

## Zur Kenntniss der Bindung des Schwefels in den Proteinstoffen.

Von  
K. A. H. Mörner.

(Aus dem medicinisch-chemischen Laboratorium des Karolinischen Instituts  
in Stockholm).

(Der Redaction zugegangen am 4. December 1901.)

Schon früher<sup>1)</sup> habe ich über die Bildung von Cystin beim Zersetzen der Substanz des Rinderhorns mit Salzsäure berichtet. Die grösste Ausbeute an Cystin, welche dabei erlangt wurde, betrug etwa  $4\frac{1}{2}\%$  der Hornsubstanz. Das dabei gewonnene Cystin war zum Theil mit dem aus Harnsteinen oder aus Harn dargestellten übereinstimmend und krystallisirte wie dieses in der Form von sechsseitigen Tafeln. Ausserdem fand ich Cystin, das sich in der Form von Nadeln oder Kugeln ausschied; dieses Cystin hatte eine andere optische Activität, indem es schwächer als das gewöhnliche Cystin nach links drehte oder bisweilen fast inactiv oder sogar rechtsdrehend gefunden wurde. Dieses Cystin war in Wasser leichter löslich als das typische Cystin.

In einigen Versuchen fand ich auch etwas Cystein, welches ich jedoch aus früher angeführten Gründen für ein aus dem Cystin gebildetes, secundäres Produkt hielt.

Ich werde im Folgenden über die Fortsetzung dieser Untersuchungen berichten.<sup>2)</sup>

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXVIII, S. 595.

2) Ueber die Ergebnisse dieser Untersuchungen habe ich schon zum Theil in einem Vortrag berichtet, welcher auf dem medicinischen Congress in Paris 1900 gehalten wurde. S. Verh. des Congresses; Section de physiologie, physique et Chimie biologique; S. 15.

Das eben erwähnte atypische Cystin habe ich in meiner vorigen Abhandlung als ein Gemenge aus dem typischen Links-Cystin und dem noch nicht isolirten Rechts-Cystin aufgefasst. Ich bin jetzt in der Lage, diese Anschauung bestätigen zu können.

Ein Cystin, dessen spezifische Drehung =  $-223^{\circ}$  war, und welches in typischen sechsseitigen Tafeln krystallisirte, wurde in Salzsäure von 10% gelöst. Die optische Drehung der Lösung war bei Zimmertemperatur nach 17 Stunden unverändert. Die Lösung wurde dann auf dem Wasserbade 109 Stunden ununterbrochen erhitzt. Sie färbte sich dabei ein wenig gelb; es wurde eine Spur von Schwefelsäure gebildet; Trübung von freiem Schwefel trat nicht ein; Schwefelwasserstoff wurde nicht gebildet. Nachdem die Flüssigkeit abgekühlt und genau auf das vorige Volumen gebracht worden war, zeigte sie ein bedeutend geringeres Drehungsvermögen als vorher, indem die spezifische Drehung der Substanz von  $-223^{\circ}$  auf  $-134^{\circ}$  gesunken war.

Die Lösung wurde mit Ammon neutralisirt und setzte dann 70% der ursprünglichen Cystinmenge in der Form von Kugeln und Nadeln ab. Aus dem Filtrate wurden durch Zusatz von Weingeist noch 12% des verwendeten Cystins in der Form von reinen Nadeln erhalten; der Schwefelgehalt dieser Fraction war = 26,75% S, und dessen spezifische Drehung war  $\alpha_D = -49,1^{\circ}$ .<sup>1)</sup>

Durch die Erhitzung mit Salzsäure hatte also das Cystin, ohne dass ein besonders grosser Theil desselben zerstört wurde, eine deutliche Veränderung erlitten und die Merkmale des «nadelförmigen Cystins» angenommen: die Linksdrehung war niedriger, es schied sich, wenigstens zum Theil, in der Form von Nadeln ab und war augenscheinlich leichtlöslicher als das ursprüngliche, typische Cystin.

1) 0,1419 g des Cystins gaben nach der Verbrennung mit NaOH und  $\text{KNO}_3$ , 0,2765 g  $\text{BaSO}_4$  = 0,03796 g S = 26,75% S.

0,2144 g wurden in Salzsäure (3%) gelöst; das Volumen = 27 ccm. Eine 20 cm. Schicht von dieser Lösung bewirkte eine Ablenkung von  $0,78^{\circ}$  nach links. Die spec. Drehung also  $\alpha_D = -49,1^{\circ}$ .



Nach dieser Beobachtung kann man wohl annehmen, dass beim Kochen der Proteinstoffe mit einer reichlichen Menge starker Salzsäure das abgespaltene Cystin in ähnlicher Weise verändert wird. Es ist also leicht möglich, dass zuerst ein typisches Cystin abgespalten wird, dass dies aber mit der Dauer der Erhitzung verändert wird, so dass es eine grössere Löslichkeit, eine veränderte optische Activität erhält und in anderer Form krystallisirt. Dies stimmt auch mit meiner früheren Aussage und mit der Beobachtung, dass nadelförmiges Cystin besonders nach lange dauerndem Erhitzen erhalten wird. (Vorig. Abh. S. 605). Eine solche Veränderung des Cystins bietet ja übrigens nichts Befremdendes dar; ähnliches ist ja früher für andere Substanzen beschrieben: von E. Fischer für Monaminosäuren und von Kutscher für das Arginin.

In den folgenden Versuchen beabsichtigte ich zunächst die Zersetzungsprodukte verschiedener Proteinstoffe auf die Gegenwart von Cystin zu prüfen und mir dabei auch eine Vorstellung über die Menge des Cystins zu verschaffen. Zwar sind die Cystinbestimmungen, welche ich dabei ausgeführt habe, insofern unvollkommen, als sie nicht der ganzen Cystinmenge entsprechen, sondern als Minimalwerthe zu betrachten sind. Da sie aber, wie ich unten näher auseinandersetzen werde, dadurch zuverlässig sind, dass keine nennenswerthen Mengen von anderen schwefelhaltigen Substanzen darin einbegriffen sind, haben auch diese Minimalwerthe Bedeutung für die Aufklärung der Frage über die Bindungsweise des Schwefels in den Proteinkörpern. Dabei muss natürlich auch der Gehalt der Proteinkörper an Gesamtschwefel und an bleischwärzendem (als Schwefelmetall abspaltbaren) Schwefel berücksichtigt werden.

Zur Bestimmung des Gesamtschwefels wurde die Substanz mit reinem Natriumhydrat (je nach der Substanzmenge 2—5—10—25 g), Salpeter (etwas weniger als die Substanzmenge) und etwas Wasser erst auf dem Wasserbade und dann im Trockenschranke (bei etwa 150°) eingetrocknet. Schon dabei wird die Substanz zum Theil zerstört, so dass die fol-

gende Verbrennung mit Salpeter,<sup>1)</sup> welche ich stets über der Weingeistflamme (wie ich es seit langer Zeit gethan habe) ausführte, sehr leicht und ruhig verlief. Nach Ausziehen mit Wasser, Filtriren und Zusatz von ein wenig Bromwasser wurde mit reiner Salzsäure übersättigt und die Salpetersäure durch Abdampfen auf dem Wasserbade ausgetrieben. Die Schwefelsäure wurde dann in gewöhnlicher Weise gefällt und das Baryumsulfat gereinigt.

Zur Bestimmung des als Schwefelmetall abspaltbaren Schwefels, oder, wie ich ihn in dem Folgenden der Kürze wegen bezeichne, des «bleischwärenden» Schwefels sind in der Litteratur verschiedene Methoden angegeben, welche für dieselbe Substanz (z. B. Cystin) verschiedene Werthe gegeben haben. In einer Untersuchungsreihe ist es daher nothwendig, nach einer und derselben Methode zu arbeiten, um unter einander vergleichbare Resultate zu erhalten.

Das Verfahren, bei welchem ich nach gewonnener Erfahrung stehen blieb, war das folgende. Die Substanz wurde mit 50 g Natriumhydrat, 10 g Bleiacetat und 200 ccm. Wasser nach Zusatz von einem ganz kleinen Stückchen Zink gekocht. Das Kochen geschah auf dem Drahtnetze in einem Kolben aus Jenaglas, von welchem ein nicht zu weites Ableitungsrohr zu einem Rückflusskühler führte. Zur Verbindung wurden Korkstopfen benutzt. Das Kochen dauerte 8—8 $\frac{1}{2}$  Stunden, was für diese Versuche hinreichend lange ist, da ich in einem besonderen Versuche mit Cystin gefunden habe, dass aller bleischwärender Schwefel schon in 7 $\frac{1}{4}$  Stunden abgespalten wurde.

Der Einwirkung der Luft auf das Schwefelblei wurde durch lebhafte Entwicklung von Wasserdampf vorgebeugt. Der Zusatz von Zink bezweckte nur, ein ruhiges Kochen der alkalischen Flüssigkeit zu ermöglichen. Nach ausgeführten Versuchen nahm ich davon Abstand, die Einwirkung der Luft durch Zusatz von metallischem Zink zu verhindern zu suchen,

---

1) Ich habe einige Mal mit Natriumsuperoxyd verbrannt, aber ich bin doch zu dem jetzt beschriebenen Verfahren zurückgekehrt.



wie es Fr. N. Schulz<sup>1)</sup> bei seiner Methode macht. Da das Zink bald durch ausgeschiedenes Blei gänzlich eingehüllt wird, dürfte sein Vermögen, Sauerstoff aufzunehmen, dadurch beeinträchtigt werden; eine andere Unannehmlichkeit ist die, dass das Blei aus der Flüssigkeit bald ausgefällt wird; es ist dann schwierig, den Zusatz von neuer Bleilösung so zu regeln, dass gelöstes Blei immer zugegen ist. In meinen Versuchen war stets ein reichlicher Ueberschuss an gelöstem Blei zugegen.

Zur Bestimmung des Schwefels in dem ausgeschiedenen Schwefelmetalle wurde dieser auf ein Asbestfilter gesammelt, mit reiner sehr verdünnter Natronlauge möglichst schnell gewaschen, bis das Filtrat schwefelsäurefrei und die Mutterlauge entfernt war,<sup>2)</sup> was im Allgemeinen leicht und in kurzer Zeit geschehen konnte. Dann wurde der Niederschlag nach Zusatz von Salpetersäure mit Bromwasser oxydirt (das Zinkstückchen wurde für sich mit Salpetersäure gelöst und mit der übrigen Lösung vereinigt). Nach Eindampfen auf dem Wasserbade wurde der Rückstand mit reinem Natriumcarbonat und etwas Wasser aufgenommen, in einen Silber- oder Nickeltiegel übergeführt, eingetrocknet und dann die nitrathaltige Masse über der Weingeistflamme erhitzt. Darauf wurde mit Wasser ausgelaut, das Ungelöste noch einmal mit Natriumcarbonatlösung erwärmt und alsdann mit Wasser ausgewaschen. Das Filtrat wurde mit Bromwasser versetzt, mit reiner Salzsäure übersättigt und auf dem Wasserbade eingetrocknet. Der dabei zurückbleibende Abdampfungsrückstand wurde mit Salzsäure (in nicht zu geringer Menge) und Wasser aufgelöst,<sup>3)</sup> das

1) Fr. N. Schulz, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXV, 1898, S. 16.

2) Mit Essigsäure zu übersättigen, ehe filtrirt wird, was auch befürwortet wird, scheint mir dadurch einen Fehler einführen zu können, dass dabei Bleisulfat ausgeschieden werden kann, wenn Schwefelsäure zugegen ist; der Schwefel derselben würde dann zu dem bleischwärenden Schwefel gerechnet werden.

3) Die ungelöste mit Salzsäure behandelte Kieselsäure habe ich mehrmals mit Schwefelammonium auf Blei geprüft und stets mit negativem Ausschlag. Diese Prüfung wird dadurch nöthig, dass die Lösung, welche eingetrocknet wurde, sehr leicht bleihaltig sein kann, was ich

ziemlich stark verdünnte Filtrat mit  $\text{BaCl}_2$  gefällt und das Baryumsulfat in gewöhnlicher Weise gereinigt und gewogen.<sup>1)</sup>

Durch Ausführung von Doppelbestimmungen mit derselben Substanz habe ich mich überzeugt, dass unter einander stimmende Werthe erhalten wurden. (Anal. Bel. Nr. 1, 2, 3, 6, 24, 73, 74).

Scheinbar hat dieses Verfahren Aehnlichkeit mit der oben erwähnten Methode von Fr. N. Schulz. Es darf doch nicht damit identificirt werden, da das metallische Zink nur in ganz geringer Menge (um das Kochen zu ermöglichen, nicht um die Einwirkung der Luft zu verhindern) zugesetzt wurde; auch war stets ein reichlicher Ueberschuss an Blei zugegen; Verschiedenheit in der Bearbeitung des Schwefelbleis fand sich auch vor. Die Verschiedenheit zeigt sich am auffälligsten darin, dass ich für Cystin ein ganz anderes Resultat als Schulz erhalten habe. So fand ich (im Mittel) 75,16% (rund  $\frac{3}{4}$ ) des Schwefels im Cystin als bleischwärend wieder, während Schulz nur 52,4—53,7% (in einem Falle nur 30,7%) des Cystinschwefels als Schwefelmetall ausgeschieden erhielt.<sup>2)</sup>

Um das Cystin oder eher einen Minimalwerth desselben zu bestimmen, habe ich in ähnlicher Weise wie für die Darstellung des Cystins verfahren, d. h. die Substanz wurde durch

nicht durch Einleiten von Kohlensäure in die nach der Oxydation des Schwefelbleis und Erhitzen mit Soda erhaltene Wasserlösung verhindern konnte. Wenn man nur mit Wasser auszieht, kann Bleisulfat ungelöst zurückbleiben und das Resultat dadurch zu niedrig ausfallen. Nach dem Ausziehen mit Salzsäure zeigte mir die Erfahrung, dass dies nicht der Fall ist.

1) Es ist darauf zu achten, dass das Baryumsulfat bleifrei ist; bei Gegenwart von Blei ist das geglühte Baryumsulfat gelblich; durch Umschmelzen mit Soda kann das Blei entfernt werden. Von der Abwesenheit von Blei, wenn das Baryumsulfat weiss ist, habe ich mich mehrmals überzeugt.

