

# Ueber die Verwendung der Phosphorwolframsäure bei quantitativen Bestimmungen der Spaltungsprodukte des Eiweisses.

Von

Fr. Kutscher.

Aus dem physiologischen Institut in Marburg.  
Der Redaction zugegangen am 20. September 1900.

In letzter Zeit ist mehrfach ein Verfahren angewandt worden, welches bezweckt, die Gesamtmenge desjenigen Stickstoffs zu ermitteln, der bei der Eiweisspaltung im basischen Antheil der Zersetzungsprodukte enthalten ist. Nach dem Vorgange von E. Schulze hat besonders Hausmann<sup>1)</sup> eine Reihe von Bestimmungen ausgeführt, um den Stickstoff der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Zersetzungsprodukte verschiedener Eiweisskörper festzustellen. Dieser Stickstoff wird von Hausmann auf den basischen Antheil des Moleküls bezogen und als Diaminostickstoff dem Ammoniakstickstoff und dem Monoaminostickstoff der durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Stoffe gegenübergestellt.

Da die sehr handliche Methode Hausmann's eine schnelle vorläufige Orientirung über den auf die Summe der Hexonbasen entfallenden Stickstoff in den zur Untersuchung verwandten Eiweisskörpern gestattet hätte, habe ich eine Nachprüfung der Methode unternommen.

Diese Nachuntersuchung war um so nothwendiger, als die Zahlenangaben Hausmann's<sup>2)</sup> sehr wesentlich von älteren, durch Fr. Müller und Seemann<sup>3)</sup> publicirten, von Kossel und mir ausgeführten Bestimmungen, die sich mit der Vertheilung des Stickstoffs im Eiweiss beschäftigten, abwichen. Ich gebe in nachstehender Tabelle diese Bestimmungen wieder

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXVII, S. 95 und Bd. XXIX, S. 136

2) Diese Zeitschrift, Bd. XXIX, S. 143.

3) Deutsche medicinische Wochenschrift, 1899, Nr. 13

und füge ihnen zum Vergleich die entsprechenden Hausmann's an.

	Amid- stick- stoff %	Dia- mino- stick- stoff %	Mono- amino- stick- stoff %	Stick- stoff in Summe ge- funden statt 100%	Bemerkungen
Casein Merck	13.37	11.71	75.98	101.06	Versuch von Hausmann.
Casein	—	23.0	53.7	—	Versuch von Kossel und Kutscher.
Krystallisiertes Eieralbumin	8.53	21.33	67.80	97.66	Versuch von Hausmann.
Eieralbumin	—	27.0	50.4	—	Das benutzte Eieralbumin war von mir sorgfältig gereinigt und frei von Globulin und Ovomuroid. Versuch von Kossel und Kutscher.

Weiter stelle ich die Zahlen, die von Wetzel für den Amidstickstoff und Diaminostickstoff des Leim angegeben werden, denjenigen gegenüber, die von Hausmann an dem gleichen Material erhalten wurden.

	Amidstickstoff:	Diaminostickstoff:
Analyse 1.) Leim	1.76	18.85
2.) "	1.61	35.83

Auch diese beiden Analysen zeigen sehr starke Differenzen, die von Wetzel bereits richtig erklärt sind, indem derselbe die Unzulänglichkeit der Phosphorwolframfällung hervorhebt.

Beim Beginn meiner Arbeit fiel mir nun auf, dass die Angaben Hausmann's in einigen wichtigen Punkten nicht eingehend genug sind, um eine genaue Wiederholung zu ermöglichen. So gibt Hausmann nicht an, wie weit er die durch Destillation mit Magnesia vom Ammoniak befreite Zeretzungsflüssigkeit concentrirte, ehe er sie mit Phosphorwolframsäure fällte. Das Experiment, welches das Fehlen dieser

1) Analyse 1 ist von Wetzel in dieser Zeitschrift, Bd. XXIX, S. 404 veröffentlicht.

2) Analyse 2 stammt von Hausmann.

