

## Neue Eiweissreactionen

von

C. Reichl.

Aus dem chemischen Laboratorium der k. k. Staatsoberrealschule  
im II. Bezirke von Wien.

(Vorgelegt in der Sitzung am 9. Mai 1890.)

Im vorigen Jahre<sup>1</sup> zeigte ich, dass Eiweisskörper mit alkoholischer Benzaldehydlösung, verdünnter Schwefelsäure<sup>2</sup> und Ferrisulfat blaue Farbenreactionen liefern. Eine ähnliche Wirkung constatirte ich für den Salicylaldehyd, doch wandte ich damals bei den bezüglichen Versuchen statt des Ferrisalzes Eisenvitriol an. Wird die Reaction mit Salicylaldehyd bei gewöhnlicher oder nicht zu hoher Temperatur ausgeführt, so zeigt es sich, dass sie ebenfalls Ferrisulfat in Anspruch nimmt.

Versuche, noch weitere aromatische Aldehyde oder Derivate derselben zu Farbenreactionen der Eiweisskörper heranzuziehen, waren von günstigem Erfolg begleitet. Von den nicht aromatischen Aldehyden wirkt das Furfurol in dem angedeuteten Sinne.

Ehe die neuen Aldehydreactionen der Eiweisskörper zur Beschreibung gelangen, sollen zunächst nachträglich gemachte Beobachtungen hinsichtlich der eingangs genannten Reactionen Erwähnung finden.

### 1. Die Reaction mit Benzaldehyd.

Das Ferrisulfat spielt bei dieser Reaction die Rolle eines Oxydationsmittels, denn es kann durch sehr verdünnte Salpeter-

---

<sup>1</sup> Sitzungsber. d. kais. Akad. d. Wiss. in Wien. Bd. XCVIII. Abth. II. Mai 1889.

<sup>2</sup> Unter dieser Bezeichnung ist bei allen angeführten Reactionen ein Gemenge von gleichen Raumtheilen Säure und Wasser zu verstehen.

säure, Quecksilberoxyd und andere sauerstoffabgebende Körper ersetzt werden. Es lässt auch eine Substitution durch Ferri-, Gold- oder Platinchlorid und Ferricyankalium zu.

Das blaue Condensationsproduct, welches aus Eialbumin bei der Reaction mit Benzaldehyd hervorgeht, zeigt im Spectrum einen Absorptionsstreifen bei *D*.

Es muss als Verbindung einer Farbbase mit Schwefelsäure aufgefasst werden, da es durch Basen unter Ausscheidung eines bräunlichweissen Niederschlages zerlegt wird, der von Säuren, wie Schwefelsäure, Salzsäure, Salpetersäure und Essigsäure, mit blauer oder blaugrüner Farbe aufgenommen wird. Die salpetersauere Lösung wird bald gelb bis braun; auch die essigsauere ist nicht sehr beständig. Der bräunlichweisse Niederschlag ist auch in Alkalien, und zwar mit gelblicher Farbe löslich.

Es ist Hoffnung vorhanden, die Farbbase des blauen Condensationsproductes so rein zu gewinnen, um sie analysiren zu können.

Die Reaction mit Benzaldehyd scheint von der Skatolgruppe des Eiweissmolecöls veranlasst zu werden, denn der genannte Aldehyd gibt sowohl mit Indol — das Präparat verdanke ich der Güte des Herrn Prof. Dr. E. Salkowski in Berlin — als mit Skatol Farbenreactionen. Versetzt man eine verdünnte alkoholische Lösung von Skatol mit einprocentiger alkoholischer Benzaldehydlösung und schichtet Ferrisulfat haltende, verdünnte Schwefelsäure darunter, so tritt nach einigem Stehen eine blauviolette Zone auf, die sich immer mehr ausbreitet. Indol liefert unter denselben Verhältnissen eine braunrothe Flüssigkeit.

Das erwähnte Condensationsproduct des Skatols wird durch Basen zerlegt; auf Zusatz von Schwefelsäure resultirt wieder eine blauviolette Lösung.