2) Ich kann es nicht näher ermitteln, weshalb die Ergebnisse bei dem Cystin so ganz verschieden ausgefallen sind. Für andere Substanzen habe ich Werthe erhalten, welche ganz gut mit denen von Schulz übereinstimmen. Es dürfte von Interesse sein, dass ich meine Werthe mit denen zusammenstellte, welche andere Forscher mit mehr oder weniger verschiedenen Methoden erhalten haben. Dass die Untersuchung



Kochen mit Salzsäure zersetzt und das Cystin durch Neutralisation ausgefällt. Als Mass für die Cystinmenge diene die Schwefelbestimmung. <sup>1)</sup>

unsicher und sogar irreleitend werden kann, wenn man in ungeeigneter Weise arbeitet (Mangel an Bleisalz, freier Zutritt der Luft u. s. w.), zeigt die Bestimmung Malerba's für Serumalbumin.

In der folgenden Tabelle finden sich einige solche Untersuchungen zusammengestellt:

	Verf. 1) o/o	Fleitmann 2) o/o	Krüger 3) o/o	Malerba 4) o/o	Middeldorf 5) o/o	Schulz 6) o/o	Osborne 7) o/o
Schalenhaut des Hühnereies . . . . .	2,47	2,51	—	—	—	—	—
Serumalbumin, krystallisirt . . . . .	1,29	—	—	—	0,113	1,28	—
Serumalbumin, nicht krystallisirt . . . . .	1,02	—	—	0,411	—	—	—
Serumglobulin . . . . .	0,67	—	—	—	—	0,63	—
Ovalbumin, krystallisirt . . . . .	0,42	—	—	—	—	0,49	0,491
Ovalbumin, nicht krystallisirt . . . . .	0,54	—	0,44	0,49	—	—	—
Fibrinogen . . . . .	0,465	—	—	—	—	—	—
Fibrin . . . . .	—	0,52	0,38	0,406	—	—	0,38
Casein . . . . .	0,065	0,07	—	—	—	—	0,101

1) S. unten.

2) Fleitmann, Annal. d. Chemie u. Pharm., Bd. 66, 1848, S. 381.

3) Krüger, Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. 43, 1888, S. 241.

4) Malerba, Rendiconto d. Accad., Napoli, Ser. 2, Vol. 8, 1894, S. 59.

5) Middeldorf, Verh. d. phys. med. Gesellsch., Würzburg, N. F., Bd. 31, 1898, S. 43.

6) Fr. N. Schulz, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXV, 1898, S. 30.

7) Th. B. Osborne, Studies fr. the res. labor., Conn. agr. exp. stat., rep. f. 1900, S. 467.

1) Von Versuchen, eine Cystinbestimmung auf die Abscheidung des Cystins als unlösliche Quecksilberverbindung zu begründen, habe ich bis auf Weiteres Abstand genommen. Als Quecksilberverbindung kann man, soviel ich bisher gesehen habe, die ganze Menge des bleischwärenden Schwefels ausfällen. Es ist aber von vornherein nicht ersichtlich, dass nur eine einzige schwefelhaltige Substanz oder eine Gruppe von zusammengehörenden Substanzen (wie Links- und Rechts-Cystin nebst Cystein) ausgefällt wird. Man könnte daher gegen eine

Von der Salzsäure (1,124 Eig.-Gew.) wurde eine  $2\frac{1}{2}$ —3mal so grosse Menge wie von der Substanz genommen und mit etwa dem gleichen Volumen oder weniger Wasser verdünnt. Die Substanz und die Säure wurden in einen kleinen Kolben aus Jenaglas eingebracht. Von dem Kolben führte ein eingeschliffenes, umgebogenes Ableitungsrohr in eine Bleiacetat-lösung hinein. Der freie Zutritt der Luft wurde dadurch verhindert, und es war möglich, festzustellen, dass kein Schwefelwasserstoff entwickelt wurde, oder dass nur eine Spur desselben auftrat, wobei die innere Seite des Ableitungsrohrs einen kleinen schwarzen Anflug zeigte.

Die Erhitzung geschah auf dem Wasserbade; die Temperatur der Flüssigkeit stieg zu etwa  $90^{\circ}$  C. (bisweilen nicht so hoch). Das Erhitzen wurde ununterbrochen fortgesetzt.

Zur Ermittlung der Zeit des Erhitzens, welche das Maximum von Cystin gab, wurden die folgenden Versuche mit Hornsubstanz ausgeführt.

Die Schwefelmenge, welche in dem «Cystinniederschlage» wiedergefunden wurde (siehe unten), machte von der Hornsubstanz aus:

nach 46 stündigem Erhitzen	S = 0,04%	(Anal. Bel. Nr. 9b),
» 96	» S = 0,76%	( » » » 10),
» 187	» S = 1,82%	( » » » 12a).

Diese Versuche zeigen, dass viertägiges Erhitzen unzureichend ist: es geht ferner hervor, dass eine Unvollständigkeit der Zersetzung keine Gefahr für Ausfällung von anderen schwefelhaltigen Substanzen als Cystin herbeiführt.

Es fragt sich nun, ob eine Dauer des Erhitzens von 7—8 Tagen hinreichend ist. In einem, in grösserem Massstabe vorgenommenen Versuch mit Hornsubstanz dauerte die

---

solche Methode ernste Einwände erheben. Es schien mir daher besser, schrittweise vorzugehen und mich mit Minimalwerthen des Cystins zu begnügen. Die Ueberlegung, ob auch der rückständige Schwefel als Cystinschwefel zu bezeichnen sei, ist jedenfalls nicht ausgeschlossen.

Die Ueberführung des Cystins in eine unlösliche Quecksilberverbindung oder in Benzoylderivat würde übrigens die systematische Untersuchung fast unmöglich gemacht haben.



Erhitzung 7 Tage. Das Cystin wurde, wie unten angegeben, ausgefällt und die Mutterlauge wieder mit Salzsäure versetzt und noch 7 Tage erhitzt. Eine geringe Abscheidung von freiem Schwefel fand statt; es wurde aber keine nachweisbare Menge von Cystin gebildet, noch fand eine durch die Nitroprussidnatriumreaction nachweisbare Bildung von Cystein statt. Ein längeres Erhitzen als 7 Tage scheint also unnöthig; ich habe deshalb die Erhitzung auf etwa diese Zeit begrenzt. Es liegt jedoch auf der Hand, dass man schwerlich die allerbesten Bedingungen für die Bildung des Cystins erhalten kann: es ist also ein Zufall, wenn man die allerbeste mögliche Ausbeute an Cystin gewinnt. Eine zu kurze Dauer des Erhitzens gibt eine unvollständige Cystinbildung; bei einer allzu langen Dauer des Erhitzens kann auf der andern Seite die gefundene Cystinmenge allzu niedrig ausfallen, weil das typische, linksdrehende Cystin durch die Einwirkung der Säure in eine leichter lösliche Modification übergeführt werden, und daher weniger vollständig ausfallen kann; übrigens scheint das Cystin auch zu einem kleinen Theil durch die Säure zerstört werden zu können.

Bei dem Zersetzen mit Salzsäure wurde die Flüssigkeit je nach der Art der zersetzten Substanz in verschiedenem Grade dunkel gefärbt. Bei einigen Substanzen geschah die Auflösung vollständig, bei anderen fand sich nach dem Erhitzen ein ungelöster Rückstand vor; diese Masse, welche die Melanoidinsäure Schmiedeberg's enthielt, konnte auch freien Schwefel enthalten, da solcher bei lange dauernder Erhitzung ausgeschieden werden kann (s. vorige Abh. S. 599). Dieser Rückstand wurde gesammelt und der Schwefelgehalt desselben bestimmt. Da dieser stets gering war, habe ich nicht besonders untersucht, ob der Schwefel frei oder in der organischen Substanz gebunden war.

Die Lösung wurde mit  $\text{BaCl}_2$  gefällt. Die dabei entstehende Fällung war bisweilen gar nicht unbedeutend.

Das Filtrat wurde auf dem Wasserbade bei niedrigem Drucke eingekocht. Der Rückstand wurde mit möglichst wenig Wasser aufgenommen, mit schwefelsäurefreier Natronlauge

neutralisirt, mit Essigsäure ganz schwach angesäuert und dann mit Weingeist so lange versetzt, als die zuerst entstehende Trübung beim Umrühren verschwand (der Alkoholgehalt der Flüssigkeit war dabei 60% oder darüber). Die Flüssigkeit wurde dann in die Kälte (0° oder wenig darüber) gestellt und nach einigen Tagen der Niederschlag gesammelt. Dieser enthielt bisweilen nur ganz wenig Farbstoff; bisweilen war er aber sehr stark gefärbt. Wenn der Niederschlag, wie es bei den eigentlichen Eiweissstoffen vorkam, klebrig und stark gefärbt war, wurde er mit ein wenig Wasser behandelt und dann Weingeist zugesetzt.

Dieser «Cystinniederschlag», wie ich ihn in dem Folgenden bezeichne, wurde auf dem Filter mit einem Gemisch aus zwei Volumen Weingeist und einem Volumen Wasser gewaschen. Er wurde dann in Ammoniakflüssigkeit gebracht, ein wenig Ammoniumcarbonat zugesetzt, filtrirt und das Ungelöste ausgewaschen. Diese Lösung, welche das ausgefällte Cystin enthielt, wurde zur Bestimmung des Gesamtschwefels und des bleischwärenden Schwefels gebraucht (in den späteren Versuchen wurde auch ein Theil neutralisirt und zur Reserve aufbewahrt).

Durch diese zwei Schwefelbestimmungen wollte ich ermitteln, ob es berechtigt wäre, den Gesamtschwefel als ein Maass für das Cystin zu betrachten. Um diese beiden Schwefelbestimmungen vergleichen zu können, bestimmte ich, wie viel bleischwärender Schwefel das Cystin bei meinem Verfahren gibt. In drei Versuchen mit verschiedenen Cystinpräparaten (Anal. Bel. Nr. 1, 2 und 3) fand ich resp. 75,13%, 75,80% und 74,60% des Cystinschwefels als «bleischwärend» (als Schwefelmetall ausgeschieden) wieder. Im Mittel von diesen Versuchen gibt das Cystin bei meinem Verfahren 75,16% oder rund  $\frac{3}{4}$  seines Schwefels als Schwefelmetall ab.<sup>1)</sup>

---

1) Nach anderen Methoden hat man andere Werthe erhalten. Suter (Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XX, 1895, S. 568) hat bis 83% S gefunden; er hat aber das Schwefelblei als solches gewogen; wodurch die Reinheit desselben sichergestellt wird, finde ich nicht angegeben. Fr. N. Schulz hat nur 52,4–53,7% (in einem Falle sogar



Wenn die Bestimmungen des Gesamtschwefels und des bleischwärenden Schwefels auf Cystin umgerechnet werden und man dabei Uebereinstimmung findet, zeigt dies, dass die schwefelhaltige Substanz des Niederschlages genau so viel Schwefelmetall gibt, wie reines Cystin. Dies, zusammen mit den Verhältnissen, unter welchen die Fällung entsteht, und der in anderen Versuchen ausgeführten Darstellung von Cystin, scheint mir, so sicher als es jetzt möglich ist, zu gewährleisten, dass Cystin vorliegt, und dass keine nennenswerthe Menge von anderen schwefelhaltigen Substanzen sich in dem Niederschlage vorfindet. Dies wird ferner auch dadurch bestätigt, dass ich in mehreren Versuchen, wo ich grössere Mengen von Substanz bearbeitete, von dem isolirten und gereinigtem Cystin beinahe ebenso viel (und bisweilen mehr) erhielt, als ich in den erwähnten quantitativen Versuchen fand.

Dass die Methode Fehlerquellen von entgegengesetzter Art in sich birgt und daher gewiss zu niedrige Werthe für das Cystin gibt, liegt auf der Hand. Wie oben gesagt, ist es leicht möglich, dass die Zersetzung mit Salzsäure nicht die beste denkbare Ausbeute an Cystin gibt. Weiter kann das Ausfällen des Cystins nicht als quantitativ angesehen werden: wie viel in der Mutterlauge und dem Waschwasser gelöst bleibt, entzieht sich aber der Schätzung. Natürlicher Weise kann die Menge dieses Cystins je nach Umständen (wie das Volumen der Flüssigkeit, die Art des Cystins u. A.) wechseln. Es ist daher nicht zu verwundern, wenn ich in verschiedenen Versuchen mit einer und derselben Substanz verschiedene Werthe gefunden habe.

Auf Grund der eben angedeuteten Unvollkommenheiten der Untersuchungsmethode betrachte ich alle gefundenen Cystinwerthe als Minimalwerthe. Wo ich für eine Substanz verschiedene Werthe gefunden habe, dürfen die höchsten Werthe der wirklichen Cystinmenge am nächsten kommen. Ich theile doch nur 30,7 %) des Cystinschwefels als Schwefelmetall abgeschieden wieder gefunden.

auch die Analysen mit, wo niedrigere Werthe erhalten wurden, da sie zur Beleuchtung der Verhältnisse beitragen können.

In dem Filtrate von dem «Cystinniederschlage» wurden sowohl der Gesamtschwefel als der bleischwärende Schwefel bestimmt. Da dieses Filtrat baryumhaltig war, wurde bei jenen Bestimmungen darauf geachtet, dass nach dem Verbrennen mit Natriumhydrat und Salpeter kein Schwefel als Baryumsulfat ungelöst zurückblieb. Bei den Bestimmungen des bleischwärenden Schwefels wurde nach Verdunsten des Weingeistes das Baryum mit Ammoniumcarbonat ausgefällt und das Filtrat weiter bearbeitet.

Beim Isoliren des Cystins bin ich insofern anders als früher (siehe vorige Abhandlung) verfahren, als ich die eingekochte salzsaure Lösung mit Weingeist bis zu einem Gehalte von etwa 60—70% (bisweilen auch mehr) versetzte und mit Natronlauge (statt wie früher mit Bleioxyd) neutralisirte. Der beim Stehen in der Kälte abgeschiedene Niederschlag wurde nach den früher beschriebenen Principien auf Cystin verarbeitet.

#### **Substanz des Rinderhorns.**

Nach der erwähnten Abänderung der Methode habe ich aus dieser Substanz grössere Mengen Cystin erhalten, als ich früher beschrieben habe.

