

Ueber den Gehalt des Caseins an Schwefel und über die Bestimmung des Schwefels in Proteinsubstanzen.

Von

Olof Hammarsten.

(Der Redaktion zugegangen am 3. Januar 1885.)

Bei Gelegenheit einiger anderen Untersuchungen über das Casein fand ich es auch nothwendig, einige Bestimmungen des Schwefels in diesem Eiweissstoffe auszuführen. Die dabei verwendeten Methoden waren theils die gewöhnliche — Verbrennung der Substanz mit Salpeter und Soda — und theils eine Modification derselben Methode, welche in der Hauptsache darin bestand, dass ich erst die Hauptmasse des Caseins im Wasserbade mit Salpetersäure zerstörte und dann den mit kohlsaurem Natron übersättigten, in einem silbernen Tiegel eingetrockneten Rückstand verbrannte. Die nach den beiden Methoden erhaltenen Zahlen stimmen recht gut mit einander überein; doch erhielt ich nach dem gewöhnlichen Verfahren regelmässig gegen 0,1% Schwefel weniger als nach der obengenannten Modification desselben. Da ich nun die nach dem modificirten Verfahren erhaltenen, etwas höheren Zahlen als die richtigen betrachtete, theilte ich nur sie in meinem Aufsatze¹⁾ mit.

Die Zahl der von mir nach dieser modificirten Methode analysirten, auf verschiedene Weise dargestellten Caseinpräparate war 8, und die Zahl der im Ganzen ausgeführten und

¹⁾ Zur Frage, ob das Casein ein einheitlicher Stoff sei. Diese Zeitschrift Bd. VII, 1883.

mitgetheilten Schwefelbestimmungen 12. Als Mittel aus diesen Analysen fand ich in dem Casein 0,716% oder, wenn die Analysen der 3 ersten Präparate (für deren Richtigkeit ich aus den in meinem Aufsätze angegebenen Gründen nicht ganz sicher einstehen konnte) abgerechnet werden, 0,758% Schwefel. In 4 Fällen hatte ich auch die Bestimmung doppelt gemacht, und in keiner von diesen Doppelbestimmungen betrug die Differenz 0,1%. In dem ersten Falle war sie 0,071%, in dem 2. 0,045%, in dem 3. 0,033 und in dem 4. 0,001%, und denoch wurde in diesen Doppelanalysen regelmässig etwa doppelt so viel Substanz (gegen 4 gr.) zu der einen wie zu der anderen (etwa 2 gr.) Bestimmung genommen. Auf die Reindarstellung der verschiedenen Caseinpräparate hatte ich die grösste Sorgfalt verwendet; die zu den Analysen verwendeten Chemicalien hatte ich sorgfältig geprüft, und das kohlen saure Natron, das ich im Handel nicht ganz schwefelfrei erhalten konnte¹⁾, hatte ich selbst gereinigt.

Unter solchen Umständen glaubte ich für die Zuverlässigkeit meiner Angaben einstehen zu können; und da vor mir kein Forscher eine annähernd so grosse Zahl von untereinander gut stimmenden Schwefelbestimmungen in dem Casein ausgeführt hatte, glaubte ich hoffen zu können, dass Diejenigen, welche meine Zahlen auffallend klein finden mussten und aus diesem Grunde ihre Richtigkeit vielleicht anzweifeln wollten, doch erst nach sorgfältiger Prüfung und auf Grundlage einer gewissenhaften experimentellen Kritik ihr Urtheil über meine Arbeit abgeben würden.

Dies ist indessen nicht geschehen, denn fast unmittelbar nach dem Erscheinen meiner Arbeit beeilte sich Herr Danilewsky in einem, in dieser Zeitschrift, Bd. VII, Heft 5 veröffentlichten, gegen mich gerichteten Aufsätze «Zur vorläufigen

1) Es war zwar nicht schwierig, im Handel ein kohlen saures Natron zu erhalten, welches, wenn von dem krystallwasserhaltigen Salze ein paar gr. zu einer Prüfung genommen wurden, anscheinend frei von Schwefelsäure war. Wenn ich aber von demselben Salze im entwässerten Zustande etwa 10 gr. zu einer Prüfung nahm, erhielt ich stets eine nicht zu vernachlässigende Menge Bariumsulfat.

Abwehr» meine Angaben und meine analytischen Data anzugreifen. Danilewsky hat selbst vor 10—12 Jahren zwei (2) Schwefelbestimmungen in dem Casein ausgeführt und dabei als Mittel 1,089% Schwefel gefunden. Er glaubt weiter in der Litteratur gefunden zu haben, dass die «neuesten» Forscher mit dem seinigen besser übereinstimmende Zahlen für den Schwefelgehalt des Caseins erhalten hatten, und er hat endlich auch die Beobachtung gemacht, dass andere Eiweisskörper, welche, bei Gegenwart von Bleioxydhydrat einige Zeit mit Natronlauge von 2—5—10% erhitzt, Schwefelblei bilden, im Ganzen mehr als 0,7—0,8% Schwefel enthalten. Auf diese letztere Beobachtung legt er besonders Gewicht; er betrachtet deshalb auch die von anderen Forschern gefundenen Zahlen, 0,85—1% Schwefel in dem Casein als zu niedrig und er nimmt in dem Casein mehr als 1% Schwefel an.

Da der von mir gefundene Schwefelgehalt mit dieser Annahme nicht zu vereinbaren ist, erklärt Danilewsky ohne Weiteres meine Zahlen für unrichtig und meine Methode für fehlerhaft, trotzdem dass er diese Methode nie geprüft und, wie es scheint, auch nie von ihr genaue Kenntniss genommen hat.

Bei dieser Sachlage wäre ich wohl in meinem Rechte gewesen, wenn ich ohne Weiteres in einem Artikel «zur vorläufigen Abwehr» die unbegründeten Angriffe Danilewsky's ganz einfach zurückgewiesen hätte. Da aber die Sache selbst durch ein solches Verfahren Nichts hätte gewinnen können, fand ich es richtiger mit meiner Antwort zu warten, bis ich Zeit gehabt hätte, die Frage noch ein Mal möglichst gründlich und gewissenhaft zu prüfen. Dies ist auch der Grund, warum ich erst nach Verlauf von mehr als 1½ Jahren meine Antwort veröffentliche.

Es ist einleuchtend, dass es für die endgültige Feststellung der Menge des Schwefels in dem Casein nicht genügend sein kann, eine noch grössere Zahl von Schwefelbestimmungen nach den oben genannten 2 Methoden auszuführen. Es ist vielmehr nothwendig, ein und dasselbe Casein auch nach anderen Methoden zu analysiren, wobei selbstverständ-

lich gleichzeitig auch Anhaltspunkte für die Beurtheilung des Werthes der verschiedenen Schwefelbestimmungsmethoden gewonnen werden können. Meine Hauptaufgabe bei diesen fortgesetzten Untersuchungen musste also die sein, vergleichende Bestimmungen des Schwefels nach mehreren Methoden in einigen neuen Caseinpräparaten zu machen, und des Vergleiches halber habe ich dabei auch nach denselben Methoden Schwefelbestimmungen in zwei anderen Proteinstoffen — Ovalbumin und Leim — ausgeführt. Bevor ich zu diesen neuen Bestimmungen übergehe, möchte es mir doch erlaubt sein, die von Danilewsky gegen meine vorige Arbeit erhobenen Einwendungen zuerst ein wenig zu beleuchten.

Bei einigen Nachforschungen in der Litteratur hatte ich bei Lehmann (Lehrbuch der physiologischen Chemie Bd. I, Leipzig 1853, S. 352) gesehen, dass die von älteren Forschern ausgeführten Schwefelbestimmungen in den meisten Fällen für das Casein einen Gehalt von 0,8—0,9% Schwefel ergeben hatten, und ich citirte auch die Angabe Lehmann's, dass das gereinigte Casein nach den neueren Untersuchungen 0,85% Schwefel enthalten soll. Ich sprach hierbei auch die Vermuthung aus, dass diese Bestimmungen, welche zu einer Zeit, wo die vielen Schwierigkeiten, welche der Reinigung des Bariumsulfatniederschlags im Wege stehen, noch nicht genügend bekannt waren, ausgeführt wurden, wahrscheinlich doch einen etwas zu hohen Schwefelgehalt des Caseins ergeben hatten.

Gegen die Berechtigung dieser Vermuthung tritt nun Danilewsky auf Grundlage einiger, wie er glaubt, neuerer Analysen auf. Er hat sich nämlich auch zu der Litteratur unserer Frage gewendet und zwar zu dem Handbuche der Chemie von Gmelin-Kraut: Organische Chemie, Bd. IV, Abth. III vom Jahre 1870. Er hat darin S. 2254 folgende Zahlen für den Schwefelgehalt des Caseins gefunden:

«Rühling	0,850—1,017% S.
Verdeil	0,843—1,017% S.
Walther	0,933—1,017% S.
Völkel	1,110—1,017% S.
Schwarzenbach	0,900—1,110% S.»

Nachdem er diese Analysen citirt hat, sagt er dann weiter unten: «Um logisch zu verfahren, musste doch Hammarsten behaupten, dass diese neuesten¹⁾ Forscher viel schlechter als die älteren ihr Bariumsulfat gewaschen haben.»

Da man diese Danilewsky's Citate aus der Litteratur sieht, muss man bedauern, dass er, da er sich beeilte meine Arbeit anzugreifen, keine Zeit hatte, die Arbeiten dieser von ihm citirten «neuesten» Forscher auch zu lesen. Wenn er dies gethan hätte, würde er nämlich bald gesehen haben, dass die Mehrzahl dieser «neuesten» Forscher gerade dieselben älteren Forscher sind, welcher Lehmann in seinem Lehrbuch von 1883 Erwähnung gethan hat.

Die Arbeiten von Rüling (nicht Rühling), Walther und Verdeil erschienen alle drei im Jahre 1846 in den Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. 58. Die Arbeit von Völkel (nicht Völkel) wurde in Report of the 25 Meeting of the British Associat, Sept. 1855, S. 73 veröffentlicht und die Arbeit von Schwarzenbach in den Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. 133 im Jahre 1865. Mit Ausnahme von der Arbeit Schwarzenbach's, die vor etwa 19 Jahren erschien, sind also die Arbeiten dieser «neuesten» Forscher gegen 30—40 Jahre alt. Die drei erstgenannten Forscher, Rüling, Walther und Verdeil, sind auch dieselben, deren Arbeiten in dem von mir citirten Lehrbuche Lehmann's vom Jahre 1853 referirt worden sind.

Dies Alles kann nun, das will ich gern zugeben, wenig wichtig erscheinen, wenn auch Danilewsky mit Hülfe von diesen Citaten den Werth meiner Angaben zu entkräften sich bemüht hat. Nicht unwichtig dürfte es wohl dagegen sein, dass auch einige der von ihm angeführten Zahlen unrichtig sind. Walther hat im Ganzen drei Caseinpräparate analysirt und dabei nicht 0,933—1,017%, sondern resp.: 0,996% ; 0,857% und 0,945%, also im Mittel 0,933% Schwefel gefunden. Verdeil hat nur zwei Caseinpräparate analysirt und dabei nicht 0,843—1,017%, sondern resp.: 0,814% und

¹⁾ Die Auszeichnung dieses Wortes rührt von mir her.