Angabe erklärt, führt Hausmann in seiner zweiten Arbeit über die Vertheilung des Stickstoffs im Eiweissmolekül an.<sup>1)</sup> Ich gebe dasselbe mit den Worten des Verfassers wieder: «Ich habe weiter, um mich zu unterrichten, ob die quantitative Ausfällung der Diaminosäuren mit Phosphorwolframsäure aus der durch Destillation mit Magnesia vom Aminostickstoff befreiten salzsauren Zerkochungsflüssigkeit von der Concentration der letzteren beeinflusst wurde, Parallelversuche der Art angestellt, dass ich die Ausfällung 1. aus sehr concentrirter, 2. aus der auf das doppelte Volumen verdünnten Lösung vornahm. Ich habe dabei einen Einfluss der verschiedenen Concentration nicht beobachtet.»<sup>2)</sup>

Dieses Resultat ist sehr überraschend und steht im Widerspruch mit den sorgfältigen Untersuchungen von Gulewitsch,<sup>3)</sup> nach denen dem phosphorwolframsauren Arginin eine gewisse Löslichkeit zukommt. Wie sehr diese Löslichkeit in Betracht zu ziehen ist, ergibt sich aus folgendem Beispiel.

Ich will annehmen, man hätte 1,0 g Zein, das sehr arm an Arginin ist, zersetzt, das Ammoniak ausgetrieben, die salzsaure Zersetzungsflüssigkeit auf 100 cem. eingeengt und mit Phosphorwolframsäure gefällt. Es würden dann gemäss den Angaben von Gulewitsch<sup>4)</sup> 0,007 g Arginin in Lösung bleiben. Würde man dagegen die Zersetzungsflüssigkeit auf 200 cem. eingeengt und dann gefällt haben, so würden 0,014 g Arginin nicht zur Fällung kommen d. h. man würde, da 1,0 g Zein nur 0,0182 g Arginin liefert, den kleinsten Theil des wirklich vorhandenen Arginins bestimmen. Würde man die Zersetzungsflüssigkeit noch um weitere 100 cem. verdünnen, so würde man überhaupt kein Arginin mehr fällen und sich der Täuschung hingeben, einen argininfreien Eiweisskörper in Händen zu haben.

Ein weiterer Umstand, der die quantitativen Bestimmungen nach Hausmann beeinflussen muss, und den Haus-

1) Diese Zeitschrift. Bd. 29. S. 138 und 139.

2) Im Original nicht gesperrt gedruckt.

3) Diese Zeitschrift. Bd. 27. S. 196.

4) l. c.

mann gar nicht in Betracht zieht, ist das Verhalten der Diaminosäuren und der übrigen Zersetzungsprodukte gegenüber der Phosphorwolframsäure. Ich muss daher auf dieses etwas näher eingehen. Arbeitet man mit reinen Diaminosäuren, so macht ihre Ausfällung durch Phosphorwolframsäure keine sonderliche Schwierigkeit, da man das Ende der Fällung ziemlich scharf eintreten sieht, doch ist ein wesentlicher Ueberschuss des Fällungsmittels zu vermeiden, da in demselben die Phosphorwolframverbindungen der Diaminosäuren leicht löslich sind. Schwieriger gestalten sich die Verhältnisse, wenn man die Diaminosäuren aus concentrirten Zersetzungsflüssigkeiten der Eiweisskörper durch Phosphorwolframsäure abscheiden will. Hier tritt in der durch Salzsäure oder Schwefelsäure angesäuerten Flüssigkeit auf Zugabe von Phosphorwolframsäure zunächst sofort ein reichlicher, amorpher, körniger Niederschlag auf. Nach einiger Zeit aber erscheint der Niederschlag nicht mehr momentan, sondern erst nach einigen Secunden. Der Zeitraum, in dem noch auf Zusatz von Phosphorwolframsäure Fällung eintritt, verlängert sich allmählich immer mehr und mehr und gleichzeitig ändert sich das Aussehen des Niederschlages, der nicht mehr amorph, sondern gleich krystallinisch sich abscheidet. Dieser krystallinische Niederschlag ist in Wasser, verdünnten Säuren und angesäuertes verdünnter Phosphorwolframsäure leicht löslich und besteht nicht mehr aus den Phosphorwolframverbindungen der Diaminosäuren. Um diese in verdünnter Phosphorwolframsäure leicht löslichen Verbindungen vollkommen abzuschneiden, braucht man einen mächtigen Ueberschuss an concentrirter Phosphorwolframsäure, in dem sich die Phosphorwolframverbindungen der Diaminosäuren wieder lösen würden. Man kann also, wie aus Vorstehendem ersichtlich ist, wenn man nicht das eigenthümliche Verhalten der Zersetzungsflüssigkeit gegen Phosphorwolframsäure kennt, zu Fällungen gelangen, die überhaupt keine Diaminoverbindungen mehr enthalten. Dass dies Verhalten der verschiedenen Phosphorwolframverbindungen bei den Untersuchungen von Hausmann u. s. w. berücksichtigt worden ist, geht aus denselben nicht hervor. Wenigstens erwähnt er nirgends, wie weit er seine Zersetzungsflüssigkeiten

