

# Ueber die Oxydation der Eiweissstoffe mit Kaliumpermanganat<sup>1)</sup>.

Von

**St. Bondzyński und L. Zoja.**

(Aus dem Laboratorium von Professor Bunge in Basel.)  
(Der Redaction zugegangen am 1. Februar 1894.)

Maly's Arbeit über dasselbe Thema<sup>2)</sup> war die Veranlassung zu dieser Untersuchung gewesen. An die plannässige, mit grosser Sorgfalt ausgeführte, mit zahlreichen Versuchsdaten und reichlichem Beweismaterial aus Zahlen versehene Arbeit knüpfte der Verfasser eine Reihe von Gedanken, die wohl im Stande waren, eine weitere Forschung in dieser Richtung anzuregen. Wenn dieselbe nach dem Tode des verdienten Forschers doch ausblieb, wenn die Arbeit in den Lehrbüchern und sonstigen Publicationen über Eiweisskörper nur ehrenhalber erwähnt wird, ohne referirt zu werden, so ist ein gewisses Misstrauen den theoretischen Spekulationen

<sup>1)</sup> Die vorliegende Arbeit konnte nicht soweit geführt werden, wie Anfangs beabsichtigt wurde, da wir aber dieselbe auf unbestimmte Zeit unterbrechen mussten, sollen die gewonnenen Resultate mitgetheilt werden, mit der Bemerkung, dass sie eher als Voruntersuchung gelten möchten.

<sup>2)</sup> «Untersuchungen über die Oxydation des Eiweisses mittelst Kaliumpermanganat», Sitzungsber. der k. Acad. d. Wiss. in Wien, Bd. 91, Abth. II, S. 157 (Jahrg. 1885).

des Verfassers gegenüber daran Schuld gewesen. Wir müssen auch gestehen, dass wir bei unserer Untersuchung nicht von der Idee geleitet wurden, durch die Oxydation der Eiweissstoffe mit Kaliumpermanganat den stufenweisen Abbau der Eiweissmoleküle verfolgen zu können. Wir haben deshalb auch nur auf die Untersuchung des ersten Oxydationsproduktes, der Maly'schen Oxyprotosulfonsäure uns beschränkt. Béchamp, welcher im Jahre 1856 das Kaliumpermanganat oxydirte, um auf Harnstoff zu fahnden, ist auf eine eiweissähnliche, aber nicht mit Eiweiss identische, in Wasser unlösliche Substanz gestossen. Es erhielt dieselbe auch Lossen<sup>1)</sup>, welcher den Harnstoffbefund von Béchamp einer Controlle unterzog, sowie auch Loew<sup>2)</sup>. In neuerer Zeit hat Brücke<sup>3)</sup> dieses Oxydationsprodukt in kurzen Zügen aber schon trefflich charakterisirt und dies war die unmittelbare Anregung, welche Maly veranlasste, diesen Körper eingehend zu untersuchen.

Oxydation der Eieralbuminkrystalle. — Die von Maly untersuchte Oxyprotosulfonsäure wurde von ihm aus Eiereiweiss dargestellt. Unsere erste Aufgabe war, die Versuche von Maly ebenfalls am Eiereiweiss zu wiederholen und das erhaltene Oxydationsprodukt auf seine Einheitlichkeit zu untersuchen. Trotz der zahlreichen und gut übereinstimmenden Analysen von verschiedenen Fractionen war die Wiederholung derselben nicht überflüssig, da Maly, welcher in den Schlussfolgerungen von Intactbleiben der Eiweissmoleküle in seiner Oxyprotosulfonsäure sprach, dieselbe ohne Rücksicht auf die zu jener Zeit nicht gelöste Frage der einheitlichen Zusammensetzung des Eieralbumins nicht einmal mit Rücksicht auf das möglicherweise verschieden zusammengesetzte Globulin aus rohem Eiereiweiss darstellte.

Wir haben zur Darstellung der Oxyprotosulfonsäure die nach dem Verfahren von Hofmeister erhaltenen Eieralbuminkrystalle oxydirt, und zwar wurden dazu die einer in unserer

<sup>1)</sup> Sitzungsber. d. k. k. Wien. Acad. d. Wiss. 1881, Abth. II, Bd. 83.

<sup>2)</sup> Loew, «Ueber Eiweiss und die Oxydation desselben», Journ. f. pr. Ch., Bd. 33, S. 145 und 146 (Jahrg. 1885).