Von den besonders verfertigten, mit Aether behandelten Hornspähnen wurden 900 g, die nach einer Wasserbestimmung 790 g Trockensubstanz enthielten, mit verdünnter Salzsäure ausgewaschen und dann mit 1800 ccm. Salzsäure (1,124) nebst Wasser in einem Kolben aus Jenaglas auf dem Wasserbade erhitzt. Die Temperatur stieg allmählich bis 92° C. Während der Erhitzung wurde ein wenig Kohlensäure gebildet, welche durch Auffangen in Barytwasser nachgewiesen wurde. Nach viertägigem ununterbrochenen Erhitzen war die Biuretreaction verschwunden; die Erhitzung wurde dann abgebrochen. Kein freier Schwefel war abgeschieden; weder oberhalb der Flüssigkeit war Schwefel zu sehen (wie es bei längerem Erhitzen bisweilen vorkommt), noch in dem Bodensatz fand sich



solcher vor (Ausziehen mit Schwefelkohlenstoff). Die Flüssigkeit gab mit Nitroprussidnatrium keine Rothfärbung, wie sie schon bei Gegenwart von ganz wenig Cystin schön auftritt.

Nach dem Entfärben mit Thierkohle, Abdestilliren im Vacuum und Aufnehmen des Rückstandes mit verdünntem Weingeist wurde durch Neutralisation mit Natronlauge ein hauptsächlich aus Cystin und Tyrosin bestehendes Gemenge ausgefällt. (Die Mutterlauge wurde mit Mercuriacetat gefällt: nach dem Zersetzen des Niederschlages mit Schwefelwasserstoff u. s. w. wurde mit Jod oxydirt: eine Bildung von Cystin war dabei nicht zu bemerken: die Gegenwart einer nennenswerthen Menge Cystein ist daher nicht anzunehmen). Der Niederschlag wurde durch fractionirte Krystallisation auf Cystin verarbeitet, wobei das Verhalten des Cystins und des Tyrosins zu Millon's Reagens und zu alkalischer Bleilösung als Richtschnur diente (vergl. vorige Abhandlung, S. 601). Folgende Fractionen von tyrosinfreiem Cystin wurden erhalten: eine Fraction von 22,8 g, sechsseitige Tafeln mit der specifischen Drehung  $\alpha_D = -223^\circ$  (Anal. Bel. Nr. 7); zwei Fractionen, aus kugelförmigen Aggregaten bestehend, die eine = 11,8 g, die andere = 10,7 g, hatten eine specifische Drehung von  $\alpha_D = -119^\circ$  und einen Schwefelgehalt von 26,60% S (Anal. Bel. Nr. 8 a und b). Ausserdem wurden einige kleine Fractionen von 1 g und 0,8 g erhalten. Im Ganzen wurden 47,7 g Cystin ganz frei von Tyrosin erhalten. Auf die trockene Hornsubstanz berechnet gibt dies 6% isolirtes Cystin.

Die verschiedenen Tyrosinfractionen, welche ich theils aus dem Cystinniederschlage, theils aus der Mutterlauge isoliren konnte, betragen zusammen 31,3 g, was von der trockenen Hornsubstanz beinahe 4% ausmacht.

Für die folgenden quantitativen Versuche wurden die Hornspähne besonders verfertigt, mit Aether, verdünnter Salzsäure, Wasser und verdünntem Weingeist behandelt und dann getrocknet.

Die Bestimmung der Asche gab 0,23% Asche (Anal. Bel. Nr. 4), welche eisen- und phosphorsäurehaltig war und nur 0,01% CaO enthielt.

Zwei Bestimmungen des Gesamtschwefels (Anal. Bel. Nr. 5 a und b) gaben 3,37 und 3,42 % S. Im Mittel = 3,39 % S.

Drei Bestimmungen des bleischwärenden Schwefels gaben (Anal. Bel. Nr. 6 a, b und c) 2,53, 2,42 und 2,51 % S, welcher als Schwefelmetall abgeschieden wurde. Im Mittel = 2,48 % S.

Nach 46stündigem Erhitzen mit HCl wurden 0,16 % S in der Form von Schwefelsäure wiedergefunden. (Anal. Bel. Nr. 9 a.)

Ein anderes Mal (6tägliches Erhitzen mit HCl) wurden 0,16 % S in der Form von Schwefelsäure gefunden. (Anal. Bel. Nr. 11.)

Durch Auslaugen mit Ammon konnten 0,17 % S als Schwefelsäure erhalten werden (Anal. Bel. Nr. 13), also genau so viel wie nach dem Erhitzen mit Säure. Da die Hornspähne gut ausgewaschen waren und nur 0,01 % CaO enthielten, konnte diese Schwefelsäure nicht als Bestandtheil der Asche aufgefasst werden. Ich werde unten bei dem Serumalbumin auf diesen Umstand zurückkommen.

In einem Versuche wurden nach 187stündigem Erhitzen mit HCl die folgenden Ergebnisse erhalten (Anal. Bel. Nr. 12):

S des «Cystinniederschlags»	1,82 % S	
	(entspr. Cystin = 6,8 %)	
S im Filtr. v. d. «Cystinniederschlag»	1,34 %	
Davon bleischwärend		1,05 % S
	<hr/>	3,16 % S.

Zu diesen 3,16 % S sind 0,16 % S hinzuzuaddiren, welche in der Form von Schwefelsäure gefunden wurden, im Ganzen also 3,32 % S: dies steht in guter Uebereinstimmung mit dem unmittelbar bestimmten Werth für den Gesamtschwefel = 3,39 % S. Man kann daraus sehen, dass keine nennenswerthe Menge von schwefelhaltigen, bei saurer Reaction flüchtigen Substanzen gebildet wurde; wenn solche entstanden wären, hätten sie sich gewiss bei der Destillation im Vacuum verflüchtigt. Bei der Auseinandersetzung über die Bindung des



Schwefels in der Hornsubstanz dürfen die 0,16 % S, welche in der Form von Schwefelsäure gefunden wurden, nicht eingerechnet werden, da dieser Schwefel, wie ich unten näher zeigen werde (siehe das Serumalbumin), nicht als zum Hornstoff selbst gehörend betrachtet werden darf. Bei dieser Ueberlegung ist also mit der Ziffer 3,23 % Gesamtschwefel in der Hornsubstanz zu rechnen.

Die gefundene Cystinmenge 6,8 % ist gewiss nicht zu hoch, da ich (siehe oben) aus der Hornsubstanz 6 % entfärbtes und gereinigtes Cystin gewinnen konnte. Wie oben gesagt, ist die gefundene Ziffer eher als ein Minimalwerth des Cystins zu betrachten. Der Schwefel des «Cystinniederschlags» macht von dem Gesamtschwefel der Hornsubstanz 56 % aus. Man kann daraus schliessen, dass der Schwefel der «cystingebenden» Gruppe in der Hornsubstanz wesentlich mehr als die Hälfte des Gesamtschwefels enthält.

Die Bestimmung des bleischwärenden Schwefels im Filtrate von dem «Cystinniederschlage» bietet einen interessanten Ausgangspunkt für die Beleuchtung der Bindungsweise des Schwefels.

Nachdem die Arbeiten von Liebig,<sup>1)</sup> Laskowsky<sup>2)</sup> und Fleitmann<sup>3)</sup> gezeigt hatten, dass nur ein Theil des Schwefels aus den Eiweissstoffen durch Einwirkung von Alkali als Schwefelalkali abgespalten werden kann, was auch durch Fleitmann einen ziffermässigen Ausdruck erhielt, hat man von zwei verschiedenen Bindungsformen des Schwefels gesprochen. Die eine Form, welche den Schwefel als Schwefelmetall abspalten liess, wurde als «nicht oxydirter» Schwefel bezeichnet; im Gegensatz dazu wurde der übrige Schwefel «oxydirt» genannt. Durch Krüger,<sup>4)</sup> welcher auf Veranlassung von O. Nasse diese Frage bearbeitete, wurden die eben erwähnten Benennungen durch die Bezeichnungen «locker» und «fest» gebundener Schwefel ersetzt; es stand nämlich nicht in Ueber-

1) Liebig, Annalen d. Chemie u. Pharm., Bd. 57, S. 133, 1846.

2) Laskowsky, daselbst, Bd. 58, S. 129, 1846.

3) Fleitmann, daselbst, Bd. 61, S. 121, 1847 u. Bd. 66, S. 380, 1848.

4) A. Krüger, Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. 43, 1888, S. 244.

einstimmung mit den Thatsachen, den Schwefel, welcher nicht als Schwefelmetall abgespalten wird, als «oxydirt» zu bezeichnen; die Beobachtungen sprechen nämlich dafür, dass kein Schwefel der Eiweissstoffe mit Sauerstoff verbunden ist. Die Auffassung von zwei verschiedenen Bindungsformen des Schwefels wurde aber beibehalten. Diese Auffassung wird von den Handbüchern<sup>1)</sup> wiedergegeben, bisweilen, wie von Otto Cohnheim, mit Reservation. Diese Auffassung wird von Hammarsten bei der Besprechung der eigentlichen Eiweissstoffe angeführt; sonst findet man sie bei der Schilderung der Gesamteigenschaften der ganzen Gruppe der Proteinkörper. Ich glaube nicht fehl zu gehen, wenn ich annehme, dass die allgemein herrschende Ansicht die ist, dass man da, wo ein Theil des Schwefels der Proteinstoffe durch Alkali als Schwefelmetall abgespalten werden kann und ein anderer Theil (wie es dabei immer geschieht) nicht in dieser Form erscheint, annimmt, dass der Schwefel in zwei verschiedenen Bindungsformen vorkomme.

Schon in meinem Vortrage auf dem Pariser Congress habe ich hervorgehoben, dass in den damals untersuchten schwefelreichen Substanzen ein Theil des sogenannten «oxydirten» oder «festgebundenen» Schwefels im Cystin gebunden ist. Dies ist durch die fortgesetzten Untersuchungen noch mehr bestätigt worden.

Der Cystinschwefel (1,82%) und der bleischwärende Schwefel im Filtrate von dem «Cystinniederschlage» (1,05%) machen zusammen 2,87% S aus. Die unmittelbare Bestimmung des bleischwärenden Schwefels hatte nur 2,48% S gegeben, also 0,39% weniger. Man kann daraus schliessen, dass ein Theil des Cystinschwefels (des Schwefels der cystingebenden Gruppe) bei Bearbeitung der Hornsubstanz nicht als Schwefelmetall abgeschieden wurde. Dies will mit andern Worten sagen, dass ein Theil, wenigstens 0,39%, von dem Schwefel, welchen man nach der herrschenden Auffassung als «oxydirt» oder «fest gebunden» bezeichnen würde, in der «cystingebenden

<sup>1)</sup> Hammarsten, Lehrb. d. physiol. Chemie, 4. Aufl., 1899, S. 19.  
R. Neumeister, Lehrb. d. physiol. Chemie, 2. Aufl., 1897, S. 23.  
Otto Cohnheim, Chemie der Eiweisskörper, 1900, S. 73.



Gruppe» der Hornsubstanz vorkommt, und in derselben Weise wie der übrige Schwefel der «cystingebenden Gruppe» gebunden ist. Dies stimmt auch mit dem Verhalten des freien Cystins überein, für welches dies auch gilt, dass nur ein Theil des Schwefels durch Einwirkung der alkalischen Bleilösung als Schwefelmetall abgespalten wird<sup>1)</sup> (in meinen Versuchen  $\frac{3}{4}$  des Cystinschwefels).

In Bezug auf diese erwähnten 0,39% S, welche nicht als Schwefelmetall abgeschieden wurden, und die man daher dem sogenannten «oxydirten» oder «fest gebundenen» Schwefel zurechnen würde, ist es also entschieden, dass sie in der «cystingebenden» Gruppe enthalten waren. Für diesen Schwefel ist also die Annahme von einer besonderen Bindungsform nicht berechtigt; für die «cystingebende» Gruppe hat man nämlich keine Veranlassung, mehr als eine einzige Bindungsform des Schwefels anzunehmen. Die Annahme von zwei verschiedenen Bindungsformen des Schwefels in der Hornsubstanz erleidet dadurch eine wesentliche Einschränkung. Vielleicht muss sie für die fragliche Substanz ganz aufgegeben werden? Die folgende Betrachtung spricht dafür.

Es fragt sich dann: ist es möglich, dass aller Schwefel in der Form einer «cystingebenden Gruppe» vorkomme, dass er also in ähnlicher Weise wie in dem Cystin gebunden sei? Nach meinem Verfahren zur Bestimmung des bleischwärenden Schwefels gibt das Cystin  $\frac{3}{4}$  des Schwefels als Schwefelmetall ab. Nach demselben Verfahren wurde auch der bleischwärende Schwefel der Hornsubstanz selbst bestimmt; dabei wurden 2,48% bleischwärender Schwefel gefunden. Wenn die ganze Schwefelmenge der Hornsubstanz ähnlich wie im Cystin gebunden ist, dürfte ebensoviel derselben, wie aus dem Cystin, als Schwefelmetall abgeschieden werden, und aus 2,48% bleischwärendem Schwefel ein Gesamtschwefelgehalt von

1) Vergl. E. Goldmann und E. Baumann. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XII, 1888, S. 259. F. Suter, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XX, 1895, S. 567. Fr. N. Schulz, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXV, 1898, S. 23.

$2,48 \times 100 : 75,16$  sich berechnen lassen: dies gibt  $3,30\%$  S statt der thatsächlich gefundenen Menge von  $3,23\%$  S. Eine andere Berechnung gibt dasselbe Resultat: Im Filtrate von dem «Cystinniederschlage» fand ich  $1,05\%$  S; wenn der Schwefel dieses Filtrates in ähnlicher Weise wie im Cystin gebunden war, dürfte die entsprechende Menge Gesamtschwefel des schwefelhaltigen Körpers  $= 1,05 \times 100 : 75,16 = 1,40\%$  ausmachen; der thatsächlich gefundene Gehalt an Gesamtschwefel war  $1,34$  S. Man sieht daraus, dass sowohl die ursprüngliche Hornsubstanz, wie das Filtrat von dem ausgeschiedenen Cystin dasselbe Verhältniss zwischen dem Gesamtschwefel und dem als Schwefelmetall, durch Einwirkung von alkalischer Bleilösung, abscheidbaren Schwefel aufzeigt, wie man sie bei dem Cystin findet. Es scheint mir daher völlig berechtigt, die Möglichkeit hervorzuheben, dass die ganze Schwefelmenge der Hornsubstanz in einer und derselben Weise gebunden sei, und zwar in solcher Form, in welcher der Schwefel in der «cystingebenden Gruppe» vorkommt; es scheint mir sogar sehr wahrscheinlich, dass eine solche Auffassung das Richtige trifft.