mit Phosphorwolframsäure ausgefällt hat, und ob er beim Auftreten der krystallinisch fallenden, leicht löslichen Phosphorwolframverbindungen mit der Fällung aufgehört habe. Die Natur der von Hausmann durch Phosphorwolframsäure gefällten Verbindungen ist somit nicht erwiesen.

Eine weitere Ursache, welche die quantitativen Bestimmungen Hausmann's beeinflussen muss, ist in der Concentration und Menge des beim Auswaschen des Phosphorwolframniederschlages angewandten Waschwassers, die Hausmann ebenfalls nicht angibt, zu suchen. Denn es ergibt sich aus Vorstehendem, dass, wenn die Waschflüssigkeit reichlich Phosphorwolframsäure enthalten hat und das Volumen der Waschflüssigkeit beträchtlich gewesen ist, beim Auswaschen beträchtliche Mengen der in überschüssiger Phosphorwolframsäure löslichen Diaminverbindungen weggespült werden müssen. Dem scheinen die Kontrollversuche Hausmann's zu widersprechen: es findet sich nämlich in seiner ersten Mittheilung folgende Bemerkung: »Ich habe in Vergleichsversuchen, wo auf die Bestimmung des Stickstoffs im Filtrat verzichtet wurde, das Auswaschen endgültig durchgeführt, habe aber in Bezug auf Stickstoffgehalt des Phosphorwolframniederschlages keine Differenzen mit nach gewöhnlicher Form ausgeführten Versuchen erhalten.«

Meine im Nachstehenden näher angegebenen Versuche haben allerdings das Gegentheil ergeben.

Zu meinen Versuchen benutzte ich Casein pur. Grübler. Dasselbe besass im lufttrockenen Zustande, wie zwei untereinander stimmende Stickstoffanalysen nach Kjeldahl ergaben, 12,85 % Stickstoff. Die für meine Versuche nothwendigen Caseinmengen waren gleichzeitig mit den zur Stickstoffbestimmung entnommenen Proben abgewogen worden. Ihr Stickstoffgehalt liess sich natürlich leicht berechnen.

Da meine Versuche zu Ergebnissen führten, die von denen Hausmann's stark abweichen, so muss ich auf jeden einzelnen etwas näher eingehen.

Versuch I. Es wurden 1,184 g Casein mit 0,15214 g Stickstoff in Arbeit genommen. Dieselben wurden mit 20 cem. Salzsäure vom specifischen Gewicht 1,19 6 Stunden am Rück-

flusskühler gekocht und aus der Zersetzungsflüssigkeit das abgespaltene Ammoniak nach den Angaben von Hausmann<sup>1)</sup> ausgetrieben. Abgesättigt wurden davon 11,3 ccm. einer  $\frac{1}{10}$  Normaloxalsäure. Dieselben entsprechen 0,01582 g Stickstoff oder 10,40% des Gesamtstickstoffs.

Die vom Ammoniak befreite, mit Salzsäure angesäuerte Zersetzungsflüssigkeit wurde auf 30 ccm. eingeeengt und mit Phosphorwolframsäure<sup>2)</sup> gefällt. Ich setzte die Fällung so lange fort, bis sich auf weitere Zugabe von Phosphorwolframsäure erst nach 2—3 Minuten ein neuer Niederschlag zu bilden begann. Derselbe war schon makroskopisch als krystallinisch zu erkennen und in verdünnter Phosphorwolframsäure leicht löslich. Ich hatte, um dies zu erreichen, ca. 50 ccm. Phosphorwolframsäure gebraucht.