<sup>3)</sup> Liebig's Ann. 201, S. 369.

Arbeit «Ueber die fractionirte Krystallisation des Eieralbumins»<sup>1)</sup> beschriebenen Fraction nahe stehenden Krystalle<sup>2)</sup> angewandt.

Der von der Mutterlauge gut getrennte, ammoniumsulfathaltige Krystallbrei wurde in Wasser gelöst und in der Lösung der Eiweissgehalt bestimmt. Die Lösung wurde in der Weise verdünnt, dass sie auf 500 ccm. 50 gr. Eiweiss enthielt. Sie wurde in zwei Hälften getheilt und jede 25 gr. Eiweiss enthaltend, mit der von Maly als die günstigste bezeichneten (60 gr. Permanganat auf 100 gr. Eiweiss) Menge von 15 gr. in 1 Liter Wasser gelösten Kalipermanganat versetzt. Nach 2 Tagen wurde die ganz klare, schwach gelb gefärbte Flüssigkeit vom Manganniederschlag filtrirt und das Filtrat mit Salzsäure angesäuert. Es wurde ein reichlicher Niederschlag erhalten, welcher mit Wasser gut ausgewaschen wurde. Um ihn sicher vom etwa unverändert gebliebenen Eiweiss zu befreien, wurde seine von Maly beobachtete Löslichkeit in Natriumacetat benutzt; er wurde mit einer 3% Natriumacetatlösung umgerührt, wobei eine vollständige Auflösung stattfand und aus dieser Lösung das saure Oxydationsprodukt wieder mit Salzsäure ausgefüllt werden konnte. Der Niederschlag wurde ausgewaschen und in verdünnter Sodalösung gelöst. Aus dieser Lösung wurden nun durch vorsichtigen Zusatz einer sehr verdünnten Salzsäure 2 Fractionen gefällt, deren Mengen etwa im Verhältniss 3:1 zu einander standen. Es wurden in dieser Weise aus den zwei Eiweissportionen A und B 4 Fractionen des Oxydationsproduktes erhalten. Jede von den gefällten Fractionen wurde noch in Soda gelöst, aus der Lösung durch einen geringen Ueberschuss von Salzsäure zurückgefällt und so lange ausgewaschen, bis das Filtrat nicht die geringste Spur von Chlorreaction gab, was gewöhnlich ein sehr langdauerndes Nachspülen und wiederholtes Zerreiben mit Wasser erforderte. Der Niederschlag wurde dann lufttrocken in einen Trockenkasten gebracht und bei 110° C. bis zum constanten Gewicht getrocknet.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr., Jahrg. 1894, S. 1.

<sup>2)</sup> Dieselben wurden nach der Ausscheidung der Krystalle Ba<sub>2</sub> aus der Mutterlauge gewonnen.

Alle Fractionen gaben bei der Analyse gut miteinander übereinstimmende Zahlen

	Präparat A				Präparat B.				Mittel- zahlen.	Mittel- zahlen von Maly.
	Fraction I.		Fraction II.		Fraction I.		Fraction II.			
C . . .	50,96	50,83	50,23	—	50,79	—	50,87	50,74	50,73	51,21
H . . .	7,16	6,90	6,87	—	7,08	—	7,25	6,89	7,02	6,89
N . . .	14,77	—	—	—	14,79	14,71	14,54	—	14,70	14,59
S . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1,77
O . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	25,54

und eine Mittelzahl, welche der von Maly erhaltenen nahe steht. Wenn die Analysen unserer Fractionen mit denen der von Maly aus rohem Eiereiweiss erhaltenen Präparate übereinstimmen, so steht das im Einklange mit den Ergebnissen unserer Untersuchung der krystallisirten Fractionen des Eieralbumins, welche keine erhebliche Differenzen in der Zusammensetzung zeigten.

Das Kaliumpermanganat galt von jeher als ein kräftiges Oxydationsmittel, aus der neueren Zeit ist uns aber bekannt, dass man bei vorsichtiger Anwendung sehr gelinde Oxydationen mit diesem Reagens ausführen kann.