Wenn ich es auch als wahrscheinlich betrachte, dass die ganze Schwefelmenge der Hornsubstanz in der «cystingebenden Gruppe», gebunden ist, so will ich doch nicht gesagt haben, dass Cystin das einzige schwefelhaltige Zersetzungsprodukt der Hornsubstanz sei. In welcher Form der Schwefel in dem Filtrate von dem ausgeschiedenen Cystin vorkommt, ist nicht ausgemacht. Dass es nicht Cystein ist, darf ich behaupten; schon das oben Gesagte spricht dagegen; Versuche, welche ich unten mittheilen werde, beweisen noch deutlicher die Abwesenheit von nennenswerthen Mengen Cystein in diesem Filtrate. Meine Erfahrung über das in Nadeln krystallisirende Cystin macht es wahrscheinlich, dass das noch nicht isolirte Rechts-Cystin leichter löslich ist als das typische Links-Cystin. Ich kann daher nicht die Möglichkeit ausschliessen, dass die Hauptmasse der schwefelhaltigen Substanz in dem Filtrate von dem ausgeschiedenen Cystin aus Rechts-Cystin bestehe. — Man kann vielleicht auch an ein homologes Cystin denken. — Dass



eine kleine Menge von dem gewöhnlichen Cystin sich in diesem Filtrate vorfindet, ist selbstverständlich, da das Cystin nicht quantitativ auskrystallisirt; mit Berücksichtigung der Löslichkeit dieses Cystins und der Ergebnisse von den Versuchen mit den schwefelärmeren Proteinkörpern darf ich sagen, dass die Menge von gewöhnlichem, linksdrehendem Cystin, das sich in diesem Filtrate vorfindet, ziemlich unbedeutend ist. — Zwar sind die Vorstufen des Cystins leicht löslich (vergl. S. 214); dass die Spaltung so unvollständig wäre, dass dies die Gegenwart einer so reichlichen Schwefelmenge (wie 1,34%) im Filtrate von dem «Cystinniederschlage» sogar annäherungsweise erklären könne, ist mit dem oben (S. 215) angeführten Versuche unvereinbar; die ganz vollständige Abwesenheit von Vorstufen des Cystins in diesem Filtrate kann ich selbstverständlich nicht als bewiesen ansehen.

#### Menschenhaare.

Diese Substanz ist unter den bisher untersuchten zur Cystindarstellung am meisten geeignet; die Menge des Tyrosins ist gering; das Cystin wird aber in grosser Menge gebildet und ist daher leicht zu reinigen.

Zu den folgenden Versuchen wurden die Haare mit Aether entfettet und mit verdünnter Salzsäure ausgezogen, dann mit Wasser ausgewaschen, wobei Staub und Unreinlichkeit durch Schlämmen möglichst entfernt wurden.

In einem ersten Versuch wurden 500 g Haare mit 1000 ccm. Salzsäure (1,124) und etwa 1500 ccm. Wasser ununterbrochen auf dem Wasserbade 6 Tage auf etwa 90° C. erhitzt. Die Biuretreaction war fast vollständig verschwunden. Keine Abspaltung von Schwefelwasserstoff fand statt. Freier Schwefel wurde nicht abgeschieden. Das erhaltene Cystin bildete sechseckige Tafeln; ausserdem wurde ein wenig Cystin in anderen Formen erhalten. Die Hauptportion zeigte (Anal. Bel. Nr. 15) die spezifische Drehung von  $\alpha_D = -217^\circ$ ; der Stickstoffgehalt war = 11,57% N, und der Schwefelgehalt war = 26,42% S. Dass ein Cystin vorlag, war also

sicher.<sup>1)</sup> Die erhaltene Cystinmenge entsprach 6,5% der trockenen Haare.

In einem zweiten Versuch wurden 150 g (bei 120° getrocknete) Haare mit 350 ccm. Salzsäure (1,124) und 350 ccm. Wasser 7 Tage auf 92° C. erhitzt. Eine geringe Abscheidung von freiem Schwefel im Kolbenhalse war dann ersichtlich. Bei der Neutralisation fiel das Cystin fast völlig frei von Tyrosin aus. Da ich, trotzdem ein kleiner Verlust an Material durch einen Unfall stattfand, eine Abschätzung der Cystinmenge beabsichtigte, wurde das Cystin nur einmal durch Umkrystallisation gereinigt. Ich erhielt eine Fraction, 6,7 g aus sechseckigen Tafeln nebst Nadeln und Kugeln; eine andere Fraction (7,5 g) bestand hauptsächlich aus Nadeln und wenig Kugeln; ausserdem eine dritte Fraction von 3,1 g. Die drei Fractionen wurden vereinigt und analysirt, wobei 11,50% Stickstoff und 26,35% Schwefel gefunden wurden (Anal. Bel. Nr. 16). Die Identität des Cystins ist also unzweifelhaft. Aus der Schwefelbestimmung lässt sich 16,8 g Cystin berechnen, was 11,3% Cystin, aus den Haaren erhalten, entspricht. Diese Zahl ist ein wenig zu niedrig, weil ein kleiner Verlust stattfand.

Die Menge Tyrosin, welche ich aus dieser Haarportion erhielt, war 2,4 g oder 1,6% der Substanz.

In einem dritten, in ähnlicher Weise angestellten Versuche (Anal. Bel. Nr. 17), wobei der weitaus grössere Theil des Cystins farblos, tyrosinfrei und fast völlig rein und daneben eine geringe Menge noch tyrosinhaltiges Cystin erhalten wurden, betrug die aus dem Schwefelgehalte berechnete Cystinmenge 11,1% von den trockenen Haaren. Die Identität des Cystins war unzweifelhaft: die Hauptportion hatte einen Schwefelgehalt von 26,32% S.

1) Die berechnete Zusammensetzung des Cystins ist:

Schwefel . . . . .	26,68% S
Stickstoff . . . . .	11,69% N
Kohlenstoff . . . . .	29,96% C
Wasserstoff . . . . .	5,04% H.

Die spezifische Drehung habe ich früher (vor. Abh. S. 604) für das von anderem Cystin möglichst freie Links-Cystin = - 224,3° gefunden.



Die Menge Tyrosin, welche in diesem Versuche gefunden wurde, war 2,3 g, was, wie in dem vorigen Versuche, 1,6% der Substanz ausmacht.

Folgende quantitative Versuche wurden ausgeführt:

Die Aschenbestimmung (Anal. Bel. Nr. 14) gab 0,09% lösliche Aschenbestandtheile, worunter der Kalk 0,009% betrug.

Durch Auslaugen mit Ammon konnten 0,193% S in der Form von Schwefelsäure den Haaren entzogen werden. (Anal. Bel. Nr. 22). Dies entspricht den Werthen, welche nach dem Erhitzen mit Salzsäure für die frei gewordene Schwefelsäure derselben Haarportion (Vers. D) gefunden wurden. Für diesen Schwefel gilt also dasselbe wie für den Schwefel, der aus der Hornsubstanz, dem Serumalbumin u. A. in der Form von Schwefelsäure erhalten wird. Ich werde unten bei dem Serumalbumin dies näher besprechen und begnüge mich jetzt damit, hervorzuheben, dass dieser Schwefel nicht als ein Bestandtheil der Haarsubstanz betrachtet werden darf.

In vier Versuchen wurden die Haare mit Salzsäure, wie oben beschrieben, zersetzt und die Zersetzungsprodukte näher untersucht. Zu drei von diesen Versuchen wurde eine und dieselbe Haarportion gebraucht; der vierte Versuch wurde mit einer anderen Haarprobe ausgeführt. Für jede Haarportion werden die Werthe des Gesamtschwefels und des bleischwärenden Schwefels besonders festgestellt.

Versuch A. Anal. Bel. Nr. 18.

Gesamtschwefel 5,26% S

Bleischwärender Schwefel 4,16% S

Nach dem Erhitzen mit Salzsäure wurden gefunden:

In der Form von Schwefelsäure 0,11% S

S des «Cystinniederschlags» 3,36% »

(entspr. Cystin = 12,6%)

Bleischw. S im Filtrate v. d. Cystin 1,19% »

Versuch B.

Dieselbe Haarportion, wie in dem Vers. A. Anal. Bel. Nr. 19.

(Gesamtschwefel 5,26% S)

(Bleischwärender Schwefel 4,16% »)

Nach dem Erhitzen mit Salzsäure wurden gefunden:

Schwefel in dem Bodensatze	0,14 <sup>0/0</sup> S
In der Form von Schwefelsäure	0,20 <sup>0/0</sup> »
Bleischw. S des «Cystinniederschlag»	2,73 <sup>0/0</sup> »
(entspr. Cystin = 13,62 <sup>0/0</sup> )	
Ges.-S im Filtrat v. d. «Cystinniederschlag»	1,51 <sup>0/0</sup> »

### Versuch C.

Dieselbe Haarportion, wie in dem Vers. A. Anal. Bel. Nr. 20.

(Gesamtschwefel	5,26 <sup>0/0</sup> S)
(Bleischwäzender Schwefel	4,16 <sup>0/0</sup> »)

Nach dem Erhitzen mit Salzsäure wurden gefunden:

In der Form von Schwefelsäure	0,20 <sup>0/0</sup> S
S des «Cystinniederschlag»	3,08 <sup>0/0</sup> »
(entspr. Cystin = 11,55 <sup>0/0</sup> )	
Bleischw. S des «Cystinniederschlag»	2,25 <sup>0/0</sup> S
(entspr. Cystin = 11,20 <sup>0/0</sup> )	
Ges.-S im Filtrat v. d. «Cystinniederschlag»	1,87 <sup>0/0</sup> S
Summa S	5,15 <sup>0/0</sup> S

In diesem Versuche verunglückte die Schwefelbestimmung in dem ungelösten Rückstand. Der Schwefelgehalt desselben entsprach in dem Versuch B 0,14<sup>0/0</sup> und in dem Versuch D 0,066<sup>0/0</sup> S. Er hat also nur geringe Bedeutung. Die Summe der einzelnen Schwefelbestimmungen (5,15<sup>0/0</sup>) stimmt gut mit dem Werthe für den Gesamtschwefel (5,26<sup>0/0</sup> S), welcher direkt bestimmt wurde, überein. Flüchtige, schwefelhaltige Substanzen können nicht bei der Erhitzung mit Salzsäure entstanden sein: sie würden bei der Destillation im Vacuum entfernt worden sein.

### Versuch D.

In diesem Versuche wurde eine andere Haarportion als in den drei vorigen Versuchen benutzt. Anal. Bel. Nr. 21.

Gesamtschwefel	5,63 <sup>0/0</sup> S
Bleischwäzender Schwefel	4,07 <sup>0/0</sup> »



Nach dem Erhitzen mit Salzsäure wurden gefunden:

S im ungelösten Bodensatz	0,066 <sup>0/0</sup> S
S in der Form von Schwefelsäure	0,195 <sup>0/0</sup> »
S des «Cystinniederschlag»	3,712 <sup>0/0</sup> »
(entspr. Cystin = 13,92 <sup>0/0</sup> )	
Bleischw. S des «Cystinniederschlag»	2,774 <sup>0/0</sup> S
(entspr. Cystin = 13,83 <sup>0/0</sup> )	
Ges.-S. im Filtrat v. d. «Cystinniederschlag»	1,545 <sup>0/0</sup> S
Bleischw. S im Filt. v. d. «Cystinniederschlag»	0,947 <sup>0/0</sup> S
Summa S 5,518 <sup>0/0</sup> S.	

Auch in diesem Versuche, wo alle Einzelbestimmungen durchgeführt werden konnten, stimmt die Summe der einzelnen Schwefelwerthe ebenso wie in dem Versuche C mit dem direkt bestimmten Gesamtschwefel gut überein. Man kann daher auch von diesem Versuche sagen, dass keine flüchtigen Zersetzungsprodukte, wenigstens keine nennenswerthe Menge derselben gebildet wurden. Wenn solche entstanden wären, würden sie bei der Destillation im Vacuum sich verflüchtigt und ein Deficit der Schwefelmenge hervorgerufen haben.

Von diesen Versuchen ist der Versuch D am besten gelungen und am vollständigsten durchgeführt. Ich lege daher zunächst diesen Versuch für die folgende Darlegung zu Grunde. In den Versuchen A und C ist das Cystin augenscheinlich nicht so vollständig auskrystallisirt, als es geschehen kann. Da ich nämlich beim Arbeiten in grösserem Maassstab (s. oben) bis 11,3<sup>0/0</sup> entfärbtes und umkrystallisirtes Cystin darstellen konnte, ist der in dem Versuche C gefundene Werth offenbar zu niedrig. Eher kann man einen solchen Werth wie den in dem Versuch D gefundenen oder einen noch höheren erwarten.

Da in dem Versuch D die Bestimmungen des Gesamtschwefels und des bleischwärenden Schwefels bei Umrechnung auf Cystin übereinstimmende Werthe, bezw. 13,92 und 13,84<sup>0/0</sup> Cystin geben, ist es nicht anzunehmen, dass andere schwefelhaltige Körper in dem «Cystinniederschlag» enthalten waren. Der gefundene Werth für das Cystin, 13,92<sup>0/0</sup> der Substanz, darf daher nicht als zu hoch betrachtet werden, was übrigens

durch die Ergebnisse des Versuches B bestätigt wird. Im Gegentheil betrachte ich auch den höchsten gefundenen Werth (13,92% Cystin) als einen Minimalwerth.

Aus dem Gesagten kann man schliessen, dass in der Substanz der Menschenhaare mehr als 68% des Schwefels (der als Schwefelsäure abgespaltene Schwefel abgerechnet) in der «cystingebenden» Gruppe enthalten sind.

Der Cystinschwefel (3,712%) und der bleischwärende Schwefel im Filtrate von dem «Cystinniederschlage» machen zusammen 4,66% aus, also nicht unbedeutend mehr (0,59%) als der unmittelbar in der Substanz bestimmte bleischwärende Schwefel (4,07%). Dies ist umsomehr bemerkenswerth, als ein Theil des bleischwärenden Schwefels bei der Erhitzung oxydirt oder in anderer Weise verändert worden ist, so dass er nicht mehr bleischwärend wirkt; nach der Erhitzung machten nämlich der bleischwärende Schwefel in dem «Cystinniederschlage» und der im Filtrate von demselben im Ganzen nur 3,72% aus (2,774 + 0,947). Es gilt also auch hier das bei der Hornsubstanz Gesagte: Von dem Schwefel, welcher bei unmittelbarer Bearbeitung der Substanz nicht als Schwefelmetall abgespalten wird, und welcher daher dem sog. «oxydirt» oder nach der neueren Bezeichnung zu dem sog. «festgebundenen» Schwefel zu rechnen wäre, gehört ein nicht geringer Theil (wenigstens 0,59%) zu der «cystingebenden» Gruppe und ist also nicht in anderer Form gebunden als dessen übriger Schwefel.