Benzylalkohol und Harze mit Benzylestern, z. B. Peru- und T'olubalsam, sind im Vereine mit verdünnter Schwefelsäure und Ferrisulfat ebenfalls zu Eiweissreactionen zu verwenden. Man erzielt dabei blaugüne, beziehungsweise blauviolette Farbenerscheinungen.

Mit Amygdalin wurden unter den angedeuteten Bedingungen keine Farbenreactionen erhalten, wohl aber bei Anwendung stärkerer Schwefelsäure.

## 2. Die Reaction mit Salicylaldehyd.

Liegen die Eiweisskörper im festen Zustande vor, so versetzt man sie in einem Proberohre oder auf einem Uhrglase mit einem Tropfen einer 0·5%igen alkoholischen Lösung von Salicylaldehyd, lässt den Alkohol verdunsten und fügt dann mehrere Tropfen Ferrisulfat haltende, verdünnte Schwefelsäure hinzu. Nach kurzer Zeit erscheinen Eier-, Blut- und Pflanzenalbumin, Blutfibrin und Caseïn violblau, Legumin braunviolett, Pflanzenfibrin braungelb gefärbt. Schafwolle und thierische Haut nehmen unter denselben Bedingungen eine blauviolette Färbung an. Nach einiger Zeit lösen sich die entstandenen Producte unter Beibehaltung der Farbe auf.

Die aus Eialbumin resultirende violblaue Lösung weist einen Absorptionsstreifen zwischen *C* und *D* auf. Sie enthält ebenfalls eine Farbbase.

Um Lösungen von Eiweiss mit Hilfe dieser Reaction zu prüfen, versetzt man sie mit einem Tropfen alkoholischer Salicylaldehydlösung der erwähnten Stärke, fügt ein gleiches Volumen concentrirte Schwefelsäure unter Abkühlung und ohne Umschütteln, endlich einen Tropfen Ferrisulfatlösung hinzu. Je nach dem Verdünnungsgrade nimmt die Reaction kürzere oder längere Zeit in Anspruch, worauf eine blaue bis violette Zone wahrzunehmen ist.

Die Reaction mit Salicylaldehyd scheint die Skatolgruppe des Eiweissmolecöls anzuzeigen, da zwischen Skatol und dem genannten Aldehyd eine violette Lösung zu Stande kommt, wenn die Einwirkung unter analogen Bedingungen wie beim vorangehenden Aldehyd erfolgt.

Das Öl von *Spiraea ulmaria* gibt mit Eiweisskörpern dieselben Reactionserscheinungen wie der Salicylaldehyd. Von Salicin, Populin und Saligenin gilt dasselbe, nur sind die Erscheinungen schwächer und beanspruchen längere Zeit.

## 3. Die Reaction mit Anisaldehyd.

Die Isomeren des Salicylaldehyds standen nicht zur Verfügung, um versuchen zu können, ob sie mit Eiweisskörpern

Farbenreactionen liefern, dafür aber der Methyläther des Paraoxybenzaldehyds, der Anisaldehyd.

Die Reactionen werden wie im früheren Falle ausgeführt: Eier- und Pflanzenalbumin, sowie Caseïn werden dabei violett, Blutalbumin und Schafwolle violettroth, Blutfibrin blau, Legumin braunviolett, Pflanzenfibrin röthlichgelb. Diese Färbungen treten rascher ein, als die durch die beiden vorangehenden Aldehyde bewirkten.

Die aus Eialbumin hervorgehende violette Lösung lässt einen Absorptionsstreifen zwischen *D* und *F* erkennen. Sie enthält auch eine Farbbase.

Der Anisaldehyd gibt mit Skatol in Gegenwart von Ferrisulfat haltender Schwefelsäure ein violettes, mit Indol ein röthlichgelbes Condensationsproduct. Das erstere stimmt in der Färbung mit den Eiweissreactionen des Anisaldehyds überein; sonach zeigt derselbe die Skatolgruppe des Eiweissmolecöls an.

Anethol, Anis-, Esdragon-, Sternanis- und Fenchelöl reagiren mit Eiweisskörpern in schwächerem Masse wie der Anisaldehyd. Ersetzt man bei diesen Reactionen das Ferrisulfat durch Quecksilberoxyd, so werden die Färbungen intensiver.