Nach 24 Stunden saugte ich den reichlichen Niederschlag auf kleiner Filterplatte<sup>3)</sup> ab. Als Waschflüssigkeit für denselben benutzte ich eine ca. 5%ige Salzsäure, der ich beliebig von der geschilderten Phosphorwolframsäure zugefügt hatte. Das Volumen der gebrauchten Waschflüssigkeit ist nicht gemessen worden. Beim Auswaschen liessen die stark braun gefärbten ersten Antheile des Waschwassers, sobald sie in die Mutterlauge eintropften, einen deutlich krystallinischen Niederschlag fallen. Dieser löste sich im nachfolgenden Waschwasser wieder auf. Trotzdem sich das Auswaschen sehr glatt vollzog und ich schnell den von Hausmann angegebenen Endpunkt d. h. farbloses Ablaufen des Waschwassers erreichte, hatte sich doch ein sehr merklicher Theil des auf der Filterplatte befindlichen Niederschlages gelöst. Der Phosphorwolframniederschlag wurde in Natronlauge gelöst, das Ganze auf

1) Diese Zeitschrift. Bd. XXVII. S. 100.

2) Die Phosphorwolframsäure, welche ich in diesem und den folgenden Versuchen zur Fällung benutzte, war nach Drechsel's Angaben (Berichte der deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 20, S. 1452) hergestellt und enthielt in 100 ccm. 31 g feste Phosphorwolframsäure.

3) Es liess sich bei Anwendung einer Filterplatte das Filtrirpapier, das beim Niederschlag verblieb, auf das geringste Maass beschränken. Ausserdem war der Niederschlag und sein Verhalten besser zu übersehen, auch verlief die Filtration und das Auswaschen des Niederschlages schneller.

250 ccm. gebracht und in 50 ccm. davon der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt. Es wurden von dem gebildeten Ammoniak 7,5 ccm.  $\frac{1}{10}$  Normaloxalsäure abgesättigt. In den 250 ccm. waren demnach 0,0525 g Stickstoff enthalten. Es wären also in diesem Versuche an die «Diaminosäuren» 34,51 % des Gesamtstickstoffs gebunden gewesen.

Das Filtrat von der Phosphorwolframfällung wurde mit den Waschwassern vereinigt und auf 500 ccm. gebracht. Davon wurden 100 ccm. nach Kjeldahl verascht. Das dabei gebildete Ammoniak sättigte 11,6 ccm.  $\frac{1}{10}$  Normaloxalsäure. Danach wären an Monoamidosäuren 0,0812 g Stickstoff = 53,37 % des Gesamtstickstoffs gebunden gewesen.

Versuch II sollte als Kontrollversuch dienen. In Arbeit wurden 1,1058 g Casein mit 0,1421 g Stickstoff genommen. Das Casein wurde mit 20 ccm. Salzsäure vom specifischen Gewicht 1,19 während 6 Stunden gekocht, das Ammoniak mit Magnesia ausgetrieben, die Zersetzungsflüssigkeit danach mit Salzsäure angesäuert, auf 27 ccm. gebracht und wie in Versuch I mit Phosphorwolframsäure gefällt. Nach 24 Stunden wurde der Niederschlag abgesaugt. Beim Auswaschen desselben verstopfte sich jedoch das Filter, so dass die Filtration nur sehr langsam von statten ging und das Washwasser in Folge dessen sehr lange Zeit auf den Niederschlag einwirken konnte. Dabei hatte sich, bis ich zum farblos ablaufenden Washwasser kam, der grösste Theil des Niederschlages gelöst. Das Volumen des Washwassers sowie seinen Gehalt an Phosphorwolframsäure und Salzsäure habe ich nicht bestimmt. Weil sich in diesem Versuch ein so grosser Theil des Phosphorwolframniederschlages beim Auswaschen gelöst hatte, weichen die Zahlen, die ich für den an Diamino- und Monoamidosäuren gebundenen Stickstoff erhielt, wesentlich von den in Versuch I erhaltenen ab.

Es wurden in diesem Versuch abgesättigt durch das bei der hydrolytischen Spaltung freigewordene und bei der Destillation mit Magnesia ausgetriebene Ammoniak 10,5 ccm.  $\frac{1}{10}$  Normaloxalsäure. Dieselben entsprechen 0,0147 g Stickstoff oder 10,35 % des Gesamtstickstoffs.