Der Schwefel im Filtrate von dem «Cystinniederschlage» macht 1,545% aus, wovon 0,947% beim Kochen mit alkalischer Bleilösung als Schwefelmetall abgespalten wurde. Wenn man den bleischwärenden Schwefel (wie ich es bei der Hornsubstanz beschrieben habe) auf Cystin umrechnet, würde der Schwefel dieses Cystins 1,26% ausmachen, also weniger als die thatsächliche Schwefelmenge (1,54% S); dies kann damit zusammenhängen, dass, wie gesagt, ein Theil des bleischwärenden Schwefels während der Erhitzung eine Oxydation oder anderartige Veränderung erlitten zu haben scheint. In Betreff des in diesem Filtrate enthaltenen bleischwärenden Schwefels



kann ich auf das bei der Hornsubstanz Gesagte hinweisen: Dieser Schwefel kann, wie ich es nicht für unwahrscheinlich halte, in einem Cystin oder einer dem Cystin nahe verwandten Substanz enthalten sein; die Gegenwart einer Cysteinmenge, welche von Bedeutung sein kann, scheint mir nicht anzunehmen zu sein (s. unten).

Eine Betrachtung der bei unmittelbarer Bearbeitung der Substanz gefundenen Werthe zeigt, dass die ganze Schwefelmenge in der «cystingebenden Gruppe» gebunden sein kann. Die Cystinmenge, welche dem bleischwärenden Schwefel (4,07%) entspricht, würde einer Schwefelmenge von 5,43% der Substanz entsprechen, was sehr gut mit dem Werthe des Gesamtschwefels (nach Abzug der Schwefelsäure:  $5,63 - 0,195 = 5,435\%$ ) übereinstimmt. Die ganze Schwefelmenge der Hornsubstanz kann also in der Gruppe vorkommen, welche Cystin (vielleicht zusammen mit verwandten Körpern) bei der Zersetzung abspaltet.

Für die Substanz der Menschenhaare liegt also kein hinreichender Grund vor, mehr als eine Bindungsform des Schwefels anzunehmen.

#### Die Schalenhaut des Hühnereies.

Die Schalenhaut wurde möglichst gut mechanisch gereinigt, mit Kochsalzlösung, dann mit Wasser gewaschen; sie wurde darauf mit 1%iger Salzsäure ausgezogen, mit Wasser und mit Weingeist ausgewaschen.

Von der trockenen Schalenhaut wurden 100 g mit 200 ccm. Salzsäure (1,124) und 200 ccm. Wasser 137 Stunden auf dem Wasserbade auf 88° C. erhitzt. Bei der Erhitzung mit Salzsäure wurde die Flüssigkeit auffallend dunkel gefärbt, viel dunkler als bei den Versuchen mit Hornsubstanz und mit Haaren. Um zu prüfen, ob dies von einer Kohlenhydratgruppe in der Schalenhaut herrührte, wurde (in der ersten Zeit der Erhitzung) eine Probe der Flüssigkeit durch Kochen mit Ferracetat in gewöhnlicher Weise gefällt und das Filtrat mit alkalischer Kupferlösung gekocht; es wurde keine Reduction beobachtet.

Die Flüssigkeit liess sich nur sehr unvollständig mit Thierkohle entfärben. Nach der Behandlung mit Thierkohle wurde eine schwache Biuretreaction erhalten; die Zersetzung war also nicht vollständig, als das Erhitzen abgebrochen wurde. Die Bearbeitung der Flüssigkeit auf Cystin geschah, wie oben gesagt. Ich erhielt dabei 2 g Cystinkrystalle in der Form von reinen sechsseitigen Tafeln und 0,1 g nadelförmige Krystalle. Die sechsseitigen Tafeln hatten ganz die Eigenschaften des gewöhnlichen Cystins (Anal. Bel. Nr. 25). Die spezifische Drehung war  $\alpha_D = -223^\circ$ ; der Stickstoffgehalt war  $= 11,60\%$  N und der Schwefelgehalt  $= 26,51\%$  S.

Dass die Menge des Cystins nicht höher ausfiel, kann davon abhängen, dass die Erhitzung abgebrochen wurde, ehe die Spaltung vollständig war; wie oben hervorgehoben, kann dabei die Ausbeute an Cystin sehr gering ausfallen.

Bei dieser Untersuchung konnte ich kein Tyrosin finden. Dies steht auch damit in Uebereinstimmung, dass die Schalenhaut bei Ausführung von Millon's Reaction keine deutliche Rothfärbung gab; nur eine Orangefarbe wurde erhalten. Wenn man einen hohen Tyrosingehalt als etwas für die Keratingrouppe kennzeichnend betrachtet, so kann die Substanz der Schalenhaut nicht zu dieser Gruppe gerechnet werden, da sie gar kein oder nur Spuren von Tyrosin enthält. In diesem Punkte befinde ich mich im Widerspruch zu Lindvall,<sup>1)</sup> da er bei Spaltung der Schalenhaut mit Schwefelsäure seiner Angabe gemäss verhältnissmässig viel Tyrosin erhalten hat. Er gibt aber nur an, dass das Tyrosin unter dem Mikroskope durch die Krystallform identificirt wurde. Da aber Cystin in Nadeln krystallisiren kann, welche den Tyrosinkrystallen täuschend ähnlich sind und etwa dieselbe Löslichkeit haben, ist es nicht ausgeschlossen, dass die Krystalle, welche Lindvall als Tyrosinkrystalle deutete, in der That Cystinkrystalle waren.

---

<sup>1)</sup> Lindvall, Upsala Läkareförenings Förhandl., Bd. 16, 1880—1881, S. 554. — Referirt in Maly's Jahresber., Bd. 11, 1882, S. 38.

---



Folgende quantitativen Bestimmungen wurden ausgeführt:

Die Aschenbestimmung gab 0,085% Asche, worunter 0,005% CaO (Anal. Bel. Nr. 23).

Der bleischwärende Schwefel wurde (Anal. Bel. Nr. 24) im Mittel von zwei Bestimmungen zu 2,47% S gefunden.

Für den Gesamtschwefel habe ich keine besondere Bestimmung als nöthig erachtet, da übereinstimmende Werthe in der Litteratur vorliegen. Fleitmann<sup>1)</sup> fand im Mittel aus vier Bestimmungen 4,16% S; Hammarsten und Lindvall<sup>2)</sup> fanden im Mittel von drei Bestimmungen 4,25% S. Im Mittel von diesen sieben Bestimmungen enthält die Schalenhaut 4,19% S.

Durch Ausziehen (bei gewöhnlicher Temperatur) mit Ammon konnten 0,088% S in der Form von Schwefelsäure ausgezogen werden (Anal. Bel. Nr. 29). Da die Auswaschung der gequollenen Schalenhaut schwierig war, ist es nicht unwahrscheinlich, dass dieser Werth etwas zu niedrig ausgefallen ist, doch nicht in dem Grade, dass die Differenz zwischen diesem Werthe und dem nach dem Erhitzen mit Salzsäure gefundenen erklärt werden kann.

Es ist nämlich kaum möglich, dass zwei Drittel der Schwefelsäure aus dieser Ursache zurückgeblieben wären. Es ist daher nicht unmöglich, dass die Schwefelsäure, welche bei dem Erhitzen mit Salzsäure auftritt, vorher zum Theil in wirklich organischer Bindung vorkam.

In drei Versuchen wurde die Schalenhaut mit Salzsäure erhitzt und die Zersetzungsprodukte untersucht. In allen diesen Versuchen löste sich die Substanz vollständig oder fast vollständig auf.

Versuch A. Anal. Bel. Nr. 26.

S in der Form von Schwefelsäure	0,18% S
S des «Cystinniederschlags»	1,61% »
(entspr. Cystin = 6,04%)	
Bleischw. S im Filtr. v. d. «Cystinnied.»	1,14% S.

1) Fleitmann, Annal. der Chem. u. Pharm., Bd. 66, 1848, S. 381.

2) Hammarsten und Lindvall, Upsala Läkareförenings Förhandl., Bd. 16, 1880—1881, S. 549.

## Versuch B. Anal. Bel. Nr. 27.

S in der Form von Schwefelsäure	0,26 % S
S des «Cystinniederschlag»	2,03 % S
(entspr. Cystin = 7,62 %)	
Ges.-S im Filtr. v. d. «Cystinniederschlag»	1,93 % S
Bleischw. S im Filtr. v. d. «Cystinniederschlag»	0,84 % S
Summa S	4,22 % S

Die Summe der einzelnen Schwefelbestimmungen stimmt mit dem Werth für den Gesamtschwefel gut überein. Eine Bildung von flüchtigen schwefelhaltigen Zersetzungsprodukten hat also in diesem Versuche nicht stattgefunden.

## Versuch C. Anal. Bel. Nr. 28.

S in der Form von Schwefelsäure	0,25 % S	
S des «Cystinniederschlag»	1,47 % S	} (entspr. Cystin = 7,12 %)
dazu kommen	0,42 % S	
Bleischw. S. d. «Cystinniederschlag»	1,11 % S	} (entspr. Cystin = 7,13 %)
dazu kommen	0,32 % S	
Ges.-S im Filtr. v. d. «Cystinnied.»		
(nach Abz. f. gef. Cystin)	2,15 % S	
Bleischw. S im Filtr. v. d. «Cystinnied.»		
(nach Abz. f. gef. Cystin)	1,03 % S	
Summa S	4,29 % S	

Auch in diesem Versuche stimmt die Summe der einzelnen Schwefelbestimmungen mit dem Werthe des Gesamtschwefels gut überein, so dass man die Bildung von flüchtigen schwefelhaltigen Produkten als ausgeschlossen betrachten kann.

In allen drei Versuchen mit der Schalenhaut wurde die Lösung besonders stark gefärbt. Von der Farbe ging viel in den «Cystinniederschlag» über; viel von der Farbe blieb auch nach dem Waschen in demselben zurück und ging später in die Lösung des Niederschlages über. Man muss daher überlegen, ob der Farbstoff schwefelhaltig gewesen sein kann und dadurch die Cystinbestimmung beeinträchtigt worden ist. In dem Versuche D, wo der Gesamtschwefel dieser Lösung des Niederschlages mit dem bleischwärenden Schwefel verglichen werden kann, zeigt sich, dass das Verhältniss dieser Werthe



unter einander dasselbe war, wie für Cystin. Wenn eine nennenswerthe Menge des Schwefels dem Farbstoff angehört hätte, wäre dann eben so viel von dem Schwefel des Farbstoffes wie von dem des Cystins bei meinem Verfahren als Schwefelmetall abscheidbar (d. h. 75,16 %). Nach meiner Kenntniss von den schwefelreichen Melaninen<sup>1)</sup> behaupte ich dies ausschliessen zu können. Ich darf daher behaupten, dass die in dem «Cystinniederschlage» enthaltene Cystinmenge ohne beachtenswerthen Fehler aus dem Schwefelgehalt des Niederschlages berechnet werden kann. Eine bessere Gewähr für die Richtigkeit der Cystinbestimmung, als die Uebereinstimmung in dem Verhältnisse zwischen dem Gesamtschwefel und dem bleischwärenden Schwefel, scheint mir übrigens gegenwärtig nicht möglich.

Die drei Versuche gaben etwas verschiedene Werthe für das Cystin, weil das Cystin mit verschiedener Vollständigkeit auskrystallisirte. Sie widersprechen einander aber nicht, da sowohl der Gesamtschwefel wie der bleischwärende Schwefel im Filtrate von dem «Cystinniederschlage» in demselben Grade erhöht waren, als die Cystinmenge niedrig gefunden wurde.

Als Cystinwerth, welcher auch in diesem Falle als ein Minimalwerth zu betrachten ist, kann man den höchsten gefundenen Werth, nämlich den in dem Versuche B gefundenen, 7,62 % Cystin, aufführen. Dies entspricht fast genau der Hälfte des Gesamtschwefels in der Schalenhaut.

Auch für die Schalenhaut findet man, dass der Schwefel des «Cystinniederschlages» und der Schwefel im Filtrate von demselben zusammen nicht unbeträchtlich (im Mittel von den Versuchen A, B und C etwa 0,4 %) mehr betragen, als der bei unmittelbarer Bearbeitung der Schalenhaut gefundene bleischwärende Schwefel. Auch für diese Substanz muss also die Auffassung, dass der bleischwärende (sogenannte «nicht oxydirte» oder «locker gebundene») und der übrige (sogenannte «oxydirte» oder «festgebundene») Schwefel in verschiedenen

1) K. A. H. Mörner, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XI, 1887, S. 130.

Formen gebunden seien, eine wesentliche Einschränkung erleiden; für diese Substanz ist es jedoch wahrscheinlich, dass mehr als eine Bindungsweise des Schwefels vorkommt.

Aus Gründen, welche ich oben bei der Hornsubstanz angeführt habe, ist es nicht unwahrscheinlich, dass in dem Filtrate von dem «Cystinniederschlage» ein Cystin oder ein damit verwandter Körper (wahrscheinlich aber nicht Cystein) vorkommt. Wenn man aber auch annimmt, dass aller bleischwärende Schwefel in diesem Filtrate in Cystin oder einem damit verwandten Körper gebunden sei, so kann diese Verbindung nicht die ganze Schwefelmenge des Filtrats enthalten haben. Wenn man den bleischwärenden Schwefel auf Cystin umrechnet, wie ich oben bei der Hornsubstanz beschrieben habe, so macht dieser Cystinschwefel in den Versuchen B und C etwa 0,8% weniger aus, als der Gehalt des Filtrats an Gesamtschwefel; diese 0,8% Schwefel können also nicht (nach der Erhitzung) als Cystin gebunden sein. Dazu kommt, dass ein Theil des als Schwefelsäure gefundenen Schwefels wirklich organisch gebunden zu sein scheint. Nach dem Aufschliessen mit Salzsäure findet man also, dass beinahe  $\frac{1}{4}$  des Gesamtschwefels der Schalenhaut in anderer Form als Cystin gebunden sein muss. Dies kann nicht durch die Einwirkung der Luft während der Erhitzung erklärt werden; im Versuche B war die Luft aus dem Kolben durch Kohlensäure verdrängt; die Versuche mit Hornsubstanz und Menschenhaaren sprechen übrigens gegen die Annahme einer so weit gehenden Veränderung durch Einwirkung der Luft.