#### 4. Die Reaction mit Vanillin.

In Ermanglung von Dioxybenzaldehyden ohne Methoxygruppe wurde das Vanillin zu Eiweissreactionen verwandt. Die Ausführung der Reactionen kann wie in den vorangehenden Fällen erfolgen. Es treten dabei folgende Färbungen auf: roth, dann violett bis veilchenblau bei Eialbumin, violett bis blauviolett bei Blut- und Pflanzenalbumin, Caseïn und Blutfibrin, violett bei Schafwolle und thierischer Haut, braunroth bei Legumin, blassviolett bei Pflanzenfibrin.

Die veilchenblaue, aus Eialbumin hervorgehende Lösung lässt einen Absorptionsstreifen bei *D* wahrnehmen. Sie enthält eine Farbbase, welche an Schwefelsäure gebunden ist.

Das Vanillin liefert sowohl mit einigen Spaltungsproducten der Eiweisskörper wie auch mit anderen Verbindungen Farbenreactionen. Zur Erklärung seiner Eiweissreaction gibt das Skatol Aufschluss, denn es liefert mit Vanillin in Gegenwart von verdünnter Schwefelsäure und Ferrisulfat eine violette Färbung.

Mit Indol und Schwefelsäure gibt es eine rothe Farbenreaction, wie Singer<sup>1</sup> nachwies.

Die Reaction der Eiweissstoffe mit Vanillin kann von einigen Körpern, wie Pyrogallussäure und Phloroglucin, mit denen es, wie Etti<sup>2</sup> zeigte, in Gegenwart von Säuren farbige Condensationsproducte liefert, beeinträchtigt werden.

Vanillinhaltige Pflanzenproducte, wie Vanille, Benzoë, *Asa foetida*, reagiren mit Eiweissstoffen wie das Vanillin.

Das Vanillin entsteht durch Oxydation von Coniferin<sup>3</sup> und Eugenol.<sup>4</sup> Da das Coniferin mit Schwefelsäure allein eine blaue Färbung gibt, so konnte es zu Eiweissreactionen nicht herangezogen werden, wohl aber das Eugenol. Dasselbe liefert mit Eier-, Blut- und Pflanzenalbumin, Casein und Blutfibrin bei gleichzeitiger Einwirkung von verdünnter Schwefelsäure und Ferrisulfat blaugrüne bis grüne Färbungen.

Singer<sup>5</sup> wies nach, dass Holz bei andauerndem Kochen mit Wasser Vanillingeruch wahrnehmen lässt, weshalb er das Vanillin als steten Bestandtheil des Holzes betrachtet. Dieser Umstand brachte mich auf den Gedanken, Holz als Reagens für Eiweiss anzuwenden. Löst man Eialbumin in verdünnter, mit etwas Ferrisulfat versetzter Schwefelsäure auf, fügt Fichtenholzspäne hinzu und erhitzt im Wasserbade oder lässt längere Zeit stehen, so werden die Holztheilchen anfangs grün, endlich dunkel gefärbt, während die Flüssigkeit eine violette Färbung annimmt. Die Farbe der Flüssigkeit ist wahrscheinlich der Einwirkung von Vanillin auf Eiweiss, die Färbung der Sägespäne hingegen dem Einflusse der Schwefelsäure zuzuschreiben, da Säuren, wie v. Höhnel<sup>6</sup> u. a. beobachteten, Holz grün färben. Wird bei dem angeführten Versuche Ferrisulfat weggelassen, so resultirt keine violette, sondern eine braungelbe Flüssigkeit.

<sup>1</sup> Monatshefte f. Chem. Bd. 3, 395—410.

<sup>2</sup> " " " " Bd. 3, 637—644.

<sup>3</sup> Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 7, 608.

<sup>4</sup> " " " " " " Bd. 10, 1907.

<sup>5</sup> Monatshefte f. Chem. Bd. 3, 395—410.

<sup>6</sup> Sitzungsber. d. kais. Akad. d. Wiss. in Wien. Bd. LXXVI. Abth. I. November 1877.