Die Arbeiten von Bauer<sup>1)</sup> und Hazura<sup>2)</sup>, sowie die gleichzeitig erschienene von Saytzev<sup>3)</sup>, haben darauf aufmerksam gemacht, dass man leicht oxydirbare und leicht spaltbare Körper, wie es die ungesättigten Fettsäuren von hohem Molekulargewicht sind, mit Kaliumpermanganat oxydiren kann, ohne eine Abspaltung der Kohlenstoffatome zu bewirken, dass vielmehr die im gleichen Sinne verlaufende Reaction so allgemein ist und so regelmässig und glatt verläuft, dass man dieselbe gerade als Methode zum Nachweis der Zahl der un-

<sup>1)</sup> Bauer und Hazura: «Untersuchung über die Hanfölsäure», Monatshefte für Chem., Bd. VII, S. 216, Jahrg. 1886.

<sup>2)</sup> Monatshefte d. Chem., Bd. VIII, S. 147; S. 156 u. 260 (Jahrg. 1887).

<sup>3)</sup> Saytzev: «Ueber die Oxydation der Oel- und Elaidinsäure mit Kaliumpermanganat in alkalische Lösung», Journ. f. prakt. Chem., Bd. 33, S. 300 (Jahrg. 1886).

gesättigten Capacitäten bei der Untersuchung der ungesättigten Säuren der Fette verwenden kann.

Es ist wohl anzunehmen, dass die Reaction des Kaliumpermanganats in dem Sinne der Ablagerung von zwei Hydroxylgruppen an die doppelt gebundenen Kohlenstoffatome zahlreichere Beispiele aufweisen wird<sup>1)</sup>. Dass im Eiweissmolekül eine gewisse Zahl von ungesättigten Capacitäten vorhanden ist, lässt sich aus der empirischen Formel schliessen und der geringen Menge der Benzolderivate, welche bei den Zersetzungsversuchen erhalten werden<sup>2)</sup>. Durch die Versuche von Löew wurde das sehr wahrscheinlich gemacht. Durch Behandeln des Eiereiweisses mit Brom und Trocknen des erhaltenen Präparates bei 100° C. erhielt Löew ein Bromadditionsprodukt, welches einen Bromgehalt von 24% zeigte. Ein Theil von dem aufgenommenen Brom konnte mit Natriumsulfit entfernt werden, es blieb aber noch nach dieser Behandlung ein Körper zurück, welcher 16% Brom enthielt<sup>3)</sup>.

An der Hand dieser Erwägungen scheint uns die Annahme von Maly, dass bei der Oxydation von Eiweiss zu Oxyprotsulfonsäure keine Kohlenstoffabspaltung und nur eine Sauerstoffaufnahme stattfindet, nicht unwahrscheinlich. Dies wird auch bestätigt durch das Verhältniss des Kohlenstoffgehaltes zum Stickstoffgehalte, welches wir für Oxyprotsulfonsäure (3,45) wenig differirend vor demjenigen, welches sich aus unseren Eieralbuminanalysen ergibt (3,40), gefunden haben<sup>4)</sup>. Hierbei ist allerdings zu bedenken, dass diese einzige Thatsache, über die wir zur Entscheidung dieser Frage verfügen, nicht ganz beweiskräftig ist, da bei der Grösse der Eiweissmoleküle das Verhältniss des Kohlenstoff- zum Stickstoffgehalt nur grobe Veränderungen zum Ausdruck bringen kann.

<sup>1)</sup> Vor Kurzem hat F. Tiemann diese Wirkung des Kaliumpermanganats zum Nachweis einer doppelten Bindung in dem von ihm isolirten aromatischen Bestandtheil der Iriswurzel mit Erfolg benutzt. Ber. d. d. chem. Ges., Jahrg. 1893, S. 2688.

<sup>2)</sup> Wir stimmen hier der Ansicht von Löew bei (s. die oben citirte Arbeit Seite 136).

<sup>3)</sup> Citirte Arb. S. 138.

<sup>4)</sup> Oben cit. Arbeit.