Ein Vergleich der Werthe des Gesamtschwefels und des bleischwärenden Schwefels, welche bei unmittelbarer Bearbeitung der Substanz erhalten wurden, gibt fast dieselbe Differenz zwischen dem Gesamtschwefel und dem aus dem bleischwärenden Schwefel berechneten Cystinschwefel, als die eben besprochene: sie findet sich also schon vor dem Erhitzen.

Während es für die Substanz des Rinderhorns und der Menschenhaare möglich oder sogar wahrscheinlich ist, dass aller (oder beinahe aller) Schwefel in der «cystingebenden



Gruppe vorkommt, kann dies für die Schalenhaut nicht angenommen werden. Die Schalenhaut ist also entweder ein Gemisch aus verschiedenen Substanzen, oder sie enthält mehrere Schwefelatome, die in wenigstens zwei verschiedenen Formen gebunden sind.

#### Käufliches Bluteiweiss.

Zur Untersuchung der Zersetzungsprodukte der eigentlichen Eiweissstoffe habe ich zuerst ein Präparat von käuflichem Bluteiweiss (eingetrocknetes Blutserum) benutzt, dessen Gehalt an Eiweiss durch Stickstoffbestimmungen festgestellt wurde. Eine Menge desselben, 350 g Eiweiss enthaltend, wurde mit 1250 ccm. Salzsäure (1,124) 72 Stunden bis 93° C. erhitzt. Die Biuretreaction war dann verschwunden. Keine Entwicklung von Schwefelwasserstoff fand statt; keine Ausscheidung von freiem Schwefel konnte beobachtet werden.

Bei der weiteren Bearbeitung wurden 3,7 g reines, umkrystallisirtes Cystin erhalten, welches ausschliesslich aus sechseckigen Tafeln bestand. Die spezifische Drehung desselben war  $\alpha_D = -223^\circ$ . Der Stickstoffgehalt war 11,55% N und der Schwefelgehalt 26,91% S (Anal. Bel. Nr. 30). Die Identität des Cystins war also nicht zweifelhaft.

Ausserdem wurden 0,4 g tyrosinfreies Cystin erhalten, welches aus Tafeln und Kugeln bestand.

Die Gesamtmenge des Cystins war also 4,1 g und entsprach 1,2% des Eiweisses.

Die Menge Tyrosin, welches in demselben Versuche dargestellt werden konnte, war 9,4 g = 2,7% des Eiweisses.

Bekanntlich hat R. Külz<sup>1)</sup> beobachtet, dass bei der Pankreasdigestion von Fibrin Cystin gebildet werden kann. Zu dem gleichen Resultat ist auch E. Petry<sup>2)</sup> gekommen.

Ich habe gleichfalls einen Versuch gemacht, Cystin durch Pankreasdigestion darzustellen. Drei Pankreasdrüsen vom Rind wurden zerrieben. Ein Viertel des Breis wurde zur Prüfung

1) R. Külz, Zeitschr. f. Biol., Bd. XXVII, 1890, S. 415.

2) E. Petry, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXXII, 1901, S. 95.

auf Cystin mit salzsäurehaltigem Weingeist ausgezogen. Diese Lösung wurde auf Cystin verarbeitet und zwar mit gänzlich negativem Resultat. (Ein anderes Mal habe ich «Trockenpankreas» auf Cystin geprüft; auch dann mit negativem Ergebniss.)

Der übrige Theil des Pankreasbreis wurde mit Bluteiweiss, 350 g Eiweissstoffe enthaltend, und 7 Liter Wasser bei schwach alkalischer Reaction 47 Tage digerirt, wobei der Fäulniss durch einen reichlichen Zusatz von Thymol und Campher vorgebeugt wurde.

In dem ungelösten Bodensatz konnte ich kein Cystin nachweisen.

Die Flüssigkeit gab schöne Biuretreaction: sie enthielt noch etwas albumosenartige Substanz, die mit Ammoniumsulfat ausgefällt werden konnte; mit Bromwasser gab sie eine violette Farbe. Sie gab ziemlich viel Schwefelblei bei dem Erhitzen mit alkalischer Bleilösung.

Durch Abdampfen und Krystallisation wurde Cystin daraus erhalten, welches in der gewöhnlichen Weise von dem Tyrosin getrennt und durch Ausscheidung aus saurer und aus alkalischer Lösung gereinigt wurde. Das zuletzt erhaltene gereinigte Cystin bestand zum grossen Theil aus sechsseitigen Tafeln; daneben fanden sich auch Kugeln vor. Es wog 0,25 g. Der Schwefelgehalt des Cystins wurde zu 26,82% S gefunden; die Identität des Cystins war also ausser Frage gestellt. (Anal. Bel. Nr. 31.)

Bei fortgesetzter Pankreasverdauung der Mutterlauge konnte kein Cystin mehr gewonnen werden.

Die Menge des Cystins war gering. Vielleicht wäre es möglich, bei veränderter Anordnung der Digestion eine grössere Ausbeute zu bekommen.

Da in der Pankreasdrüse sich kein präformirtes Cystin vorfand und dessen Vorkommen in dem verwendeten Eiweiss nicht anzunehmen ist, kann man mit Fug behaupten, dass es bei der Digestion gebildet wurde. Ob es in der That aus dem Bluteiweiss oder aus den Eiweissstoffen der Pankreasdrüse gebildet wurde, ist natürlich unentschieden. Die Ent-



stehung des Cystins bei der Digestion ist jedenfalls von Interesse, da dadurch die Auffassung unterstützt wird, dass das Cystin, welches bei dem Erhitzen mit Salzsäure entsteht, nicht ganz neugebildet wird, sondern dass es im Moleküle der Proteinstoffe schon gewissermaassen vorgebildet ist: dass es also bei der Einwirkung der Salzsäure aus einer besonderen, cystin-gebenden Gruppe abgespalten wird.

#### Serumalbumin (nicht krystallisirt).

Das Blutserum vom Pferd wurde durch Sättigung mit Magnesiumsulfat von Serumglobulin u. s. w. befreit: das Filtrat wurde verdünnt und durch Kochen unter Zusatz von Essigsäure coagulirt. Das geronnene Eiweiss wurde gut ausgewaschen, mit Alkohol und Aether behandelt.

Von diesem Eiweiss wurden 70 g mit 175 ccm. Salzsäure (1,124) und 350 ccm. Wasser sieben Tage auf dem Wasserbade ununterbrochen bis 86° C. erhitzt. Entwicklung von Schwefelwasserstoff fand nicht statt. Die Flüssigkeit wurde von dem Ungelösten filtrirt. Sie war nicht besonders dunkel. Durch Thierkohle wurde sie leicht entfärbt.

Bei der Bearbeitung wurden 0,85 g in sechsseitigen Tafeln krystallisirtes Cystin erhalten, welches tyrosinfrei war. Der Schwefelgehalt desselben war = 26,35% S (Anal. Bel. Nr. 35), wodurch die Identität des Cystins erwiesen wird. Auf das Cystin bezogen war die Cystinmenge = 1,2%.

Das in diesem Versuche erhaltene Tyrosin entsprach etwas mehr als 2% von dem Eiweiss.

Mit diesem Präparate habe ich folgende quantitative Untersuchungen ausgeführt.

Bei der Verbrennung wurden 0,12% Asche erhalten, in welcher keine Schwefelsäure nachgewiesen werden konnte. (Anal. Bel. Nr. 32.) Das Magnesiumsulfat war also sehr vollständig entfernt worden. Von den Aschenbestandtheilen kann also keine ins Gewicht fallende Menge von Schwefelsäure herrühren.

Der Gesamtschwefel wurde im Mittel von zwei Bestimmungen (Anal. Bel. Nr. 33) = 1,83% S gefunden.

Die Bestimmung des bleischwärenden Schwefels (Anal. Bel. Nr. 34) gab 1,02% S.

In den folgenden zwei Versuchen wurde die Substanz durch Erhitzen mit Salzsäure zersetzt.

Versuch A. Anal. Bel. Nr. 36.

S in der Form von Schwefelsäure	0,464% S
S des Cystinniederschlags	0,607% S
(entspr. Cystin = 2,27%)	
Ges.-S im Filtr. v. d. Cystinniederschlag	0,794% S
Bleischw. S im Filtr. v. d. Cystinniederschlag	0,657% S
Summa	1,865% S

In diesem Versuche wurde der ungelöste Bodensatz nicht untersucht. Dass der Schwefelgehalt desselben keine Bedeutung gehabt haben kann, ist aus dem folgenden Versuch ersichtlich.

Die Summe der einzelnen Schwefelbestimmungen stimmt so gut mit dem direkt gefundenen Werthe des Gesamtschwefels überein, dass man schliessen darf, dass auch in diesem Zersetzungsversuch (wie in den früher erwähnten) keine Bildung von flüchtigen schwefelhaltigen Substanzen stattgefunden hat.

Versuch B. Anal. Bel. Nr. 37.

S im ungelösten Bodensatz	0,028% S
S in der Form von Schwefelsäure	0,472% S
S des Cystinniederschlags	0,550% S
(entspr. Cystin = 2,06%)	
Bleischw. S des Cystinniederschlags	0,406% S
(entspr. Cystin = 2,02%)	
Ges. S im Filtr. v. d. Cystinniederschlag	0,858% S
Bleischw. S im Filtr. v. d. Cystinniederschlag	0,54% S
Summa S	1,908% S

Auch in diesem Versuche bezeugt die Uebereinstimmung zwischen der Summe der einzelnen Schwefelbestimmungen und dem bei unmittelbarer Bearbeitung der Substanz gefundenen Werth des Gesamtschwefels, dass keine flüchtigen schwefelhaltigen Zersetzungsprodukte gebildet wurden.



Der ungelöste Rückstand (Melanoidinsäure) betrug 2,28% des Eiweisses: sein Schwefelgehalt war unbedeutend: keine nennenswerthe Menge von freiem Schwefel wurde also ausgeschieden.

Der als Schwefelsäure gefundene Schwefel kann nicht von den Aschenbestandtheilen herrühren, da die Menge der Asche nur 0,12% ausmachte; dieser Schwefel gehört doch nicht zu dem Albumin selbst, sondern ist als Schwefelsäure an das Albumin gebunden, was ich bei dem folgenden Präparate näher auseinandersetzen werde. Dieser Schwefel, im Mittel 0,47% S, muss also von dem Gesamtschwefel, 1,83% S, abgerechnet werden, wenn man den Schwefelgehalt des Albumins selbst erhalten will: bei diesem Albumin hat man also mit einem Schwefelgehalt von 1,37% S zu rechnen.

Im Versuche B, wo vollständige Untersuchungen vorliegen, stimmen die Werthe des Gesamtschwefels in dem Cystinniederschlag und des bleischwärenden Schwefels in demselben gut überein, wenn man sie auf Cystin (oder Cystinschwefel) umrechnet. Nach der Bestimmung des Gesamtschwefels würde die Cystinmenge 2,06% und nach der Bestimmung des bleischwärenden Schwefels 2,02% betragen. Man ist daher völlig berechtigt, anzunehmen, dass sich in diesem Niederschlage keine anderen schwefelhaltigen Substanzen als das Cystin vorfinden.

In dem Versuche A war das Cystin reichlicher auskrystallisirt als im Versuche B; die Werthe des Cystins sind bezw. 2,27 und 2,02%; von diesen darf der höhere Werth als der richtigere angesehen werden: auch diesen betrachte ich aber, aus oben angeführten Gründen, als einen Minimalwerth.

Von dem Gesamtschwefel dieses Albumins waren also wenigstens 45% in der «cystingebenden Gruppe» enthalten.

Die Summe von dem Schwefel des ausgefällten Cystins und dem bleischwärenden Schwefel, welcher sich in der Mutterlauge des «Cystinniederschlages» befindet, ist in diesen beiden Versuchen grösser, als der Werth des für die Substanz unmittelbar bestimmten bleischwärenden Schwefels, wenn es auch bei dieser schwefelärmeren Substanz nicht so deutlich

hervortritt, wie bei den früher geschilderten schwefelreichen Substanzen. Bei diesen konnte man aus diesem Grund schliessen, dass wenigstens ein Theil des sogenannten «oxydirten» oder «fest gebundenen» Schwefels in der «cystingebenden Gruppe» gebunden sei; bei dem Serumalbumin deuten die Ziffern ebenfalls dahin, wenn es auch weniger deutlich aus denselben hervorgeht. Es liegt übrigens kein Grund vor, daran zu zweifeln, dass es ebensowohl für das Serumalbumin, wie für die oben erwähnten Keratinsubstanzen gelte, dass nur ein Theil des Schwefels durch Einwirkung der alkalischen Bleilösung als Schwefelmetall ausgeschieden wird, ebenso wie es für das Cystin selbst der Fall ist. Dass wenigstens ein Theil des sogenannten «oxydirten» oder «fest gebundenen» Schwefels in der «cystingebenden Gruppe» enthalten ist, kann man also annehmen: da dieser Schwefel wohl nicht anders als der übrige «Cystinschwefel» gebunden sein kann, erleidet dadurch die Auffassung von zwei verschiedenen Bindungsformen des Schwefels eine Einschränkung.

Es fragt sich dann, ob es auch für das Albumin (wie für die Substanz des Rinderhorns und die der Menschenhaare) möglich oder sogar wahrscheinlich ist, dass die ganze Schwefelmenge nur in einer Form gebunden ist, und zwar in der «cystingebenden Gruppe».

Wenn man mit dem procentischen Werth für die Bildung von Schwefelmetall aus dem freien Cystin rechnet und den unmittelbar bestimmten bleischwärenden Schwefel dieses Albumins (1,02% S) auf Cystinschwefel umrechnet ( $1,02 \times 100 : 75,16$ ), so erhält man die Ziffer 1,33, welche in auffallender Weise mit dem Gesamtschwefel dieses Albumins (nach Abzug für die Schwefelsäure) 1,37% S übereinstimmt. Es ist also möglich und entbehrt sogar nicht der Wahrscheinlichkeit, dass aller Schwefel dieses Albumins in nur einer Form und zwar derjenigen der «cystingebenden Gruppe» gebunden war. Für die Annahme von zwei verschiedenen Bindungsformen des Schwefels in diesem Albumin liegen auf der anderen Seite keine triftigen Gründe vor.