Die Phosphorwolframfällung wurde in Natronlauge gelöst

und auf 250 ccm. gebracht. 50 ccm. sättigen, nach Kjeldahl behandelt, 4,2 ccm.  $\frac{1}{10}$  Normaloxalsäure. Demnach war an Diaminosäuren 0,0294 g Stickstoff gleich 20,69 % des Gesamtstickstoffs gebunden.

Das Filtrat der Phosphorwolframfällung sammt Waschwasser wird auf 500 ccm. gebracht. 100 ccm. davon nach Kjeldahl verascht sättigen 14,1 ccm.  $\frac{1}{10}$  Normaloxalsäure. Demnach wären 0,0987 g Stickstoff gleich 69,42 % des Gesamtstickstoffs an Monoaminosäuren gebunden gewesen.

In den nächsten Versuchen, in denen ich, um gleichmässige Resultate zu erzielen, alle Versuchsbedingungen genau bestimmte und innehielt, habe ich mich bemüht, den Stickstoff der Huminsubstanzen, die in den Phosphorwolframniederschlag mit eingehen, festzustellen.

Versuch III. Es wurden verwandt 1,1088 g Casein mit 0,1425 g Stickstoff. Dieselben wurden mit 20 ccm. Salzsäure vom specifischen Gewicht 1,19 während 6 Stunden gekocht. Das abgespaltene Ammoniak wurde nach Hausmann's Angaben bestimmt. Die ammoniakfreie mit Salzsäure übersättigte Flüssigkeit wurde auf 20 ccm. eingedampft und mit 24 ccm. Phosphorwolframlösung gefällt. Ich erreichte damit gerade, dass die letzten, erst allmählich auftretenden Fällungen bereits krystallinisch sich abschieden. Der entstandene Niederschlag wurde nach 24 Stunden abgesaugt und mit einem Waschwasser, das in 100 ccm. 6,1 g feste Phosphorwolframsäure und 1,86 g Salzsäure enthielt, nachgewaschen, bis das Filtrat farblos ablief. Es wurden 125 ccm. Waschwasser gebraucht. Auch in diesem Fall, wo ich auf das Vorsichtigste mit Phosphorwolframsäure gefällt hatte, färbte sich das zuerst ablaufende Waschwasser tief braun und liess beim Eintropfen in die Mutterlauge einen starken krystallinischen Niederschlag fallen. Während des Auswaschens war ein bedeutender Theil des auf der Filterplatte befindlichen Niederschlages in Lösung gegangen. Der verbliebene Rest wurde in ein Becherglas gespült, in ca. 300 ccm. Wasser fein vertheilt und das Ganze zum Sieden erhitzt. Die siedende Flüssigkeit wurde so lange mit kalt gesättigtem Barytwasser versetzt, bis eine Probe mit Natriumcarbonat eine Fällung gab.



Das gebildete phosphorwolframsaure Baryum, das die färbenden, im gewaschenen Phosphorwolframmniederschlag verbliebenen Huminsubstanzen vollkommen niedegerissen hatte, wurde auf kleiner Filterplatte abgesaugt, mit Wasser ausgewaschen, darauf in das Becherglas zurückgebracht und hier mit 300 cem. Wasser ausgekocht und von Neuem abgesaugt. Das Auskochen etc. des phosphorwolframsauren Baryts wurde noch zweimal wiederholt. Das erste die freien Basen enthaltende Filtrat und die Flüssigkeiten, mit denen der phosphorwolframsaure Baryt ausgekocht war, waren farblos. Sie wurden mit Schwefelsäure angesäuert, auf ein kleines Volumen eingengt. Vom abgeschiedenen schwefelsauren Baryt wurde abfiltrirt, das Filtrat auf 500 cem. gebracht. 100 cem. davon wurden nach Kjeldahl verascht. Das gebildete Ammoniak sättigte 5,0 cem.  $\frac{1}{10}$  Normaloxalsäure. Es war demnach in diesem Versuch 0,035 g Stickstoff gleich 24,56% des Gesamtstickstoffs an Diaminosäuren gebunden gewesen.

