

# Praktikum der physiologischen Chemie

Von

**S. Edlbacher**

a. o. Professor an der Universität Heidelberg



Berlin und Leipzig 1932

**Walter de Gruyter & Co.**

vormals G. J. Göschensche Verlagshandlung - J. Guttentag, Verlags-  
buchhandlung - Georg Reimer - Karl J. Trübner - Veit & Comp.

Alle Rechte, insbesondere das der Übersetzung, vorbehalten

---

Copyright 1932 by Walter de Gruyter & Co.  
vormals G. J. Göschen'sche Verlagshandlung — J. Guttentag, Verlags-  
buchhandlung — Georg Reimer — Karl J. Trübner — Veit & Comp.  
Berlin W 10, Genthiner Straße 38

Archiv-Nr. 51 09 32

Druck von Metzger & Wittig in Leipzig

## Vorwort

Der in diesem Praktikum der physiologischen Chemie aufgenommene Lehrstoff soll dem Studierenden eine innige Berührung mit den wesentlichen Problemen der Biochemie an Hand von experimentellen Beispielen bringen. Ich habe daher aus didaktischen Gründen kurze theoretische Erläuterungen in den Text eingeflochten und es wurden alle aufgenommenen Versuche nach sorgfältiger Auswahl gebracht. Entsprechend der Bedeutung der physikalischen Chemie wurden die Begriffe der aktuellen Reaktion, der amphoteren Substanzen, der isoelektrische Punkt usw. auch in den Rahmen des Stoffes eingereiht. Es soll dieses Buch natürlich nicht ein Lehrbuch ersetzen; es wird sich aber vielleicht gerade dadurch, daß es nicht einfach eine Aneinanderreihung von qualitativen Nachweisen darstellt, auch außerhalb des Kreises der Studierenden Freunde erwerben.

Heidelberg, im Januar 1932.

**S. Etlbacher.**



# Inhaltsverzeichnis

## 1. Hauptteil. Qualitative Untersuchungen

	Seite
<b>I. Die wichtigsten Mineralsäuren</b> . . . . .	1
1. Kohlenstoff und Kohlensäure. . . . .	1
2. Chlorwasserstoff. . . . .	4
3. Schwefelsäure. . . . .	6
4. Phosphorsäure . . . . .	6
<b>II. Kohlehydrate</b> . . . . .	8
1. Monosaccharide (Hexosen) . . . . .	8
2. Pentosen . . . . .	15
3. Disaccharide . . . . .	16
4. Polysaccharide . . . . .	17
<b>III. Fette, Wachse.</b> . . . . .	18
<b>IV. Lipoidstoffe, Sterine und Gallenbestandteile</b> . . . . .	21
1. Sterine . . . . .	22
2. Gallenfarbstoff . . . . .	23
3. Gallensäuren . . . . .	25
<b>V. Eiweißkörper</b> . . . . .	26
1. Einteilung und allgemeine Eigenschaften . . . . .	26
2. Metallalbuminate . . . . .	28
3. Säurefällungen . . . . .	28
4. Reaktionen, welche an definierte Strukturen gebunden sind . . . . .	30
5. Aminosäuren . . . . .	32
<b>VI. Nucleinstoffe</b> . . . . .	38
1. Aufbau . . . . .	38
2. Nucleinsäuren . . . . .	39
<b>VII. Harnstoff</b> . . . . .	41
<b>VIII. Harnsäure</b> . . . . .	43
<b>IX. Kreatin und Kreatinin</b> . . . . .	45
<b>X. Acetonkörper</b> . . . . .	47
<b>XI. Aromatische Harnbestandteile</b> . . . . .	49
1. Phenole . . . . .	49
2. Harnindican . . . . .	51
3. Gepaarte Schwefelsäure . . . . .	52