Auf dem Gebiete der weiteren theoretischen Auseinandersetzungen können wir Maly nicht folgen; so verlockend sie sind, entbehren sie jeder Grundlage. Dass der nicht oxydirte Schwefel des Eieralbumins zuerst vom Permanganat angegriffen wird, mag schon von vornherein wahrscheinlich sein und wurde auch von Maly bewiesen durch den Befund, dass das Oxydationsprodukt mit Bleioxyd den Schwefel nicht mehr abspalten lässt, dass dagegen der Schwefel gerade unter Aufnahme von 3 Sauerstoffatomen zu Sulfosäure oxydirt worden sei, wurde durch den Nachweis von schwefliger Säure in der Kalischmelze sowie durch die Abspaltung derselben durch Barythydrat nicht sicher gemacht, da unverändertes Eiereiweiss bei der gleichen Behandlung Schwefelsäure unter den Zersetzungsprodukten nachweisen lässt<sup>1)</sup>. Ganz willkürlich aber ist die Berechnung der Zahl der bei der Oxydation eingetretenen Sauerstoffatome. Wenn dieselbe aus den besten Analysen sich kaum mit irgend welcher Wahrscheinlichkeit machen lässt, so ist diese Spekulation um so weniger begreiflich, als Maly derselben Mittelzahlen aus vielen, bekanntlich stark von einander divergirenden Analysen des Eiereiweisses zu Grunde gelegt hat, ja sogar diejenige von Serumalbumin in die Rechnung mit eingezogen hat. Unsere Analysen des kristallisirten Eieralbumins ergaben Mittelzahlen, aus welchen man auf 1 Atom Schwefel 28,3 Atome Sauerstoff berechnet, also gerade das Verhältniss, welches Maly für seine Oxyprotsulfonsäure gefunden hat.

Diese weitgehenden Schlüsse bei Seite gelassen, die-blosse Annahme, dass das Oxydationsprodukt ein einheitlicher Körper ist und, dass es das ungepaltene Eiweissmolekül beibehalten hat, führt auf den Gedanken, dass verschiedene Eiweissarten bei der gleichen Behandlung verschiedene Oxydationsprodukte liefern werden. Maly hat ausser Eiereiweiss Fibrin, Casein, Kleber und Conglutin oxydirt, die entsprechenden Produkte aber nicht analysirt, sondern aus dem ähnlichen Verhalten geschlossen, dass dieselben immer die gleiche Säure dar-

<sup>1)</sup> Schützenberger, Annales de Chimie et de Ph., t. XVI (5) 1873.

stellen; nur ein einziges durch die Oxydation des Bluteserumeiweisses bereitetes Präparat wurde von ihm der Analyse unterworfen und die erhaltenen Stickstoffzahlen unter diejenigen der Oxyprotosulfonsäuren aus Eiereiweiss eingereiht. Und doch Maly selbst citirt Analysen von Eier- und Bluteserumeiweiss, welche von demselben Forscher (Hammarsten) herrührend, so bedeutende Unterschiede aufweisen, dass mit der Verschiedenheit der Zusammensetzung der Eiweissstoffe der Gedanke von der Verschiedenheit der ihnen so nahe stehenden Oxydationsprodukte sich aufdrängt.

Auch wenn es fest stände, dass die eintretenden Sauerstoffatome zunächst an Schwefel gebunden werden, liessen sich Unterschiede z. B. zwischen Casein oder Hämoglobin, welche den Schwefel als Schwefelblei nicht abspalten lassen, und dem Albumin, welches den Schwefel anders gebunden enthält, denken.

Die ausgesprochen sauren Eigenschaften der Oxydationsprodukte, welche sich vorthellhaft von dem mehr amphoterem Verhalten der Eiweissstoffe unterscheiden, die Möglichkeit, Salze von constanter Zusammensetzung leicht darzustellen, dies alles erweckte Hoffungen, von denen wir uns bei unseren Untersuchungen leiten liessen.

Oxydation des Hämoglobins. Wir haben weitere Versuche zuerst mit Hämoglobin ausgeführt. Die einheitliche Zusammensetzung des Ausgangsmaterials schloss eine Quelle der etwa zu erhaltenden analytischen Differenzen aus.

Das Pferdebluthämoglobin wurde zu diesem Zwecke nach der im Laboratorium von Bunge von Zinoffski<sup>1)</sup> ausgearbeiteten Methode dargestellt. Wir haben nach diesem Verfahren uns leicht 1 $\frac{1}{2}$  kgr. reinen (2 Mal umkrystallisirten) Hämoglobins verschaffen können. Da die Darstellung grösserer Mengen eines farbstofffreien Eiweisspräparates aus den Krystallen misslang, wurden dieselben direkt oxydirt. Einige Oxydationsversuche, wo wir das gleiche Verhältniss vom Permanganat zum Eiweiss beobachteten, welches Maly für die Oxydation des Eiereiweisses als das günstigste bezeichnet hat, gaben im

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr., Bd. 10, Inauguraldiss. Dorpat.