0,872%, also im Mittel 0,843% Schwefel gefunden. Völckel hat ebenfalls nur zwei Schwefelbestimmungen ausgeführt und dabei das eine Mal 1,11%, das andere Mal dagegen nicht 1,017%, sondern 1,15% Schwefel gefunden. Diese letzte Bestimmung bezieht sich indessen auf ein Präparat, welches gegen 7% Asche enthielt und von Völckel selbst als unrein bezeichnet wurde. Diese Analyse kann also nicht mitgerechnet werden, und es ist also gewiss vollkommen berechtigt, dass nur die erste Analyse in dem Handbuche von Gmelin-Kraut aufgenommen worden ist. Das zu Völckel's Bestimmungen verwendete Casein wurde übrigens aus der Milch mit gesättigter Kochsalzlösung gefällt, wobei eine Verunreinigung des Caseins mit Calciumsulfat aus den Sulfaten des Kochsalzes nicht zu vermeiden ist (chemisch reines NaCl fällt das Casein bei Zimmertemperatur aus der Milch nicht), und es ist also schon aus diesem Grunde schwierig zu sagen, welchen Werth man der einzigen Schwefelbestimmung Völckel's zumessen soll.

In dem Handbuche von Gmelin-Kraut sind die Zahlen richtig citirt; und wenn sie in dem Aufsätze Danilewsky's theilweise unrichtig sind, kann dies wohl also nur von einem Schreib- oder Druckfehler herrühren. Meine Berichtigungen sind darum auch nicht gegen Herrn Danilewsky gerichtet; sie sind nur im Interesse der Wahrheit gemacht.

Nachdem ich in meinem früheren Aufsätze die von Lehmann für den Schwefelgehalt des Caseins angegebene Zahl 0,85 citirt hatte, sprach ich die Vermuthung aus, dass diese Zahl wahrscheinlich doch aus dem Grunde eine etwas zu hohe sei, weil zu jener Zeit, wo diese älteren Analysen ausgeführt wurden, alle die Schwierigkeiten, welche der Reinigung des Bariumsulfatniederschlags im Wege stehen, noch nicht genügend bekannt waren; und ich hob auch weiter unten als eine Unannehmlichkeit bei der Verbrennung mit Salpeter und Alkali den Umstand, dass die Menge des Bariumsulfates durch die Anwesenheit von reichlichen Mengen Alkalisalzen leicht etwas zu hoch ausfallen kann, hervor. Ich bedauere, dass Danilewsky den Sinn dieser

meinen Worte nicht recht verstanden hat. «So weit ich verstanden habe», sagt nämlich Danilewsky, «stellt Hammarsten für die sämtlichen von Lehmann gedachten Analysen das Auswaschen des Bariumsulfates in Verdacht;» und weiter unten sagt er, dass ich, um logisch zu verfahren, behaupten müsste, dass die neuesten Forscher viel schlechter als die älteren ihr Bariumsulfat gewaschen hätten.

Es ist mir nicht recht verständlich, wie Danilewsky mir einen solchen Vorwurf machen kann. Ich habe nur von der «Reinigung» und nicht von dem «Auswaschen» des Bariumsulfates gesprochen. Es ist nur Danilewsky, der alles Gewicht auf das «Auswaschen» des Bariumsulfates legt, obwohl es doch wohl jedem Chemiker bekannt sein dürfte, dass man mit dem Auswaschen allein, mag dieses noch so gründlich sein, bei der quantitativen Bestimmung der Schwefelsäure in einer Lösung, welche reichliche Mengen von Alkalisalzen, namentlich Nitraten, enthält, nicht zum Ziele kommt. Wir wissen nämlich durch die ausgezeichneten Arbeiten von Fresenius¹⁾, dass Anwesenheit von Alkalinitraten zu «starker Verunreinigung» des Bariumsulfates führt, und derselbe Forscher hat uns auch gelehrt, dass selbst wenn der gewaschene und darum geglühte Niederschlag mit verdünnter Salzsäure behandelt wird, er an die Säure nur etwa $\frac{1}{3}$ der Verunreinigungen abgibt; der Rest kann erst durch Aufschliessen mit kohlen-saurem Natron u. s. w. entfernt werden. Diese, nunmehr allbekannte Thatsache zeigt, dass die Reinigung des Bariumsulfates etwas ganz anderes als das Auswaschen desselben ist, und darum habe ich auch durch meine Worte, dass «alle» die Schwierigkeiten, mit welcher die Reinigung des Bariumsulfates verknüpft ist, den älteren Forschern nicht bekannt waren, das Auswaschen der Niederschläge in ihren Analysen weder verdächtig gemacht noch machen wollen. Man kann ja nicht erwarten, dass diejenigen Forscher, welche im Jahre 1846 ihre Analysen veröffentlichten, die von Fresenius erst im Jahre 1870 bekannt gemachten Fehlerquellen kennen würden.

1) Zeitschrift für analytische Chemie, 9. Jahrg, 1870, S. 52–63.

Wir wollen nun mit Hülfe von den Angaben dieser älteren Forscher sehen, ob meine Vermuthung in der That so unbegründet war, wie Danilewsky es wahrscheinlich zu machen versuchte. Die zwei Forscher Rüling und Walther haben das Casein mit Salpeter und Kalihydrat oder Soda verbrannt; und es wurden beispielsweise zu den Analysen Rüling's in einigen Fällen 36—50 gr. Salpeter und Kali zu je einer Analyse verwendet. Die Schmelze wurde in Wasser gelöst und nach Zusatz von Salzsäure mit BaCl_2 gefällt, ohne dass für die Entfernung der Salpetersäure vorher gesorgt wurde. Unter solchen Umständen ist wohl auch kaum daran zu zweifeln, dass diese Forscher ein von Nitraten verunreinigtes Bariumsulfat erhalten haben.

Diese Verunreinigung ist nun in der That auch dem dritten Forscher, Verdeil, nicht entgangen, denn er sagt hierüber in seinem Aufsatze «Schwefelbestimmung einiger organischer Körper» (Annalen d. Ch. u. Ph., Bd. 58, S. 318) Folgendes. «Da bei der Verbrennung ein grosser Ueberschuss an Salpeter nicht zu vermeiden ist, so ist es sehr schwierig, den Niederschlag von schwefelsaurem Baryt, wegen der grossen Menge des gleichzeitig gebildeten, schwerlöslichen salpetersauren Baryts, durch Auswaschen völlig rein von letzterem zu erhalten, wesshalb der geglühte schwefelsaure Baryt auch fast immer alkalisch reagirte. Um einen etwa hierdurch herbeigeführten Fehler zu vermeiden, wurde der geglühte und gewogene schwefelsaure Baryt mit Salzsäure behandelt, von neuem filtrirt und gewogen. Der Unterschied zwischen dem Gewicht des mit Salzsäure ausgezogenen und des nur ein Mal geglühten war oft sehr beträchtlich.»

Von den obengenannten Forschern ist nun also, so weit man aus ihren Aufsätzen ersehen kann, Verdeil der einzige gewesen, der das Bariumsulfat besonders gereinigt hat; und mit Rücksicht auf dieses Verhalten dürfte es vielleicht nicht ganz ohne Interesse sein, dass gerade die von ihm für das Casein gefundene Mittelzahl 0,833% S. am wenigsten, oder mit nur etwa 0,1%, von der meinigen abweicht. Wenn Danilewsky die Arbeiten der von ihm

citirten Verfasser gelesen hätte, würde er wahrscheinlich auch nicht so rasch über meine Arbeit den Stab gebrochen haben.

Die Analysen von Schwarzenbach¹⁾ haben für das Casein 0,9—1,1% Schwefel ergeben, und diese Analysen sind allem Anscheine nach mit grosser Sorgfalt ausgeführt worden. Sie beziehen sich indessen nicht auf das Casein als solches, sondern auf eine Caseinplatincyanidverbindung; und da in der Abhandlung von Schwarzenbach keine Angaben über die Art und Weise, wie das Casein dargestellt und gereinigt wurde, sich vorfinden, ist es auch nicht möglich, den Werth dieser Analysen ganz sicher zu beurtheilen. Auffallend ist es jedenfalls, dass Schwarzenbach — was er auch selbst hervorhebt — den Schwefelgehalt nicht nur des Caseins, sondern auch des Hühnereiweisses, von dem auch die Platin-cyanidverbindung analysirt wurde, höher gefunden hat als derselbe sonst angegeben wird. So fand er in dem Eieralbumin als Minimum 1,85%, während er in einer grossen Mehrzahl der Analysen die gewiss auffallend hohen Zahlen 2,1 und 2,2% Schwefel erhielt.

Gegenüber diesen Analysen Schwarzenbach's darf es übrigens nicht vergessen werden, dass in einigen noch neueren Analysen auch niedrigere Zahlen für den Schwefelgehalt des Caseins erhalten worden sind. Ritthausen und Pott²⁾, welche die Kupferoxydverbindung des Caseins analysirten, haben auch den Schwefel in 4 Präparaten bestimmt. Von diesen Präparaten war eines aus einer Caseinlösung dargestellt worden, die 20 Tage aufbewahrt worden war, und die Analyse dieses Präparates wird desshalb auch von den Verfassern ausgeschlossen. Die 3 übrigen Analysen ergaben für die Kupferoxydverbindung resp. 0,64; 0,67 und 0,91% Schwefel, woraus der Schwefelgehalt des Caseins zu resp. 0,80; 0,82 und 1,12% sich berechnen lässt.

Die Angaben der verschiedenen Forscher über den

1) Ueber das Verhältniss des Albumins zum Casein. *Annalen der Chemie und Pharmacie*, Bd. 133, 1865, S. 185.

2) Untersuchungen über Verbindungen der Eiweisskörper mit Kupferoxyd. *Journal für praktische Chemie* 1873. N. F., Bd. 7, S. 361.

Schwefelgehalt des Caseins weichen also so bedeutend von einander ab, dass man den in der Litteratur vorkommenden Angaben keine grosse Beweiskraft zuerkennen kann. Aus diesem Grunde habe ich auch nie in den Zahlen älterer Forscher eine Stütze für meine Angaben gesucht; ich habe nur — wie man aus meinem vorigen Aufsätze über diesen Gegenstand ersehen kann — in ihnen eine Anregung zu weiteren Untersuchungen gefunden.

Ich habe nun die von Danilewsky gegen meine Arbeit gerichteten, aus der älteren Litteratur geholten Einwendungen genügend besprochen, und ich gehe nun zu dem zweiten Theile seiner Einwendungen über.