	Seite
<b>XII. Urobilinogen und Urobilin usw.</b> . . . . .	53
1. Ehrlichs Aldehydreaktion . . . . .	53
2. Urorosein . . . . .	53
3. Diazoreaktion der Flüssigkeiten . . . . .	54
<b>XIII. Die aktuelle Reaktion der Flüssigkeiten</b> . . . . .	55
1. Puffer . . . . .	55
2. Ampholyte und isoelektrischer Punkt . . . . .	56
<b>XIV. Disperse Systeme (Kolloide)</b> . . . . .	57
<b>XV. Katalyse und Fermente</b> . . . . .	58
1. Katalyse und Adsorption . . . . .	58
2. Einteilung der Fermente . . . . .	59
3. Urease . . . . .	60
4. Proteasen des Magens und Darmkanals . . . . .	61
5. Labferment (Chymosin) . . . . .	63
6. Lipase als Beispiel einer Esterase . . . . .	63
7. Amylase . . . . .	64
<b>XVI. Biologische Oxydation und Oxydationsfermente</b> . . . . .	65
1. Begriff der Oxydation . . . . .	65
2. Dehydrasen . . . . .	65
3. Phenoloxydasen . . . . .	68
4. Peroxydase . . . . .	69
5. Die Rolle der Schwermetalle . . . . .	71
<b>XVII. Untersuchung der Milch</b> . . . . .	72
<b>XVIII. Untersuchung des Blutes</b> . . . . .	73
1. Bestandteile . . . . .	73
2. Gerinnung . . . . .	74
3. Hämolyse und Agglutination . . . . .	74
4. Hämoglobin . . . . .	76
5. Nachweis des Hämoglobins in Blut und Stuhl . . . . .	78
6. Aktuelle Reaktion des Blutes . . . . .	79
7. Der qualitative Nachweis der übrigen Blutbestandteile . . . . .	79
<b>XIX. Untersuchung von Harn- und Blasensteinen</b> . . . . .	81
<b>2. Hauptteil. Quantitative Untersuchungen</b>	
<b>XX. Allgemeines über maßanalytische Methoden</b> . . . . .	82
<b>XXI. Alkalimetrie und Acidimetrie</b> . . . . .	83
<b>XXII. Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl</b> . . . . .	84
<b>XXIII. Füllungsanalyse</b> . . . . .	86
1. Bestimmung des Chlors im Harn nach Mohr . . . . .	86
2. Bestimmung des Traubenzuckers im Harn nach Fehling . . . . .	86
<b>XXIV. Bestimmung des Hämoglobins nach Sahli</b> . . . . .	87
<b>Sachregister</b> . . . . .	88

# 1. Hauptteil

## Die qualitative Untersuchung

### I. Die wichtigsten Mineralsäuren

#### 1. Kohlenstoff und Kohlensäure

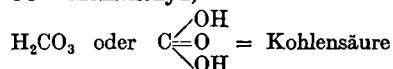
Alles Leben ist an die Gegenwart von Kohlenstoff gebunden. Neben den „organischen“ Kohlenstoffverbindungen finden sich die „mineralischen“ Bestandteile vor. Die wesentlichen Baustoffe der Organismenwelt sind nach ihrer Bedeutung:

1. C, H, O, N, P, S, Cl, J, Br, F, Si als Metalloide.
2. Na, K, Ca, Mg, Fe in größeren Mengen als Metalle.
3. Mn, Zn, Cu und Spuren anderer Elemente.

#### Eigenschaften des Kohlenstoffs

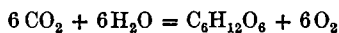
Mol.-Gew. = 12; C tritt fast immer 4 wertig auf. Die Mannigfaltigkeit der Kohlenstoffverbindungen ist durch die Eigentümlichkeit der C-Atome, sich zu Ketten zu vereinigen, erklärt.