geringen Ueberschuss von Säure leicht lösliche Produkte, welche also keine ausgesprochen sauren Eigenschaften besaßen. Eine folgende Probe von Blutfarbstoff wurde daher mit einer grösseren Menge Permanganat oxydirt. 100 gr. trockenes Pferdebluthämoglobin wurden unter Zusatz von wenigen Tropfen Kalilauge in 1 Liter Wasser gelöst und mit einer Lösung von 80 gr. Permanganat in 3 Liter Wasser versetzt. Schon am folgenden Tag war über dem Manganniederschlag eine klare Flüssigkeit zu beobachten. Dieselbe wurde abfiltrirt vom Manganhyperoxyd, abgepresst und mit Salzsäure versetzt. Es wurde in reichlicher Menge ein schneeweisser flockiger Niederschlag erhalten, derselbe wurde mit Wasser ausgewaschen, in Natriumacetat (3%) gelöst und die vollkommen klare Lösung wiederum mit Salzsäure gefällt. Dieser Niederschlag wurde nun in verdünnter Sodalösung gelöst und die Lösung der fractionirten Fällung unterworfen. Es wurden 5 Fractionen dargestellt, von denen die erste und letzte sehr gering waren, die mittleren dagegen den grössten Theil des Gesamtniederschlages bildeten. Jede von den erhaltenen Fractionen wurde noch einmal in Soda gelöst und aus der Lösung durch Ansäuern mit Salzsäure zurückgefällt. Es wurde dabei ein verschiedenes Verhalten der extremen Fractionen beobachtet. Die alkalischen Lösungen der ersten 3 Fractionen gaben in verdünnter Säure leicht lösliche, durch concentrirte Säure fällbare Niederschläge; durch concentrirte Salzsäure gefällt, gingen daher die Niederschläge beim Auswaschen mit Wasser reichlich in die Lösung über, so dass in den ersten Waschwasserfiltraten ein Zusatz von concentrirter Salzsäure einen reichlichen Niederschlag erzeugte. Die erste Fraction wurde deshalb um Substanzverluste zu vermeiden, zuerst mit Alkohol, um den grössten Theil der Salzsäure zu entfernen und dann erst mit Wasser ausgewaschen, bei den folgenden Fractionen, wo reichliche Menge Substanz zur Verfügung stand, liess sich dies, wenn auch mit Verlusten, mit Wasser erreichen, indem nach wiederholtem Auswaschen keine Auflösung der Substanz mehr stattfand. Die letzte Fraction zeigte dieses Verhalten nicht, hatte offenbar deutlicher saure Eigenschaften.

Die Fractionen wurden sehr sorgfältig ausgewaschen<sup>1)</sup>, bis keine Chlorreaction im Filtrat nachzuweisen war, im luft-trockenen Zustand in einen Trockenkasten gebracht und zwischen 105 und 110 ° C bis zum constanten Gewicht getrocknet.

	Versuch A.					Fract. V.	Versuch B.			Mittel- zahlen.	
	Fract. I.	Fract. II.	Fract. III.	Fract. IV.	Fract. IV.		Fract. V.	Fract. V.	Fract. V.		
C . .	52,42	52,35	52,41	52,09	52,12	—	51,72	52,55	52,66	52,58	52,32
H . .	7,04	6,83	6,85	6,97	6,98	—	6,98	6,91	6,97	7,12	6,96
N . .	15,91	15,91	16,15	16,45	16,49	15,97	—	—	—	—	16,04
S . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Die Analyse ergab eine gute Uebereinstimmung der Stickstoffzahlen, aber gewisse Differenzen im Kohlenstoffgehalte, welche zwar die zulässige Fehlergrenze nicht überschreiten, aber doch Beachtung verdienen, da sie auf eine allmälige Abnahme des Kohlenstoffgehaltes von den ersten bis zu den letzten Fractionen hinweisen. Hämoglobin scheint also eine grössere Menge Permanganat zu erfordern als Eieralbumin und, wie sich weiter ergab, als Casein, um saure Oxydationsprodukte zu liefern. Das liess auch sein geringer Sauerstoffgehalt erwarten. Dass Hämoglobin eine besondere Disposition zur Sauerstoffaufnahme zeigt, geht aus den im Laboratorium von Nencki, von M. Lebensbaum ausgeführten Versuchen hervor, woneben beim Auflösen von Pferdebluthämoglobin in Kalilauge eine allmälige Aufnahme von Sauerstoff bis 6,8 gr. pro 100 gr. Blutfarbstoff beobachtet wurde.

