

Chemische Studien über *Rhizostoma Cuvieri*

von

R. v. Zeynek.

(Vorgelegt in der Sitzung am 12. Dezember 1912.)

Es ist auffallend, daß über die wohl jeden Besucher der See durch ihre schönen Formen fesselnden Medusen nur wenig chemische Untersuchungen vorliegen. Sehr einladend ist allerdings das Arbeiten mit ihnen nicht; bekannt sind die heftigen Nesselausschläge, durch welche manche Medusen dem Badenden lästig, sogar gefährlich werden,¹ andererseits erfordert die gallertige Beschaffenheit ihres Organismus, von welcher wohl die Bezeichnung »Quallen« herrührt, die leichte Zersetzlichkeit, welche man an jenen Medusen beobachten kann, die eine Welle an den Strand geworfen hat, ein rasches Verarbeiten des gewonnenen Materials, was an der See vielfach großen Schwierigkeiten unterliegt. Dieses ist gegenwärtig mit den Mitteln, welche die Munifizen der hohen kaiserl. Akademie der Wissenschaften zur Verfügung gestellt hat, an der k. k. Zool. Station von Triest ermöglicht. Den Herren der Triester k. k. Zool. Station, insbesondere Herren Prof. Dr. C. J. Cori und dem früheren Assistenten Prof. Dr. A. Steuer, erlaube ich mir für ihr Entgegenkommen bei der Beschaffung reichlichen Materials und für manche Winke den herzlichsten Dank auszusprechen.

Wiewohl gelegentlich in der Bucht von Triest die Meduse *Rhizostoma Cuvieri* in großen Schwärmen vorkommt, wechselt

¹ O. Taschenberg, Die giftigen Tiere, p. 47. Stuttgart, Enke, 1909.

doch ihr Vorkommen daselbst, so daß in manchen Jahren nur eine sehr geringfügige Ausbeute, trotz sorgfältigen Durchsuchens weiter Seestrecken, erhalten werden konnte.

Außer *Rhizostoma* sind als häufig in größeren Mengen im Triester Golf vorkommende Quallen *Aequorea forskalia* und *Aurelia aurita* anzuführen. Auch diese wurden in größerer Menge gesammelt und verarbeitet. Die vorliegende Mitteilung soll sich vorwiegend auf *Rhizostoma* erstrecken.

A. Giftwirkung.

Was über die Giftwirkung von Medusen bekannt ist, findet sich im Buche¹ Taschenberg's, Die giftigen Tiere, p. 39 bis 54, zusammengestellt. Übereinstimmend werden als Träger der Reiz-, respektive Giftwirkungen die Nesselkapseln angenommen.

Chemische Untersuchungen über die Giftstoffe von *Physalia*² sind durch Portier und Richet ausgeführt. *Physalia* ist eine als giftig bekannte und gefürchtete Meduse der südlichen Meere. Durch die beiden Autoren wurde ein bei 55° unwirksam werdendes, nicht dialysierbares Toxin gefunden, welches durch Alkohol gefällt wird; wegen seiner anästhesierenden, schlafmachenden Wirkung wurde es Hypnotoxin genannt. Ein analoges oder identisches Gift fanden die beiden Autoren in anderen Coelenteraten. Besser bekannt als das Hypnotoxin sind durch Richet's³ Arbeiten die Giftstoffe der Seenesseln (Actinien). Richet isolierte aus Actinien ein gegen Erhitzen auf 105° ziemlich beständiges, alkohollösliches »Thalassin«, welches Jucken und Urticaria erzeugt, ein alkoholunlösliches »Congestin«, welches Erbrechen, Diarrhöe, Kongestionen, Atemlähmung bewirkt. Beide Substanzen verhalten sich zueinander wie Antitoxin zu Toxin; für Congestin wurde Anaphylaxie beobachtet. Thalassin wurde krystallisiert dargestellt, es hat in chemischer und physikalischer Hinsicht eine außerordentliche Ähnlichkeit mit Leucin. Beim Umkrystallisieren verlieren die Leucinkrystalle ihre Giftwirkung. Richet

¹ Vgl. auch Faust, Die tierischen Gifte. Braunschweig, Vieweg, 1906.

² Comptes rendus, Paris, 134, 247.

³ C. R. soc. biol., 55, 240, 707, 1071; 56, 302, 775; 58, 109. Ann. Inst. Pasteur, 24, 609.

bemerkt¹ aber, daß weder die Veellen noch die Medusen ähnliche Substanzen gegeben, respektive in ihren alkoholischen Extrakten deutliche Juckwirkungen gezeigt haben.

Perret² erhielt aus Actinien Thalassin und Congestine, aus den alkoholischen Extrakten Leucin, an welchem noch etwas Thalassin haftete, wodurch seine juckende Eigenschaft herrührte. Schließlic hat Lojacono³ in der Rippenqualle *Beroe forskalii*, u. zw. sowohl in den Geweben wie in der abgesonderten schleimigen Substanz ein congestinähnliches Gift gefunden, dieses als einen stickstoffhaltigen, nicht eiweißartigen Körper erkannt, darin ein Alkaloid vermutet. Betreffend die Rippenquallen ist aber zu bemerken, daß sie eine Sonderstellung insofern einnehmen, als sie Klebezellen besitzen, die ihrer Funktion nach die Nesselkapseln zu vertreten scheinen, aber morphologisch anders zu beurteilen sind (Taschenberg, l. c., p. 39). So dürfen wohl Lojacono's Erfahrungen nicht ohne weiteres auf die eigentlichen Nesseltiere übertragen werden.

Eine Giftwirkung, wie sie von *Physalia* geschildert wurde (auch *Chrysaora* verursacht bei Berührung ihrer Nesselfäden einen intensiven Juckreiz), konnte von uns mit Rhizostomen nicht beobachtet werden. Wird eine *Rhizostoma* aus dem Wasser herausgehoben, so beginnt von der ganzen Körperoberfläche, besonders intensiv von den sogenannten Schulter- und Armkrausen eine reichliche Schleimabsonderung.

Der Schleim enthält bei mikroskopischer Betrachtung eine Unzahl von Nesselfäden, auf der derberen Körperhaut übt er keine nennenswerte Reizwirkung aus, wohl aber auf den Schleimhäuten. Recht vorsichtig auf die Zungenspitze gebracht, verursacht er — und ebenso wirken Stücke der nesselführenden Krausen — ein intensives Brennen, welches nicht im Moment des Aufbringens, sondern einige Sekunden später auftritt. Das Brennen vergeht nach etwa einer Stunde.

¹ Pflüger's Arch., 108, 369.

² Perret, Thèse de Paris, 1907. cit. J. B. Tierchemie 1907, 542, Ref. Zunz.

³ Lojacono, J. de physiol. et de pathol. génér., 10, 1001, cit. J. B. Tierchemie, 1910, p. 489.

Zum Studium der Giftwirkung wurde eine reichliche Menge von Schleim der Rhizostomen gesammelt.¹ Der Schleim ist sehr zersetzlich, er verlor stets seine fadenziehende Beschaffenheit während der Exkursionen behufs Einsammelns von Quallen. Es gelang auch nicht durch Fällungsmittel, einen Niederschlag zu erhalten, welcher bei späterer Lösung wieder eine fadenziehende Lösung gab.

Zur Untersuchung wurden größere Mengen des Schleims einerseits durch Alkohol, andererseits durch Ammonsulfat gefällt.

Aus der Fällung mit Ammonsulfat geht nach Verdünnung und Zusatz von wenig Kalilauge Eiweiß in Lösung; die Lösung gibt, mit Essigsäure angesäuert, einen flockigen Niederschlag, welcher in überschüssiger Essigsäure unlöslich ist, in Salzsäure sich leicht löst. Wird der Niederschlag längere Zeit mit Salzsäure auf dem Wasserbad gekocht, so wird eine Flüssigkeit erhalten, welche sowohl Fehling'sche Lösung reduziert als auch mit Phenylhydrazin ein Osazon gibt. Die mit Essigsäure erhaltene Fällung ist phosphorfrei; Ammonfrei gewaschen und in Lauge gelöst, gibt sie auf Zusatz von wenig Kupfersulfat eine violettrote Biuretreaktion. Die Schleims substanz ist darnach als echtes Mucin anzusehen.

Die Nesselfäden selbst sind recht resistent. Durch zehnpromzentige Kalilauge bei Zimmertemperatur werden sie aufgehellt, es tritt aber kein Zerfließen der Fäden ein; erst nach dem Aufkochen mit Lauge zerfallen sie. Auch nach längerem Aufkochen mit Eisessig waren noch Nesselfäden gut erhalten geblieben.

Zu solchen Versuchen wurde frischer Rhizostomens Schleim auf Objekträgern getrocknet, in einigen Fällen durch Erwärmen auf etwa 80°, meistens aber durch Weingeisteinwirkung fixiert, hierauf wurden die löslichen Salze mit Wasser gewegewaschen. Die Nesselfäden waren dabei vollkommen intakt geblieben.

Versuche, durch starkes Erhitzen bis zur Verkohlung der organischen Substanzen etwas über die Natur der Fäden zu

¹ Herr Doz. Dr. F. Lippich und Herr Dr. E. Balling hatten die Freundlichkeit, mir eine größere Menge Rhizostomens Schleim zu sammeln, wofür ich beiden Herren zu besonderem Danke verpflichtet bin.

erfahren, gaben kein eindeutiges Resultat. Entschieden wurden die Fäden etwas deutlicher sichtbar, aber die Fäden zeigten, im Immersionsmikroskop betrachtet, nur einen hellgrauen Farbenton und unterschieden sich dadurch von den benachbarten organischen Substanzen. Mit Jodlösung, Salpetersäure, Millon's Reagens, auch bei entsprechendem Erwärmen, Säuregrün, Jodeosin färbten sich die Fäden nicht¹ oder nur sehr undeutlich; dagegen färbten sie sich ausgezeichnet mit Malachitgrün (Kahlbaum), mit Methylenblau und mit Safranin T (Merck); dies sind die von Behrens, Keisermann und Emich zum Nachweis von Kieselsäure eingeführten Reagenzien.² Betreffend die Safraninfärbung sei erwähnt, daß sich eine schöne Differentialfärbung bei Nesseldrüsen durch Safranin erhalten läßt, das Gewebe und die Nesselfäden werden rot, die Nesselkapseln gelb gefärbt.

Es schien somit wahrscheinlich, daß die feinen Nessel-fäden vorwiegend aus Kieselsäure bestehen.

Salpetersäure-Molybdänsäuregemisch zeigte keine Einwirkung auf die Nesselfäden, Kalkreaktionen waren negativ. Dies sei hervorgehoben, weil die Nesseldrüsen reich sind an Phosphaten. Auch in den Schleimfällungen waren reichlich Phosphate vorhanden, beträchtlich mehr als im Meerwasser. Ich habe jedoch letztere Proben, betreffend den quantitativen Phosphatgehalt, bisher nicht exakt quantitativ ausgeführt.

Zur Bestätigung der Annahme, daß die Nesselfäden vorwiegend Kieselsäure enthalten, wurde eine Reihe von Versuchen ausgeführt, die dahin gingen, die Nesselfäden isoliert zu untersuchen. Die vollständige Trennung der Nesselfäden von Zellelementen ist mir aber nicht gelungen, ferner hat sich ergeben, daß bei langem Auswaschen mit viel Wasser viel von ihnen in Lösung gehen dürfte. Aber vergleichsweise wurde in allen Fällen ein beträchtlicher Kieselsäuregehalt gefunden.

28 g mit Ammonsulfat gefällter, zentrifugierter Rhizostomenschleim, entsprechend zirka 1·8 g organischer Substanzen, wurde mit Aceton, dann mit Äther, hierauf mit Wasser,

¹ Vgl. F. Emich, Lehrbuch der Mikrochemie, 1911.