Danilewsky erinnert in seinen Bemerkungen an die bekannte Thatsache, dass bei dem gewöhnlichen Verfahren — Verbrennen mit Salpeter und Soda — Verluste an Schwefel leicht stattfinden können; und da nach seiner Hypothese das Casein im Ganzen gegen 1,2% Schwefel, darunter 0,7 bis 0,8% oxydirten und etwa 0,4—0,3% unoxydirten, enthalten soll, während ich den gesammten Schwefel in dem Casein zu nur etwas mehr als 0,7% bestimmt hatte, behauptet Danilewsky ohne Weiteres, dass ich bei meinen Bestimmungen die ganze Menge des unoxydirten Schwefels verloren habe. Der Grund dieses Verlustes soll nach seiner Ansicht in der von mir befolgten Methode liegen. Danilewsky sagt nämlich, dass ein Theil des Schwefels bei der Verbrennung leicht in Gasform entweichen kann, «entweder durch zu stürmische Verbrennung in regelrechter Salzmischung oder bei dem vorsichtigen Verbrennen aber in einer Schmelze, welche wenig für die gebildeten Schwefelsäuren disponible Basen enthält»; und er fährt dann fort: «Die letzte Condition wird aber noch drohender bei der Zerstörung der Eiweisskörper in reiner Salpetersäure in offenen Gefässen, wie dieses Hammarsten bei seinen Bestimmungen gethan hat.»

Da der Leser durch diese Worte Danilewsky's vielleicht eine ganz falsche Vorstellung von meinem Verfahren erhalten wird, erlaube ich mir daran zu erinnern, dass ich die Eiweissstoffe mit Salpetersäure in einem bedeckten Ge-

fässe im Wasserbade erwärme, und dass ich die rückständige Masse stets vor dem Verbrennen mit überschüssigem kohlen-sauren Natron löse und eintrockne. Ein Entweichen von Schwefel würde also in meinen Analysen nur bei dem Erwärmen des Eiweisses mit Salpetersäure im Wasserbade stattgefunden haben können; wie man aber etwas Alerartiges nur darum annehmen will, weil ein Theil des Schwefels beim Verbrennen in einer Schmelze, welche zu wenig Alkali enthält, entweichen muss, das will mir nicht recht klar werden. Ich bezweifle sehr, dass man aus dem Verhalten einer Substanz bei der Verbrennung mit Salpeter und Soda ohne Weiteres zu den beim Erwärmen mit Salpetersäure im Wasserbade verlaufenden Prozessen schliessen kann; und wenn bei dem ersten Verfahren Verluste an Schwefel stattfinden, berechtigt dies gar nicht zu der Annahme, dass bei dem zweiten auch dasselbe geschehe. Eine solche Annahme hat nun indessen Danilewsky gemacht, und diese Annahme ist auch die einzige Einwendung, die er gegen meine Methode gerichtet hat. Die Methode selbst hat er anscheinend nie versucht und noch weniger einer experimentellen Prüfung unterworfen.

Bei dieser Sachlage will ich hier umsoweniger mit theoretischen Einwendungen gegen die obige Annahme den Leser ermüden, als er binnen Kurzem in die Lage gesetzt werden wird, auf Basis der Thatsachen in dieser Frage ein eigenes Urtheil sich zu bilden. Ich gehe also zu den Untersuchungen über; bevor ich aber die neuen Analysen mittheile, muss ich doch einige Bemerkungen über die von mir geprüften Methoden und das Verfahren im Allgemeinen vorausschicken.

Es ist eine allgemein bekannte Thatsache, dass das Bariumsulfat in sauren Flüssigkeiten nicht unlöslich ist; und nach den Bestimmungen von Fresenius¹⁾ sollen 1000 ccm. einer 3 procentigen Salzsäure etwa 0,060 gr. Bariumsulfat in Lösung halten können. Mit der Stärke der Säure nimmt die Löslichkeit des Sulfates zu; und wenn man das eine Mal aus einer stark, das andere Mal aus einer schwach sauren

1) L. cit.

Flüssigkeit die Schwefelsäure mit BaCl_2 fällt, kann man selbstverständlich nicht auf genaue Resultate rechnen. Bei genauer Arbeit muss man für das in Lösung gebliebene Bariumsulfat eine Correction machen, und darum ist es auch nothwendig, in jeder Analyse den Gehalt der Flüssigkeit an Salzsäure genau zu kennen. Aus diesem Grunde habe ich in allen meinen Bestimmungen die Schwefelsäure aus einer Lösung, welche genau 1% HCl enthielt, mit einer Chlorbariumlösung (nunmehr stets von demselben Gehalte an Salzsäure) gefällt. Die Menge des Filtrats wurde dabei natürlich genau gemessen, und aus der Löslichkeit des Bariumsulfates in Salzsäure von 1% die Menge des in Lösung zurückgebliebenen Sulfates berechnet.

Die Löslichkeit des Bariumsulfates in Salzsäure habe ich auf dieselbe Weise wie Fresenius¹⁾ bestimmt. Ich arbeitete dabei mit einer Salzsäure von genau 1% HCl , einer Chlorbariumlösung von 1% HCl und 5% $\text{BaCl}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$ und einer $\frac{\text{N}}{100}$ Schwefelsäure. Bei diesen Versuchen, wo es ja immer um nur sehr kleine Mengen von Bariumsulfat sich handelte, übte die Menge der zugesetzten BaCl_2 -Lösung insoferne einen nicht unwesentlichen Einfluss auf die Versuchsergebnisse aus, als bei Zusatz von sehr kleinen Mengen des Reagens ein sichtbarer Niederschlag erst nach mehreren Tagen sich zeigte, während ein solcher bei Gegenwart von derselben Schwefelsäuremenge aber bei Zusatz von mehr Chlorbarium schon nach Verlauf von einigen Stunden, und jedenfalls innerhalb 12—18, zum Vorschein kam. Da ich nun bei meinen Schwefelbestimmungen in dem Casein und anderen Proteinsubstanzen den Niederschlag regelmässig nach 24 Stunden abfiltrire, und da ich auf je 100 ccm. der zu fällenden Flüssigkeit gewöhnlich etwa 5—10 ccm. Chlorbariumlösung von 5% zusetze, beziehen sich auch meine Bestimmungen von der Löslichkeit des Bariumsulfates in Salzsäure von 1% stets auf den Fall, dass auf je 100 ccm. Salzsäure 5—10 ccm. 5 procentiger BaCl_2 -Lösung zugesetzt

1) L. cit.

werden, und dass die Versuchsflüssigkeit nicht länger als 24 Stunden beobachtet wird.

Für diesen Fall habe ich nun gefunden, dass 1000 cbem. Salzsäure von 1% kaum 5 mgr. Bariumsulfat in Lösung halten können, was also dem Löslichkeitsverhältnisse 1 : 200000 entspricht. Die Löslichkeit ist übrigens unzweifelhaft eine noch geringere; da es aber sehr schwierig sein kann, einen sehr unbedeutenden Niederschlag ganz sicher zu sehen, will ich mit der obigen Zahl nur die Grenze bezeichnen, wo für mich und auch für andere gar kein Zweifel über das Vorhandensein eines Bariumsulfatniederschlages bestand. Wird die Schwefelsäure mit BaCl_2 aus einer Salzsäure von nur 1% gefällt, dürfte wohl also im Allgemeinen eine Correction für das in Lösung zurückgebliebene Bariumsulfat nicht nothwendig sein. Nichtsdestoweniger habe ich in allen meinen Analysen eine solche gemacht, und dabei wurde die Löslichkeit des Sulfates zu 0,5 mgr. in je 100 cbem. der sauren Flüssigkeit berechnet.

Salpetersaure Alkalien erhöhen die Löslichkeit des Bariumsulfates merklich, während sie auch andererseits zu starker Verunreinigung des Sulfatniederschlages Veranlassung geben können. Aus diesen Gründen ist es ausserordentlich wichtig, in allen Fällen, wo die Lösung, aus welcher die Schwefelsäure gefällt werden soll, erhebliche Mengen von Nitraten enthält, die letzteren zuerst zu entfernen. Zu dem Ende soll man bekanntlich die Flüssigkeit wiederholt mit Salzsäure abdampfen; wenn aber dieses Verfahren zum Ziele führen soll, ist es nothwendig, dass man wiederholt mit überschüssiger Salzsäure im Wasserbade zur Trockne verdampft. Das Austreiben der Salpetersäure mittelst Salzsäure ist nämlich sehr schwierig vollständig zu erreichen, und wenn man nicht einen ziemlich grossen Ueberschuss von Salzsäure zusetzt, kommt man bei Gegenwart von nicht sehr kleinen Mengen Salpeter selbst durch ein 2—3maliges Abdampfen nicht zum Ziele. Ich habe ziemlich viele Versuche nur um diese Frage zu studiren ausgeführt und ich habe dabei gefunden, dass ein einmaliges Abdampfen selbst bei einem grossen Ueberschuss

von Salzsäure nicht genügend ist, während man in einem solchen Falle mit einem 2—3maligen Verdampfen zum Ziele kommen kann. Als Beispiel führe ich folgende Versuche an. Es wurden 2 gr. Salpeter (genau abgewogen) in einer Porzellanschale in wenig Wasser gelöst und dann mit 50 ccm. einer Salzsäure von 25%, also mit einem sehr grossen Ueberschuss von Salzsäure, im Wasserbade zur Trockne verdunstet. Der Rückstand wurde dann im Luftbade vollständig getrocknet, dann in Wasser gelöst und die Menge des Chlorkaliums durch Titration mit einem $\frac{N}{10}$ AgNO₃-Lösung bestimmt. Es wurden auf diese Weise in dem Rückstande im Ganzen 1,23 gr. KCl gefunden, während die berechnete Menge, wenn sämtliche Salpetersäure ausgetrieben worden wäre, 1,475 gr. hätte betragen müssen. Der Rückstand enthielt also gegen 17% KCl zu wenig, und dem entsprechend gab die wässrige Lösung des Rückstandes auch die qualitativen Reactionen der Salpetersäure. Wurden auf dieselbe Weise 2 gr. Salpeter 2 mal mit je 50 ccm. der 25procentigen Salzsäure zur Trockne verdunstet, so wurde dagegen die Salpetersäure so vollständig ausgetrieben, dass ich in dem Rückstande 1,46 statt 1,475 gr. KCl fand und in der wässrigen Lösung des Rückstandes nur Spuren von Salpetersäure nachweisen konnte.

Behufs eines vollständigen Austreibens der Salpetersäure ist es also nothwendig mit einem grossen Ueberschuss von Salzsäure zu verdampfen; und das Abdampfen zur Trockne soll dabei mehrmals wiederholt werden. Aus diesen Gründen habe ich auch in allen meinen Analysen, wo die Verbrennung mit Hülfe von Salpeter (oder auch Kaliumchlorat) ausgeführt wurde, 4 oder mindestens 3 mal mit einem grossen Ueberschuss von Salzsäure zur Trockne im Wasserbade verdunstet. Der Rückstand wurde dann im Luftbade scharf getrocknet und zuletzt in Salzsäure von 1% HCl gelöst.