Bekanntlich färbt Indol in alkoholischer Lösung Fichtenholz bei Anwesenheit von Säuren kirschroth. Diese Thatsache liess mich vermuthen, dass bei der Eiweissreaction mit Holzsubstanz die Skatolgruppe theilhaftig sei. Versuche scheinen diese Ansicht zu bestätigen. Befeuchtet man Sägespäne mit alkoholischer Skatollösung und setzt verdünnte Schwefelsäure und Ferrisulfat hinzu, so werden dieselben gelbroth, schliesslich violett. Am besten lässt sich die violette Färbung erkennen, wenn man die Sägespäne nachträglich mit Wasser versetzt. Sonach tritt bei der Reaction des Skatols mit Holzsubstanz dieselbe Färbung ein, wie bei der vorhin erwähnten Einwirkung von Eiweiss auf Holz.

### 5. Die Reaction mit Piperonal.

Der Methylenäther des Protocatechualdehyds, das Piperonal, zeigt in Gegenwart von verdünnter Schwefelsäure und Ferrisulfat ein ähnliches Verhalten gegen Eiweisssubstanzen wie das Vanillin. Die dabei auftretenden Färbungen sind: violblau bei Eier-, Blut- und Pflanzenalbumin, Casein und Blutfibrin, braunviolett bei Legumin und blassviolett bei Pflanzenfibrin. Schafwolle und thierische Haut werden violett gefärbt.

Die Spectralerscheinungen der aus Eieralbumin hervorgehenden farbigen Lösung stimmen mit denen der früheren Reaction überein. Dasselbe gilt auch hinsichtlich der chemischen Natur dieses Productes.

Das Piperonal vermag ebenfalls die Skatolgruppe des Eiweissmoleküls anzuzeigen.

### 6. Die Reaction mit *p*-Cuminaldehyd.

Die Farbenercheinungen, welche der genannte Aldehyd mit Eiweisskörpern unter den Bedingungen der früheren Reactionen liefert, sind nicht sehr beachtenswert. Eier-, Blut- und Pflanzenalbumin, Blutfibrin und Casein nehmen dabei blaugrüne Färbungen an, die besonders beim Auswaschen mit

Wasser hervortreten. Pflanzenfibrin und Legumin scheinen sich gegen Cuminaldehyd indifferent zu verhalten.

Das Römischkümmelöl zeigt gegen Eiweisskörper ein ähnliches Verhalten wie der erwähnte Aldehyd.

### 7. Die Reaction mit Zimmtaldehyd.

Eier-, Blut- und Pflanzenalbumin, Blutfibrin und Casein werden von Zimmtaldehyd, verdünnter Schwefelsäure und Ferrisulfat intensiv gelbbraun gefärbt und zeigen beim Auswaschen mit Wasser einen blauen bis grünen Farbenton; Legumin und Pflanzenfibrin liefern unter diesen Bedingungen keine charakteristischen Reactionen.

Mischt man alkoholische Lösungen von Zimmtaldehyd und Skatol und setzt verdünnte Schwefelsäure, die etwas Ferrisulfat enthält, ohne Umschütteln hinzu, so gibt sich nach einigem Stehen eine braune und darüber eine blaugrüne Farbzone kund. Der Zimmtaldehyd wird sonach bei seiner Eiweissreaction die Skatolgruppe andeuten.

Das Zimmtöl reagirt mit Eiweisskörpern in ähnlicher Weise wie der reine Zimmtaldehyd.

### 8. Die Reaction mit Furfurol.

Acet-, Butyraldehyd und Valeraldehyd vermögen mit Eiweisskörpern in Gegenwart von verdünnter Schwefelsäure und Ferrisulfat keine besonderen Farbenreactionen zu liefern, wohl aber das Furfurol, das zu diesem Zwecke in 0.5%iger alkoholischer Lösung benutzt wurde. Die dabei wahrgenommenen Färbungen der im festen Zustande in Anwendung gekommenen Eiweissstoffe sind: violett, dann blaugrün bei Eialbumin; violettroth, später blaugrün bei Pflanzenalbumin; blauviolett, schliesslich blaugrün bei Blotalbumin; braun, später blau bei Blutfibrin; braungelb, dann blaugrün bei Casein; gelblich bei Pflanzenfibrin und bräunlich bei Legumin.