Oxyde des Kohlenstoffs: CO<sub>2</sub> Kohlendioxyd,  
CO Kohlenoxyd,



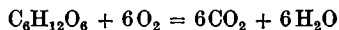
Bildung von organischem Material findet in der Natur in großem Maßstabe nur durch den Kohlensäureassimilationsprozeß statt:

Unter dem Einfluß des Chlorophylls und der Lichtenergie assimilieren die grünen Pflanzenteile:



Dieser Vorgang ist ein Reduktionsvorgang. Als erstes Assimilationsprodukt bildet sich dabei wahrscheinlich Formaldehyd. Die Bildung von Glucose (Stärke) ist ein endothermer Vorgang.

Die Umkehrung der Assimilationsgleichung findet bei der Verbrennung der Kohlehydrate im tierischen Organismus statt:



Dieser Vorgang ist exotherm.

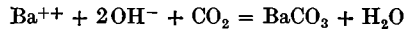
Überall dort, wo im tierischen Organismus Oxydation von Kohlenstoffverbindungen stattfindet, bildet sich Kohlensäure und Wasser. Oxydation von Kohlenstoff und Wasserstoff sind die Hauptquellen der tierischen Lebensenergie. Kohlensäure und Wasserproduktion bei gleichzeitigem Sauerstoffverbrauch wird als Atmung bezeichnet.

*Versuch:* 1. Nachweis von Kohlenstoff:

- a) Ein Stückchen Rohrzucker wird im Reagierglas erhitzt. Schmelzen und nachfolgende Schwärzung.
- b) Fibrinflocken zeigen das gleiche Bild.
- c) Ein Stückchen Rohrzucker wird mit 2—3 ccm konz. Schwefelsäure stehen gelassen. Durch allmählichen Wasserentzug tritt Schwärzung unter Bildung von Kohlenstoff ein.

*Versuch:* 2. Nachweis der Kohlensäure in der Atmungsluft.

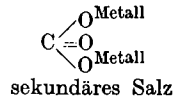
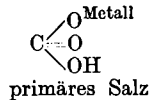
- a) Man bläst mittels eines Röhrchens Luft durch 2—3 ccm verdünnter Bariumhydroxydlösung, die sich in einem Reagierglas befinden. Es fällt nach einigen Augenblicken schon ein weißer Niederschlag von Bariumcarbonat aus:



- b) Zusatz von verdünnter Essigsäure löst den Niederschlag wieder auf.

### 3. Eigenschaften der Kohlensäure.

Kohlensäure ist eine zweibasische Säure, bildet also zwei Reihen von Salzen:



*Versuch:* In einem Kolben befindet sich ganz verdünnte Bariumhydroxydlösung. Es wird aus einer Bombe ein rascher Strom von  $\text{CO}_2$  durchgeleitet. Der anfänglich gebildete Niederschlag von  $\text{BaCO}_3$  löst sich in kurzer Zeit wieder auf. Kocht man einen Teil der klaren Lösung, so fällt wieder  $\text{BaCO}_3$  aus:

1.  $\text{Ba}(\text{OH})_2 + \text{CO}_2 = \text{BaCO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ ,
2.  $\text{BaCO}_3 + \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2 = \text{Ba}(\text{HCO}_3)_2$

Die primären Erdalkalisalze der Kohlensäure sind in Wasser löslich, die sekundären sind also unlöslich. Sogenanntes „hartes“ Wasser enthält geringe Mengen von  $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$  gelöst. Durch Kochen verwandelt sich dieses in  $\text{CaCO}_3$  und wird unlöslich.

Nicht allzu sehr verdünnte Lösungen von Alkalicarbonaten werden durch Säuren unter  $\text{CO}_2$ -Bildung zerlegt.

*Versuch:* Natriumkarbonatlösung wird mit verdünnter Salzsäure versetzt: Aufschäumen.



## 4. Dissoziation der Kohlensäure:

Unter elektrolytischer Dissoziation einer Verbindung versteht man den Zerfall in elektrisch geladene Ionen; unter derjenigen einer Säure das Abdissoziieren von H-Ionen.