Arbeitet man auf diese Weise, so ist der aus Bariumsulfat bestehende Niederschlag auch regelmässig (dies ist wenigstens meine Erfahrung) so rein, dass sein Gewicht bei regelrechter Behandlung des geglühten Sulfates — sei es durch

Ausziehen mit Salzsäure oder durch Aufschliessen mit kohlen-saurem Natron etc. — keine erwähnenswerthe Verminderung erfährt.¹⁾ Um ganz sicher zu sein, habe ich es doch am räthlichsten gefunden, das Bariumsulfat (wo die Verbrennung mit Hülfe von ziemlich viel Salpeter geschah) durch Aufschliessen mit kohlen-saurem Natron zu reinigen.

Ich brauche wohl kaum zu erwähnen, dass ich alle die von mir benutzten Reagentien einer sorgfältigen Prüfung unterworfen habe; und da ich in den Analysen die Schwefelsäure stets aus einer nur schwach sauren Lösung (1% HCl) fälle, habe ich auch meine Reagentien bei demselben Gehalte der Lösungen an Salzsäure geprüft. Von der Nothwendigkeit eines solchen Verfahrens habe ich Gelegenheit gehabt mich zu überzeugen, und ich habe gesehen, dass eine Verunreinigung mit Schwefelsäure, wenn man eine ohne Weiteres angesäuerte Lösung mit $BaCl_2$ prüft, leicht übersehen werden kann. So erhielt ich z. B. ein Mal ein Kalihydrat, das als alkoholgereinigtes eingekauft war und auch ganz schwefelsäurefrei sein sollte. Dieses Kalihydrat wurde nun auch von einem Assistenten auf Schwefelsäure mit negativem Erfolge geprüft; da ich aber später das Präparat in der Weise prüfte, dass ich die Lösung des Hydrates in Wasser erst mit Salzsäure neutralisirte und dann mit 1% HCl die Lösung ansäuerte, erhielt ich nach Zusatz von $BaCl_2$ schon nach halbstündigem Erwärmen einen nicht ganz unbedeutenden Niederschlag. Es veranlasste mich dies, die Menge der Schwefelsäure in dem genannten Präparate zu bestimmen, und ich erhielt dabei aus 10 gr. des Hydrates 0,007 gr. $BaSO_4$. Da wir nun wissen, dass 100 cbcm. Salzsäure von 3% 0,006 gr. $BaSO_4$ in Lösung halten, ist es leicht ersichtlich, dass bei einer

1) Eine Gewichtsabnahme kann doch, selbst wenn der Niederschlag rein ist, in dem Falle stattfinden, dass das Bariumsulfat vor dem Glühen nicht ganz sorgfältig von dem Filtrum getrennt worden ist. Bei der Verbrennung des letzteren, die natürlich gesondert geschieht, kann in diesem Falle eine theilweise Reduction des auf dem Filtrum zurückgebliebenen Sulfates zu Schwefelbarium stattfinden, was einen Verlust bedingt. Durch sorgfältige Arbeit kann doch ein solcher Verlust leicht vermieden werden.

Prüfung, wo einige gr. in Wasser gelöst werden und die Lösung mit einer unbekanntem Menge Salzsäure ziemlich stark angesäuert wird, die Verunreinigung mit Schwefelsäure leicht übersehen werden könnte. Dieses Beispiel zeigt also, dass die recht bedeutende Löslichkeit des Bariumsulfates in Salzsäure auch bei der Prüfung der Reagentien nicht vernachlässigt werden darf. Diese Prüfung soll stets mit genau bekannten Mengen sämtlicher dabei verwendeten Stoffe geschehen.

Mit Ausnahme von dem Natriumcarbonate konnte ich alle die erforderlichen Reagentien im Handel von erwünschter Reinheit erhalten¹⁾. Das Natriumcarbonat war dagegen nie ganz frei von Schwefelsäure, wenn auch die Menge davon bisweilen eine so kleine war, dass sie leicht hätte übersehen werden können. Ich reinigte mir deshalb das Carbonat durch Lösung in Wasser und fractionirte Fällung mit Alkohol. Das Präparat war so rein, dass ich in 20 gr. des wasserfreien Salzes keine Spur von Schwefelsäure nachweisen konnte.

Nach diesen Bemerkungen von mehr allgemeiner Art gehe ich nun zur Besprechung der von mir geprüften Methoden über. Diese Methoden waren folgende:

Nr. 1. Die Methode von Liebig. Diese Methode ist in zweifacher Weise von mir versucht worden. Das ältere Liebig'sche Verfahren ist bekanntlich folgendes. Das reine Kalihydrat wird mit $\frac{1}{8}$ Salpeter nach Zusatz von einigen Tropfen Wasser zum Schmelzen erhitzt. Nach dem Erkalten bringt man die Substanz in den Tiegel, erhitzt wieder vorsichtig bis zum Schmelzen, rührt dabei mit einem Spatel um und erhitzt dann allmählich weiter bis die Masse möglichst weiss geworden ist. Wenn nöthig wird dabei gegen das Ende der Verbrennung noch etwas Salpeter zugesetzt.

Die, soweit ich aus den in der Litteratur vorkommenden Angaben erschen kann, nunmehr allgemein gebrauchte Modification dieser Methode besteht darin, dass die Substanz mit

¹⁾ Das Kalihydrat (alkoholgereinigtes) war doch fast immer schwefelhaltig.

einem Gemenge von wasserfreiem, kohlensaurem Natron und Salpeter vermischt, allmählich in sehr kleinen Portionen in ein schmelzendes Gemenge von Aetzkali und Salpeter eingetragen und verbrannt wird.

Diese zwei Modificationen der Liebig'schen Methode habe ich geprüft und mit einander verglichen. Bei der folgenden Mittheilung der Analysen nenne ich das ältere Verfahren Methode 1a und die neuere Modification 1b. Da ich später in den verschiedenen Analysen überall die zu jeder Bestimmung verwendete Menge von Kalihydrat, Salpeter u. s. w. angeben werde, habe ich hier nichts Weiteres über diese Methode zu sagen. Die Verbrennung wurde in allen meinen Analysen in einem Silbertiegel von $7\frac{1}{2}$ cm. Höhe und 6 cm. Diameter ausgeführt.

Nr. 2. Meine Modification der Liebig'schen Methode. Diese Modification besteht darin, dass die Hauptmasse des Eiweisses erst im Wasserbade mit Salpetersäure so weit oxidiert wird, dass nur ein unbedeutender, der Hauptmasse nach kristallinischer Rückstand übrig bleibt. Dieser Rückstand wird in Wasser mit Hülfe von überschüssigen kohlensaurem Natron gelöst, die Lösung in dem Silbertiegel zur Trockne verdunstet und der scharf getrocknete Rückstand durch langsames Erhitzen verbrannt. Ueber diese Methode habe ich schon in meinem Aufsätze «Zur Frage, ob das Casein ein einheitlicher Stoff sei?» (diese Zeitschrift, Bd. VII) ziemlich ausführlich berichtet und ich will hier nur Folgendes zufügen: Bei Bestimmungen des Schwefels in Eiweissstoffen verwende ich gewöhnlich eine Salpetersäure von 25%, während ich bei meinen Bestimmungen von diesem Elemente in dem Leime mit einer solchen Säure nicht zum Ziele kam. Wie in einigen anderen Hinsichten sehr interessante Unterschiede zwischen dem Leime und den Eiweissstoffen obwalten, so besteht auch darin ein Unterschied zwischen beiden, dass der Leim eine ungemein grössere Resistenz gegen die Einwirkung der Salpetersäure zeigt. Beim Behandeln des Leims im Wasserbade mit Salpetersäure von 25% erhielt ich keine krystallinischen Zersetzungsprodukte, sondern nur einen gelb-

lichen, syrupösen Rückstand. Bei Zusatz von rauchender Salpetersäure wurde der Leim dagegen ebenso gut wie das Eiweiss zersetzt, und der Rückstand bestand nun überwiegend aus krystallinischen Produkten (deren Natur ich nicht ermittelt habe).

Bei Verarbeitung des Leimes nach dieser Methode muss also eine starke Salpetersäure verwendet werden, und die rauchende Säure leistet hierbei gute Dienste. Selbstverständlich kann auch zur Zerstörung der Eiweissstoffe eine stärkere Säure verwendet werden; nie aber soll man die Substanz — mag sie Eiweiss oder Leim sein — direct mit rauchender Salpetersäure behandeln, denn da wird die Reaction zu heftig, die Temperatur kann so hoch steigen, dass die Masse theilweise verkohlt und Verluste stattfinden. Man soll darum die Substanz in Salpetersäure von 25% lösen, und erst nach erfolgter Lösung die rauchende Säure zusetzen.

Der im Wasserbade getrocknete Rückstand wird mit Hülfe von kohlensaurem Natron in Wasser gelöst, und dabei kommen als Regel auf etwa 1 gr. der in Arbeit genommenen Substanz etwa 2 gr. kohlensaures Natron (als wasserfreies Salz berechnet). Der im Tiegel im Wasserbade getrocknete Rückstand wird bei 150—170° im Luftbade getrocknet und dann durch vorsichtiges Erhitzen verbrannt. Um die Verbrennung zu beschleunigen und vollständig zu machen, setze ich dabei sehr fein gepulverten Salpeter in sehr kleinen Portionen allmähig zu, und die Masse nimmt dann ohne irgend welche Feuererscheinung oder Verpuffung rasch eine weissliche Farbe an. Wenn man dagegen, wie ich es früher machte, die alkalische Lösung vor dem Eintrocknen mit etwas Salpeter versetzt, kann die Verbrennung bisweilen etwas zu rasch von Statten gehen und es können Verluste stattfinden. Die Schmelze wird wie gewöhnlich behandelt.

Nr. 3. Die Methode von Loew¹⁾. Diese Methode, welche eine Modification des von Piria und Schiff²⁾ zur

1) Pflüger's Archiv, Bd. 31, S. 394.

2) Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. 195, S. 293.

Bestimmung der Halogene angegebenen Verfahrens ist, besteht darin, dass die Substanz mit dem 20fachen Gewichte eines Gemisches von 1 Theil Kaliumchlorat und 4 Theilen Natriumcarbonat verbrannt wird. Die Mischung wird in einen Platintiegel gebracht, eine Platinschale darüber gestülpt, angedrückt und umgekehrt. Nachdem in den Raum zwischen dem Tiegel und der Schale noch etwas von dem Salzgemische gegeben worden ist, wird langsam erhitzt und zuletzt geglüht. Ich habe die Angaben Loew's genau gefolgt und ich habe das Gemenge nur mit der grössten Vorsicht erwärmt. Trotzdem fand ich doch die Handhabung dieser Methode recht schwierig, und ich konnte nicht verhindern, dass die Verbrennung bisweilen so plötzlich auf ein Mal durch die ganze Masse ging, dass kleine Verluste stattfanden. Ich will hiermit nicht gesagt haben, dass nicht auch diese Methode bei grösserer Uebung und in den Händen anderer Forscher regelmässig gute Resultate liefern könne; ich will hiermit eigentlich nur sagen, dass ich bei ihrer Anwendung wiederholt missglückte, und dass dies der Grund ist, warum ich in diesem Aufsätze nur wenige, nach dieser Methode ausgeführten, gut gelungenen Analysen mittheilen kann.