² Ebenda, p. 114 und 115.

verdünnter Salzsäure und verdünnter Lauge extrahiert, hierauf nochmals mit verdünnter Salzsäure. Der Rückstand wurde verascht. Die Asche enthielt neben kleinen Mengen von Eisen und Phosphorsäure 0·0061 g reines Kieselsäureanhydrid. 1·62 g alkoholtrockener Schleim gab 0·0096 g Kieselsäureanhydrid.

36·7 g Gallertmasse einer großen *Rhizostoma* (welche, frisch entnommen, durch Zusatz von Formol zum Meerwasser gehärtet worden war) wurden aus dem Innenraum möglichst sorgsam ohne Verunreinigung mit der nesselnden Oberfläche herausgeschnitten, eingedampft und verascht. Von derselben Qualle wurden 45·2 g der Nesselorgane (Krausen) möglichst vom Gallertgewebe lospräpariert und gleichfalls verascht. Die Gallerte gab nur Spuren von SiO_2 , die Krausen 0·0014 g SiO_2 .

So unerwartet mir anfangs das Ergebnis war, daß Kieselsäure die frei in einer öligen Flüssigkeit liegenden Brennhaare bilde, so habe ich mich im Verlauf dieser Studien mit diesem Gedanken vertraut gemacht, daß ich die Frage als erledigt ansah. Zu einer Zurückhaltung mahnt die zoologische Literatur, deren Kenntnis mir Herr Prof. v. Lendenfeld¹ verschafft hat. Aus ihr ergibt sich, daß allerdings von der Substanz der Fäden in den »Spirocysten« Bedot's nirgends die Rede ist, aber bei der großen Zahl von Arbeiten über die Nesselorgane nimmt es doch wunder, daß kein Zoologe das gleiche einfache Resultat gefunden hätte. Es sei auf die eingehenden Untersuchungen von Will, Toppe und Schneider hingewiesen.

O. Toppe nimmt für den Hohlfaden von Nematocysten der Hydragattung Chitin oder eine chitinöse Substanz an, weist aber selbst darauf hin, daß durch das Kapselsekret, welches durch diesen Faden austritt, das Chitin der Beute zersetzt wird.

Eine Nachprüfung von berufener histologischer Seite wäre demnach sehr erwünscht.

Wenn etwas von dem *Rhizostoma*-Schleim an den Kleidern antrocknet, so bewirkt der Staub dieses Schleims, etwa durch

¹ v. Lendenfeld, *Biolog. Zentralblatt*, 7, 225; 17, 465. — Toppe, *Zoolog. Anzeiger*, 33, 798, *Zoolog. Jahrb., Abt. Anat. Ontog.*, 29, Heft. 2, p. 232. — Will, *Sitzungsber. naturf. Ges. Rostock*, I (1909). — Schneider, *Arbeiten des Wiener Zool. Inst.*, 11, 12.

Ausbürsten der beschmutzten Kleider in die Luft gelangt, einen außerordentlichen Niesreiz und akuten Katarrh, welcher nach zirka 24 Stunden vollständig verschwindet. Ehe wir auf die Ursache dieser »Infektion« kamen, wurden beim Verarbeiten der Quallen die Frequentanten der k. k. Triester zoologischen Station durch uns recht arg in Mitleidenschaft gezogen.

Um nun über die Giftsubstanz der *Rhizostomen* selbst, welche für *Physalia* durch Portier und Richet erfolgreich untersucht worden ist, etwas zu erfahren, müßte vorerst auf die Möglichkeiten, welche sich aus der Divergenz der Angaben verschiedener Autoren ergeben, eingegangen werden.

Krukenberg¹ hatte bei dem Rühren von zu trocknenden *Rhizostomen* »unter den sich entwickelnden flüchtigen Sekretstoffen der Nesselkapseln, welche die Augen heftig tränen machen und die Nasenschleimhaut, ähnlich dem Veratrin und dem *Euphorbium*-Harz, zu fortwährendem Niesen reizen, außerordentlich zu leiden«.

Dazu ist zu bemerken, daß Krukenberg's Versuchs-anordnung eine sehr primitive war. Die *Rhizostomen* wurden auf flachen Porzellantellern über warmen Eisenplatten zur Trockne gebracht, unter beständigem Umrühren. Es ist wahrscheinlich, daß dabei ein Verstäuben der auskrystallisierenden Salze, respektive der festgewordenen Partikelchen nicht zu vermeiden war.

Für *Physalia* wurde (vergl. p. 582) eine nicht dialysierbare, bei 55° unwirksam werdende Giftsubstanz (Hypnotoxin), für *Beroe* eine alkaloidartige Substanz als hauptsächlichste Träger der Giftwirkung gefunden.

Es waren nach diesen Daten für die Giftwirkung der *Rhizostomen* sehr heterogene Substanzen als mögliche Träger der Giftwirkungen in Betracht zu ziehen. Es war auch zu erwägen, ob nicht etwa verschiedene Giftstoffe nebeneinander vorkämen, nach Analogie des Thalassins und Congestins der Seenesseln, ferner lag der Gedanke nahe, daß zur Abwehr großer Feinde dem Medusenkörper andere Stoffe dienlich sein könnten als zum Angriff auf die kleinen Organismen,

¹ Studien, I. Reihe, 2. Abt., p. 86.

welche der Meduse zur Nahrung dienen. Ich habe gegenwärtig als Kriterium der Giftwirkung nur die Reaktion herangezogen, welche in den Reizwirkungen auf die Haut besteht, nämlich das Brennen auf der Zunge, den Niesreiz und Katarrh der Nasenschleimhaut, die Reizerscheinungen auf leicht verletzte und dadurch empfindlich gewordene Hautpartien.

Vorerst wurde Krukenberg's Angabe nachgeprüft. Zu diesem Behuf wurden kleine Rhizostomen, welche lebend von der Triester zoologischen Station an das hiesige Institut gesendet worden waren (in großen, mit Seewasser gefüllten Gefäßen vertrugen die Rhizostomen gut den Transport und ließen sich ohne besondere Vorsichtsmaßregeln längere Zeit im Laboratorium lebend erhalten), rasch zerstückelt und nach Verdünnung mit dem gleichen Volum Wasser im Wasserdampfstrom unter guter Kühlung destilliert. Die Gonaden der Rhizostomen wurden nicht mitdestilliert, sondern sorgsam abgetrennt. Bei der Zerstückelung sonderten die Tiere reichlich Schleim ab, der auf leicht lädierte Stelle der Fingerhaut, ebenso auf die Zungenspitze gebracht, stark brannte.

Das Destillat und der Destillerrückstand reagierten neutral.¹

Das Destillat hat einen charakteristischen stechenden, schwer zu definierenden Geruch, welchen auch die Quallen selbst, ja auch das Wasser, in welchem sie sich längere Zeit befinden, annimmt. Ich möchte ihn als rettigähnlich bezeichnen. Er kann keineswegs als angenehm gelten. Das Destillat hat, auf die Zunge gebracht, keine Reizwirkungen, auch wenn es erwärmt wurde und die Dämpfe eingeatmet wurden, zeigte sich keine Reizung der Schleimhäute, ebensowenig auf einer leicht verletzten, empfindlichen Partie der Haut. Mit ammoniakalischer Silbernitratlösung erwärmt, gibt das Destillat eine Bräunung, es

¹ Werden Stücke von Rhizostomengallerte bei Zimmertemperatur liegen gelassen, so nimmt die austretende Flüssigkeit nach einiger Zeit eine schwach alkalische Reaktion an; ganz frische Stücke jedoch und die beim Kochen aus ihnen austretende Flüssigkeit reagierten stets neutral. Bei der Zersetzung tritt, noch ehe der an den Geruch fauler Spongien erinnernde Fäulnisgeruch sich bemerkbar macht, zuerst ein ammoniakalischer, zugleich an Muscheln erinnernder Geruch auf.

setzt sich ein schwarzer Niederschlag ab, alkalische Bleilösung wie Quecksilberchlorid geben auch beim Kochen keine Reaktion, Zusatz von neutraler Eisenchloridlösung verursacht keine Färbung. Wird das Destillat mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert, nun nochmals destilliert, so hat die übergegangene Flüssigkeit den Quallengeruch, gibt aber mit ammoniakalischer Silberlösung keine Reaktion. Wird das Destillat mit Lauge versetzt und nochmals destilliert, so erhält man eine Flüssigkeit von an Muscheln oder Krebse erinnerndem Geruch; sie gibt die Silberreaktion positiv. Ameisensäure ist demnach ausgeschlossen.

Zum Studium der Rhizostomengallerte wurden über 200 kg davon eingedampft, zum Teil vorsichtig über freiem Feuer; der Quallengeruch war dabei zwar lästig, aber die heftigen Reizwirkungen wurden nicht beobachtet.

Ich glaube also sagen zu können, daß die spezifischen Reizstoffe der Rhizostomen nicht flüchtig sind.

Zu den weiteren Untersuchungen diente der gefällte Quallenschleim. Zu seiner Gewinnung wurden die erbeuteten Rhizostomen auf große, weitmaschige Seihetücher gelegt und der durchgelaufene Schleim wurde sofort gefällt.

Mit Ammonsulfat gefällter Schleim wurde zur Entfernung der Hauptmenge der Salze der Dialyse unterworfen, der stark trübe Dialysierückstand wurde, zum Teil im Vakuum über Schwefelsäure, eingedunstet. Der Dialysierückstand gab direkt wie nach dem Konzentrieren keine heftigen Reizerscheinungen, doch hatte er einen sehr unangenehmen, kratzend bitteren Geschmack, der nach dem Filtrieren wesentlich abnahm.

Um den möglichen Einwand, daß die Ammonsulfatwirkung giftige Eiweißkörper verändert hätte, zu prüfen, wurden Stücke der Nesseltrauben in dünne Lamellen zerschnitten und auf Glasplatten an der Luft getrocknet. Das Pulver, welches neben zäheren Stücken erhalten wurde, gab eine sehr starke Reizwirkung. Durch Dekantieren desselben mit geringen Mengen von Wasser wurde eine Reihe von Lösungen erhalten, von denen voraussichtlich eine sich mit dem giftigen Eiweißkörper hätte besonders anreichern müssen. Die abgegossenen Flüssig-

keiten wurden filtriert; keines der Filtrate zeigte eine Reizwirkung.

Die Aufklärung über den widerlichen Geschmack des dialysierten Scheims ergab sich, als beobachtet wurde, daß in den Ammonsulfatfällungen gelbe Fetttropfchen vorhanden waren, denen der beschriebene Geschmack zukommt. Ich möchte hier daran erinnern, daß durch das Verrühren, respektive Zentrifugieren der Ammonsulfatfällungen die Nesseläden sehr leiden. Bei den vorsichtig getrockneten Schnitten der Nesseltrauben konnten erhaltene Nesselfäden gefunden werden.

Zum Nachweis von alkaloidähnlichen Substanzen dienten einerseits Alkoholextrakte von durch Weingeist gefällttem Schleim, andererseits wurden Ammonsulfatfällungen des Schleims mit Alkohol, Aceton, Äther extrahiert.

Alle drei Lösungsmittel gaben einen fett- oder harzartigen Rückstand.

Es wurden vier Fraktionen aus diesem Rückstand erhalten, von welchen die eine (I) nur in Äther, kaum in Weingeist löslich ist, II sich in Äther und in Weingeist leicht löst, eine andere in Weingeist, nicht aber in Äther löslich ist. Letztere löst sich zum Teil in salzsäurehaltigem Wasser (Fraktion III), während ein braunes Harz zurückbleibt.

Fraktion I bestand bei mikroskopischer Betrachtung aus öligen Tropfen, neben denen eine kleine Menge von zu Drusen gruppierten Nadeln vorhanden war. Der Geschmack war erst fade, dann ekelerregend, vielleicht die Zungenspitze anästhesierend.