Basen dissoziieren OH-Ionen ab. „Starke“ Säuren oder Basen sind in wäßriger Lösung weitgehend dissoziiert, „schwache“ nur in geringem Umfange. Je verdünnter die Lösung eines dissoziierten Stoffes ist, desto mehr Moleküle werden dissoziieren, bis schließlich bei unendlicher Verdünnung die Dissoziation vollständig ist. Es besteht demnach ein Gleichgewichtszustand, der durch die sogenannte Dissoziationskonstante gekennzeichnet ist:



ist nur in unendlicher Verdünnung vollständig.

$$\frac{\text{Konz. H}^+ \text{ Ionen} \cdot \text{Konz. Cl}^- \text{ Ionen}}{\text{Konz. HCl (nicht diss.)}} = K$$

Daraus folgt: „starke“ Säuren (Basen) haben eine große Dissoziationskonstante, „schwache“ eine kleine. Man mißt diese Erscheinung durch Bestimmung der Konzentration der H- oder OH-Ionen.

[H] = die Menge der Grammionen Wasserstoff pro Liter und bedeutet die Wasserstoffzahl.

Ist [H] =  $10^{-x}$ , so wird x mit dem Symbol  $p_{\text{H}}$  bezeichnet und heißt Wasserstoffionenexponent. Bei physiologischen Verhältnissen ist x immer kleiner als 1, hat daher ein negatives Vorzeichen.

$$\begin{aligned} p_{\text{H}} = 7 & \dots\dots\dots \text{neutral,} \\ p_{\text{H}} < 7 & \dots\dots\dots \text{alkalisch,} \\ p_{\text{H}} > 7 & \dots\dots\dots \text{sauer.} \end{aligned}$$

Mittels empirisch geeichter Farbstoffe gelingt es leicht, den  $p_{\text{H}}$ -Wert, die sog. „aktuelle Reaktion“ einer Lösung zu ermitteln, indem die Farbstoffe bei einem bestimmten Wert umschlagen.

$$\begin{aligned} \text{Z. B. Phenolphthalein bei } p_{\text{H}} = 8, \\ \text{Neutralrot bei } p_{\text{H}} = 7, \\ \text{Kongorot bei } p_{\text{H}} = 4 \end{aligned}$$

Kohlensäure ist eine schwache Säure. Sie dissoziiert nur wenig H-Ionen ab.

*Versuch:* Man bringt in zwei Reagiergläser Wasser, das durch Zusatz von minimalen Mengen von Natronlauge alkalisiert wurde. In das eine Reagierglas gibt man 3—5 Tropfen Phenolphthalein, es färbt sich rot. In das andere einige Tropfen Kongorot, es ist ebenfalls rot. Nun bläst man mittels eines Röhrchens Ausatemungsluft durch die Flüssigkeit.

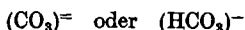
Im Phenolphthaleinröhrchen = Entfärbung.

Im Kongorotröhrchen = keine Änderung.

Die Kohlensäure kann also keine starke Säure sein, sonst müßte Kongorot in Blau umschlagen.

*Versuch:* Zu dem zweiten Röhrchen mit Kongorot wird ein Tropfen verdünnter HCl gesetzt. Es tritt sofort ein Farbumschlag in tiefblau ein.

Kohlensäure und ihre Salze können also dissoziiert sein in:



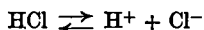
Lösungen von Alkalicarbonaten zeigen die Erscheinung der hydrolytischen Spaltung:

*Versuch:* Zusatz von Phenolphthalein zu einer Lösung von  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  zeigt durch Rotfärbung stark alkalische Reaktion an.

Die Erklärung dieser Erscheinung ist dadurch gegeben, daß die auftretenden  $\text{CO}_3$ -Ionen sich mit den immer vorhandenen H-Ionen des Wassers zu  $\text{HCO}_3$ -Ionen vereinigen. Dadurch verbleiben in der Lösung OH-Ionen im Überschuß. Die Carbonationen des Blutes, bzw. der Zellen wirken als sog. „Puffer“. Diese sind Substanzen, welche der Änderung der aktuellen Reaktion einen Widerstand entgegensetzen.