Nr. 4. Die Methode von Claësson. Diese Methode, welche theils in schwedischer¹⁾ und theils auch in deutscher Sprache²⁾ veröffentlicht worden ist, besteht bekanntlich darin, dass die fragliche Substanz in einem Platinschiffchen in einem Gemenge von Sauerstoff und Stickoxyd, also eigentlich in einem Strome von Untersalpetersäure verbrannt wird. Ich habe genau nach den Angaben von Claësson gearbeitet, ich habe seinen Vorschriften nichts zuzufügen, und ich kann deshalb einfach auf seine Abhandlungen verweisen.

Nr. 5. Die Mixter-Sauer'sche Methode. Diese Methode wurde von mir in der Weise, wie sie in dem Heft 4 der Zeitschrift für analytische Chemie, Jahrgang 22, S. 581

1) Öfversigt of kongl. Vetenskaps-Akademiens Förhandlingar 1880, Nr. 5, Stockholm.

2) Fresenius Zeitschrift 1883, Bd. 22, S. 177.

beschrieben worden ist, verwendet. Ich benutzte also stets 2 U-förmige Röhren, von denen die erste am horizontalen Theile 3 kugelförmige Erweiterungen und die zweite nur eine solche hatte. Hierzu kam dann noch die grosse Flasche. Die Verbrennungsprodukte wurden in Bromsalzsäure aufgesammelt und in jeder Röhre fanden sich ausserdem noch ein paar Tropfen Brom. In allem Wesentlichen folgte ich den Vorschriften von Mixer und Sauer und änderte das Verfahren nur in den folgenden 2 Hinsichten ein wenig ab. Ich führte in den eingeengten Theil des Verbrennungsrohres eine, aus dicht zusammengerolltem Platindrahtnetz hergestellte Spirale, hinein, weil dadurch eine vollständige Verbrennung wesentlich erleichtert wird, und weiter führte ich immer in das gegen die eingeengte Stelle des Verbrennungsrohres ziehende Ende des inneren Glasrohres ein aus einem zusammengerollten, dünnen Platinbleche hergestelltes Platinrohr hinein. Dies geschah in der Absicht, ein Zusammenschmelzen oder eine zu starke Verengung der Mündung dieses Rohres zu verhindern, denn es ereignete sich einmal, dass eine Analyse durch Zusammenschmelzung der Rohrmündung verunglückte.

Nach diesen Bemerkungen über die von mir geprüften Methoden gehe ich zu den Analysen über, und ich bemerke dabei, dass alle Zahlen auf die als aschefrei berechnete Substanz sich beziehen, und dass die Substanz stets bei 110—115° C. getrocknet wurde.

Casein I. Dieses Casein war nach der Methode von Radenhausen & Danilewsky, also durch Fällung der mit Wasser verdünnten Milch mit ein wenig Salzsäure, Auflösung des Niederschlages mit Hülfe von möglichst wenig Ammoniak, Filtration, neue Fällung mit Salzsäure, Auswaschen mit Wasser, Alkohol und Aether, dargestellt worden. Der Gehalt an Asche war 0,3%.

Methode 1^a.

1,145 gr. Substanz mit 12 gr. Kalihydrat und 1,5 gr. Salpeter lieferten
0,0645 gr. $\text{BaSO}_4 = 0,773\%$ S.

Methode 1^b.

- a) 1,2061 gr. Substanz, mit 1,5 gr. wasserfreiem Natriumcarbonat und 0,7 gr. Salpeter vermischt, wurden allmählich in ein schmelzendes Gemenge von 5 gr. Kalihydrat und 3 gr. Salpeter eingetragen. Es wurden gefunden 0,0591 gr. $\text{BaSO}_4 = 0,672\%_0$ S.
- b) 1,131 gr. Substanz + 1,5 gr. Soda und 0,7 gr. Salpeter. Im Tiegel 5 gr. Kalihydrat und 5 gr. Salpeter. Es wurden gefunden 0,0549 gr. $\text{BaSO}_4 = 0,667\%_0$ S.

Methode 2.

- a) 2,184 gr. Substanz. Nach der Zerstörung mit Salpetersäure im Wasserbade wurde mit 2 gr. Soda und 0,5 gr. Salpeter eingetrocknet. Es wurden gefunden 0,127 gr. $\text{BaSO}_4 = 0,798\%_0$ S.
- b) 2,8991 gr. Substanz. Nach der Zerstörung mit Salpetersäure mit 3 gr. Soda und 1 gr. Salpeter eingetrocknet. Gefunden 0,1666 gr. $\text{BaSO}_4 = 0,789\%_0$ S.

Methode 3.

0,870 gr. Substanz mit 20 gr. des Gemenges von Soda und Kaliumchlorat. Gefunden 0,046 gr. $\text{BaSO}_4 = 0,726\%_0$ S.

Methode 4.

1,039 gr. Substanz lieferten 0,053 gr. $\text{BaSO}_4 = 0,701\%_0$ S. Diese Zahl ist doch zu niedrig, weil durch einen Unfall bei der Bestimmung ein kleiner Theil des Bariumsulfates verloren gieng. Da ich zu einer neuen Bestimmung nach der Methode Claësson's keine genügende Menge von diesem Casein hatte, habe ich doch diese Analyse, wenn sie auch mit einem Fehler behaftet ist, nicht ganz weglassen wollen.

Methode 5.

1,1092 gr. Casein lieferten 0,063 gr. $\text{BaSO}_4 = 0,780\%_0$ S.

Zusammenstellung der Bestimmungen im Casein I.

Methode:	1 ^a	1 ^b	2	3	4	5
	—	0,672	0,798	—	—	—
	0,773	0,667	0,789	0,726	(0,701)	0,780
Mittel:	0,773 $\%_0$; 0,670 $\%_0$; 0,794 $\%_0$; 0,726 $\%_0$; (0,701 $\%_0$); 0,780 $\%_0$ S.					

Casein II. Dieses Präparat war nach meiner Methode durch 3maliges Fällen mit Essigsäure dargestellt worden. Der Gehalt an Asche war 0,21%.

Methode 1^a.

1,0329 gr. Substanz, mit 11 gr. Kalihydrat und 1,3 gr. Salpeter geschmolzen, lieferten 0,0583 gr. $\text{BaSO}_4 = 0,775\%_0$ S.

Methode 1^b.

- a) 1,2817 gr. Substanz mit 1,5 gr. Soda und 0,7 gr. Salpeter. Im Tiegel 5 gr. Salpeter und 5 gr. Kalihydrat. Gefunden 0,0558 gr. $\text{BaSO}_4 = 0,598\%_0$ S.

b) 1,1688 gr. Substanz mit 1 gr. Soda und 0,5 gr. Salpeter. Im Tiegel 7 gr. Kalihydrat und 3,5 gr. Salpeter. Gefunden 0,0526 gr. BaSO_4 = 0,618% S.

Methode 2.

1,5505 gr. Substanz. Nach der Zerstörung mit Salpetersäure Zusatz von 2,5 gr. Soda. Salpeterzusatz erst bei der Verbrennung. Gefunden 0,0878 gr. BaSO_4 = 0,778% S.

Methode 3.

0,940 gr. Substanz mit 20 gr. des Gemenges von Soda und Kaliumchlorat. Gefunden 0,050 gr. BaSO_4 = 0,731% S.

Methode 4.

0,984 gr. Substanz lieferten 0,0522 gr. BaSO_4 = 0,729% S.

Methode 5.

1,1355 gr. Substanz lieferten 0,0625 gr. BaSO_4 = 0,747% S.

Zusammenstellung der Bestimmungen im Casein II.

Methode:	1a	1b	2	3	4	5
	—	0,598	—	—	—	—
	0,775	0,618	0,778	0,731	0,729	0,747
Mittel:	0,775%	0,608%	0,778%	0,731%	0,729%	0,747% S.

Casein III. Dieses Präparat war nach meiner Methode durch 4maliges Fällen mit Essigsäure dargestellt. Gehalt an Asche 0,109%.

Methode 1a.

- a) 1,0865-gr. Substanz mit 12 gr. Kalihydrat und 1,5 gr. Salpeter lieferten 0,060 gr. BaSO_4 = 0,758% S.
 b) 1,2493 gr. Substanz mit 12 gr. Kalihydrat und 1,5 gr. Salpeter lieferten 0,070 gr. BaSO_4 = 0,769% S.

Methode 1b.

- a) 1,2588 gr. Substanz mit 1,5 gr. Soda und 0,7 gr. Salpeter. Im Tiegel 8 gr. Kalihydrat und 3 gr. Salpeter. Gefunden 0,0576 gr. BaSO_4 = 0,628% S.
 b) 1,2875 gr. Substanz mit 1,5 gr. Soda und 0,7 gr. Salpeter. Im Tiegel 5 gr. Kalihydrat und 5 gr. Salpeter. Gefunden 0,0626 gr. BaSO_4 = 0,667% S.

Methode 2.

2,5492 gr. Substanz. Nach der Salpetersäurebehandlung Zusatz von 2 gr. Soda. Zusatz von Salpeter erst bei dem Verbrennen. Gefunden 0,1438 gr. BaSO_4 = 0,774% S.

Methode 3.

1,0624 gr. Substanz mit 20 gr. des Gemenges von Soda und Kaliumchlorat. Gefunden 0,0564 gr. BaSO_4 = 0,729% S.

Methode 4.

0,918 gr. Substanz lieferten 0,051 gr. $\text{BaSO}_4 = 0,763\%$ S.

Methode 5.

1,0785 gr. Substanz lieferten 0,0565 gr. $\text{BaSO}_4 = 0,730\%$ S.

Zusammenstellung der Bestimmungen im Casein III.

Methode:	1a	1b	2	3	4	5
	0,758	0,628	—	—	—	—
	0,769	0,667	0,774	0,729	0,763	0,730
Mittel:	0,764 $\%$	0,648 $\%$	0,774 $\%$	0,729 $\%$	0,763 $\%$	0,730 $\%$ S.

Casein IV. Dieses Casein war durch 2maliges Fällen mit Chlorwasserstoffsäure nach der Methode von Radenhausen und Danilewsky dargestellt worden. Gehalt an Asche 0,25%.

Methode 1a.

1,1335 gr. Substanz mit 10 gr. Kalihydrat und 1,2 gr. Salpeter lieferten 0,065 gr. $\text{BaSO}_4 = 0,774\%$ S.

Methode 1b.

1,5767 gr. Substanz mit 2 gr Soda und 1 gr. Salpeter. Im Tiegel 8 gr. Kalihydrat und 2 gr. Salpeter. Gefunden 0,0796 gr. $\text{BaSO}_4 = 0,681\%$ S.

Methode 2.