Zur Vergleichung der Zusammensetzung unseres Oxydationsproduktes mit derjenigen des Ausgangsmaterials haben wir für die letztere folgende Mittelzahlen benutzt<sup>2)</sup>: C = 54,70%;

<sup>1)</sup> Nur durch pedantisches Auswaschen konnten aschefreie Präparate erhalten werden.

<sup>2)</sup> Der mittlere Kohlenstoff-, Wasserstoff- und Stickstoffgehalt wurde aus den Analysen des Pferdebluthämoglobins von Hoppe-Seyler und Kossel (diese Zeitschrift, Bd. 2), von Otto, von Bücheler, sowie des isomeren Parahämoglobins von Nencki (Archiv f. exp. Pharm. u. Pathol., Bd. XX, S. 337) berechnet. Die Zahlen für Schwefel- und Eisengehalt haben wir der oben erwähnten Arbeit von Zinoffski entnommen.

H = 7,05%; N = 17,31%; Fe = 0,335%; S = 0,389%;  
O = 20,21%.

Aus den wohl sehr genauen Eisenbestimmungen von Zinoffski lässt sich, unter Berücksichtigung dieser Mittelwerthe, die folgende Molekularformel berechnen:  $C_{762}H_{1178}N_{207}O_{211}S_2Fe$ .

Nach Abzug der von Nencki<sup>1)</sup> festgestellten Formel des Hämatins, etwa in dem Sinne der Gleichung:

$C_{762}H_{1178}N_{207}O_{211}S_2Fe + H_2O + O_{10}^2) - C_{32}H_{32}N_4FeO$ ,  
erhält man für das Eiweiss des Hämoglobins folgenden Molekularausdruck:



mit der procentischen Zusammensetzung:

C = 54,06%; H = 7,08%; N = 17,54%; S = 0,395%;  
O = 21,03%.

Das Verhältniss des Kohlenstoffgehaltes zum Stickstoffgehalt, welches sich aus diesen Zahlen zu 3,08 berechnet stimmt zwar nicht genau mit dem, welches aus der Zusammensetzung unseren Oxydationsproduktes folgt (3,25). Da aber eine Differenz in Plus sich ergibt, lässt sich nicht auf eine bei der Oxydation etwa stattgefundene Abspaltung der Kohlenstoffatome schliessen<sup>2)</sup>. Die weitere Verfolgung des Oxydationsvorgangs ist wünschenswerth, da die Möglichkeit nahe liegt, dass die zwei Oxydationsprodukte auf Grund des besprochenen verschiedenen Verhaltens sich von einander trennen lassen, oder dass bei einem geringeren oder grösseren Permanganatzusatz, einmal das erste dem Eiweiss näher stehende, oder das zweite mehr saure Oxydationsprodukt zu erhalten ist.

1) Archiv f. exp. Pathol. und Pharmakol., Bd. XX, S. 326.

2) Die oben genannten Versuche aus dem Laboratorium von Nencki ergaben bei der Spaltung des Hämoglobins durch verdünnte Säuren eine Aufnahme von 1 gr. Sauerstoff pro 100 gr. Blutfarbstoff, woraus auf 1 Atom Eisen sich 10 Atome Sauerstoff berechnen lassen.

3) Das Resultat macht die Wiederholung der Analyse des Pferdeblut-hämoglobins nothwendig, da die Uebereinstimmung des Kohlenstoff- und Stickstoffgehaltes bei den Analysen verschiedener Forscher etwas zu wünschen übrig lässt.

## Oxydation des Casein.

Ganz andere Resultate ergaben unsere Versuche mit Casein. Das angewandte Casein wurde theils von der Firma Gröbler («Casein nach Hammarsten») bezogen (Versuch A), theils von uns selbst nach dem Vorgang von Hammarsten dargestellt (Versuch B). Die Analyse des von uns dargestellten Caseinpräparates ergab mit der von Hammarsten gut übereinstimmende Zahlen.

