *m*-Phosphorsäure ad 1200 ccm; β) 180 mg Fructose in 1 l Wasser, 4 ccm *m*-Phosphorsäure, 40 ccm Eisenhydroxyd-Lösung ad 1200 ccm, 2 g Calciumcarbonat.

Gefunden in α) 166.5 mg Fruchtzucker, in β) 155.5 mg Fruchtzucker.

d)

α) 7 g Casein in 105 ccm Kalkwasser, 20 ccm ca. 1.8-proz. Maltose-Lösung. Nach 24-stdg. Aufbewahrung Behandlung wie bei c) α; β) 20 ccm ca. 1.8-proz. Maltose-Lösung plus 105 ccm Wasser. Aufarbeitung nach 24 Std. wie bei c) β.

Ermittelt in α) 0.299 g Maltose, in β) 0.302 g Maltose.

<sup>9)</sup> L. Michaelis und P. Rona, Biochem. Ztschr. 7, 332 [1908].

Wie ersichtlich, sind praktisch nach 24 Stdn. in beiden Fällen die gleichen Zuckermengen in freier Form vorhanden. Von knapp 0.36 g Maltose konnten 0.30 g Maltose wiedergefunden werden<sup>10)</sup>), während nach Pringsheim und Winter die 7 g des Eiweißstoffes volle 0.42 g Maltose aus der Lösung durch Kondensation hätten entfernen sollen.

### Beweise zu 3.

a)

α) 7 g feinpulvriges Eier-Albumin und 0.25 g Fructose in 300 ccm Wasser wurden mit 1200 ccm absol. Alkohol gefällt, dann mehrmals mit 75-proz. Alkohol ausgewaschen. Der Alkohol wurde bei schwach essigsaurer Reaktion verdunstet und die Lösung auf 50 ccm aufgefüllt, β) 0.25 g Fructose wurden einfach mit Alkohol versetzt und nach dem Abdampfen des Alkohols auf das gleiche Volumen gebracht wie bei α).

Gefunden in α) 0.220 g Zucker, in β) 0.237 g Zucker.

b)

α) 7.0 g Eier-Albumin in 290 ccm Wasser und 10 ccm rund 3.8-proz. Maltose-Lösung. Nach 24-stdg. Stehen erfolgte die Alkohol-Fällung wie im Ansatz 3a); β) 10 ccm 3.8-proz. Maltose-Lösung und 290 ccm Wasser.

Gefunden in α) 0.335 g Malzzucker, in β) 0.372 g Malzzucker.

c)

α) 7 g Eier-Albumin in 290 ccm Wasser und rund 0.4 g Lactose in 10.0 ccm Wasser. Nach 24 Stdn. Alkohol-Fällung β) rund 0.4 g Lactose in 10 ccm Wasser + 290 ccm Wasser.

Gefunden in α) 351 mg Milchzucker, in β) 390 mg Milchzucker.

Bei den Alkohol-Versuchen wurden aus den eiweiß-haltigen Ansätzen mindestens 90% der aus rein wässriger Flüssigkeit wieder gewinnbaren Zuckermenge erhalten. Die von Pringsheim und Winter postulierte starke Bindung der reduzierenden Disaccharide an Eiweiß, wenigstens 60 mg pro 1 g Protein, haben wir nach dieser Methode nicht feststellen können.

### Beweise zu 4.

Nach den Verfahren von Lehmann-Maqueenne-Rupp<sup>11)</sup> kann man anstatt des durch Reduktion gebildeten Kupferoxyduls die nicht reduzierte Menge Cupri-Jonen in der im Überschluß anzuwendenden Menge Fehlingscher Mischung bestimmen.

Nach dem Kochen kühlte man in Eis, säuert mit verd. Schwefelsäure an und fügt Jodkalium-Lösung hinzu. Nach kurzem Stehen wird das freigewordene Jod titriert. Vorhandenes Cu<sub>2</sub>O stört nicht, ebensowenig reines<sup>12)</sup> Albumin oder Casein. 1 ccm  $n/10$ -Thiosulfat entspricht 0.006357 g Cu.

Gewiß zählt diese Methode nicht zu den allerschärfsten, sie liefert aber mit gleichen Flüssigkeitsmengen vollkommen vergleichbare Werte. Das vorhandene Cu<sub>2</sub>O bzw. CuJ erteilt den durch Säure ausgeschiedenen Proteinen eine blaßrote Färbung. Eine Verwechslung mit Jod-Stärke ist ausgeschlossen; wer trotzdem der Versuchung unterliegt, zu viel Thio-sulfat zu verbrauchen, würde weniger, aber nie zu viel Zucker finden. Die Mischungen wiesen die von Pringsheim und Winter angegebenen Mengenverhältnisse auf.