Mit Lauge gekocht, wurde die Hauptmenge verseift, nur wenig blieb ungelöst und durch Äther ausschüttelbar zurück. Dieser Anteil gab die Cholestolprobe mit intensiv blaugrüner Farbe. Die Seifenlösung gab, mit Salzsäure zerlegt, eine bei Zimmertemperatur ölige Säure vom gleichen Geschmack, welchen das Fett selbst hat.

Fraktion II bestand vorwiegend aus mikroskopischen, zu Büscheln und Rosetten gruppierten Nadeln, außerdem aus einer salbenartig weichen, fetten Flüssigkeit von schwach saurer Reaktion. Der Geschmack war ein überaus widerlich ranzig-

traniger, ebenso der Geruch. Eine kleine Probe gab eine intensive Cholestolreaktion mit blaugrüner Farbe. Zweiprozentige wässrige Lauge löst in der Kälte.

Fraktion III wurde im Vakuum konzentriert, es schieden sich Krystalle aus vom Aussehen des Chlorammons. Sie waren in Weingeist löslich, wurden aus Weingeist umkrystallisiert. Die wässrige, mit etwas Salzsäure angesäuerte Lösung gab mit den Alkaloidreagenzien: Jodjodkalium, Phosphormolybdänsäure, Jodwismutkalium, Kaliumquecksilberjodid, Gerbsäure voluminöse Niederschläge; beim Erwärmen mit Lauge entstand ein Trimethylamingeruch. Wird die salzsaure Lösung, die freie Säure enthält, auf dem Wasserbad eingedampft, so entsteht eine Bräunung der Lösung; bei längerem Abdampfen scheidet sich ein schwarzes, in Weingeist wie in Lauge lösliches Harz ab. Die neutrale Lösung der Chlorverbindung schmeckt intensiv und anhaltend bitter (Gegensatz zu Cholin). Äther nimmt die Base aus alkalischer wässriger Lösung nur spurenweise auf, mit Kaliumtrijodid (Staněk) wurden Florence'sche Krystalle erhalten. Es ist demnach wahrscheinlich ein dem Cholin nahestehender Körper vorhanden. Zur weiteren Charakterisierung war die vorhandene Menge kaum ausreichend, zumal die Möglichkeit nicht ausgeschlossen ist, daß mehrere Basen zugegen sind. Es sei nur an die Arbeiten, betreffend die Basen aus niederen Tieren, von Kutscher und Ackermann, Gulewitsch, die Basen von Oechsner de Coninck, Brieger's Mytilotoxin, erinnert. Leider ist im heurigen Jahre die *Rhizostoma*-Ausbeute in der Triester Gegend eine minimale gewesen, so daß mit der Fortführung der Untersuchung bis zur Gewinnung einer reichlichen Materialmenge gewartet werden muß. Die nächste Gelegenheit dazu soll benutzt werden.

Fraktion IV war ein in Alkohol und in wässrigen Laugen lösliches dunkelbraunes Harz, welches nicht weiter untersucht wurde, da angenommen wurde, es sei durch Zersetzung von Fraktion III entstanden.

Von den Fraktionen I, II, III wurden je zirka 1 mg Mäusen injiziert. Bei Fraktion I und II trat einige Zeit nach der Injektion eine auffallende Unruhe ein, die Tiere bisßen nach der Injektionsstelle, kratzten und juckten sich. Die Reizerscheinungen schienen

in einigen Stunden (zirka 6 Stunden) vergangen, in 24 Stunden schienen die Tiere ganz normal.

Die Injektion von Fraktion III bewirkte eine Trägheit oder Ermüdung; den nächsten Tag war das Tier wieder ganz frisch.

Ich habe nun auf eine zartere Hautstelle meines Oberarms, die vorher mit Äther reichlich gewaschen war, kleine Mengen von Fraktion I, II und III auf Wattebäuschen aufgebracht und eine Stunde fixiert. Nach kurzer Zeit schmerzte die Stelle, auf welche Fraktion II einwirkte, etwas später auch jene mit Fraktion I. Nach einer Stunde wurden die Verbände entfernt, die Hautpartien wurden wiederum mit Äther gewaschen. Der Hautreiz von I ließ bald nach, bei II blieb er mehrere Stunden heftig bestehen, später war noch ein Erythem vorhanden, das über Nacht verschwand.

Eine Probe des Alkohol-Ätherextraktes von Rhizostomenschleim wurde mit Soda und Salpeter geschmolzen. Die Schmelze enthielt Phosphorsäure.

Zur Illustration über die Materialausbeute seien folgende Zahlenangaben mitgeteilt:

Aus einer größeren Schleimmenge wurde durch Verrühren mit Ammonsulfat und Zentrifugieren des Niederschlages ein zäher Rückstand von 28 g erhalten. Nach dem Trocknen wog er 10·6 g, nach Entfernung der wasserlöslichen Salze 1·79 g. Aus einer gleichen Probe (von 28 g) zentrifugierten Schleims wurden 0·06 g der Fraktion I, 0·38 g Fraktion II, 0·21 g Fraktion III und IV gewonnen.

Über eine zerstörende Wirkung der Medusen berichtet Krukenberg,¹ daß im Etang de Berre der größte Teil des Wasserbeckens von den Medusen (eine *Rhizostoma* neben der anderen, in erheblich nachstehender Menge, doch auch sehr reichlich, *Aurelia aurita*) in Beschlag genommen war, »eine wahre Plage für die Fischer, deren Netze durch das Sekret der Nesselzellen überdies so mitgenommen, gleichsam verbrannt werden, daß sie nach verhältnismäßig kurzem Gebrauch beim Trocknen an der Luft wie Spreu auseinanderfallen«.

¹ Studien, II. Reihe, 4. Abt., p. 16.

Um diese Wirkung zu beobachten, habe ich eine Reihe von Versuchen gemacht. Es wurden mit frischem Rhizostomenschleim einerseits, andererseits mit frischen, zerkleinerten Stücken der Nesselorgane Spagatfäden (Hanfbindfäden) der verschiedensten Art, wie sie für Fischernetze verwendet werden, bei Zimmertemperatur und im Brutofen durch 3 Tage zusammen gelassen, ferner wurden lebenden Rhizostomen Stücke von Spagat an die Nesselkrausen festgebunden sowie durch den Rhizostomenkörper mit einer Nadel durchgeführt, so daß die Spagatenden die Bewegung des Tieres störten und mit den Nesselorganen in ständiger Berührung waren. Auch diese Versuche dauerten je 3 Tage. Es wurde aber in keinem Fall ein Morschwerden des Spagats nach dem Trocknen desselben beobachtet, im Vergleich zu Stücken, die 3 Tage in reines Wasser gelegt worden waren.

Analoge Versuche über die Wirkung der losgetrennten Nesselorgane wie oben wurden mit Stärke, Holzstückchen, dünnen Chitinlamellen, Filtrierpapier ausgeführt, ohne daß für das freie Auge eine Corrosion oder Lösung dieser Objekte zu bemerken war. Stärkekleister wurde nicht verzuckert.

Es ist nicht unmöglich, daß andere Quallen die Einwirkung, welche Krukenberg beschrieben hat, verursachen. Auch wäre es möglich, daß Zersetzungsprodukte von Quallen, besonders der Gonaden, mit welchen ich am lebenden Tier nicht experimentieren konnte, die beschriebene zerstörende Wirkung ausüben. In der Triester Gegend habe ich nie von Klagen der Fischer über die Zerstörung ihrer Netze durch Quallen gehört.

Eine häufige Erscheinung ist, daß ein kleiner Fisch¹ unter dem Schirmrand der Rhizostomen sich aufhält und beim Herausheben der Quallen mittels eines Netzes mitgefangen wird.

Bei der Abtrennung des Schirmteils lebt er in dem mitgekommenen Seewasser eine Zeitlang anscheinend ohne Schädigung, jedesfalls kann er mehrere Stunden am Leben erhalten werden, kommt er aber in größere Mengen des Schleims,

¹ Nach Steuer (Planktonkunde 1910, p. 615) kommen Jungfische von *Stromateus*, *Caranx*, *Atherina* und *Gadus*, nach Cori (mündliche Mitteilung) auch *Trachurus trachurus* mit den adriatischen Rhizostomen vergesellschaftet vor.

so geht er bald zugrunde. Wir möchten dies als eine Erstickung auffassen und nicht als Giftwirkung, da kleinere Mengen von Schleim nach unseren Beobachtungen den Fisch nicht wesentlich alterieren.

B. Über die Zusammensetzung des Medusenkörpers

von

R. v. Zeynek und F. Ameseder.

Bei so überaus wasserreichen Organismen wie den Medusen legt sich wohl als erste Frage vor, inwieweit das Wasser, welches diese Tiere erfüllt, als einfach imbibiert oder als dem Organismus spezifisch anzusehen sei.

Krukenberg hat sich mit dieser Frage mehrfach beschäftigt. In einer ersten Mitteilung¹ vertritt er die Ansicht, daß das im Körper der Actinien (und Ähnliches gilt von den Medusen, vgl. l. c., p. 87) enthaltene Wasser nicht als Meerwasser aufzufassen sei, sondern mehr dem Blut und der Lymphe höherer Tiere vergleichbar sei. Diese Ansicht, entsprechend einem Selektions- und Retentionsvermögen des Medusenkörpers, wird in einer späteren, umfänglichen Arbeit² als unwahrscheinlich hingestellt. Seine erste Annahme bildete sich Krukenberg auf Grund von Untersuchungen, welche Differenzen in der Salzkonzentration des Meerwassers gegenüber der Salzkonzentration des Quallengewebes ergaben.

Durch spätere Versuche über die spontane Wasserabgabe von Stücken der Medusengallerte beim Liegen an der Luft und beim Einbringen in verschiedene Flüssigkeiten meinte Krukenberg die Frage über die Beeinflussung des Medusengewebes durch den Salzgehalt der Umgebung lösen zu können. Diese Versuche sind nicht in Tabellen zusammengestellt, bei ihrer graphischen Darstellung ergeben sich so große Differenzen, daß andere Schlüsse als den oben angegebenen Schluß aus ihnen abzuleiten, kaum als verläßlich erscheint. Auch ist zu bemerken, daß die Versuche insofern nicht eindeutig sind, als

¹ Studien, I. Reihe, 2. Abt., p. 81.

² Studien, II. Reihe, 4. Abt., p. 14.

das Quallengewebe leicht verändert wird, Krukenberg aber wahllos ohne Rücksicht darauf alle möglichen Substanzen einwirken ließ.

Darauf, daß frisches Quallengewebe neutral reagiert, die Reaktion auch beim Kochen mit wenig heißem Wasser neutral bleibt, daß es, sich selbst überlassen, aber bald alkalisch wird, wurde schon hingewiesen. Bei Schrumpfungsversuchen, respektive Versuchen über den Grad des Wasseraustrittes aus dem Gallertgewebe der Medusen spielt ferner die Temperatur eine große Rolle, worauf Krukenberg in seinen zum Teil über viele Stunden sich erstreckenden Versuchen nicht geachtet hat.

Wird eine *Rhizostoma* durch Einbringen in eine verdünnte, neutrale (ein- bis zweiprozentige) Formaldehydlösung in Meerwasser gehärtet, dann ein Stück der Gallerte entnommen und an der Luft liegen gelassen, so reagiert die aus ihr austretende Flüssigkeit neutral, die Schrumpfung erfolgt weitaus langsamer als beim ungehärteten Gewebe. Krukenberg hat darauf besonderes Gewicht gelegt, daß in keinem seiner Versuche eine Gewichtszunahme der Quallengallerte beobachtet wurde. Es liegt der Einwand nahe, daß feine, semipermeable Membranen bei seinen stets über mehrere Stunden ausgedehnten Versuchen geschädigt werden mußten. Abgesehen davon, werden beim derben Zerkleinern von Quallen manche möglicherweise gegen einzelne Salze impermeable oder wenig permeable Membranen geschädigt werden.