Der phosphorwolframsaure Baryt wurde mitsammt den Filterresten ebenfalls nach Kjeldahl behandelt. Das gebildete Ammoniak sättigte 1,6 cem.  $\frac{1}{10}$  Normaloxalsäure ab. Demnach enthielt die im Phosphorwolframmniederschlag verbliebene Huminsubstanz 0,00224 g Stickstoff gleich 1,57% des Gesamtstickstoffs, was ca. 6% des in diesem Versuch gefundenen Diaminostickstoffs entsprechen würde. Wäre damit schon der Stickstoff der gesamten Huminsubstanzen bestimmt, so würde der Fehler, den man durch seine Vernachlässigung macht, um ein Vielfaches den von Hausmann für Melanoidinsäure berechneten übertreffen. In Wirklichkeit ist der Stickstoff, der an Huminsubstanzen <sup>1)</sup> gebunden ist, noch viel grösser, wie aus der Arbeit von Kossel und mir hervorgeht. Dass man die Huminsubstanzen nur zum kleineren Theil in dem Phosphorwolframmniederschlag behält, wenn man nach der Methode von Hausmann vorgeht, liegt daran, weil man ihre Phosphorwolframverbindungen wieder beim Auswaschen löst; darauf weist die starke Braunfärbung der ersten Washwässer. Natürlich entgeht der Rest des an die Huminsubstanzen gebundenen Stick-

<sup>1)</sup> Ich benutze hier die Bezeichnung Huminsubstanz in dem Sinne, welcher in der vorhergehenden Arbeit erörtert worden ist.

stoffs der Bestimmung nach der Hausmann'schen Methode nicht, nur bestimmt man ihn als Monoaminostickstoff und führt damit einen Fehler unbekannter Grösse ein.

Das Filtrat vom Phosphorwolframniederschlag der Diaminosäuren wurde auf 500 ccm. gebracht. Davon sättigen 100 ccm., nach Kjeldahl behandelt, 13,0 ccm.  $\frac{1}{10}$  Normaloxalsäure. Demnach waren bei diesem Versuch 0,091 g Stickstoff gleich 63,87% des Gesamtstickstoffs als Monoaminostickstoff gefunden.

Das durch Magnesia aus der Zersetzungsflüssigkeit austreibbare Ammoniak sättigte 10,3 ccm.  $\frac{1}{10}$  Normaloxalsäure. Das entspricht 0,01442 g Stickstoff gleich 10,12% des Gesamtstickstoffs.

In Versuch IV wurden die in Versuch III festgestellten Bedingungen peinlich innegehalten. 1,1968 g Casein mit 0,1538 g Stickstoff wurden mit 20 ccm. Salzsäure vom specifischen Gewicht 1,19 während 6 Stunden am Rückflusskühler gekocht. Das abgespaltene Ammoniak wurde mit Magnesia ausgetrieben. Es sättigte 11,0 ccm.  $\frac{1}{10}$  Normaloxalsäure. Das entspricht 0,0154 g Stickstoff gleich 10,02% des Gesamtstickstoffs. Die ammoniakfreie, mit Salzsäure übersättigte Flüssigkeit wird auf 22 ccm. gebracht und mit der berechneten Menge (26,0 ccm.) Phosphorwolframsäure gefällt. Die Fällung wird abgesaugt und mit 140 ccm. des auch in Versuch III benutzten Waschwassers ausgewaschen. Im Uebrigen wird genau wie in Versuch III zur Bestimmung des Huminstickstoffs etc. verfahren. Die in Versuch III angeführten auffälligen Erscheinungen (beträchtliches Lösen des Phosphorwolframniederschlages beim Auswaschen etc.) traten ebenfalls ein.

Es ergaben sich in diesem Versuch folgende Zahlen für den Huminstickstoff etc.:

Das aus den im phosphorwolframsauren Baryt steckenden Huminsubstanzen entwickelte Ammoniak sättigte 1,5 ccm.  $\frac{1}{10}$  Normaloxalsäure. Das entspricht 0,002149 g Stickstoff gleich 1,34% des Gesamtsickstoffs.

Die in Freiheit gesetzten Diaminosäuren waren in 500 ccm. schwefelsaurem Wasser gelöst. 100 ccm. davon, nach Kjeldahl behandelt, sättigen 5,5 ccm.  $\frac{1}{10}$  Normaloxalsäure. Das

entspricht 0,0385 g Stickstoff gleich 25,03% des Gesamtstickstoffs.