I	II	III
10 ccm etwa 1-proz. Glucose-Lösung, 50 ccm Wasser	10 ccm etwa 1-proz. Glucose-Lösung, 10 ccm Casein-Lösung, 40 ccm Wasser	10 ccm etwa 1-proz. Glucose-Lösung, 10 ccm Eier-Albumin-Lösung, 40 ccm Wasser.

<sup>10)</sup> Hier wie unter allen analogen Verhältnissen ließe sich das Ergebnis durch Auswaschen des voluminösen Koagulates sicherlich verbessern.

<sup>11)</sup> Ausführungsform siehe bei C. Neuberg, „Der Harn“, S. 396.

<sup>12)</sup> Verunreinigte Eiweißkörper, ferner Albumosen und Peptone verbrauchen auch in eiskalter saurer Lösung Jod.

Die Tritationen mit 15 ccm der Flüssigkeiten ergaben folgenden Verbrauch von  $n_{10}^{10}$ -Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: I. 9.6 ccm, II. 9.5 ccm, III. 9.7 ccm.

IV	V
50 ccm etwa 1-proz. Maltose-Lösung und	50 ccm etwa 1-proz. Maltose-Lösung,
250 ccm Wasser	50 ccm Casein-Lösung und
	200 ccm Wasser

Die Titration von 50 ccm der Flüssigkeiten ergab folgenden Verbrauch an  $n_{10}^{10}$ -Thio-sulfat:

Sofort: IV) 14.5 ccm; V) 14.7 ccm,  
nach 24 Stdn.: IV) 14.6 ccm; V) 14.6 ccm.

Wie man sieht, fallen die Werte praktisch zusammen.

Nach Pringsheim und Winter soll man das Eiweiß-Zucker-Kondensat mit Ammoniumsulfat aussalzen können. Dabei liefert eine Lösung von 1 g Eier-Albumin und 30 mg Glucose in 90 ccm Wasser nach Sättigung mit Ammoniumsulfat und Erwärmen auf dem Wasserbade bei 50° ein Filtrat, das Fehlingsche Lösung nicht reduziert. Diese Angabe trifft vollkommen zu. Man kann aber die 1000-fache Menge Zucker, nämlich 30 g Zucker auf 90 ccm gesättigter Ammoniumsulfat-Lösung, anwenden, ohne eine Reduktion mit Fehlingscher Mischung zu erzielen; denn durch das fixe Alkali der Fehlingschen Mischung wird Ammoniak frei, und dieses hält im Verein mit dem Ammoniumsulfat alles Kupferoxydul in Lösung. (Eine ammoniakaische Lösung von Kupferoxydul ist in früheren Jahren ein bekanntes Mittel in der Gasanalyse zur Absorption gasförmigen Sauerstoffs gewesen.)

Beweis-Beispiel: 2 ccm einer Lösung von 30 g Glucose in 90 ccm gesättigtem Ammoniumsulfat + 5 ccm Fehlingscher Lösung geben auch bei  $\frac{1}{4}$  stdg. Erhitzen im Wasserbade keine Spur einer Ausscheidung von Kupferoxydul.

Daß tatsächlich aus einer Lösung, die 1 g Eiweiß und 30 mg Glucose in 90 ccm Wasser enthält, keineswegs die als kondensierbar betrachtete Menge von 30 mg Hexose durch die Sättigung mit Ammoniumsulfat zusammen mit dem Protein entfernt wird, ergibt sich einfach folgendermaßen:

In dem spiegelklaren Filtrat wird zunächst das Ammoniumsulfat durch die 5-fache Menge absolut. Alkohols ausgefällt. In der abermals filtrierten und durch Abdampfen vom Weingeist (in Gegenwart von Essigsäure) befreiten Flüssigkeit kommt nunmehr der Zucker wieder zum Vorschein. Noch einfacher gestaltet sich der Versuch, wenn zur Aussalzung des Eiweißes statt des schwefelsauren Ammoniums das leichter entfernbare neutrale Magnesiumsulfat benutzt wird. Nimmt man Fructose bei dem Versuch, so kann man das Vorhandensein des Fruchtzuckers im Filtrat der mit Ammoniumsulfat oder Magnesiumsulfat gesättigten Lösung mittels der Seliwanoff-Probe ohne weiteres nachweisen. Bei Glucose gelingt dies auch mit der  $\alpha$ -Naphthol-Reaktion. (Auf Abwesenheit von stark störenden Nitraten oder Nitriten ist bei den Reagenzien besonders zu achten.) Vor Beseitigung des Ammoniumsulfats fallen beide Proben etwas schwächer aus, als in salz-freien Lösungen. Die Reaktion ist aber gleich stark, einerlei ob man eine anfänglich eiweiß-haltige oder protein-freie Lösung mit Ammoniumsulfat gesättigt und dann filtriert hat.