Versuche der Wägung von Gallertstücken zur Bestimmung von Flüssigkeitsaufnahme oder Flüssigkeitsaustritt sind kaum exakt möglich, denn schon während der Wägung tritt Flüssigkeit aus, welche die Oberfläche der Gallertmasse umgibt; daher sind auch Abdunstungsversuche wertlos, weil sie nur die Wasserverdunstung der eventuell verschiedenen konzentrierten Flüssigkeiten ergeben. Wird ein möglichst sorgsam getrocknetes Stück Gallertgewebe in reines Wasser gebracht, nach einiger Zeit wieder gewogen, so ist eine Gewichtszunahme desselben von vornherein unwahrscheinlich, selbst wenn semipermeable Membranen vorhanden wären. Dem Augenschein nach glauben wir aber bei frischen Stücken, und zwar beim Einbringen in destilliertes Wasser und in verdünnte Natrium-

acetatlösungen in den ersten Minuten Quellungen beobachtet zu haben, ebenso bei einer auf Sigmund Mayer's Rat vital mit Neutralrot gefärbten *Rhizostoma*, als sie in eine ganz verdünnte Formollösung in reinem Wasser eingebracht wurde, obwohl dabei eine starke Schleimabsonderung erfolgte.

Es ist fraglich, ob eine präzise Durchführung solcher Versuche einen wesentlichen Wert hätte. Seither hat A. Bethe¹ mit Rhizostomen Versuche gemacht, welche die Schädigung der Rhizostomen durch wesentliche Veränderungen des osmotischen Druckes des umgebenden Meerwassers ergaben, und die Undurchlässigkeit ihrer Zellhäute für Wasserstoff und Hydroxylionen wahrscheinlich gemacht.

A. Schücking² hat mit derberen Tieren eindeutige Resultate erhalten, die wahrscheinlich auch für die Quallen Geltung haben, nämlich, daß »die Krystalloide beim Austausch zwischen den beiderseitigen Flüssigkeiten durch die trennenden Membranen hindurchtreten können, daß aber die Abweichungen der Diffusionsgeschwindigkeiten vom theoretischen Grenzwert in den meisten Fällen deutlich erkennbar werden«.

A. B. Macallum³ zeigte, daß die Injektion von Methylblau in das Gallertgewebe von *Aurelia* nur eine in der unmittelbaren Nachbarschaft gefärbte Zone gibt. Da wir leider Macallum's schöne Arbeit erst bei der Zusammenstellung unserer Resultate kennen lernten, gegenwärtig keine Rhizostomen erhältlich sind, konnten wir Macallum's Versuch nicht bei *Rhizostoma* nachprüfen.

Wird das die Rhizostomen umgebende Seewasser mit Neutralrot gefärbt, so nehmen die Rhizostomen den Farbstoff vollkommen auf. Die Gallerte färbt sich am wenigsten, wir konnten aber keine ungefärbt gebliebenen Partien finden. Es ist möglich, daß sich beim Einbringen eines Farbstoffes in die Gallertmasse ein anderes Resultat ergeben hätte; es ist aber auch wahrscheinlich, daß die zu Vitalfärbungen geeigneten

¹ A. Bethe, Pflüger's Arch., 127, p. 219 (1909).

² A. Schücking, Engelmann's Arch. f. Physiol. 1902, p. 533, daselbst die frühere Literatur.

³ Journal of Physiol. (englisch), 29, p. 230.

Farbstoffe anders reagieren als solche, die dem Organismus gegenüber vielleicht Gifte sind.

Vorerst wollten wir möglichst Erfahrungen erwerben, welche die Basis späterer Detailversuche darstellen können.

So schien die Formaldehydbehandlung geeignet zu sein, ohne ein wesentliches Schrumpfen des Quallengewebes und ohne Lösung der Gerüstsubstanzen ein erschöpfendes Auswaschen der wasserlöslichen Substanzen zu gestatten, andererseits die Isolierung der Gerüstsubstanzen zu ermöglichen.

Mikroskopische Präparate von formolgehärteten, dann mit Wasser ausgewaschenen Rhizostomen zeigten keine Differenzen gegenüber solchen aus frischem Quallenmaterial. Beim Auswaschen wurde den ersten Waschwässern etwas Formol zugesetzt, bei den späteren Waschwässern unterblieb der Formolzusatz; ein Faulen der gehärteten Gewebe wurde nicht beobachtet.

Bei längerem Kochen mit Wasser schrumpft das gehärtete, ausgewaschene Gewebe der Rhizostomen auf ein kleines Volum; ebenso verhält sich salzfrei gewaschenes, gehärtetes Gewebe von *Aequorea*. Dabei lösen sich stickstoffhaltige Substanzen auf.

Diese Schrumpfung beim Kochen tritt auch ein, wenn Quallengallerte mit einem Überschuß von Formol gekocht wird. Während beim Auswaschen der formolgehärteten Gallertmasse mit Wasser bei Zimmertemperatur keine Biuretreaktion gebende Substanz in Lösung geht, gibt die beim Kochen ausgetretene Flüssigkeit nach Entfernung des Formaldehyds durch Kochen mit Lauge eine typische Biuretreaktion.

Aus der beim Zerschneiden und Schrumpfen von Medusengallerte ausgetretenen Flüssigkeit wird durch Formol nichts gefällt.

Zu einer Orientierung über die Konzentration des Quallengewebes geben wir folgende Zusammenstellung in Tabelle I auf p. 598.

Aus diesen Daten ist zu ersehen, daß nach der Formolbehandlung eine nicht unbeträchtliche Menge anorganischer Substanzen in den Medusen zurückbleibt, daß also für diese Substanzen sicher eine selektive Funktion der Organe anzunehmen

	Untersuchungsobjekt	Menge	Trockenrückstand	Asche	In Prozenten	
					organisch	anorganisch
1	<i>Rhizostoma</i> , sehr dicke Gallerte eines großen Exemplars, Formol, ausgewaschen.....	26.35	0.2220	0.0133	0.792	0.050
2	<i>Rhizostoma</i> , Krausen eines großen Exemplars, Formol, ausgewaschen	16.67	0.4239	0.0279	2.376	0.167
3	<i>Rhizostoma</i> , kleines Exemplar, ohne Formol.....	12.96	0.4924	0.4254	0.517	3.282
4	<i>Rhizostoma</i> , kleines Exemplar, ohne Formol.....	2.96	0.1314	0.0986	1.108	3.331
5	Gallerte ohne Formol	5.44	0.2878	0.1823	1.939	3.351
6	Gallerte mit Formol, ausgewaschen	23.91	0.9210	0.7843	0.572	3.280
7	Gallerte mit Formol, ausgewaschen	11.64	0.0710	0.0007	0.604	0.006
8	Krausen, mit 200 g destillierten Wassers gekocht, dann ausgewaschen.....	300	0.1582	0.0146	0.048	0.005
9	Krausen, mit 200 g einprozentiger Salzsäure gekocht, dann ausgewaschen	280	0.130	—	0.046	—
10	Gonaden	32.47	2.7198 ¹	—	8.376	—
11	Formolgallerte, ausgewaschen	39.14	0.0564	0.0014	0.141	0.004
12	<i>Aegagropora</i> Krausen und Muskelpartie, Formol, ausgewaschen	1.9228	0.0672	0.0037	3.302	0.192
13	Formolgallerte, ausgewaschen	41.07	0.0403	Spur	0.098	Spur
14	Drei zarte Aurellen, Formol, ausgewaschen	26.18	0.1263	0.0082	0.451	0.031

¹ Ätherextrakt: 0.1331 g, sehr intensive Cholesterinreaktion, phosphorhaltig.

ist, ferner zeigt die Tabelle auffallende Differenzen in der Konzentration der einzelnen Organe.

Was die Asche anbelangt, wurden in ihr immer kleine Mengen von Eisen, von Phosphorsäure und von Kieselsäure nachgewiesen.

Die Zahlen der sechsten und siebenten Zeile machen eine geringe Schrumpfung des Quallenkörpers bei der Formolbehandlung wahrscheinlich, doch kann eine solche auch durch die Manipulationen vor der Härtung erfolgt sein.

Krukenberg hat bei Verarbeitung einer ganzen *Rhizostoma* von 5750 g 4·608% feste Bestandteile, 3·008% Asche, bei Verarbeitung eines Würfels aus festest gefügter Gallertmasse 4·961% feste Bestandteile, 3·071% Asche, bei anderen 3·02, 2·884% Asche gefunden. Dazu ist zu bemerken, daß nach seiner primitiven Arbeitsweise ein Verlust an anorganischen Substanzen sehr wahrscheinlich ist.¹ Ladenburg (zitiert bei Krukenberg) fand dagegen an einer Ostseemeduse 2·06, an einer anderen 2·1% Trockensubstanz.

Von einer großen Menge Rhizostomen wurden die Gallertmassen des Schirm- und Gastrovascularteiles möglichst vollständig von den Muskeln und vollständig von den Nesselkrausen getrennt und rasch eingedampft. Vollkommen rein war die Gallertmasse nicht, sie enthielt die Epidermis, respektive das Endothel der sie durchsetzenden Kanäle und die vereinzelt, stark mit Neutralrot tingierbaren, rundlichen Zellen. Der beim Eindampfen unlöslich gebliebene Rückstand wurde filtriert und mit Wasser chlorfrei gewaschen; es war unsere Absicht, ihn auch sulfatfrei zu waschen, doch wurde davon Abstand genommen, als eine Spur Biuretreaktion gebender Substanzen in Lösung zu gehen begann. Nun wurde getrocknet und mit Weingeist und Äther erschöpft, wodurch etwa 9% des Gesamtgewichtes gelöst wurden. Die vereinigten Alkohol- und Ätherextrakte hinterließen nach dem Abdampfen einen dickflüssigen, braunen Rückstand von ichthyolähnlicher Konsistenz und tranigem Geruch; leider wurde er versehentlich weggeworfen.

¹ Studien, I. Reihe, 2. Abt., p. 88. Ein offenkundiger Rechenfehler ist in obigen Angaben korrigiert.

Der in Alkohol und Äther unlösliche Anteil gab 23·5% Asche, welche mit Salzsäure schwach aufbrauste. Das Gas war Kohlensäure und Schwefelwasserstoff. Die Analyse der Asche ergab:

SO ₃	44·26%
P ₂ O ₅	7·67
SiO ₂	5·24
CaO	40·88
Fe	Spuren
MgO	1·30

Durch Behandlung mit viel kalter, einprozentiger Salzsäure wurde die Hauptmenge des Gipses gelöst, schließlich enthielt der ungelöste Teil nur 1·5% Asche. In die mit Salzsäure erhaltenen Waschwässer waren aber kleine Mengen stickstoffhaltiger Substanz übergegangen.

Von dem gereinigten Material wurde eine Elementaranalyse ausgeführt. Es wurden erhalten:

Kohlenstoff	52·30%
Wasserstoff	7·22
Stickstoff	10·17
Schwefel	1·70
Phosphor	0·38
Asche	1·5
Jod	fehlt

Belege.

0·1512 g gaben 0·0970 g Wasser, 0·2896 g Kohlensäure, entsprechend 7·18% Wasserstoff, 52·24% Kohlenstoff.

0·1668 g gaben 0·1082 g Wasser, 0·3203 g Kohlensäure, entsprechend 7·26% Wasserstoff, 52·37% Kohlenstoff.

0·2526 g nach Kjeldahl brauchten 25·1 cm³ $\frac{1}{4}$ normaler Schwefelsäure gegen 44·5 cm³ $\frac{1}{10}$ normaler Kalilauge.

0·2839 g nach Kjeldahl brauchten 25·1 cm³ $\frac{1}{4}$ normaler Schwefelsäure gegen 42·0 cm³ $\frac{1}{10}$ normaler Kalilauge.

0·1872 g gaben nach Dumas 16·5 cm³ trockenen Stickstoff bei 18·4° und 743 mm Druck.

0·2398 g gaben nach Dumas 21·5 cm³ trockenen Stickstoff bei 18·6° und 741 mm Druck.