2,0568 gr. Substanz. Nach der Salpetersäurebehandlung Zusatz von 3 gr. Soda. Salpeterzusatz erst beim Verbrennen. Gefunden 0,1159 gr. $\text{BaSO}_4 = 0,774\%$ S.

Methode 4.

- a) 1,159 gr. Substanz lieferten 0,0644 gr. $\text{BaSO}_4 = 0,763\%$ S.
 b) 0,9055 gr. Substanz lieferten 0,0505 gr. $\text{BaSO}_4 = 0,766\%$ S.

Methode 5.

1,058 gr. Substanz lieferten 0,0585 gr. $\text{BaSO}_4 = 0,759\%$ S.

Zusammenstellung der Bestimmungen im Casein IV.

Methode:	1a	1b	2	3	4	5
	—	—	—	—	0,763	—
	0,774	0,681	0,774	—	0,766	0,759
Mittel:	0,774 $\%$	0,681 $\%$	0,774 $\%$	—	0,765 $\%$	0,759 $\%$ S.

Nachdem ich nun sämtliche von mir ausgeführten, neuen Schwefelbestimmungen in dem Casein mitgeteilt habe, lasse ich hier eine tabellarische Uebersicht der Analysen folgen.

Uebersichtstabelle.

Methode.	1a	1b	2	3	4	5
Casein I.	0,773	0,672 0,667	0,793 0,789	0,726	(0,7011)	0,780
Casein II.	0,775	0,598 0,618	0,778	0,731	0,729	0,747
Casein III.)	0,758 0,769	0,628 0,667	0,774	0,729	0,763	0,730
Casein IV.	0,774	0,681	0,774	—	0,763 0,766	0,750
Mittel:	0,770%	0,647%	0,783%	0,729%	0,755%	0,754%

Ein Blick auf diese Tabelle zeigt sogleich, dass die Methode 1^b — also das gewöhnliche Verfahren, wo die mit Soda und Salpeter gemischte Substanz in ein schmelzendes Gemenge von Kalihydrat und Salpeter eingetragen wird — überall niedrigere und zwar um etwa 0,1% niedrigere Zahlen als die übrigen Methoden geliefert hat. Zu demselben Resultate kam ich auch bei meinen älteren Bestimmungen, wo doch nur die Methoden 1^b und 2 mit einander verglichen wurden, und wenn ich nicht irre dürfte man wohl auch ziemlich einig darüber sein, dass bei Anwendung von diesem Verfahren Verluste kaum zu vermeiden sind. Will man aus den obigen Zahlen Mittelwerthe für den Schwefelgehalt des Caseins ziehen, so muss man wohl desshalb auch die 7 Bestimmungen, welche nach der Methode 1^b ausgeführt worden sind, ausser Rechnung bringen, und dasselbe muss auch von der Bestimmung nach der Methode 4 im Casein I gelten, weil diese Bestimmung mit einem Fehler behaftet ist.

Es bleiben also nur 21 Schwefelbestimmungen in den 4 Caseinpräparaten übrig, und diese gaben als Mittelwerth für das Casein 0,758% S. Es ist dies genau dieselbe Zahl,

1) Diese Zahl ist, wie oben bemerkt, mit einem Fehler behaftet und ist desshalb auch bei der Berechnung der Mittelzahlen nicht mitgerechnet worden.

die ich als Mittel aus meinen früheren Bestimmungen — wenn die 3 ersten Analysen, für deren Richtigkeit ich nicht einstehen konnte, abgerechnet werden — erhalten habe, und dies dürfte wohl also zeigen, dass auch diese Bestimmungen richtig waren.

In diesen 21 Bestimmungen habe ich als Maximum 0,798% und als Minimum 0,726% S. gefunden. Die Differenz beträgt also nur 0,072%, was hier etwa 5 mgr. Bariumsulfat entspricht, und da es hier um Schwefelbestimmungen in verschiedenen Caseinpräparaten nach verschiedenen Methoden sich handelt, dürfte eine bessere Uebereinstimmung wohl schwerlich zu erwarten sein. Da man nun bei den Schwefelbestimmungen, wenn nur das Bariumsulfat sorgfältig gereinigt wird und die Reagentien ganz rein sind, eher etwas zu niedrige als zu hohe Werthe erhält, bin ich doch geneigt anzunehmen, dass die nach den Methoden 1^a und 2 erhaltenen, etwas höheren Zahlen die richtigen sind, und dass dementsprechend das Casein gegen 0,8%, etwa 0,78% Schwefel enthält. Dass ich in den neuen Bestimmungen nach meiner Methode, Nr. 2, im Allgemeinen ein wenig höhere Zahlen als in den älteren Analysen erhalten habe, liegt wohl daran, dass ich in meinen älteren Analysen die Schwefelsäure mit BaCl_2 aus einer Lösung, welche mehr Salzsäure enthielt, fällte und für das in der Lösung zurückgebliebene Bariumsulfat keine Correction machte.

In meinem früheren Aufsätze über diesen Gegenstand (diese Zeitschrift, Bd. VII, S. 258 u. 259) habe ich im Ganzen zwölf Schwefelbestimmungen in acht verschiedenen Caseinpräparaten mitgetheilt. Unter diesen Bestimmungen findet man acht, gegen deren Zuverlässigkeit, so weit ich verstehe, nichts einzuwenden ist. Wenn man diese Analysen mitrechnet, habe ich also in 9 verschiedenen Caseinpräparaten, von denen einige durch Ausfällung mit Salzsäure und andere durch 2—10 maliges Ausfällen mit Essigsäure dargestellt worden waren, in 29 Bestimmungen nach fünf verschiedenen Methoden als Maximum 0,798%, als Minimum 0,726% und als Mittel 0,758% Schwefel gefunden. Wenn man nun auch

diese Mittelzahl nicht gelten lassen will, sondern die nach den Methoden 1^a und 2 erhaltenen, etwas höheren Zahlen 0,770% und 0,783% als richtiger betrachtet, so komme ich doch zu demselben Resultate wie früher und muss also, gegenüber den zwei Analysen Danilewsky's, welche für das Casein etwas mehr als 1% Schwefel ergeben hatten, meine früheren Angaben, deren zufolge der Schwefelgehalt des Caseins zwischen 0,7 und 0,8% liegen soll, als richtig bezeichnen.

Zu dem nun Gesagten will ich übrigens nur zufügen, dass meine Analysen nur auf ein möglichst sorgfältig gereinigtes, mit Säure aus der Milch gefälltes Casein sich beziehen, und zwar auf denjenigen Eiweissstoff der Milch, welchen man seit Alters als Casein bezeichnet hat und welcher vor Allem dadurch gekennzeichnet ist, dass er nach Zusatz von Lab bei Gegenwart von genügenden Mengen Calciumphosphat zu Käse gerinnt. Ich bemerke dies einerseits mit Rücksicht darauf, dass ein nicht mit gebührender Sorgfalt gereinigtes Casein von einer anderen, etwas schwefelreicheren Proteinsubstanz der Milch verunreinigt sein kann, wodurch der Schwefelgehalt des Casein vielleicht ein wenig erhöht wird, und andererseits mit Rücksicht auf einige neuere Arbeiten, in welchen als Casein Stoffe bezeichnet werden, die mit dem gewöhnlichen Casein fast nichts anderes als die gewöhnlichen Eiweissreaktionen gemeinsam haben.

Nach meinen Analysen enthält also das Casein nur gegen 0,8% Schwefel — wahrscheinlich etwa 0,78%. In welchem Verhältnisse dieser Schwefel als oxydirter und als unoxydirter in das Casein eingeht, darüber kann ich noch nichts Sicheres sagen, hoffe aber ein anderes Mal zu dieser Frage zurückkommen zu können. Dass die Menge des unoxydirten Schwefels in dem Casein nur eine geringe sein kann, dafür spricht schon die regelmässig nur sehr schwache Reaction, welche das Casein beim Erwärmen mit Kalilauge und Bleiacetat giebt, und hierfür spricht auch die Analyse von Fleitmann. Dieser Forscher (Bestimmungen des Verhältnisses, in welchem der Schwefel in seinen zwei ver-

schiedenen Formen etc. *Annalen der Chemie und Pharmacie*, Bd. 66, S. 380) fand nämlich in dem Casein nur 0,07% unoxydirten Schwefel.

Bevor ich die Frage von dem Schwefelgehalte des Caseins verlasse, muss ich mit einigen Worten meine Stellung zu der Frage über die Bedeutung des Schwefels in den Eiweissstoffen klar machen.

Radenhausen und Danilewsky hatten behauptet¹⁾, dass ein von ihnen Caseoprotalbin genannter Stoff, wenn man ihn in Kalkwasser löst und die Lösung bei Gegenwart von etwas Alkohol mit Phosphorsäure versetzt, in Caseoalbumin übergeführt wird. Ich habe diese Behauptung schon aus dem Grunde als eine ganz unrichtige bezeichnet, weil das Caseoalbumin nach den genannten Forschern reicher an Schwefel als das Caseoprotalbin sein soll und weil es doch nicht möglich ist, einen schwefelärmeren Stoff nur durch Auflösen in Kalkwasser und Zusatz von Phosphorsäure in einen schwefelreicheren überzuführen.

Um die Bedeutung dieser Einwendung zu entkräften, hat Danilewsky in seinem Aufsätze «Zur vorläufigen Abwehr» erklärt, dass die Natur und Bedeutung des Schwefels in den Eiweisskörpern mir nicht genug bekannt ist, und er sucht darum auch mich darüber zu belehren, dass der nicht oxydirte Schwefel für die Existenz gewisser Eiweissstoffe «nicht wesentlich nothwendig» sein soll.

Dass die Natur und Bedeutung des Schwefels in den Eiweisskörpern mir nicht genug bekannt ist, das gestehe ich ausserordentlich gern, und ich befinde mich in dieser Hinsicht leider in derselben Lage wie alle anderen Chemiker, denn wir müssen doch wohl alle gestehen, dass die Constitution der Eiweissstoffe uns lange nicht genug bekannt ist. Ebenso offen muss ich doch gestehen, dass ich durch die Versuche und Schlussfolgerungen Danilewsky's keine grössere Klarheit in dieser Frage gewonnen habe; und da ich

¹⁾ «Untersuchungen über die Eiweissstoffe der Milch» in *Forschungen auf dem Gebiete der Viehhaltung und ihrer Erzeugnisse*. Heft 9, Bremen 1880.

unter keinen Umständen den Anschauungen Danilewsky's über die Bedeutung des Schwefels in den Eiweissstoffen mich anschliessen kann, bin ich genöthigt, meine Stellung zu dieser Frage hier klar zu machen.