Das Filtrat von den Phosphorwolframverbindungen wurde auf 500 cem. gebracht. 100 cem. sättigen, nach Kjeldahl behandelt, 14,5 cem.  $\frac{1}{10}$  Normaloxalsäure. Das entspricht 0,1015 g Stickstoff gleich 66,0% des Gesamtstickstoffs.

In nachfolgender Tabelle gebe ich, der besseren Uebersicht wegen, die von mir in den verschiedenen Versuchen erhaltenen Werthe wieder. Des Vergleiches halber stelle ich an den Kopf der Tabelle die von Hausmann für Casein angegebenen Zahlen

	Amid- stickstoff	Diamino- stickstoff	Monoamino- stickstoff	Huminstickstoff im Niederschlag	Stickstoff in Summe gelunden statt	Bemerkungen
	„	„	„	„	100% „	
Casein	13,37	11,71	75,98		101,06	Versuch Hausmann.
	10,40	34,51	53,37	—	98,28	Versuch I.
	10,35	20,69	69,47		100,51	Versuch II.
	10,12	24,56	63,87	1,57	100,12	Versuch III.
	10,02	25,03	66,00	1,34	102,39	Versuch IV.

Auf weitere Versuche habe ich verzichtet. Die quantitativen Bestimmungen Hausmann's können nicht mehr als massgebend betrachtet werden, nachdem sich gezeigt hat, dass die Angaben Hausmann's bezüglich der Unlöslichkeit des Phosphorwolframsäureniederschlags nicht zutreffend sind und der Phosphorwolframniederschlag, der die Diaminosäuren enthalten soll, sich auch bei vorsichtigster Ausfällung der Diaminosäuren in dem Waschwasser merklich löst, ehe man den von Hausmann angegebenen Endpunkt für das Auswaschen erreicht. Das eben Gesagte gilt auch von den Bestimmungen, die letzter Zeit von Pick, Magnus-Levy etc. über die Verteilung des Stickstoffs im Eiweiss mittelst der Hausmann'schen Methode gemacht worden sind.

Eine weitere sehr beträchtliche Ungenauigkeit der Hausmann'schen Methode ist bedingt durch die Nichtbeachtung

des Huminstickstoffs. Derselbe kann, wie ich bereits erwähnt habe, bei den Eiweisskörpern ca. 10% des Gesamtstickstoffs ausmachen. Nach der Hausmann'schen Methode aber muss der Huminstickstoff als Diamino- und Monoaminostickstoff bestimmt werden und die Zahlen dafür merklich beeinflussen.

Zum Schluss möchte ich noch kurz die Frage erörtern, ob Monoamidosauren durch Phosphorwolframsäure gefällt werden oder nicht. Es liegen hierüber Kontrollversuche von Hausmann<sup>1)</sup> vor. Er prüfte die Fällbarkeit der Monoamidosauren durch Phosphorwolframsäure in verdünnter saurer Lösung und erhielt durchweg nur negative Resultate. Diese Kontrollversuche sind nicht beweisend, denn man ist gezwungen, um eine möglichst vollständige Abscheidung der Diaminosäuren durch Phosphorwolframsäure zu erhalten, die Zersetzungsflüssigkeiten, so weit es nur angängig ist, zu concentriren. Man arbeitet daher bei quantitativen Bestimmungen der Zersetzungsprodukte nicht mit verdünnten, sondern mit concentrirten resp. übersättigten Lösungen der Monoamidosauren. Hätte Hausmann diese Kontrollversuche, den wirklichen Bedingungen entsprechend, an concentrirten Zersetzungsflüssigkeiten vorgenommen, dann wäre das Resultat ein anderes gewesen. Er hätte dann jedenfalls die Angaben zuverlässiger Beobachter,<sup>2)</sup> nach denen in den Phosphorwolframniederschlag ausser den Diaminosäuren alle möglichen Substanzen eingehen, bestätigen können.

Fasse ich die Resultate meiner Arbeit kurz zusammen, so ergibt sich, dass die Methode, nach der Hausmann die Vertheilung des Stickstoffs im Eiweissmolekül bestimmt, keine zuverlässigen Werthe liefern kann.

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXIX, S. 138.

2) Siehe die Arbeit Kossel's: «Ueber die Bildung von Thymin aus Fischsperma». Diese Zeitschrift, Bd. XXII, S. 188 und Hedin's Arbeit: «Einige Bemerkungen über die basischen Spaltungsprodukte des Elastins». Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 346.