Die violette Lösung, welche aus Eialbumin bei der Reaction mit Furfurol hervorgeht, zeigt einen Absorptionsstreifen bei *D*. Sie gibt mit Ammoniak einen gelblichweissen Niederschlag,

welcher von Schwefelsäure nicht mit violetter Farbe aufgenommen wird.

Wie die Versuche von Baeyer<sup>1</sup>, Stenhouse<sup>2</sup>, Schiff<sup>3</sup>, Mylius<sup>4</sup> und L. v. Udránszky<sup>5</sup> zeigen, liefert das Furfurol sowohl mit Zerlegungsproducten der Eiweissstoffe wie mit zahlreichen anderen Verbindungen Farbenerscheinungen. Der letzt-erwähnte Forscher benutzte es in 0.5<sup>o</sup>/<sub>0</sub>iger wässriger Lösung im Vereine mit concentrirter Schwefelsäure zu einer grossen Zahl von Farbenreactionen. Es hat sonach keine Bedeutung als Eiweissreagens.

Da es mit Skatol reagirt und damit bei Anwesenheit von verdünnter Schwefelsäure und Ferrisulfat eine rothbraune Färbung gibt, so zeigt es bei seiner Eiweissreaction wahrscheinlich die Skatolgruppe an.

### Schlussbemerkungen.

Die vorstehenden Reactionen lehren, dass hauptsächlich aromatische Aldehyde mit Eiweisskörpern in Gegenwart von nicht zu concentrirter Schwefelsäure und schwachen Oxydationsmitteln Farbenerscheinungen geben. Von den anderweitigen Aldehyden ist bloss für das Furfurol ein ähnliches Verhalten constatirt worden. Die in Betracht gekommenen aromatischen Aldehyde erschöpfen keineswegs die Zahl der bekannten Verbindungen dieser Gruppe. Es dürften sonach die angeführten Aldehydreactionen der Eiweisskörper noch durch weitere vermehrt werden.

Hinsichtlich der Art und Intensität der Färbungen sind die neuen Eiweissreactionen beachtenswerth. Leicht erkennbare Färbungen treten bei der Reaction mit Benzaldehyd (blau bis blaugrün), Salicylaldehyd (blau bis violett), Piperonal (veilchen-

---

<sup>1</sup> Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. V, 26.

<sup>2</sup> Ann. d. Chem. u. Pharm. Bd. CLVII, 97.

<sup>3</sup> " " " " " Bd. CCI. Ber. d. deutsch. chem. Ges. 1887, 540.

<sup>4</sup> Zeitschr. f. physiolog. Chem. Bd. XI, 492.

<sup>5</sup> " " " " " Bd. XII, 355.

blau), Vanillin (violett bis veilchenblau) und Anisaldehyd (violett bis blaviolett) ein, die von Furfurol, Cuminol und Zimmtaldehyd herrührenden haben geringeren Werth, weil sie nicht immer einheitlich sind. Piperonal, Vanillin, Salicyl-, Benz- und Anisaldehyd verursachen die stärksten Färbungen, Zimmtaldehyd und Cumino schwächere, Furfurol die schwächsten.

Die neuen Reactionen zeigen nicht alle Individuen der Eiweisskörper mit gleicher Schärfe an, zumal sie Legumin und Pflanzenfibrin nur schwierig oder gar nicht erkennen lassen. Der Grund dieser Erscheinung dürfte darin liegen, dass die Aldehyde bei ihren Eiweissreactionen einen bestimmten Atomecomplex, der in den verschiedenen Proteïnsubstanzen nicht in gleichem Masse vorkommt, anzeigen.

Die in Betracht gekommenen aromatischen Aldehyde liefern mit den verschiedenartigen nicht aromatischen Spaltungsproducten der Eiweisssubstanzen unter den Bedingungen ihrer Eiweissreactionen keine farbigen Condensationsproducte, wohl aber mit einigen aromatischen Zersetzungsproducten, wovon man bekanntlich 3 Gruppen unterscheidet: 1. die Phenolgruppe (Phenol, Kresole, Tyrosin), 2. die Phenylgruppe (Phenyllessigsäure, Phenylpropionsäure) und 3. die Indolgruppe (Indol, Skatol, Skatolcarbonsäure).