Danilewsky glaubt bewiesen zu haben, dass der Grundprocess bei der Entstehung der Protalbstoffe (die Alkali-*albuminate*) aus dem Albumin durch Alkalieinwirkung in der Abspaltung von rein anorganischen Elementen — von Calcium, Magnesium und Phosphorsäure — bestehe, während die Abspaltung von einem Theile des sämmtlichen Schwefels ein wegen der Laugenwirkung unvermeidlicher Nebenprocess sein soll. «Die Abspaltung des Schwefels», so sagt er nämlich, «ist ganz und gar ein Nebenprocess, und der abgespaltene Schwefel ist auch für die Existenz des Proteinmoleküls nicht nöthig, denn das entstandene Protalbin kann ohne Schwefelzusatz aber unbedingt mit Aufnahme von Calcium und Phosphorsäure in Albumin zurückgeführt werden». Weiter unten heisst es: «Bei der Rückbildung der niederen Protalbstoffe in Protalbin wird kein Schwefel eingeführt; aber die Umwandlung ist nichtsdestoweniger ganz sicher, was durch Lösungsverhältnisse, durch die Veränderungen der Farbenreactionen und durch das Verhalten des Produktes zu Albumin bewiesen wird». Zuletzt sagt Danilewsky auch, «da die niederen Protalbstoffe constant in Mittel 1,08 bis 1,1% S. enthalten und mit derselben Schwefelmenge durch die intermediären Stufen in Albumin übergeführt werden können, so behaupte ich, dass in dem Eialbumin bis zu 0,9% seines Schwefels (d. h. etwas weniger als die Hälfte seines Schwefels) welcher eben sehr leicht durch verdünnte Laugen eliminiert werden kann, für seine Existenz nicht wesentlich nothwendig ist».

Ich kann diese Worte nicht anders als so verstehen, dass Danilewsky wirklich einen Theil des in dem Eiweissmoleküle enthaltenen Schwefels als für die Existenz dieses Eiweissmoleküls nicht wesentlich nothwendig betrachtet, und dass er wirklich daran glaubt, dass der aus einem Alkali-*albuminate* mit 0,9% Schwefel nur durch Einführung von

Calcium und Phosphorsäure in das Molekül erhaltene Stoff wirklich mit einem Eiweissstoffe von 1,9% Schwefel identisch sein kann.

Für mich ist eine solche Annahme eine ganz unmögliche; und wenn Danilewsky behauptet, dass die Umwandlung der (schwefelärmeren) Protalbstoffe in (schwefelreicheres) Protalbin, trotzdem dass kein Schwefel eingeführt wird, nichtsdestoweniger ganz sicher ist, was durch die Lösungsverhältnisse, die Veränderungen der Farbenreactionen und das Verhalten des Produktes zu Albumin bewiesen wird, so kann ich meinestheils einer solchen Schlussfolgerung nicht beipflichten. Ich muss vielmehr aus diesen Beobachtungen einen ganz anderen Schluss ziehen, den nämlich, dass hierbei keine Rückbildung zu Albumin stattgefunden hat, und dass den von Danilewsky als beweisend betrachteten Reactionen und Lösungsverhältnissen keine grosse Beweiskraft zugemessen werden kann. Ich würde wenigstens, wenn ich bei dem Versuche ein Albuminat in das entsprechende Albumin zurückzuverwandeln, einen Stoff mit z. B. 1,2% Schwefel erhalten hatte, während der Schwefelgehalt des fraglichen Albumins etwa 1,8% beträgt, nie die Annahme gewagt haben, dass hier eine Rückbildung stattgefunden hätte, wenn auch die übrigen Reactionen noch so übereinstimmend gewesen wären. Ich würde hierin nur einen neuen Beweis für die bekannte Thatsache gesehen haben, dass Eiweissstoffe, welche in mehreren Hinsichten einander ausserordentlich ähnlich sein können, doch lange nicht identisch sind.

Gerade der Umstand, dass bei der Umwandlung der Eiweissstoffe in Alkalialbuminate mit Hülfe von verdünnter Alkalilauge Schwefel (und wie ich mehrmals beobachtet habe auch Stickstoff) sich abspaltet, ist auch immer für mich ein sehr wichtiger Grund gewesen, die Angaben Danilewsky's über Rückbildung von Albumin aus Albuminaten als irrig zu betrachten.

Danilewsky erinnert in seinem Aufsätze an die bekannten Untersuchungen von Fleitmann, welche zeigten, dass der Schwefel der Eiweisskörper wegen seiner Stellung

im Molekül sich verschiedenartig gegen Reagentien verhält, indem ein Theil des Schwefels leicht Schwefelmetall bildet, ein anderer dagegen nicht. Dieses verschiedene Verhalten, sagt nun Danilewsky, kann nur durch die Annahme, dass der erste Schwefelatheil nicht, der zweite aber direct mit Sauerstoff verbunden im Molekül sich vorfindet, erklärt werden, und er betont darauf mit Recht, dass hieraus auch die Unrichtigkeit derjenigen Eiweissformeln, welche auf Grund eines einzigen Schwefelatoms construiert sind, mit Nothwendigkeit hervorgeht; «denn zwei verschiedene Stellungen zwingen zu der Annahme von wenigstens zwei Schwefelatomen im Molekül». Man kann nun hier fragen: wenn ein bestimmter Eiweisskörper zwei Schwefelatome im Molekül enthält, wie ist es dann wohl denkbar, dass das eine Schwefelatom für die Existenz gerade dieses Eiweissstoffes nicht wesentlich nothwendig sein sollte, und wenn man aus dem Eiweissmoleküle mit Alkali dasjenige Schwefelatom, welches nicht direct mit dem Sauerstoff verbunden ist, abgespaltet hat, wie ist es dann wohl möglich anzunehmen, dass der durch Einführung von Calcium und Phosphorsäure in das Molekül entstandene, neue, nur 1 Schwefelatom enthaltende Eiweissstoff mit der Muttersubstanz, welche 2 Atome Schwefel enthält, identisch sein könne.

Mir scheint eine solche Annahme ganz unmöglich zu sein, und denjenigen Beobachtungen, durch welche Danilewsky diese behauptete Umwandlung der Alkalbuminate (Protalbstoffe) in Albumin nur durch Aufnahme von Calcium und Phosphorsäure in das Molekül beweisen will, kann ich auch keine Beweiskraft zuerkennen. Ein schwefelärmeres Albuminat kann nach meiner Ansicht nie durch alleinige Aufnahme von Calcium und Phosphorsäure in die ursprüngliche, schwefelreichere Muttersubstanz übergeführt werden. Das neue Produkt kann der Muttersubstanz in vielen Beziehungen zum Verwechseln ähnlich sein, aber identisch mit ihr ist es gewiss nicht, denn es enthält weniger Schwefel: und der durch Alkali abspaltbare Theil des Schwefels ist etwas für die Constitution eines bestimmten Eiweissstoffes

wesentlich Nothwendiges. Dies ist jetzt wie früher meine Ansicht über die Natur und Bedeutung des Schwefels in den Eiweissstoffen.

Wie oben angedeutet, musste es von Interesse sein, die Brauchbarkeit der obigen von mir geprüften Methoden auch für die Bestimmung des Schwefels in anderen Protein-substanzen zu prüfen, und aus diesem Grunde habe ich auch nach dieser Methode einige Bestimmungen des Schwefels in Eialbumin und Leim ausgeführt. Ich theile hier die Resultate dieser Bestimmungen mit.

Eialbumin. Das zu den Analysen verwendete Albumin wurde auf folgende Weise dargestellt. Das mit Wasser ziemlich stark verdünnte Hühnereiweiss wurde mit Essigsäure genau neutralisirt und dann mit einem anhaltenden Kohlensäurestrome behandelt. Der hierbei sich ausscheidende Theil der Globuline wurde abfiltrirt, das Filtrat zum Sieden erhitzt und durch Zusatz von noch ein wenig Essigsäure coagulirt. Das coagulirte Eiweiss wurde darauf mit Wasser gewaschen und dann mit Alkohol und Aether behandelt. Das zu den Analysen verwendete Albumin war also kein ganz reines, sondern ein von Globulin etwas unreinigtes Ovalbumin. Das Präparat, welches bei 110—115° C. getrocknet wurde, enthielt 0,559% Asche.

Methode 1a.

1,0411 gr. Substanz mit 10,5 gr. Kalihydrat und 1,4 gr. Salpeter lieferten 0,1265 gr. $\text{BaSO}_4 = 1,67\%$.

Methode 1b.

- a) 1,1892 gr. Substanz mit 2,5 gr. Soda und 0,6 gr. Salpeter. Im Tiegel 5 gr. Kalihydrat und 5 gr. Salpeter. Gefunden: 0,13175 gr. $\text{BaSO}_4 = 1,52\%$ S.
- b) 1,0022 gr. Substanz mit 1 gr. Soda und 0,5 gr. Salpeter. Im Tiegel 10 gr. Kalihydrat und 5 gr. Salpeter. Gefunden: 0,1121 gr. $\text{BaSO}_4 = 1,54\%$ S.
- c) 0,967 gr. Substanz mit 1 gr. Soda und 1 gr. Salpeter. Im Tiegel 5 gr. Kalihydrat und 5 gr. Salpeter. Gefunden: 0,0946 gr. $\text{BaSO}_4 = 1,34\%$ S.

Methode 2.

a) 2,283 gr. Substanz. Nach dem Behandeln mit Salpetersäure Zusatz von 4 gr. Soda. Salpeterzusatz erst beim Verbrennen. Gefunden: 0,2821 gr. $\text{BaSO}_4 = 1,695\%$ S.

b) 1,69 gr. Substanz. Nach der Salpetersäurebehandlung Zusatz von 2 gr. Soda. Salpeterzusatz erst beim Verbrennen. Gefunden: 0,203 gr. $\text{BaSO}_4 = 1,65\%$ S.

Methode 4.

1,0266 gr. Substanz lieferten 0,121 gr. $\text{BaSO}_4 = 1,62\%$ S.

Methode 5.

1,1105 gr. Substanz lieferten 0,1274 gr. $\text{BaSO}_4 = 1,58\%$ S.

Zusammenstellung der Bestimmungen des Schwefels im Eieralbumin.

Methode:	1a	1b	2	4	5
—	—	a) 1,52	—	—	—
—	—	b) 1,54	1,70	—	—
—	1,67	c) 1,34	1,65	1,62	1,58
Mittel:	1,67 ⁰ / ₀	1,47 ⁰ / ₀	1,67 ⁰ / ₀	1,62 ⁰ / ₀	1,58 ⁰ / ₀

Wie in dem Casein habe ich also auch in dem Eieralbumin nach der Methode 1_b die niedrigsten Zahlen erhalten. Wenn ich von der Zahl 1,34⁰/₀, die ich bei Anwendung von verhältnissmässig viel Salpeter erhielt, absehe und nur an die zwei übrigen Zahlen 1,32⁰/₀ und 1,54⁰/₀ mich halte, finde ich also nach der Methode 1_b etwa 0,1⁰/₀ Schwefel weniger als nach den Methoden 1_a und 2, welche hier wie in den Caseinanalysen die höchsten Zahlen gegeben haben. Die Methode 4 (von Claësson) gab die Zahl 1,62⁰/₀, welche nur um etwa 0,05⁰/₀ von dem gefundenen Mittelwerthe 1,67⁰/₀ differirt, während die Methode 5 (von Mixter und Sauer) eine etwas niedrigere Zahl 1,58⁰/₀ gab.