Dem Gesagten wird auch nicht durch die Untersuchungen



der Mutterlauge des «Cystinniederschlages» widersprochen, obgleich diese nicht so gut untereinander stimmen, dass man sie als völlig gelungen betrachten kann: die Bestimmung des bleischwärenden Schwefels scheint im Versuch A etwas zu hoch ausgefallen zu sein. Wenn man den bleischwärenden Schwefel unter Verwendung des Coefficienten, welcher für das Cystin gilt, auf «Cystinschwefel» umrechnet, so findet man im Versuch A 0,87% berechneten S gegen 0,794% thatsächlich vorhandenen Schwefel: und im Versuch B 0,72% berechneten S gegen 0,86% vorhandenen Schwefel.

### Krystallisirtes Serumalbumin.

Die Krystallisation des Eiweisses wurde durch F. Hofmeister angebahnt,<sup>1)</sup> welcher das Hühnereiweiss durch Zusatz von Ammoniumsulfatlösung krystallisirte. Seitdem ist dieses Verfahren weiter entwickelt worden, und Modificationen desselben entstanden (Gabriel,<sup>2)</sup> Gürber,<sup>3)</sup> Michel,<sup>4)</sup> Hopkins und Pinkus,<sup>5)</sup> Krieger).<sup>6)</sup> Bei der Krystallisation des Serumalbumins bin ich hauptsächlich nach den Angaben von Hopkins und Pinkus verfahren.

Pferdeblutserum aus dem Blutkuchen wurde abgehebert und centrifugirt, mit dem gleichen Volumen neutraler, kalt gesättigter Ammoniumsulfatlösung versetzt und filtrirt. Das Filtrat wurde mit Essigsäure versetzt, bis die Reaction auf Lackmuspapier ganz schwach sauer war, jedoch ohne dass noch eine dauernde Trübung eintrat. Die Lösung wurde dann einige Tage in die Kälte (0° C. oder darunter) hingestellt. Bald schieden sich homogene, gewöhnlich isolirte Krystalle

1) F. Hofmeister, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XIV, 1890, S. 165.

2) S. Gabriel, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XV, 1891, S. 456.

3) A. Gürber, Sitzungsber. d. phys.-med. Gesellsch., Würzburg 1894, S. 143.

4) A. Michel, Verh. d. phys.-med. Gesellsch., Würzburg 1895, N. F., Bd. 29, Nr. 3, S. 1.

5) Hopkins und Pinkus, Journal of Physiology, Vol. XXIII, 1898—99, S. 130.

6) H. Krieger, Inaug.-Dissert., Strassburg 1899.

aus, welche sich beim Stehen vermehrten:<sup>1)</sup> sie erwiesen sich unter dem Mikroskope frei von fremden Beimengungen. Ob die Krystalle sechsseitig waren, wie die von Gürber<sup>2)</sup> beschriebenen und abgebildeten der Fraction I, wage ich nicht zu sagen: ähnlich den von Gürber beschriebenen Krystallen waren die Enden (bei diesen Krystallen die beiden Enden) zugespitzt.

Die Krystalle wurden gesammelt und ausgepresst: ihre Farbe war dann gelblich, vielleicht von Gallenfarbstoff des Blutserums herrührend. Durch Zusatz von Wasser schienen sie denaturirt zu werden. Sie gaben nämlich damit eine gallertige Masse und lösten sich nur zum geringen Theil auf; die Flüssigkeit ging trüb durch das Filtrum. Mit ein wenig Natriumcarbonat und Wasser lösten sie sich dagegen leicht und klar auf. Diese Lösung wurde mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammoniumsulfatlösung versetzt und mit Essigsäure, wie oben gesagt, bei Zimmertemperatur ganz schwach sauer gemacht. In der Kälte schieden sich wieder schöne, homogene und von amorphen Beimengungen völlig freie Krystalle aus.<sup>3)</sup>

Nach dem Sammeln und Auspressen wurden die (jetzt von Farbstoff freien) Krystalle in Weingeist gebracht und später einige Tropfen Essigsäure zugesetzt, um die Coagulation zu befördern. Die Krystallmasse wandelte sich bei dem Eintragen in Weingeist zuerst in eine halbflüssige Gallerte um, welche allmählich fest wurde. Das coagulirte Albumin wurde dann fein zertheilt, in Wasser gebracht und damit erwärmt. Das Waschen mit Chloroformwasser, wobei das Albumin mehrmals von dem Filter genommen und in Wasser aufgeschwemmt wurde, setzte ich so lange fort, bis das Washwasser nicht weiter mit Chlorbaryum getrübt wurde. Das Albumin wurde

1) Aus der Mutterlauge konnte bisweilen bei freiwilliger Verdunstung eine geringe Menge Krystalle erhalten werden.

2) A. Gürber, Verh. d. phys.-med. Gesellsch., Würzburg 1895, N. F., Bd. 39, Nr. 3, S. 23.

3) Die Frage, ob die Krystalle aus freiem Albumin oder einer Verbindung des Albumins mit einer Säure (Schwefelsäure) bestanden, werde ich unten berühren.



dann mit Weingeist und Aether behandelt und getrocknet. Die Ausbeute war etwa 5 g aus je einem Liter Blutserum.

Die Bestimmung des Gesamtschwefels (Anal. Bel. Nr. 39a) gab den Werth 2,24% S. Dieser Werth erschien unerwartet hoch. Michel fand nämlich für das nach Gürber krystallisirte und dann durch Erwärmen mit der Mutterlauge coagulirte Albumin einen Schwefelgehalt von 1,90% S; für das, nach Entfernung der Salze durch Dialyse, coagulirte Albumin fand er einen Schwefelgehalt von 1,86% S (a. a. O.). Fr. N. Schulz<sup>1)</sup> bestimmte in dem fünfmal umkrystallisirten und durch Kochen coagulirten Albumin den Gehalt an Schwefel zu 1,90% S. Middeldorf<sup>2)</sup> fand den Schwefelgehalt des krystallisirten und durch Erhitzen mit Ammoniumsulfatlösung coagulirten Serumalbumins zu 1,88% S. Ich vermuthete daher, dass rückständiges Ammoniumsulfat den Unterschied bedingte. Das Albumin wurde daher mit Wasser ausgezogen und das Filtrat auf ein geringes Volumen gebracht und mit Chlorbaryum geprüft. In der That konnte eine Spur Schwefelsäure nachgewiesen werden. Das Albumin wurde daher wieder mit Wasser zerrieben und durch wiederholtes Sammeln auf dem Filter, Zerreiben, Erwärmen mit Wasser, Waschen mit Chloroformwasser u. s. w. andauernd gereinigt, bis das stark eingeeengte Filtrat gar keine Trübung mit Chlorbaryum gab. Das Albumin wurde dann mit Weingeist und Aether behandelt und getrocknet.

Zwei mit diesem sehr genau ausgewaschenen Präparat ausgeführte Schwefelbestimmungen (Anal. Bel. Nr. 39b und c) gaben resp. 2,20 und 2,10% S, also im Mittel 2,15% S. Dieser nach dem sehr genauen Auswaschen gefundene Werth differirt also nicht besonders von dem Werth, den ich vor dem erneuerten Waschen erhielt. Dass beigemengtes freies Ammoniumsulfat den Schwefelgehalt beeinflusse, ist nach diesem nicht anzunehmen. Feuerbeständige Aschenbestandtheile waren nur spurenweise vorhanden, 0,05% (Anal. Bel. Nr. 39d). Da ich nach dem Zersetzen mit Salzsäure auch für dieses Albumin

1) Fr. N. Schulz, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXV, 1898, S. 28.

2) E. Middeldorf, Verh. d. phys.-med. Gesellsch., Würzburg 1898, Nr. 9.

(wie für das nicht krystallisirte Serumalbumin) eine ganz bedeutende Menge Schwefelsäure fand und hier die sehr sorgfältige Auswaschung (wie bei dem nicht krystallisirten Albumin die fast gänzliche Abwesenheit der Asche) es unannehmbar machte, die Gegenwart der Schwefelsäure durch beigemengtes Sulfat zu erklären, musste ich eine andere Erklärung suchen. Am nächsten schien es mir zu liegen, dass diese Schwefelsäure in einer gepaarten organischen Bindung (etwa wie Chondroitinschwefelsäure) vorkomme: weniger wahrscheinlich schien es mir, dass die Schwefelsäure bei dem coagulirten Albumin einfach als ein Sulfat gebunden sei. Die nähere Untersuchung zeigte jedoch, dass diese letzte Annahme die richtige war, trotzdem das Albumin nie mit freier Schwefelsäure behandelt worden war, und die Lösungen, aus welchen es ausgeschieden worden war, nur mit soviel Essigsäure versetzt worden waren, als zur Bewirkung der Krystallisation oder der Coagulation beim Kochen eben nöthig war.

Um eine nähere Untersuchung auszuführen, wurde das Albumin mit verdünntem Ammoniak ausgezogen (Anal. Bel. Nr. 40a). In dem ammoniakalischen Filtrate wurde Schwefelsäure gefunden, deren Schwefel 0,44% von dem Albumin ausmachte, also fast genau so viel, wie ich bei der Untersuchung nach Zersetzen mit Salzsäure fand (0,421% S, Anal. Bel. Nr. 42b). Dass etwa gegenwärtige Chondroitinschwefelsäure bei ähnlicher Behandlung nicht in dem Grade zersetzt wird, dass die gefundene Schwefelsäure dadurch erklärt werden darf, zeigte ein besonderer Versuch mit dieser Substanz.

Nach dem Behandeln mit Ammoniak wurde das Albumin ausgewaschen und der Schwefelgehalt desselben untersucht (Anal. Bel. Nr. 40b). Es enthielt 1,72% S, was genau so viel ist, wie es sich berechnen lässt, wenn man von dem Gesamtschwefel des Präparates (2,15% S) den Schwefel abrechnet, welcher nach dem Erhitzen mit Salzsäure in der Form von Schwefelsäure wiedergefunden wurde (0,42% S), da man 1,73% S erhält. Dieser Werth des Schwefels ist natürlich als der wirkliche Schwefelgehalt des Albumins selbst aufzuführen.



Dieser Versuch scheint es sicher zu stellen, dass die Schwefelsäure nicht organisch gebunden ist, sondern eine salzartige Verbindung mit dem Albumin eingeht. Diese Schwefelsäure stammte also wahrscheinlich von den Sulfaten her, welche bei der Darstellung des Albumins gebraucht wurden. Um dies in einer anderen Weise zu zeigen, wurde der folgende Versuch ausgeführt, wobei ich es versuchte, die Sulfate so weit als möglich fern zu halten. In diesem Falle sollte man ein Albumin erhalten, welches nur wenig oder sogar keine Schwefelsäure bei dem Erhitzen mit der Salzsäure gibt. Dies wurde auch durch den Versuch bestätigt. Dass ich in diesem Versuche das Albumin nicht völlig von dem Globulin trennen konnte, ist dabei belanglos.

Das Pferdeblutserum wurde ganz schwach sauer gemacht (Lackmus) und bei 30° C. mit schwefelsäurefreiem Kochsalz gesättigt. Das Filtrat von dem Niederschlage wurde durch Dialyse von Kochsalz befreit, filtrirt, ein wenig Säure zugesetzt und nochmals filtrirt. Diese Lösung (welche selbstverständlich nicht frei von Globulin war) wurde in der Hitze coagulirt und der gut ausgewaschene Niederschlag mit Alkohol und Aether behandelt. Bei dem Zersetzen mit Salzsäure wurden nur 0,039% S in der Form von Schwefelsäure abgeschieden (Anal. Bel. Nr. 38). Dieser Versuch zeigt, dass, wenn die Sulfate bei der Darstellung möglichst ferngehalten werden (die Gegenwart von Sulfaten gänzlich zu vermeiden, gelang nicht), die Schwefelsäure bei der Spaltung mit Salzsäure fast gänzlich vermisst wird.

Die angeführten Versuche zeigen also übereinstimmend, dass das Albumin aus den Sulfaten, welche bei der Bereitung in Gebrauch kommen, Schwefelsäure (nicht Sulfate) aufnimmt, so dass diese an das coagulirte Albumin sehr fest gebunden ist und nicht durch Waschen entfernt werden kann.

Dass dies auch für das oben erwähnte, nicht krystallisirte Serumalbumin gilt, liegt auf der Hand, da ich nach dem Zersetzen desselben mit Salzsäure (im Mittel) 0,47% S als Schwefelsäure abgeschieden erhielt.

Selbstverständlich ist dieses Vermögen des Serumalbumins,

Schwefelsäure zu binden, von grosser analytischer Bedeutung. Inwiefern dieses Moment auf Analysen des Serumalbumins früher Einfluss gehabt hat, ist schwierig zu sagen; ob dies erklären kann, dass ich den Schwefelgehalt des krystallisirten Serumalbumins (nach Abrechnung von der Schwefelsäure) ein wenig niedriger gefunden habe, als die oben citirten Angaben lauten, lasse ich dahingestellt.

Diese Eigenschaft, Schwefelsäure zu binden, kommt unter den von mir näher untersuchten eigentlichen Eiweissstoffen besonders dem Serumalbumin zu. Bei dem Serumglobulin fand ich nach dem Zersetzen mit Salzsäure nur 0,05<sup>0</sup>/<sub>100</sub> S als Schwefelsäure (zum Theil wenigstens von der Asche herrührend) und in dem Ovalbumin 0,01—0,014<sup>0</sup>/<sub>100</sub> S in der Form von Schwefelsäure (siehe unten). Diese Eiweissstoffe waren jedoch in ähnlicher Weise, wie das Serumalbumin, aus sulfathaltigen Lösungen ausgefällt worden. Sie verhielten sich also ganz anders als das Serumalbumin. Das unten beschriebene Fibrinogen war nicht in solcher Weise dargestellt, dass ich über dessen Schwefelsäurebindungsvermögen etwas Bestimmtes sagen kann; es scheint jedoch möglich, dass es Schwefelsäure zu binden vermag.

Dass die Substanz des Rinderhorns und die der Menschenhaare Schwefelsäure enthalten, welche an die betreffenden Stoffe salzartig gebunden ist, geht aus dem oben Gesagten hervor. In diesen Substanzen wurde nämlich nach dem Zersetzen mit Salzsäure eine nennenswerthe Menge Schwefelsäure gefunden, und eine entsprechende Menge Schwefelsäure konnte durch Auslaugen mit Ammoniak erhalten werden. Diese Substanzen hatte ich jedoch nie mit Schwefelsäure oder Sulfaten behandelt: Schwefelsäureverbindungen der Proteinstoffe scheinen also in der Natur vorkommen zu können.