Mit Phenolen geben zwar die aromatischen Aldehyde in Gegenwart von Schwefelsäure und Ferrisulfat gefärbte Condensationsproducte, aber dieselben haben saueren Charakter und vereinigen sich mit Basen zu neuen gefärbten Verbindungen, während die farbigen Producte der Aldehydreactionen der Eiweisskörper eine Farbbase enthalten. Die Phenolgruppe des Eiweissmolecils kann sonach diese Reactionen nicht bewirken.

Die aromatischen Aldehyde geben auch mit Vertretern der 3. Gruppe der Spaltungsproducte der Eiweissstoffe, z. B. Indol und Skatol, gefärbte Verbindungen, wovon die vom Skatol herrührenden die grösste Ähnlichkeit mit den farbigen Producten der neuen Reactionen der Proteïnsubstanzen besitzen. Jene haben gewöhnlich eine violette, diese oft eine blaue Farbe. Der Grund dieser Verschiedenheit dürfte darin zu suchen sein, dass das Skatol selbst von verdünnter Schwefelsäure und Ferrisulfat

schwach röthlich gefärbt wird. Die angeführten Erscheinungen lassen sonach annehmen, dass die aromatischen Aldehyde den Skatolcomplex der Eiweisskörper anzuzeigen vermögen.

Die Farbenercheinungen der neuen Eiweissreactionen kommen ungleich rasch Zustande. Sie treten, wenn die Proben fest oder nicht zu verdünnt sind, bei der Reaction mit Piperonal, Vanillin, Anis- und Zimmtaldehyd sofort, bei der Einwirkung von Salicyl- und Benzaldehyd, Furfurol und Cuminol erst nach einiger Zeit auf. Lösungen mit 0.1<sup>o</sup>/<sub>o</sub> Eiweiss beanspruchen für das Eintreten der Farbenercheinungen eine Stunde, verdünntere Proben noch mehr Zeit.

Hinsichtlich der Empfindlichkeit stehen die neuen Reactionen der Eiweisskörper einigen älteren nach. Sie sind nur dann empfindlicher, wenn die Probe fest ist, indem zwischen dem Eiweisskörper und der einwirkenden Säure folgende Maximalverhältnisse bestehen können:

- 1 Theil Eiweiss in 6000 Theilen verdünnter Schwefelsäure bei der Reaction mit Salicylaldehyd,
- 1 Theil Eiweiss in 10.000 Theilen verdünnter Schwefelsäure bei der Reaction mit Benzaldehyd,
- 1 Theil Eiweiss in 40.000 Theilen verdünnter Schwefelsäure bei der Reaction mit Anisaldehyd, Vanillin und Piperonal.

Wässrige Lösungen dürfen selten mehr als einen Theil Eiweiss in 3000 Theilen Wasser enthalten, wenn die Erscheinungen der Reactionen noch auftreten sollen.

Die beschriebenen Reactionen lassen sich auch in der Weise ausführen, dass der Eiweissstoff als Reagens zur Auffindung von aromatischen Aldehyden und solchen Verbindungen, welche leicht in Aldehyde übergehen, benutzt wird. In dieser Weise leisten die Eiweisskörper gute Dienste zur Nachweisung von aldehydartigen Körpern im Holze, in Harzen und ätherischen Ölen.

---

Im Nachbange soll noch eine Eiweissreaction, bei welcher Wasserstoffsperoxyd als Reagens dient, angeführt werden.

Das Zustandekommen der Aldehydreactionen der Eiweisskörper erfordert ein schwaches Oxydationsmittel, wozu bei den vorstehenden Versuchen auch Wasserstoffsuperoxyd benutzt werden sollte. Es zeigte sich dabei, dass dasselbe mit Eiweisssubstanzen und verdünnter Schwefelsäure allein Farbenreactionen gibt. Die Färbungen, hauptsächlich rothe, treten bei gewöhnlicher Temperatur nach einiger Zeit auf, verschwinden aber wenn Ferrisulfat hinzugesetzt wird.

Das Wasserstoffsuperoxyd zeigt bei seiner Eiweissreaction die Skatolgruppe an.

---