Leim. Das analysirte Präparat war feine, käufliche Gelatina; es enthielt 1,74⁰/₀ Asche und wurde bei 110 bis 115° C. getrocknet.

Methode 1a.

1,855 gr. Substanz mit 12,5 gr. Kalihydrat und 1,6 gr. Salpeter lieferten 0,097 gr. $\text{BaSO}_4 = 0,718\%$ S.

Methode 1b.

1,3572 gr. Substanz mit 3 gr. Soda und 1,5 gr. Salpeter. Im Tiegel 10 gr. Kalihydrat und 2 gr. Salpeter. Gefunden: 0,0672 gr. $\text{BaSO}_4 = 0,680\%$ S.

Methode 2.

- a) 1,8985 gr. Substanz. Nach der Salpetersäurebehandlung Zusatz von 5 gr. Soda. Salpeterzusatz erst beim Verbrennen. Gefunden: 0,1026 gr. $\text{Ba SO}_4 = 0,742\%$ S.
- b) 2,3498 gr. Substanz. Nach der Salpetersäurebehandlung Zusatz von 5 gr. Soda. Salpeter erst beim Verbrennen. Gefunden: 0,1286 gr. $\text{Ba SO}_4 = 0,751\%$ S.

Methode 4.

0,957 gr. Substanz lieferten 0,052 gr. $\text{Ba SO}_4 = 0,74\%$ S.

Methode 5.

- a) 1,095 gr. Substanz lieferten 0,053 gr. $\text{Ba SO}_4 = 0,665\%$ S.

In diesem Falle war die Verbrennung doch offenbar eine unvollständige, und es gingen flüchtige Zersetzungsprodukte in geringer Menge in die Bromsalzsäure über.

- b) 1,26 gr. Substanz lieferten 0,061 gr. $\text{Ba SO}_4 = 0,665\%$ S.

Zusammenstellung der Schwefelbestimmungen im Leim.

Methode:	1a	1b	2	4	5
	—	—	a) 0,742	—	a) 0,665
	0,718	0,680	b) 0,751	0,746	b) 0,665
Mittel:	0,718 $\%$	0,680 $\%$	0,747 $\%$	0,746 $\%$	0,665 $\%$ S.

In diesen Bestimmungen erhielt ich also die niedrigste Zahl nach der Methode 5, und es ist wohl nur ein Zufall gewesen, dass ich in den zwei Bestimmungen genau dieselbe Zahl 0,665% S. erhielt, trotzdem dass in der Analyse a die Verbrennung nachweisbar eine nicht ganz vollständige war. In der Analyse b war die Verbrennung dagegen, so weit ich finden konnte, eine vollständige; und ich muss mich wohl also hier doch zu irgend einem anderen, mir unbekanntem Fehler schuldig gemacht haben. Abgesehen von diesen zwei Bestimmungen gab also auch in dieser Versuchsreihe die Methode 1b die niedrigste Zahl. Die Methode 1a gab eine um etwa 0,03% niedrigere Zahl als die Methoden 2 und 4, welche dieselbe Zahl, resp. 0,742 und 0,746% S gaben.

Zuletzt möchte es mir vielleicht erlaubt sein, auf Grundlage der von mir bisher ausgeführten Schwefelbestimmungen meine Ansicht über den Werth der verschiedenen Methoden hier auszusprechen.

Die Methode 1b, d. h. das, wie ich glaube, ziemlich allgemein geübte Verfahren, die mit Soda und Salpeter ge-

mischte Substanz durch Eintragen in ein schmelzendes Gemenge von Kalihydrat und Salpeter zu verbrennen, scheint weniger gut als die anderen zu sein, in so ferne als sie regelmässig die niedrigsten Zahlen liefert. Der Grund hierzu liegt darin, dass bei dieser Methode Verluste wohl kaum zu vermeiden sind — mag man noch so sorgfältig arbeiten — denn da die Verbrennung nur auf der Oberfläche der Schmelze von Statten geht, ist es gar nicht möglich zu verhindern, dass ein Theil der Zersetzungsprodukte des Eiweisses der Verbrennung entgehen und in gasförmigem Zustande entweichen. Nach meiner Erfahrung ist diese Methode auch diejenige, die am wenigsten zu empfehlen ist; und wenn ich nicht irre, haben auch andere Forscher eine ähnliche Erfahrung gemacht.

Die Methode 1^a scheint mir dagegen eine wirklich gute zu sein. Wenn man die Masse vorsichtig mit einer kleinen Flamme erwärmt, können Verluste durch Schäumen, Spritzen oder durch unvollständiges Verbrennen wohl kaum stattfinden. Ein Verpuffen findet nie statt, sondern die Masse wird nach und nach weniger dunkel, und die Verbrennung ist ziemlich bald — jedenfalls in weniger als zwei Stunden — beendet. Dabei ist es, wenn man mit einer kleinen Flamme erwärmt, nur im Anfange, wo die erste etwas heftigere Reaction stattfindet, und am Ende, wo die Hitze gesteigert werden muss, nothwendig, die Operation genau zu überwachen. Die einzigen Unannehmlichkeiten, welche nach meiner Erfahrung mit diesem Verfahren verknüpft sind, sind folgende: Man erhält eine sehr grosse Salzmasse, welche die weitere Arbeit etwas erschwert und welche die Anwendung dieser Methode zur Bestimmung des Schwefels in schwefelärmeren Substanzen, von welchen grössere Mengen in Arbeit genommen werden müssen, nicht wenig beeinträchtigt. Die andere Unannehmlichkeit liegt in der grossen Schwierigkeit, ein absolut schwefel- oder schwefelsäurefreies Kalihydrat zu erhalten. Namentlich habe ich noch nie ein absolut schwefelfreies Kalihydrat in Stangen erhalten können, und da, wie ich einige Male gesehen habe, die verschiedenen Stangen nicht

immer ganz denselben Schwefelgehalt haben, kommt man erst nach Umschmelzen des Hydrates mit einer quantitativen Bestimmung des Schwefels in dem Kalihydrate und einer daraus berechneten Correction zum Ziele.

Die Methode 2 hat mit der vorigen das gemeinsam, dass bei ihrer Anwendung und bei übrigens nicht zu nachlässiger Arbeit keine Verluste zu befürchten sind. Vor jener Methode hat sie den Vorzug, dass selbst wenn eine grosse Substanzmenge, 4–6 gr., zu einer Bestimmung genommen wird, nur eine kleine Salzmenge zuletzt in der Lösung enthalten ist. Der vorigen Methode gegenüber hat sie den Nachtheil, dass sie bedeutend umständlicher ist und viel mehr Zeit erfordert, wenn man auch während dieser Zeit die Arbeit fast gar nicht überwachen muss und folglich auch mit anderen Dingen sich beschäftigen kann. Für die meisten Fälle gebe ich also der alten Liebig'schen Methode den Vorzug und betrachte meine Methode als eine mehr passende nur für den Fall, dass von einer sehr schwefelarmen Substanz eine grössere Menge in Arbeit genommen werden muss.

Die Methode 3 ist nach meiner Erfahrung lange nicht so leicht ausführbar wie die Methode 1a und 2. Mehrere nach dieser 3. Methode von mir versuchten Schwefelbestimmungen verunglückten aus dem Grunde, dass es mir trotz aller Mühe doch nicht recht gut gelingen wollte, eine plötzliche Verbrennung in der ganzen Masse zu verhindern. Ich will damit nicht gesagt haben, dass nicht diese Methode in anderen Händen eine gute sein könne; ich führe nur einfach meine eigene Erfahrung an. Eine sehr grosse Unannehmlichkeit dieser Methode ist unter allen Umständen die colossale Menge von Salzen, die zuletzt in der Lösung erhalten wird und die es fast zu einer Unmöglichkeit macht, eine grössere Substanzmenge in Arbeit zu nehmen. Handelt es sich um sehr schwefelarme Substanzen, von welchen mehrere Gramm zu einer Verbrennung genommen werden müssen, scheint diese Methode deshalb auch nicht zu empfehlen sein.

Die Methode 4, von Claësson, ist eine ebenso elegante wie leicht ausführbare. Die Verbrennung geschieht ohne die

geringste Schwierigkeit und die Vollständigkeit dieser Verbrennung ist auch leicht zu controliren. Mit der folgenden hat diese Methode vor allen anderen den grossen Vorzug, dass man hier gar keine fremden Salze in der Lösung erhält. Die Methode liefert auch sehr gute Resultate; und wenn man hiergegen einwenden will, dass ich in dem Casein II nach dieser Methode gegen 0,05% Schwefel weniger als nach der Methode 1^a und 2 erhielt, so will ich hierzu bemerken, dass diese Bestimmung die erste (nach den vorausgegangenen Uebungsanalysen) nach dieser Methode war. Selbst die beste Methode kann ja, bevor man die nöthigen Erfahrungen gemacht hat, weniger gute Resultate geben. In allen anderen Bestimmungen, sei es in dem Casein, dem Eieralbumin oder dem Leim hat diese Methode dieselben oder um nur 0,01% niedrigere Zahlen als die zwei anderen besten Methoden geliefert. Das einzige, was ich vielleicht gegen diese Methode einzuwenden hätte, würde das sein, dass — da die Verbrennung im Schiffchen geschehen muss — besonders von leichteren und mehr voluminösen Proteinstoffen keine grössere Menge zu der Verbrennung genommen werden kann. Für sehr schwefelarme Proteinsubstanzen dürfte diese Methode also vielleicht weniger passend sein; aber für andere Fälle kann ich sie unbedingt als eine ausgezeichnete gute empfehlen.

Die Methode 5 ist zweifelsohne auch eine gute, aber nach meiner Erfahrung steht sie doch in einigen Hinsichten der vorigen ein wenig nach. Die Handhabung dieser Methode ist weniger leicht und namentlich ist es schwierig, die Verbrennung so zu leiten, dass sie eine ganz vollständige wird. Auch ist es hier weniger leicht, die Vollständigkeit der Verbrennung genau zu kontroliren. Wegen dieser Schwierigkeiten finden auch bei Anwendung von dieser Methode Verluste leichter statt, und dementsprechend habe ich auch nach dieser Methode mehrere Male etwas niedrigere Zahlen erhalten. Mit der vorigen hat diese Methode den Vortheil gemeinsam, dass man keine fremden Salze in der Lösung hat, während sie, wie jene, für Schwefelbestimmungen in sehr schwefelarmen Substanzen nicht recht gut geeignet sein dürfte.

Die wichtige Frage, wie der nicht oxydirte und der an Sauerstoff gebundene Schwefel in den Proteinsubstanzen gesondert bestimmt werden könne, habe ich auch zum Gegenstand meiner Untersuchungen gemacht. Ich bin aber mit diesen Untersuchungen noch nicht so weit gekommen, dass ich über die erhaltenen Resultate jetzt berichten kann.