0·3304 g gaben, mit Soda und Salpeter geschmolzen, 0·0409 g Bariumsulfat.

1·1474 g gaben, mit Soda und Salpeter¹ geschmolzen, 0·2653 g Phosphor-ammoniummolybdat.

0·5070 g gaben 0·0076 g Asche, welche nur aus Kieselsäureanhydrid bestand, keine Spur von Phosphorsäure, Schwefelsäure und Calcium enthielt. Zur Konstatierung, daß der gefundene Phosphor organisch gebunden ist, wurden überdies 0·5 g des Präparates mit einprozentiger Salzsäure mehrere Stunden lang auf dem Wasserbad erhitzt; in der Lösung wurde keine Phosphorsäure gefunden.

10 g des (gipshaltigen) Ausgangsmaterials¹ (vor der Reinigung mit kalter, einprozentiger Salzsäure) wurden mit 5 g jodfreier, wasserfreier Soda im Platintiegel vorsichtig erhitzt, schließlich mit wenig Salpeter vollständig verascht. Die aus der Schmelze erhaltene Lösung war frei von Jod.

Über die Resultate der Spaltungsversuche wird später berichtet werden.

Was die anorganischen Bestandteile des Medusenkörpers anbelangt, so sind nur von Macallum (l. c.) vollständige Analysen ausgeführt worden, und zwar unter Berücksichtigung der Zusammensetzung des in der Nähe der Medusen entnommenen Meerwassers. Die untersuchten Medusenarten waren *Cyanea arctica* und *Aurelia acidula* aus der Gegend von St. Andrews und von Canso.

Krukenberg² hatte schon einzelne Daten über die Differenzen gegeben, welche der Chlorgehalt des Medusenkörpers gegenüber dem umgebenden Meerwasser aufwies. So wurde bei einer *Rhizostoma* aus dem Golf von Triest ein um 0·02% höherer Chlorgehalt gefunden, bei einer *Rhizostoma* aus dem salzarmen Étang de Berre fand sich aber eine Differenz von fast 0·4%. In letzterem Falle liegt die Vermutung nahe, daß die Qualle aus einer salzreicheren Meeresströmung auf kurze Zeit in brackisches Wasser gekommen sei.

Aber Macallum's Analysen ergaben, wenn auch nicht so große, doch nicht unbedeutliche Differenzen in den Mengen einzelner Bestandteile der Medusenkörper sowohl untereinander als auch verglichen mit der Zusammensetzung des zugehörigen Meerwassers. Im wesentlichen wurde in den Medusen weniger Schwefelsäure und Magnesium, etwas

¹ Was ungefähr der wasserunlöslichen Substanz von 20 kg Medusengallerte entspricht.

² Studien, II. Reihe, 4. Abt., p. 1.

weniger Natrium (Natrium wurde indirekt bestimmt) gefunden als im zugehörigen Seewasser, dagegen wurde weit mehr Kalium gefunden, und zwar anscheinend dem Stickstoff- und Phosphorgehalt proportional; der Calciumgehalt war bei *Cyanea* geringer als der des umgebenden Seewassers, bei *Aurelia* größer. Aus den Versuchen Macallum's geht unzweifelhaft hervor, daß die beiden untersuchten Medusenarten in ihrem Salzgehalt spezifische Differenzen, entsprechend einer selektiven Funktion, aufweisen, welche auch von der Zusammensetzung des umgebenden Meerwassers einigermaßen unabhängig sind. Bezüglich weiterer wichtiger Schlußfolgerungen Macallum's muß auf das Original (p. 229 und 239) verwiesen werden.

Nach diesen Erfahrungen schien es, um ein eindeutiges Urteil zu gewinnen, wünschenswert, 1. den möglichsten Ausgleich der in dem Quallenkörper befindlichen Salze mit der Umgebung zu erreichen, da ja die einzelnen Meeresströmungen nicht nur in ihrer Konzentration Unterschiede aufweisen, 2. bei der Verschiedenheit der Struktur der Quallengewebe die einzelnen Gewebe für sich in bezug auf die Salzzusammensetzung zu untersuchen, 3. diese Untersuchungen in der Art auszuführen, wie A. Bethe¹ seine Untersuchungen über die Bedeutung der Elektrolyten für die rhythmischen Bewegungen der Medusen, speziell der Rhizostomen, vorgenommen hat, nämlich die Aufnahmefähigkeit lebender Quallen für bestimmte Ionen, respektive Salzzusätze analytisch zu untersuchen. Für die ersten orientierenden Versuche in bezug auf den Gallertkörper dürften die zweckmäßigsten Objekte die Äquoreen sein, bei welchen die Gallertmasse sich leicht von den übrigen Organen abtrennen läßt.

Punkt 2 und 3 der aufgestellten Postulate gehört wegen Mangels an Material noch zu unseren Vorsätzen, über eine Untersuchung, entsprechend Punkt 1, sei berichtet:

Eine *Rhizostoma* aus der Triester Bucht lebte im hiesigen Laboratorium in etwa 10 l Meerwasser durch mehr als eine Woche. Mit Einschluß der Transportzeit dürfte sie 10 Tage auf

¹ Pflüger's Arch., 127, p. 219, und 124, p. 541.

dieses Wasserquantum angewiesen gewesen sein. Sie war am Ende dieser Zeit vollkommen munter. Sie wurde auf Filtrierpapier möglichst vom anhaftenden Wasser abgetrocknet; ihr Gewicht betrug 154 g. In einem Becherglase wurde sie nun auf dem Wasserbad langsam erwärmt, die gewonnene Flüssigkeit wurde durch ein aschefreies Filter dekantiert, der Rückstand wurde anhaltend ausgewaschen, die Filtrate und Waschwässer wurden in einem Meßkolben vereinigt. Der Filtrerrückstand wurde in einem Porzellantiegel vorsichtig verascht. Es blieben 0·0147 g Asche, welche frei war von Kupfer, Blei und Mangan, Spuren von Eisen enthielt, im übrigen aus 0·0035 g CaO, 0·0020 g MgO, 0·0066 g P₂O₅, 0·0020 g SiO₂ bestand.

Der wasserlösliche Teil reagierte schwach alkalisch; er enthielt:

Cl	3·1087 g
SO ₃	0·3413
SiO ₂	0·0118
P ₂ O ₅	0·0043
CaO	0·1068
MgO	0·3554
Fe ₂ O ₃	0·0018
Al ₂ O ₃	0·0007
Mn	—
Na ₂ O	2·2295
K ₂ O	0·1079
Li	Spur
NH ₃	vorhanden
Kontroll sulfate	6·615
Kontroll sulfate, berechnet	6·637 g (nach Abzug der P ₂ O ₅ als Pyrophosphat, dagegen nicht der SiO ₂).

Belege.

Der wasserlösliche Teil war auf 500 cm³ gestellt.

40 cm³ (für Halogen) gaben 0·9947 g AgCl, 0·0085 g Ag = 0·2487 g Chlor.

Brom und Jod¹ wurden nicht bestimmt.

¹ Jod konnte in 200 cm³ einer spontan abgeflossenen Flüssigkeit aus *Rhizostoma* nicht nachgewiesen werden, siehe auch p. 601.

100 cm^3 gaben 0·1991 g $BaSO_4 = 0·06827$ g SO_3 .

140 cm^3 gaben 0·0033 g SiO_2 , 0·0002 g Al_2O_3 , 0·0005 g Fe_2O_3 , 0·0019 g P_2O_5 , 0·0012 g P_2O_5 , 0·0299 g CaO , 0·2746 g $Mg_2P_2O_7 = 0·0995$ g MgO .

100 cm^3 gaben 0·8743 g Alkalichlorid, 0·1112 g K_2PtCl_6 .

50 cm^3 gaben 0·6615 g Kontrollsulfate.

Das Meerwasser, in welchem die *Rhizostoma* gelebt hatte (s bei 20° = 1·025), enthielt in 100 cm^3 :

Cl	2·0612 g
SO_3	0·2354
SiO_2	0·0029
P_2O_5	min. Spur
CaO	0·0841
MgO	0·2252
Fe	min. Spur
Al	Spur
Na_2O	1·5107
K_2O	0·0564
Li	Spur
Kontrollsulfate	4·448
Kontrollsulfate, berechnet	4·442

Belege.

50 cm^3 gaben 4·1684 g Halogensilber = 1·0306 g Chlor.

Brom und Jod wurden nicht nachgewiesen.

250 cm^3 gaben 1·7165 g $BaSO_4 = 0·5885$ g SO_3 .

500 cm^3 gaben 0·0146 g SiO_2 , 0·4206 g CaO , 3·1066 g $Mg_2P_2O_7 = 1·1259$ g MgO .

100 cm^3 gaben 2·9355 g Alkalichlorid, 0·2905 g K_2PtCl_6 .

50 cm^3 gaben 2·2240 g Kontrollsulfate.

Auf je 100 g berechnet, ergibt sich folgende Zusammenstellung:

100 g <i>Rhizostoma</i>	100 g Seewasser
Cl 2·0186 g	2·0110 g
SO_3 0·2216	0·2297
SiO_2 0·0090	0·0028

100 g <i>Rhizostoma</i>	100 g Seewasser
P ₂ O ₅ 0·0071	min. Spur
CaO 0·0716	0·0821
MgO 0·2321	0·2197
Fe ₂ O ₃ 0·0012	min. Spur
Al ₂ O ₃ 0·0005	Spur
Na ₂ O 1·4477	1·4739
K ₂ O 0·0701	0·0550
Li Spur	Spur
NH ₃ vorhanden.	

Es ist darauf hinzuweisen, daß der unlösliche Teil der Asche hier mit in Rechnung gezogen ist, daß er aber wahrscheinlich zum Teil schon ursprünglich ungelöst vorhanden war, wie wohl auch mehr als die ungelöst nachgewiesene Kieselsäure; daß auch bei anderen Substanzen es wahrscheinlich ist, daß ein Teil vielleicht in organischer Bindung, ursprünglich ungelöst sein mochte.

Wir finden zwar kleinere Differenzen als Macallum, aber doch solche, die über Analysenfehler hinausgehen. Besonders auffallend ist wie bei Macallum ein hoher Wert für Kalium, außerdem ist der hohe Siliciumwert (Macallum hat Silicium nicht bestimmt, vgl. l. c., p. 236), der geringere Calcium-, der gesteigerte Magnesiumgehalt hervorzuheben. Daß die Phosphate zum Teil in organischer Bindung vorhanden sind, zeigte die auf p. 600 mitgeteilte Analyse.

Die Differenzen sind wohl nur durch selektive Funktion zu erklären, im Vergleich mit Macallum's Untersuchungen wird auch eine Artspezifität der einzelnen Medusen bezüglich ihrer anorganischen Stoffe anzunehmen sein.

C. Über den blauen Farbstoff der *Rhizostoma* (Zoocyanin).¹

Seit Krukenberg als erster systematische Untersuchungen über tierische und pflanzliche Farbstoffe ausgeführt und

¹ In einem kurzen Vortrag habe ich einiges über diesen Farbstoff beim internationalen Physiologenkongreß in Heidelberg 1907 berichtet.

proponiert hat, unter anderem auch die Annahme zurückgewiesen hat, daß blaue und violette Farbstoffe niederer Tiere Anilinfarbstoffe seien, sind mehrere solcher Farbstoffe eingehender studiert worden. Hier seien nur solche erwähnt, welche sich dem Pigment der *Rhizostoma* ähnlich verhalten.

Die Brüder De Negri¹ hatten den blauen Farbstoff der *Velella limbosa* als unlöslich in Äther, Chloroform, Benzin, Schwefelkohlenstoff, löslich in Wasser gefunden. Seine wässrige Lösung wurde durch Säuren rot, beim Erwärmen gelb, durch Alkalien amethystfarben, der ursprüngliche Farbenton war nicht restituierbar. Chlorkalk und »Terpentinenz« entfärbten, Aceton und Benzaldehyd färbten rot. Besondere spektrale Eigenschaften fehlten.