Wählt man statt der Hexose Pentose, so kann man direkt nach Sättigung mit Ammoniumsulfat oder Magnesiumsulfat den Fünf-Kohlenstoff-Zucker im klaren Filtrat erkennen, und zwar gleichermaßen, ob ursprünglich Eiweiß vorhanden war oder nicht. Deutlicher fällt die Phloroglucin- oder auch Orcin-Reaktion aus, wenn man auf die zuvor angegebene Weise das Magnesium- oder Ammoniumsulfat mit Weingeist fortgeschafft und die alkohol. Lösungen konzentriert hat. (Natürlich haben wir von der Arabinose, genau ihrem niedrigeren Molekulargewicht entsprechend, nur 25 mg auf 1 g Protein verwendet.)

Wohlverstanden nehmen wir hiermit keine Stellung zu der Frage, ob in Lösung irgendwelche lockeren Molekülverbindungen von Zucker und Protein (Aggregate, Assoziate, Adsorbate?) vorkommen. Unsere Versuche zeigen aber Folgendes: Mit den angeführten, voneinander unabhängigen, 4 Methoden läßt sich für Eiweißkörper die ihnen von Pringsheim und Winter zugeschriebene Fähigkeit zur stöchiometrischen Kondensation mit reduzierenden Zuckern nicht nachweisen.

---

**145. R. E. Lyons und W. E. Bradt:**  
**Über die Darstellung von Seleno-ketonen.**  
**(Vorläufige Mitteilung)**

[Aus d. Laborat. für organ. Chemie d. Universität von Indiana.]

(Eingegangen am 21. Dezember 1926.)

Eine systematische Studie über analoge Verbindungen des Sauerstoffs, Schwefels, Selens und Tellurs führte zu der Feststellung, daß bisher nur einige wenige Schwefel-ketone<sup>1)</sup>, aber überhaupt noch keine Seleno- oder Telluro-ketone dargestellt worden sind.

Fromm und Baumann (l. c.) gewannen Schwefel-Derivate des Acetons durch Einwirkung von Schwefelwasserstoff auf ein gut gekühltes Gemisch (1:1) von Aceton und konz. Salzsäure; das bei dieser Reaktion resultierende Gemisch bestand aus Tri- und Di-thio-aceton, Tetrathio-pentan und wahrscheinlich auch Monothio-aceton.

**Beschreibung der Versuche.**

Di-seleno-aceton,  $[\text{CH}_3\text{CSe} \cdot \text{CH}_3]_2$ .

Wir leiteten Selenwasserstoff<sup>2)</sup> durch ein gekühltes<sup>3)</sup> Gemisch gleicher Vol. Aceton und konz. Salzsäure, bis keine weitere Einwirkung mehr zu bemerken war. Hierbei trübe sich das Gemisch bald, und dann begann die Abscheidung eines schweren, roten Öles; Ausbeute 50 Vol.-Proz. Nach beendigter Einwirkung wurde dieses Öl, das einen sehr unangenehmen Geruch besaß, mit Wasser ausgewaschen und dann mit Dampf unter verminderter Druck bei einer Temperatur von 45–60° überdestilliert<sup>4)</sup>. Das Destillat wurde durch Erwärmen auf ungefähr 60° bei einem Druck von 6–10 mm getrocknet und dann analysiert. Das Molekulargewicht wurde kryoskopisch durch Ermittlung der Gefrierpunkts-Erniedrigung in Benzol bestimmt.

<sup>1)</sup> Wislicenus, Ztschr. Chem. [2] **5**, 324 [1869]; Engler, B. **11**, 930 [1878]; Auteuieth, B. **20**, 373 [1887]; Bergreen und Meyer, B. **21**, 353 [1888]; Bergreen, B. **21**, 337 [1888]; Fromm und Baumann, B. **22**, 1035, 2592 [1889].

<sup>2)</sup> Den Selenwasserstoff kann man bequem durch Erhitzen eines Gemisches von Asbest mit hochsiedendem Paraffin und gepulvertem Selen auf ungefähr 300° in einem mit Rückflußkühler versehenen Kolben darstellen.

<sup>3)</sup> Kühlen ist erforderlich, um Kondensationen des Acetons möglichst zu verzögern.

<sup>4)</sup> Die zuerst übergehenden geringen Mengen Substanz wurden für sich aufgefangen und dadurch von der Hauptmenge abgetrennt.