## 2. Chlorwasserstoff (HCl)

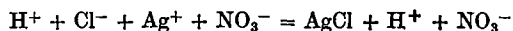
Salzsäure ist in wäßriger Lösung stark dissoziiert. Das Gleichgewicht



ist fast ganz auf die rechte Seite verschoben. Fast alle Chloride sind in Wasser leicht löslich.

Nachweis der Salzsäure.

*Versuch:* Verdünnte HCl wird mit Silbernitratlösung versetzt. Es fällt ein weißer käsiger Niederschlag von Chlorsilber,  $\text{AgCl}$ , aus. Dieser Niederschlag ist unlöslich in  $\text{HNO}_3$  und leicht löslich in Ammoniak.



Nur das  $\text{Cl}$ -Ion gibt diese Reaktion.

*Versuch:* Eine Lösung von Kaliumchlorat ( $\text{KClO}_3$ ) gibt mit Silbernitrat und Salpetersäure keine Fällung.

Auch organisch gebundenes Cl gibt demnach keine Chlorsilberreaktion.

*Versuch:* a) Mit Chloroform ( $\text{CHCl}_3$ ) gesättigtes Wasser mit  $\text{AgNO}_3$  und  $\text{HNO}_3$  versetzt gibt keine Fällung.

b) Zu einer anderen Probe des  $\text{CHCl}_3$ -Wassers gibt man ein Stückchen Zink und etwas verdünnte Schwefelsäure. Nach einigen

Minuten prüft man auf Cl-Ionen wie oben mit Silbernitrat. Nun fällt die Reaktion positiv aus.

Der aus dem Zink und der Schwefelsäure freiwerdende Wasserstoff (naszierender Wasserstoff) substituiert im  $\text{CHCl}_3$  teilweise das Chlor, welches dabei aus dem undissoziierten in den dissoziierten Zustand übergeht.

Chlorionen finden sich in allen Körperflüssigkeiten. Ihre Gegenionen sind Na-Ionen. Die NaCl-Konzentration des Warmblüters beträgt etwa 0,9% (physiologische Kochsalzlösung). Beim Kaltblüter etwa 0,6%. Dadurch wird in erster Linie der osmotische Druck aufrecht erhalten. (Im Blute etwa 8 Atmosphären.)

Nachweis der Cl-Ionen im Harn:

*Versuch:* Normaler menschlicher Harn gibt mit  $\text{AgNO}_3$  und  $\text{HNO}_3$  einen starken Niederschlag von  $\text{AgCl}$ .

Die NaCl-Konzentration des Harns ist meistens größer als die des Blutes.

Freie Salzsäure wird von den Zellen der Magenschleimhaut in das Magenlumen sezerniert. Der physiologische Sinn dieser Salzsäureproduktion ist dadurch gegeben, daß die Proteinase des Magens, das Pepsin, optimal bei stark saurer Reaktion ( $\text{p}_H = 1,6$ ) wirkt.

Nachweis von freier Salzsäure.

*Versuch a):* Sehr stark verdünnte Lösungen von

HCl färben Methylviolett	}	stahlblau
$\text{H}_2\text{SO}_4$ färben Methylviolett		
$\text{HNO}_3$ färben Methylviolett		
$\text{CH}_3\text{COOH}$ färbt Methylviolett violett.		

*Versuch b):* Filtrierter Magensaft färbt dieselbe Methylviolettlösung stahlblau.

*Versuch c):* Kongorotpapier färbt sich in

stark verdünnter HCl .....	blau
Magensaft .....	blau
stark verdünnter Essigsäure .....	grau

Günzburgs Reaktion.

Das sog. Günzburgsche Reagens ist eine alkoholische Lösung von Vanillin und Phloroglucin.