M' Kendrick² fand, daß der Blaufarbstoff von *Cyanea* und *Aurelia* aus mikroskopischen Körnchen besteht, durch Maceration mit Seewasser dem Gewebe entzogen werden kann. Ammoniak fällte den Farbstoff amorph; der Farbstoff gab ein charakteristisches, dem des Farbstoffes von *Stentor coeruleus* ähnliches Spektrum (zwei Absorptionsstreifen; im Rot und im Orange).

Krukenberg³ will keineswegs die Identität des blauen Farbstoffes von *Rhizostoma* mit denen von *Cyanea*, *Aurelia* und *Velella* behaupten. Er trocknete die Pigmentteile auf Glasplatten bei intensivem Sonnenlicht ein, fand Veränderungen des Pigmentes durch stärkeren Laugen- oder Säurezusatz, durch Alkohol, Chloroform etc., wobei braunrote Farbentöne entstehen. Der Farbstoff war löslich in Wasser, erfuhr durch schwach ammoniakalisches wie schwach angesäuertes Wasser keine auffallende Veränderung, Natronlauge wie Ammoniak färbten die wässerigen Lösungen amethystfarben, Kochsalz fällt die Lösungen. Alkohol, Aceton, Acetaldehyd, Benzol, Chloroform, Amylalkohol etc. verändern den in Wasser gelösten Farbstoff, es entstehen braune Flocken, Gerbsäure, Borsäure verändern ihn selbst nach Tagen nicht. Viel Kochsalz fällt den

¹ De Negri, zitiert Jahresbericht f. Tierchemie VII, p. 85, und Krukenberg, Studien, II. Reihe, 3. Abt., p. 63.

² J. of Anat. and Physiol, XV, p. 261.

³ Studien, II. Reihe, 3. Abt., p. 65.

Farbstoff mehr oder weniger vollständig aus seiner Lösung, ebenso Bleiacetate; Quecksilberchlorid, Eisenchlorid, Jodjodkalium dagegen nicht. Der Farbstoff wurde durch Glycerin nicht verändert, wurde aber durch Glycerin nicht aus den Geweben extrahiert.

Die Gerbsäurefällung des Farbstoffes war eine vollständige. Der ausgewaschene Niederschlag war schwefelarm, eisenhaltig, frei von Kupfer und Mangan. Bei 55 bis 60° wurde der Blaufarbstoff purpurfarbig, bei höherer Temperatur braun. Salpetersäure zerstörte ihn rasch.

Über die charakteristischen Absorptionerscheinungen gibt Krukenberg eine Abbildung, aus welcher zu entnehmen ist, daß der im Gewebe ungelöste Farbstoff ein etwas anderes Spektrum zeigt als seine wässrige Lösung. Letztere hat drei charakteristische Absorptionsstreifen bei (aus Krukenberg's Abbildung auf Wellenlängen näherungsweise umgerechnet)

$\mu\mu$ 640—624, 605—579, 564—546.

Nach dem Erwärmen des Farbstoffes wurde der mittlere Streifen gegen Blau verschoben, noch mehr durch Ammoniakzusatz. Der bei direktem Lösen durch Ammoniak aus dem Gewebe erhaltene Farbstoff zeigte ein anderes Spektrum als der wässrig gelöste auf Ammoniakzusatz. Betreffend zahlreiche andere Details sei auf das Original verwiesen. Krukenberg meinte, daß Mc. Kendrick's *Cyanea*-Pigment das gleiche Spektrum gezeigt habe wie sein *Rhizostoma*-Pigment; M'Kendrick habe den dritten Streifen übersehen. Für das *Rhizostoma*-Pigment wird der Name Cyanein vorgeschlagen.

Etwa zu gleicher Zeit hatte Blanchard¹ gefunden, daß sich der wässrige Auszug des *Rhizostoma*-Farbstoffes beim Kochen unter Trübung entfärbe; ähnlich wirkten Salpetersäure, Salzsäure, Schwefelsäure. Essigsäure, Lauge, Schwefelammon veränderten ihn nicht, Ammoniak fällte blaue Flocken. Blanchard beobachtete bei dem Farbstoff wie Krukenberg drei Absorptionsstreifen.

¹ C. R. soc. biol. 1882, p. 724.

Über die histologischen Verhältnisse des Pigments führt schon Claus¹ an, daß es in feinen Körnchen im Gewebe ausgeschieden sei, mit keinem Organ in einiger Verbindung stehe.

Ausführlich hat J. Colasanti² seine Erfahrungen über das Pigment dargestellt. Er wies darauf hin, daß es sich in situ in dem Zellularprotoplasma zu bilden scheine, »welches ein gemeinsames Eigentum der Epidermoidalzellen einiger anderer Tiere ist«. Durch Druck oder Kochen oder durch die gewöhnlichen Lösungsmittel sei es nicht extrahierbar, gehe aber in längstens 24 Stunden durch reines Wasser in Lösung; die blaue Lösung wird bei 50° rost- oder salmrot; bei der Siedehitze verschwindet die Farbe. Die Blauviolettlösungen sind dichromatisch, leicht fluoreszierend, entfärben sich langsam im Sonnenlicht, geben ein dreibändriges Spektrum, welches, in der willkürlichen Skala Bunsen's dargestellt, auf Wellenlängen ungefähr übertragen, die Lichtauslöschungen bei $\mu\mu$ 629—611, 586—568, 549—536 ergibt. Die Farbstofflösungen faulten leicht, dabei verschwinden die Absorptionsstreifen, die Fäulnis kann durch Kaliumacetat verhindert werden. Die Absorptionsstreifen verschwinden auch beim Schütteln mit Luft im Licht. Phenol und Thymol lassen sich als Antiseptica nicht verwenden, sie verändern dauernd das Pigment. Im Gewebe bleibt der Farbstoff auch beim Trocknen dauernd blau. Colasanti meint, daß die optischen Verschiedenheiten, welche Rey-Lankester für Stentorin, M' Kendrick für *Cyanea*- und *Aurelia*-Farbstoff gegenüber seiner Spektraldarstellung gefunden haben, von Unvollkommenheit der Instrumente oder von Zersetzung ihrer Lösungen herrühren.

Die wässrigen Lösungen gerinnen nicht beim Erwärmen, entfärben sich aber bei 50°. In alkalischen Lösungen wurde die Blaufärbung zuerst viel intensiver, dann trat ein leichter, flockiger Niederschlag ein, die Blaufärbung wurde lilaviolett, blieb auch bei langem Kochen bestehen, verschwand aber durch Essigsäure. Die wässrigen Pigmentlösungen reagierten sauer, bei der Fäulnis wurden sie alkalisch. In der Rötung der Lösungen

¹ Diese Sitzungsberichte, 28 (1877).

² Moleschott's Untersuchungen, XIII, Heft 6.

durch Säuren vermutete Colasanti einen Oxydationsprozeß. Bei der Einwirkung von Laugen entstand eine Amethystlila-farbe, der Farbstoff fiel in Flocken aus. Ammoniak wirkte ähnlich wie Laugen, Salpetersäure gab aber wieder eine Blaufärbung. Ozon entfärbte rasch, Chlor, Bromdämpfe und Ammon-sulfid langsamer. Alkohol oder Äther entfärbten rasch. Wasserstoff in statu nascendi, welcher Aplysienpigment entfärbt, war hier wirkungslos.

Obwohl das Blaupigment der *Veella spirans* einen anderen Farbenton hat als das Blaupigment von *Cassiopeia* oder *Rhizo-stoma*, haben sie doch teils physikalisch, teils chemisch gemeinsame Eigenschaften, ebenso wie die Blaufarbstoffe anderer Hydromedusen, des *Irenaeus*, die blauen Kerne der Salpen, der Siphonophoren, des *Stentor coeruleus* etc., »es nähern sich die Farbstoffe der erwähnten verschiedenen Tiere einem einzigen Farbstoff«, für welchen Colasanti den Namen Zoo-cyanin vorschlägt. —

Die Löslichkeit in Weingeist und Chloroform, wie die geringere Zeretzlichkeit weist dem in mancher Hinsicht ähnlichen Violettfarbstoff von *Aplysia punctata*¹ eine ganz andere Konstitution zu.²

Nach eigenen früheren Erfahrungen über Pigmente von Seetieren schien die Bildung eines flockigen Niederschlages mit Ammoniak und Laugen als Phosphat- oder Magnesia-niederschlag verdächtig; die Beschreibungen Colasanti's über die Reaktionen des Farbstoffes an der Luft und am Licht schienen auch die Deutung als sekundäre Zersetzungerscheinungen zuzulassen, da der im Gewebe befindliche Farbstoff trotz der hygroskopischen Salze des Meerwassers nach Colasanti am Licht unverändert bleibt.

Krukenberg fand, daß der Blaufarbstoff auch in wässe-riger Lösung, dem intensiven Sonnenlicht ausgesetzt, nicht alteriert wird, was ich bestätigen kann. Im allgemeinen möchte

¹ Raff. Paladino, Hofm. Beiträge, 11, p. 65; C. A. Mac Munn, J. of Physiol. (engl.), 24, p. 1; A. Briot, C. R. soc. biol., 56, p. 899.

² v. Fürth's Vergleichende chemische Physiologie der niederen Tiere, p. 512, gibt eine übersichtliche Zusammenstellung der bisher bekannten Pigmentreaktionen.

ich vorwegnehmen, daß ich bei Differenzen in den Beobachtungen von Krukenberg und Colasanti die Beobachtungen des ersteren bestätigen konnte.

Die geäußerten Vermutungen, betreffend den Niederschlag durch Laugen und die Zersetzung am Licht, konnten leicht insofern geprüft werden, als der aus den Farbstofflösungen von Rhizostomen durch Laugen in der Kälte entstehende Niederschlag tatsächlich vorwiegend Magnesiumverbindungen enthielt; andererseits gaben abgetrennte Teile des blaugefärbten Schirmandes, an der Luft getrocknet, mit Wasser einen Farbstoffextrakt, welcher an der Luft abgedunstet, beim folgenden Befeuchten mit Wasser und wiederholtem Abdunsten den Farbenton behalten konnte, wenn bakterielle Verunreinigungen abgehalten wurden. Dagegen änderte unreines Wasser die Farbe, ehe noch ein Fäulnisgeruch auftrat.

Es schien in Anbetracht der Differenzen in den Beobachtungen der zitierten Autoren wichtig, eine Reindarstellung des Farbstoffes zu versuchen, um die Reaktionen des Farbstoffes frei von jenen der Verunreinigungen zu erhalten. Die Darstellung gelingt unschwer durch Extraktion der pigmentführenden Teile mit viel destilliertem Wasser bei Zimmertemperatur, Filtration der intensiv violettblauen Lösung auf großen Faltenfiltern und fraktionierte Fällung mit Ammonsulfat. Verarbeitet wurden sukzessive die Pigmentteile von etwa 300 großen Rhizostomen.

Mit Rücksicht auf die genauen Angaben Krukenberg's über das Verhalten des Blaufarbstoffes im Gewebe, welche Angaben ich vollkommen bestätigen kann, sei auf sie verwiesen, und nur die Eigenschaften der wässrigen Lösungen seien näher geschildert. Ich möchte nur hervorheben, daß aus den Differenzen in der Lichtauslöschung des festen und des gelösten Blaufarbstoffes noch nicht auf eine Zerlegung geschlossen werden kann, weil auch der mit schwefelsaurem Ammon gefällte Farbstoff eine von seiner Lösung verschiedene Lichtextinktion zeigt.