		Analyse von Hammarsten.
C . . . . .	52,45 %	52,96 %
H . . . . .	7,11 »	7,05 »
N . . . . .	15,44 »	15,65 »
S . . . . .	0,84 »	0,78 <sup>1)</sup>
P . . . . .	—	0,85 <sup>2)</sup>
O . . . . .	—	22,71 »

In zwei Versuchen A und B wurden je 75 gr. Casein mit Kaliumpermanganat oxydirt, wobei genau die gleichen Mengenverhältnisse wie beim Eieralbumin beobachtet wurden. Bald nach dem Uebergießen mit der Permanganatlösung war das Casein zu einer Gallerte gequollen und gelöst. Nach einigen Tagen stellte die Flüssigkeit eine schwarzbraune Emulsion dar. Da selbst nach 10 Tage langem Stehen keine Absetzung des Manganniederschlages erfolgte und durch das Filter auch eine dunkelbraune Flüssigkeit durchging, wurde ein reichlicher Sodazusatz gemacht, worauf rasch die Abscheidung einer klaren Lösung stattfand, welche durch ein Tuch filtrirt wurde. Das Filtrat gab beim Salzsäurezusatz einen reichlichen Niederschlag, welcher filtrirt, ausgewaschen und weiter, wie die Präparate aus Albumin und Hämeoglobin, behandelt wurde. Die Lösung in verdünnter Soda wurde ebenfalls fractionirt gefällt. Die zwei erhaltenen Fractionen wurden auch weiter genau, wie es bei Eieralbumin beschrieben wurde, behandelt. Die Analyse ergab in beiden Versuchen

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 9, S. 297.

<sup>2)</sup> Ebendasselbst, Bd. 7, S. 269.

eine unzweifelhaft verschiedene Zusammensetzung der Fractionen: I. und II., Bemerkenswerth aber ist es, dass bei den

	Versuch A.		Versuch B.				
	Fract. I.	Fract. II.	Fract. I.		Fract. II.		
C%	51,05	49,11	49,53	51,92	52,07	50,03	49,72
H »	7,10	6,63	6,65	6,74	6,81	6,39	6,48
N »	14,90	14,99		14,63	14,91	14,74	14,63
S »	—	—		0,760		0,714	
P »	—	—		0,702			
O »	—	—		—		—	

weitgehendsten Veränderungen, welche das Casein bei der Oxydation erlitten hat und welche sich in dem stark herabgesunkenem Kohlenstoff- und besonders Wasserstoffgehalt, und sogar in einer bemerkbaren Veränderung des Schwefelgehaltes kund geben, das Verhältniss des Kohlenstoff- zum Stickstoffgehalte (3,38) demjenigen gleichgeblieben ist, welches wir aus den Mittelzahlen aus unseren, sowie der Hammarsten'schen Analyse berechnen (3,38). Die auffallende Abnahme des Wasserstoffgehaltes deutet darauf hin, dass der Oxydationsvorgang beim Casein ein ganz anderer war als bei den zwei ersten Versuchen. Die feste Bindung des Phosphors, welcher bei der Oxydation nicht abgespalten wurde, verdient auch bemerkt zu werden. Es ist nicht zu erwarten, dass chemisch individualisirte Körper aus dem Gemenge von verschieden zusammengesetzten Oxydationsprodukten sich trennen lassen.

#### Analytische Belege.

Wir machen Umgang von der Beschreibung der Methoden, indem wir auf das betreffende Kapitel in unserer vor Kurzem in dieser Zeitschrift erschienenen Arbeit verweisen.

#### Oxydationsprodukt aus Albumin.

##### Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmungen.

	Substanz gr.	CO <sub>2</sub> gr.	H <sub>2</sub> O gr.	C% <th>H% </th>	H%
Versuch A . . . . .	Fraction I.				
	0,4297	0,8030	0,2772	50,96	7,16
	0,4445	0,8285	0,2764	50,83	6,90
	Fraction II.				
	0,2740	0,5047	0,1695	50,23	6,87

	Substanz gr.	CO <sub>2</sub> gr.	H <sub>2</sub> O gr.	C <sup>o</sup> ...	H <sup>o</sup> ...
Versuch B . . .		Fraction I.			
	0,4817	0,8972	0,3072	50,79	7,08
		Fraction II.			
	0,3227	0,6020	0,2107	50,87	7,25
	0,2168	0,4034	0,1345	50,74	6,89

Stickstoffbestimmungen. Gasometrisch.

	Substanz gr.	N chem.	°C.	Barometer- stand mm.	N <sup>o</sup> ...
Versuch A . . . .		Fraction I.			
	0,3439	44,2	16	748	14,77
Versuch B . . .		Fraction I.			
	0,4437	57,4	16,4	746	14,79
		Fraction II.			
	0,4028	51,0	15,8	748	14,54

Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl.