Die durch Extraktion mit reinem, destilliertem, von Kohlensäure durch Durchlüftung befreitem Wasser aus den *Rhizostoma*-Gewebe erhaltenen Farbstofflösungen reagierten an-

fangs neutral, niemals sauer; bei längerem Stehen wurden sie alkalisch und nahmen den charakteristischen Geruch der Gerberlohe an. Dann trat rasch eine Zersetzung ein. Auf Zusatz von geringen Mengen von Ammoniak wurde niemals eine intensivere Färbung (in frischen, unzersetzten Lösungen) bemerkt. Die filtrierten, klaren Lösungen waren im durchfallenden Licht prachtvoll blauviolett, im auffallenden Licht intensiv purpurrot. Die Lösung zeigte ein dreistreifiges Absorptionsspektrum, wie es Krukenberg beobachtet hat.

Stets war der Farbstoff gelöst, sobald der suspendierte Schleim sich gelöst hatte.

Auf Zusatz von festem (neutralem!)¹ Ammonsulfat, bis die Flüssigkeit ein spezifisches Gewicht von 1·1 zeigt, entsteht ein dicker, schleimig-gallertiger Niederschlag, meist von einer rauchbraunen Färbung, welcher sich in Wasser leicht löst, die Spektralreaktionen des Blaupigmentes in nur geringem Grade zeigt. Die von diesem Niederschlag gut zu filtrierende Flüssigkeit gibt durch weiteren geringfügigen Ammonsulfatzusatz keine Fällung. Erst bei einer Ammonsulfatkonzentration von etwa 22%₀ entsteht eine reichliche Fällung, zwischen einem Ammonsulfatgehalt von 22 bis 27%₀ ($s = 1·15$) war der Farbstoff bis auf minimale Anteile gefällt. Es bleibt neben einer sehr geringen Menge Blaufarbstoff ein hellbrauner Farbstoff in der Lösung, welcher spektroskopisch nichts Charakteristisches zeigt; bei weiterem Ammonsulfatzusatz wird er auch gefällt. Bei weiterem gesteigertem Ammonsulfatzusatz (zirka 35 bis 40%₀) entsteht noch ein gallertiger, fast farbloser Niederschlag, der nicht dialysierbar ist, durch Dialyse von Ammonsulfat befreit, eine schöne Biuretreaktion gibt; nach Zufügen von mehr als 40%₀ Ammonsulfat wurden keine Fällungen mehr erhalten.

In konzentrierteren Farbstofflösungen tritt die Farbstofffällung etwas früher, in verdünnteren bei etwas höheren

¹ Solche Bemerkungen mögen dem Laboratoriumschemiker als naiv vorkommen; sie beziehen sich auf die Arbeitsverhältnisse am Meere, wo man in der Wahl der Reagenzien nicht immer vorsichtig ist. Die Meinung, daß manche differente Resultate auf primitive Verunreinigungen zurückzuführen sind, hat einiges für sich.

Ammonsulfatkonzentrationen ein.¹ Abgesehen von diesen Differenzen, welche sich durch den Farbstoffgehalt erklären ließen, war kein Unterschied in der Fällbarkeit des aus dem blauen Mantelsaum gewonnenen Farbstoffes gegenüber dem aus den Nesselorganen, respektive Rhizopodien gewonnenen zu beobachten.

Es ist noch zu erwähnen, daß bei einzelnen Rhizostomen sich Unterschiede in der Färbung finden. Die Jugendformen haben einen reinen blauen Farbenton, größere, ausgereifte Exemplare einen etwas mehr violetten. Ich glaube beobachtet zu haben, daß der Farbstoff der Jugendformen etwas leichter fällbar ist; doch sind solche Beobachtungen schwer exakt zu machen, ohne Gefahr zu laufen, durch Zersetzung Material zu verlieren. Es wurde als vorteilhafter angesehen, die Fällung des Farbstoffes mit Ammonsulfat so rasch als möglich durchzuführen.

Die Gesamtfällung des Blaufarbstoffes durch Ammonsulfat läßt sich gut filtrieren und mit einer gleich konzentrierten Ammonsulfatlösung auswaschen. Dabei geht aber immer etwas Farbstoff in Lösung; wie sich ergeben hat, ist die Ammonsulfatfällung nicht eine ganz quantitative. Die Verhältnisse dürften hier analoge sein, wie Osborne, Mendel und Harris² sie bei der Globulinfällung der *Ricinus*-Bohnen beobachtet haben.

Der ausgewaschene Farbstoff wurde in Wasser gelöst und mit Ammonsulfat fraktioniert gefällt, diese Fällungen wurden nochmals fraktioniert unter Kontrolle mittels des Spektrophotometers, bis optisch gleichartige Substanzen erhalten wurden. Von dieser Trennung und der optischen Charakterisierung soll später die Rede sein, vorerst mögen die allen so gereinigten Farbstofffraktionen gemeinsamen Eigenschaften aufgezählt werden.

¹ Ammoniakalische Lösungen werden durch Ammonsulfat bei niedrigerer Konzentration gefällt als neutrale. Z. B. aus einer bei einem Ammonsulfatgehalt von 22%₀ klaren Farbstofflösung wurde durch Ammoniakzusatz ein Teil des Farbstoffes gefällt.

² Zeitschr. f. analyt. Chemie, 46 (1907), p. 213.

Die Blaufarbstoffe sind durch Dialyse vom Ammonsulfat zu befreien; die erhaltene Lösung ist sehr empfindlich, es entstehen bei anhaltender Dialyse violette und später braune Niederschläge, ebenso ist eine Veränderung beim Einengen der salzfreien Lösung im Vakuum kaum hintanzuhalten. Es wurden nach dem Trocknen bei Zimmertemperatur schwarzbraune, wasserunlösliche Krusten erhalten.

Bei Gegenwart von Salzen sind die Farbstoffe recht beständig. So konnten die Ammonsulfatfällungen mehrere Wochen, auf den Filtern getrocknet, verwahrt werden, ohne sich in ihren optischen Qualitäten oder in ihrer Löslichkeit in Wasser zu ändern. Auch das Eindunsten im Vakuum bei Gegenwart von Ammonsulfat verändert die Farbstoffe nicht.

Allerdings, nach längerer Zeit, etwa einem Jahre, war auch in diesen Proben der größte Teil des Farbstoffes schwarzbraun und wasserunlöslich geworden.

Wird die wässrige Lösung erwärmt, so tritt bei 55° eine Braunfärbung ein; die Flüssigkeit bleibt klar. Zuerst verschwindet der Spektralstreifen in Rot, dafür entsteht eine Auslöschung im Blaugrün. Wird die Lösung verdampft, so scheidet sich der zersetzte Farbstoff unlöslich ab.

Durch Weingeist und Aceton entsteht rasch eine Braunfärbung und folgende Ausscheidung von braunen Flocken. Auch reiner Amylalkohol, Toluol und Chloroform bewirken diese Veränderung des Farbstoffes. Dabei tritt ein an Urobilin erinnernder Streifen im Blaugrün des Spektrums auf.

Die Wirkung von Säuren wurde gleich gefunden, wie Krukenberg und Colasanti es beschrieben haben. Nur zeigte sich eine größere Empfindlichkeit, wenn die Beobachtungen sich auf längere Zeit erstreckten. Auch gegen Kohlensäure im destillierten Wasser ist der Farbstoff empfindlich. Laugen zerstören den Farbstoff langsamer als Säuren, Ammoniak langsamer als fixe Alkalien; es entsteht eine klare, pfirsichblütenfarbene Lösung. Bei Gegenwart von durch Lauge fällbaren Substanzen kann der ganze Farbstoff an den Niederschlag fixiert und die Flüssigkeit ganz farblos werden.

Die Lösung bleibt aber vollkommen klar, wenn sie und die zu verwendende Lauge mit einem Überschuß von Natrium-

phosphat versetzt und nach dem Absetzen der Niederschläge filtriert worden waren und dann erst die Lauge zur Farbstofflösung zugesetzt wird. Auch bei gelindem Erwärmen und tagelangem Abstehenlassen tritt keine Trübung ein.

Eine Erwärmung auf etwa 40° beschleunigt die beschriebenen Reaktionen wesentlich.

Formaldehyd gibt mit den Farbstofflösungen keinen Niederschlag, bei der Härtung der Gewebe mit Formaldehyd wird der Farbstoff in seinen optischen Eigenschaften nicht verändert, jedoch ist er dann nicht mit Wasser herauszulösen. Er verhält sich in dieser Hinsicht gleich wie die Hauptmenge der organischen stickstoffhaltigen Substanzen der Quallengallerte, welche zum Teil an sich in Wasser löslich sind, nach der Formolbehandlung nicht mehr. Nach vielen Monaten blaßten die formolgehärteten, schön blauen Pigmentanteile, sowohl wenn sie in geschlossenen Gefäßen, als auch wenn sie offen aufbewahrt waren, ab und zeigten nur einen braunvioletten Farbenton.

Phosphorwolframsäure gibt einen voluminösen, blauen, durch Salzsäure rot werdenden Niederschlag, Phosphormolybdänsäure einen gelben, Kaliumwismutjodid und Jodjodkalium (Gegensatz zu Krukenberg) braune Niederschläge, welche letztere drei in Salzsäure unlöslich sind, Kaliumquecksilberjodid gibt einen blauen, durch Salzsäure hellviolett werdenden Niederschlag, Gerbsäure einen blauen Niederschlag.

Die Fällungen sind quantitativ, die Flüssigkeit über den Niederschlägen enthält keinen Farbstoff.

Ferrocyankalium plus Essigsäure gibt anfangs keine Reaktion, nach einigen Stunden spärliche Flöckchen, Salpetersäure gibt bei vorsichtigem Unterschichten eine gelbe Trübung, beim vorsichtigen Abdampfen mit Salpetersäure bleibt ein gelber Rückstand, welcher durch Lauge orangefarben wird. Wird nach dem Trocknen der Salpetersäureprobe noch längere Zeit erwärmt, so tritt die Xanthoproteinreaktion nur mehr schlecht auf.

Wird die blaue Färbung durch Aufkochen mit Salzsäure oder Lauge zerstört, so gibt die resultierende Lösung eine schöne Biuretreaktion.

Quecksilberchlorid gibt anfangs keine Fällung, später eine sich immer mehr verdichtende Trübung und dann einen Niederschlag, rascher auf Salzsäurezusatz.

Indifferente Fällungsmittel reißen Farbstoff mit, z. B. Chlorbarium oder Bleisalze. Wird eine verdünnte, sulfathaltige Farbstofflösung mit essigsauerm Barium ausgefällt, so gibt das Filtrat weder mit neutralem noch mit basisch essigsauerm Blei eine Fällung. Eisenchlorid gibt anfangs eine Verfärbung, ganz allmählich eine reichliche Fällung.

Millon's Probe ist schwach positiv, die Tryptophanreaktionen sind negativ, die mit Salzsäure längere Zeit gekochte, ammoniumsulfatfreie Lösung gibt mit Fehling'scher Flüssigkeit keine Reduktion.

Natriumhypochlorit gibt sofortige Entfärbung bis auf einen hellgelben Ton unter Gasentwicklung, Jodsäure eine langsamere Entfärbung, keine Jodausscheidung. Wasserstoffsuperoxyd (Merck) bewirkt anfangs keine Veränderung, langsam tritt Abblässen der Lösung und geringe Gasentwicklung ein.

Hydrazinhydrat wirkt anfangs wie Ammoniak, die blaue Lösung wird schön rot, die Spektrallinien werden sehr blaß; im Grünen des Spektrums tritt eine Verdunklung ein und ein schärferer Streifen im Blaugrün. Später entwickelt sich eine geringe Menge Gas und die Lösung verblaßt vollständig.

Der durch Ammonsulfat entstandene Niederschlag ist in Glycerin unlöslich (vgl. Krukenberg, zit. p. 607). Die Ammonsulfatfällungen waren immer amorph.

Gegen das Vakuum ist der Blaufarbstoff unempfindlich; wenigstens kann gesagt werden, daß seine ammoniumsulfathaltige Lösung bei einer Temperatur von zirka 35° ohne Schaden zur Trockne gebracht werden kann, ohne ihre optischen Eigenschaften zu ändern und ihre Löslichkeit in Wasser einzubüßen. Mit der dialysierten wässrigen Lösung kann wegen der früher geschilderten Zersetzlichkeit dieser Versuch nur soweit angestellt werden, daß gezeigt werden kann, das Evakuieren selbst ändere den Farbstoff nicht.

Daß dem Blaufarbstoff die Rolle eines Respirationsfarbstoffes zukomme, ist demnach nicht anzunehmen.

Nach diesen Erfahrungen schien es zwar zulässig zu sein, die Blaufarbstoffe der *Rhizostoma* als Eiweißkörper aufzufassen, doch mußte noch der Einwand erwogen werden, ob nicht etwa Eiweißkörper dem Farbstoff nur anhaften und seine diversen Reaktionen bewirken.

Es wurden zu diesem Behuf größere Stücke von ungefärbter Quallengallerte mit Wasser maceriert, die Lösungen wurden mit Ammonsulfat fraktioniert gefällt. Dabei wurden innerhalb der Fällungsgrenzen des Blaufarbstoffes keine nennenswerten Fällungen erhalten.

Ein sicherer Beweis dafür, daß die dargestellten Farbstoffe frei seien von organischen ungefärbten Verunreinigungen, werde sich, so konnte man erwarten, bei systematischen spektrophotometrischen Untersuchungen erbringen lassen. Wenn verschiedene Fraktionen die gleichen Lichtextinktionen bei gleichen Konzentrationen ihrer Lösungen aufweisen, so ist damit eine Beimengung nicht färbender Substanzen ausgeschlossen.

Die Konzentration wurde bestimmt durch Eindampfen der Farbstofflösung zur Trockne, längeres Erwärmen im Trockenkasten auf 110°; der Farbstoff wird dabei zwar verändert, jedoch unlöslich; der Rückstand wird mit Wasser und einer Spur Essigsäure aufgenommen, durch ein Ludwig'sches Glaswollfilter filtriert und mit Wasser ausgewaschen.

Diese Untersuchung konnte sich allerdings nur auf die Anwesenheit koagulierbarer Eiweißkörper beziehen, andere Verunreinigungen schienen aber nach der Darstellungsart von vornherein ausgeschlossen und kommen für die Charakterisierung des Farbstoffes, als eines Eiweißkörpers, nicht in Betracht.

So wurden die Lösungen der einzelnen Fraktionen auf ihr Extinktionsvermögen in der Gegend der stärksten Lichtauslöschung (590—580 $\mu\mu$) geprüft; gleichzeitig wurde die Bestimmung der Konzentration vorgenommen. Hierauf wurden die Lösungen auf annähernd gleiche Konzentration verdünnt (um ungleiche Fällungen zu vermeiden, da ungleich konzentrierte Lösungen Unterschiede in ihrer Fällbarkeit zeigten, andererseits, wie schon hervorgehoben, die Fällungen nicht

ganz quantitativ sind) und nun nochmals durch Ammonsulfat-fällung fraktioniert. Diese Fraktionierung wurde höchstens dreimal durchgeführt, obwohl es vielleicht noch notwendig gewesen wäre, zu öfters wiederholten Malen zu fraktionieren. Allein letzteres verbot die Befürchtung, durch Zersetzungen Material zu verlieren. Wie früher erwähnt, konnte kein Desinfektionsmittel, nicht einmal Toluol, den Lösungen zugesetzt werden, ohne die Farbstoffqualitäten zu verändern.

Die einzelnen Fraktionen zeigten in ihrem optischen Verhalten, obwohl im wesentlichen die Farbqualitäten die gleichen waren, doch vor dem Spektrophotometer Unterschiede, welche über die Beobachtungsfehler hinausgehen. Auch für das freie Auge zeigten einzelne Fraktionen etwas verschiedene Farbtöne. Die niederen Fraktionen (durch geringeren Ammonsulfatzusatz) waren mehr blau, die höheren mehr violett; schließlich wurden braune Niederschläge durch Ammonsulfat erhalten.

Da diese Beobachtungen nur für die Kenntnis der Farbstoffe an sich und für die Frage ihrer Reinheit von Interesse sind, weitergehende Schlüsse aus ihnen nicht gezogen werden können, so mögen sie nicht mit allen Details, sondern nur in den wichtigsten Ergebnissen mitgeteilt werden.

Zwei Proben der durch Extraktion der Pigmentteile mit Wasser gewonnenen Farbstofflösungen, welche durch Zusatz von etwa 17% Ammonsulfat und Filtration von den hauptsächlichsten Verunreinigungen befreit worden waren, ergaben nach der Verdünnung auf etwa das zehnfache Volum mit Wasser folgende Extinktionskoeffizienten:

Wellenlänge	Extinktionskoeffizienten	
	Probe vom Jahre 1905	Probe vom Jahre 1908
700	0·054	0·056
671	0·103	—
662	0·134	0·170
646	0·235	0·313
633	0·332	0·431
619	0·306	0·384
605	0·371	0·462

Wellenlänge	Extinktionskoeffizienten	
	Probe vom Jahre 1905	Probe vom Jahre 1908
592	0·451	0·566
580	0·421	0·530
569	0·384	0·487
559	0·378	0·471
549	0·375	0·471
540	0·344	0·443
532	0·323	0·389
524	0·310	0·389
510	—	0·328
497	0·239	—

Da bei den Beobachtungen am Spektrophotometer nicht rein monochromatisches Licht ins Auge kommt, so ist bei den Angaben der Wellenlängen eine Einschränkung zu machen, es sind immer die höchsten beobachteten Wellenlängen angegeben. Über die Beschaffenheit des verwendeten Spektrophotometers und die Art der Beobachtung wird auf die Abhandlung über den Blaufarbstoff von *Crenilabrus pavo*¹ verwiesen.

Nach dreimaliger Fraktionierung in der früher mitgeteilten Weise wurden die auf p. 619 angegebenen Werte erhalten.

Aus diesen spektrophotometrischen Daten kann wohl unter Berücksichtigung der Schwierigkeiten wegen der plötzlich ansteigenden Lichtextinktionen und der dadurch gegenüber den gewohnten spektrophotometrischen Versuchen verursachten größeren Fehler geschlossen werden, daß die untersuchten Farbstoffe frei waren von nennenswerten Mengen koagulierbarer, ungefärbter Verunreinigungen. Solche müßten in allen drei Fraktionen ganz gleichmäßig mitgefällt worden sein. Überdies ist auf das sehr große Lichtextinktionsvermögen dieser Farbstoffe hinzuweisen, welches in seiner maximalen Lichtauslöschung (bei zirka 590 $\mu\mu$) jene des Oxyhämoglobins (Maximum bei zirka 540 $\mu\mu$) um etwa das Vierfache übertrifft. Eine ungleich starke Verunreinigung der Fraktionen müßte dadurch sehr auffallende Differenzen ergeben. Ich habe eine

¹ Diese Sitzungsberichte 1912.

Wellenlänge	Extinktionskoeffizienten		
	Fällung bei 24 ‰	Fällung bei 22 ‰	Fällung bei 25·6 ‰
	Ammonsulfatgehalt		
680	0·116	—	—
660	0·339	0·162	0·125
640	0·809	0·362	0·316
630	0·782	0·349	—
620	0·765	0·338	0·294
600	1·068	0·496	0·402
590	1·183	0·544	0·451
580	1·049	0·462	0·417
570	0·975	0·464	0·380
560	0·979	0·456	0·402
550	0·975	0·450	0·373
540	0·838	0·402	0·336
530	0·738	0·358	0·316
520	0·674	0·318	0·301
510	0·544	0·286	0·297
500	—	0·240	0·286
Konzentration der Lösung	0·0431 ‰ (75 cm ³ , 0·0323 g Rückstand)	0·0213 ‰ (60 cm ³ , 0·0128 g Rückstand)	0·0142 ‰ (100 cm ³ , 0·0142 g Rückstand)

ziemliche Zahl solcher Versuche ausgeführt, welche analoge Werte ergeben haben.

Miteinander verglichen, weisen die erhaltenen Werte kleine Abweichungen auf, die sicher zum Teil auf den verschiedenen optischen Qualitäten der Lösungen beruhen. Es wurde schon hervorgehoben, daß die Farbstofffällungen bei einem geringeren Konzentrationsgrad an Ammonsulfat eine mehr blaue, die höheren Fällungen eine mehr violette Farbe haben. Der leichter fällbare Farbstoff zeigt eine stärkere Lichtauslöschung im Rot, eine geringere im Blau. Ob bei einem und demselben Tier nebeneinander verschiedene von diesen — zweifellos einander sehr verwandten — Farbstoffen vorkommen, läßt sich auf Grund meiner Arbeitsweise nicht sagen,

da ich immer den Farbstoff von einer größeren Zahl von Rhizostomen gleichzeitig verarbeitet habe.

In den Anfangsstadien der Zersetzung der Farbstoffe tritt eine stärkere Auslöschung im Blauen auf, während der Streifen im Roten sehr abblaßt und nur durch einen Schatten vom Streifen im Gelb getrennt wird. Letzterer Streifen verbreitert sich; dabei hat die Lösung noch immer eine intensiv und rein violettblaue Farbe. Die etwas geringere Auslöschung bei 640–620 $\mu\mu$ in den Fraktionen gegenüber dem Ausgangsmaterial (p. 617) könnte eventuell schon auf eine beginnende Veränderung der genugsam als empfindlich geschilderten Farbstoffe zu beziehen sein. Bei weitergehender Zersetzung nimmt die Lichtextinktion rasch ab. Die Absorptionsstreifen werden immer undeutlicher, neben einer diffusen Auslöschung tritt ein verschwommener Absorptionsstreifen bei etwa 540 $\mu\mu$ auf; die Lichtauslöschung im Violetten nimmt sehr zu.

Im Ultraviolett konnten keine Absorptionsstreifen beobachtet werden; die Lichtabsorption des Farbstoffes ist gering.

Von einer bei 23% Ammonsulfatzusatz gefällten Fraktion wurde eine Elementaranalyse ausgeführt.

Es ergab sich folgende Elementarzusammensetzung:

Kohlenstoff	51·69%
Wasserstoff	7·14
Stickstoff	10·38
Schwefel	1·26
Asche	4·0

Belege.

0·1453 g gaben 0·2754 g Kohlensäure, 0·0934 g Wasser, 0·0058 g Asche. Die Asche reagierte neutral, enthielt Eisen, Aluminium, Kieselsäure.

0·1170 g gaben nach Dumas 10·25 cm^3 trockenen Stickstoff von 8·4° und 740·0 mm Quecksilberdruck.

Eine Probe auf Ammoniak nach Schlösing war negativ.

0·1203 g, mit Soda und Salpeter geschmolzen, gaben 0·0110 g reines Bariumsulfat. Phosphorsäure war nicht vorhanden.

In Zusammenfassung der Reaktionen und der elementaren Zusammensetzung dürfte der Beweis erbracht sein, daß diese Farbstoffe zu den Eiweißkörpern zu rechnen sind. Über ihre

Funktion kann nichts ausgesagt werden; es mag nur darauf hingewiesen werden, daß alle vorstehenden Teile der *Rhizostoma* intensiv gefärbt sind, ferner darauf, daß der Farbstoff bei den Jugendformen am meisten hervortritt, bei alten, eiertragenden Stücken, wie schon Krukenberg mitteilt, einem schmutzig braunroten Farbstoff Platz macht.

Krukenberg, welcher den Farbstoff bisher am genauesten studiert hat, schlägt für ihn und ihm verwandte Quallenfarbstoffe den Namen Cyanein, Colasanti den Namen Zoocyanin vor. Der letztere Name scheint zweckmäßiger gewählt, ich möchte mich daher dem Vorschlag Colasanti's anschließen.

Die Untersuchungen werden mehrfach fortgesetzt; über die Eiweißsubstanzen des Medusenkörpers wird demnächst berichtet werden.