Fraction I.

Versuch B. 1,0387 gr. Substanz. 25 chem.  $\frac{1}{2}$  N-Säure mit 16,3 chem.  $\frac{1}{10}$  N-Lauge zurücktitrirt 14,71<sup>o</sup>/<sub>10</sub> N.

### Oxydationsprodukt des Hämoglobins.

Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmungen.

	Substanz gr.	CO <sub>2</sub> gr.	H <sub>2</sub> O gr.	C <sup>o</sup> ...	H <sup>o</sup> ...
Versuch A . . .		Fraction I.			
	0,2789	0,5361	0,1769	52,42	7,04
		Fraction II.			
	0,2931	0,5627	0,1803	52,35	6,83
		Fraction III.			
	0,1981	0,3807	0,1222	52,41	6,85
Versuch B . . .		Fraction IV.			
	0,3602	0,6880	0,2260	52,09	6,97
	0,3371	0,6443	0,2118	52,12	6,98
		Fraction V.			
	0,2936	0,5568	0,1845	51,72	6,98
	0,3653	0,7040	0,2275	52,55	6,91
	0,4170	0,8052	0,2617	52,66	6,97
	0,2918	0,5627	0,1870	52,58	7,12

Stickstoffbestimmungen. Gasometrisch.

	Substanz gr.	N chem.	°C.	Barometer- stand mm.	N <sup>o</sup> ...
Versuch A . . .		Fraction I.			
	0,4210	58,25	15,8	748	15,91
		Fraction II.			
	0,4035	56,3	17	745	15,91
		Fraction III.			
	0,2267	32,1	17	746	16,15
		Fraction IV.			
	0,4862	69,8	16,8	748	16,45
	0,4223	60,8	16,8	748	16,49

## Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl.

## Fraction IV.

0,7940 gr. Substanz, 20,9 ccm.  $\frac{1}{2}$  N-Säure, mit 13,9  $\frac{1}{10}$  N-Lauge zurücktitrit 15,97 % N.

## Oxydationsprodukt aus Casein.

## Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmungen.

	Substanz gr.	CO <sup>2</sup> gr.	H <sub>2</sub> O gr.	C <sup>o</sup> o.	H <sup>o</sup> o.
Versuch A . . .	Fraction I.				
	0,3513	0,6633	0,2267	51,05	7,10
	Fraction II.				
	0,3175	0,5730	0,1895	49,21	6,63
	0,3474	0,6310	0,2080	49,53	6,65
Versuch B . . .	Fraction I.				
	0,3787	0,7210	0,2300	41,92	6,74
	0,4054	0,7741	0,2485	52,07	6,81
	Fraction II.				
	0,4484	0,8226	0,2580	50,03	6,39
	0,4514	0,8234	0,2633	49,72	6,48

## Stickstoffbestimmungen. Gasometrisch.

	Substanz gr.	N ccm.	°C.	Barometer- stand mm.	H <sup>o</sup> o.
Versuch A . . .	Fraction I.				
	0,4530	61,0	21,6	738	14,90
	Fraction II.				
	0,3900	52,7	20,3	743	14,99
Versuch B . . .	Fraction I.				
	0,3881	50,6	21,6	748	14,63
	0,3218	42,2	18,3	747	14,91
	Fraction II.				
	0,4721	61,7	19,8	746	14,74
	0,4251	55,0	18,4	744	14,63

## Schwefel- und Phosphorbestimmung.

## Präparat A.

Fraction I.		Fraction II.	
7,9932 gr. Subst.		4,7223 gr. Subst.	
0,4420 » BaSO <sub>4</sub> — 0,760 % S.		0,2458 » BaSO <sub>4</sub> — 0,714 % S.	
0,2009 » Mg <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> — 0,702 % P.			

## Casein.

2,7651 gr. Subst. 0,1695 gr. BaSO<sub>4</sub> — 0,84 % S.

## Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmung.

0,6038 gr. Substanz. 1,1614 gr. CO<sub>2</sub>. 0,3815 gr. H<sub>2</sub>O. 52,45 % C. 7,11 % H.

## Stickstoffbestimmung.

0,3904 gr. Substanz 53,7 ccm. N. 20,6 C. 744 mm. Barometerstand.  
15,42 % N.