Für die Schalenhaut des Hühnereies liegen die Verhältnisse weniger klar, da die Schwefelsäure, die durch Auslaugen mit Ammoniak erhalten wurde, nur dem minderen Theil von der Schwefelsäure entsprach, welche nach dem Erhitzen mit Salzsäure vorkam.

Dass natives Eiweiss mit zugesetzter freier Säure eine



Verbindung bilden kann, ist von Sjöquist<sup>1)</sup> im hiesigen Laboratorium durch Studium des elektrischen Leitungsvermögens nachgewiesen worden: diese Frage ist weiter von Cohnheim,<sup>2)</sup> Bugarszky und Liebermann,<sup>3)</sup> Spiro und Pemscl,<sup>4)</sup> Cohnheim und Krieger,<sup>5)</sup> Erb<sup>6)</sup> studirt worden. Diese Verbindungen entstehen bei Gegenwart von freier Säure, und ihr Bestehen ist insofern von einem Ueberschuss an Säure abhängig, als sie leicht hydrolytisch dissociirt werden.

Die jetzt erwähnte, von diesen Forschern studirte Fähigkeit des Albumins, Säure zu binden, scheint mir daher kaum die Gegenwart der Schwefelsäure in dem Albumin erklären zu können. Bei der Krystallisation und der Coagulation des Albumins wurde nur so viel Essigsäure zugesetzt, als eben nöthig war. Die Reaction auf Lackmus war dabei nur sehr schwach sauer. Dass die Essigsäure so viel Schwefelsäure in Freiheit setzen könne, als ich später in den Albuminpräparaten wieder finden konnte, ist nicht annehmbar: die Spuren freier Säure, welche bei der Abscheidung des Albumins zugegen waren, dürften hauptsächlich aus Essigsäure bestanden haben. Die feste Bindung der Schwefelsäure an das Serumalbumin scheint mir auch gegen die Annahme zu sprechen, dass die Schwefelsäure in ähnlicher Weise gebunden war, wie in den oben erwähnten Verbindungen zwischen Eiweiss und Säure. Es scheint daher eine besondere Neigung des Serumalbumins, ein Sulfat zu bilden, vorzuliegen. Dies stimmt mit einer von G. Meyer<sup>7)</sup> gemachten Beobachtung überein. Er fand, dass eine schwach alkalische Reaction, unter

1) John Sjöquist, Skand. Arch. f. Physiol., Bd. 5, 1895, S. 277.

2) O. Cohnheim, Zeitschr. f. Biol., Bd. 33, 1896, S. 489.

3) Bugarszky und Liebermann, Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. 72, 1898, S. 51.

4) Spiro und Pemscl, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXVI, 1898, S. 233.

5) Cohnheim und Krieger, Zeitschr. f. Biol., N. F., Bd. 22, 1900, S. 95.

6) W. Erb, Zeitschr. f. Biol., N. F., Bd. 23, 1901, S. 309.

7) G. Meyer, Weitere Beitr. z. Kenntniss der Krystallisation d. Serumeiweisses: Inaug. Diss., Strassburg, 1896, S. 10 u. ff.

Freiwerden von Ammoniak, auftreten kann, «wenn man zur absolut neutralen Lösung des Albumins (Serumalbumins) I absolut neutrale Ammoniumsulfatlösung bis zur Abscheidung der Krystalle zusetzt.» Er beobachtete dabei ein Freiwerden von Ammoniak. «Setzt man das Umkrystallisiren fünf- bis sechsmal fort, so wird die Mischung von Eiweisslösung und Ammoniumsulfat allmählich mehr oder weniger sauer.» Er findet auch, dass bei der Dialyse der neutralisirten Eiweisslösung die Reaction mehr und mehr sauer wird. Er schliesst, dass das Ammoniumsulfat an Eiweiss Schwefelsäure abgibt, wodurch Ammoniak frei wird, während die an Eiweiss gebundene Schwefelsäure mit dem Eiweiss krystallinisch abgeschieden wird.

Ob auch die Krystalle des Serumalbumins (wie das coagulirte Albumin) aus einem Sulfat bestehen, habe ich noch nicht näher untersucht. Die Beobachtungen von Meyer sprechen zu Gunsten einer solchen Annahme. Das oben geschilderte eigenthümliche Verhalten der Krystalle gegen Wasser, wodurch sie denaturirt zu werden scheinen, kann auch in diesem Sinne gedeutet werden. Als Stütze für diese Annahme will ich auch die neuen Untersuchungen von Th. Osborne<sup>1)</sup> anführen. Osborne hat gefunden, dass der Eiweissstoff Edestin aus Hantsamen, wenn er aus einer Salzlösung krystallisirt, eine salzartige Verbindung bildet, in welche die Säure des gebrauchten Salzes eingeht. Die Krystalle enthalten also hauptsächlich Salzsäure, wenn sie aus Kochsalzlösung krystallisirten, und hauptsächlich Schwefelsäure, wenn sie aus einer Sulfatlösung ausgeschieden wurden. Von diesen Verbindungen ist die schwefelsaure Verbindung weniger löslich. Ausser diesen in Wasser unlöslichen Verbindungen (in welchen die Säuremenge variiren zu können scheint) gibt das Eiweiss auch mit mehr Säure lösliche salzartige Verbindungen, welche wohl den für andere Eiweissstoffe schon früher beschriebenen Säureverbindungen analog sind.

1) Th. B. Osborne, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXXIII, 1901, S. 240.



Aus dem oben Gesagten geht hervor, dass der Schwefelgehalt dieses Serumalbumins zu 1,73 % S veranschlagt werden darf.

Zur Beleuchtung der Frage über die Bindungsweise des Schwefels wurden die folgenden Bestimmungen ausgeführt.

Die Bestimmung des bleischwärenden Schwefels gab 1,29 % S, welcher als Schwefelmetall abgespalten werden konnte (Anal. Bel. Nr. 41).

Nach dem Erhitzen mit Salzsäure wurden folgende Bestimmungen ausgeführt (Anal. Bel. Nr. 42):

S im ungelösten Bodensatz	0,023 % S
S in der Form von Schwefelsäure	0,421 %
S des «Cystinniederschlag»	0,674 %
	(entspr. Cystin = 2,53 %)
Bleischw. S d. «Cystinniederschlag»	0,483 % S
	(entspr. Cystin = 2,41 %)
Ges.-S im Filtr. v. d. «Cystinniederschlag»	1,140 % S
Bleischw. S im Filtr. v. d. «Cystinniederschlag»	0,757 % S
	<hr/>
	Summa S 2,228 % S.

Der ungelöste Bodensatz selbst betrug 1,24 % von dem Albumin; der Schwefelgehalt des Bodensatzes war ohne Bedeutung.

Die Abscheidung der Schwefelsäure habe ich schon besprochen. Der Schwefel derselben muss bei der Berechnung abgezogen werden, da die Schwefelsäure nicht dem Albumin selbst angehört.

Bei der Untersuchung des «Cystinniederschlag» wurden für den Gesamtschwefel und den bleischwärenden Schwefel Werthe erhalten, welche, wenn sie auf Cystin umgerechnet werden, so gut übereinstimmen, dass die Abwesenheit von nennenswerthen Mengen anderer, schwefelhaltiger Körper als das Cystin gesichert wird.

Bei dem Auskrystallisiren des Cystins war der Zusatz von Weingeist ziemlich gering. Durch mehr Weingeist wäre wahrscheinlich mehr Cystin erhalten worden. Der Schwefel des Cystins macht jedenfalls 39 % des Gesamtschwefels aus.

Der daraus berechnete Werth des Cystins, welcher auch in diesem Falle als ein Minimalwerth betrachtet werden darf, beträgt 2,53% des Serumalbumins; das Cystin macht also einen nicht allzu geringfügigen Theil der Zersetzungsprodukte des Albumins aus.

Die Uebereinstimmung zwischen der Summe der einzelnen Schwefelbestimmungen und der direkt bestimmten Menge des Gesamtschwefels bezeugt, dass keine flüchtigen schwefelhaltigen Produkte bei der Zersetzung mit Salzsäure gebildet wurden.

Auch in diesem Versuche (wie bei früher erwähnten Substanzen) ist die Summe des Gesamtschwefels des «Cystinniederschlags» und des bleischwärenden Schwefels im Filtrate von demselben grösser, als der bei unmittelbarer Bearbeitung des Albumins gefundene Werth des bleischwärenden Schwefels. Auch hier kann man also sehen (was bei den schwefelreicheren Substanzen noch deutlicher hervorgeht), dass ein Theil desjenigen Schwefels, der beim Kochen mit alkalischer Bleilösung nicht als Schwefelmetall erscheint (also dem sog. «oxydirten» oder «fest gebundenen» Schwefel zugerechnet wird), in der That dem Cystin angehört.

Das Verhältniss zwischen dem bleischwärenden Schwefel und dem Gesamtschwefel macht die Annahme möglich, dass die ganze Schwefelmenge dieses Serumalbumins in der Form von einer Gruppe vorkomme, welche als Cystin (vielleicht zusammen mit verwandten Substanzen) abgespalten wird. Der direkt bestimmte bleischwärende Schwefel (1,29% S) auf Cystin umgerechnet gibt 1,72% Cystinschwefel, was mit dem Gesamtschwefel (1,73% S), welcher dem Albumin selbst angehört, gut übereinstimmt. Eine ähnliche Berechnung zeigt auch, dass der Schwefel im Filtrate von dem «Cystinniederschlage» aus Cystin oder einer verwandten Substanz bestanden haben kann: der bleischwärende Schwefel in diesem Filtrate gibt, wenn man ihn auf Cystinschwefel umrechnet, 1,01% S; der daselbst vorhandene Gesamtschwefel war 1,11% S.

Auch für dieses krystallisirte Serumalbumin liegen also gegenwärtig keine zwingenden Gründe vor, mehr als eine



Form für die Bindung des Schwefels anzunehmen, nämlich als eine Gruppe, welche bei der Zersetzung Cystin oder dieses zusammen mit verwandten Substanzen gibt. Ein Vergleich zwischen dem Gesamtschwefelgehalt dieses krystallisirten Serumalbumins und demjenigen des oben beschriebenen, nicht krystallisirten Serumalbumins zeigt, dass diese Albumine nicht als identisch betrachtet werden können. Jener Schwefelgehalt war (wenn man die Schwefelsäure abrechnet) 1,73% und dieser 1,37%. Ich kann also nicht annehmen, dass das Serumalbumin, welches aus dem Filtrate, nach Aussalzen des Globulins mit Magnesiumsulfat, durch Hitzecoagulation erhalten wurde, eine einheitliche Substanz ausmachte. In der Bindungsweise des Schwefels war jedoch für diese beiden Präparate kein Unterschied bemerkbar.

### Serumglobulin.

Aus Pferdeblutserum wurde das Globulin durch Sättigen mit Magnesiumsulfat ausgefällt, auf dem Filter gesammelt und die Mutterlauge durch gesättigte Magnesiumsulfatlösung verdrängt. Das Globulin wurde in Wasser gelöst und noch einmal mit Magnesiumsulfat gefällt, mit gesättigter Magnesiumsulfatlösung ausgewaschen, ausgepresst, in Wasser gelöst und nach Zusatz von ein wenig Essigsäure in der Hitze coagulirt. Nach dem Auswaschen mit Wasser wurde das coagulirte Globulin mit Alkohol behandelt und mit Aether erschöpft.

Dieses Präparat hat natürlicher Weise die Gesamtmenge der Globulinsubstanzen des Blutserums enthalten; also auch die Substanz, welche Hammarsten Fibringlobulin genannt hat. Wenn auch das letzterwähnte Globulin, seiner verschwindenden Menge<sup>1)</sup> wegen, wenig ins Gewicht fällt, kann man doch nach der heutigen Auffassung nicht im Uebrigen für die Einheitlichkeit des «Serumglobulins» ohne Weiteres eintreten. Meine Beobachtung,<sup>2)</sup> dass, nach dem Erhitzen des Globulins mit Salzsäure, die Bildung einer reducirenden Substanz leicht

1) Vergl. W. Reye, Ueb. Nachw. u. Best. d. Fibrinogens: Inaug.-Diss., Strassburg 1898, S. 27.

2) K. A. H. Mörner, Centralbl. f. Physiol., 1893, H. 20.

nachgewiesen werden kann, und dass man leicht Osazonkrystalle erhält, lenkt die Aufmerksamkeit auf die Mucinsubstanzen<sup>1)</sup> hin. Man hat auch wahrscheinlich zu machen gesucht, dass die reducirende Substanz von einem dem Globulin ganz fremden (damit nicht verbundenen) Körper herrühre; wenigstens nehme ich an, dass Eichholz<sup>2)</sup> es so meint. So viel ich aus seiner Beschreibung ersehen kann, hat er in allen Versuchen, wo Globulin aus Blutserum durch Säure zersetzt wurde, eine reducirende Substanz erhalten. Dass dies durch eine Substanz bewirkt wird, welche nicht mit dem Globulin zusammengehört, hält er aus dem Grunde für wahrscheinlich, weil in einem Versuche, wo es nicht gelang Osazonkrystalle rein zu isoliren (eine geringe Menge von Krystallen wurde jedoch gebildet), das verarbeitete Globulin aus dem Filtrate von der durch Zusatz von Essigsäure und zwanzigfachem Verdünnen des Serums mit Wasser bewirkten Fällung dargestellt worden war. Er schliesst daraus, dass eine Mucinsubstanz relativ vollständig von dem Globulin getrennt worden war, und dass diese Mucinsubstanz sich in dem bei Zusatz von Essigsäure und Verdünnen mit Wasser entstehenden Niederschlag anhäufte, aus welchem er in einem anderen Versuche reine Osazonkrystalle darstellen konnte. Die Beweiskraft jenes Versuches scheint mir aber dadurch verringert zu werden, dass er eine Arbeitsmethode verwendet hat, welche man wohl gar nicht als gegen Kohlenhydratgruppen indifferent betrachten

1) Zanetti (Jahr.-Ber. d. Thier-Chemie, Bd. 27, S. 32) gibt an, aus Ochsenblutserum eine neue Mucinsubstanz erhalten zu haben. Da diese Substanz, wenn sie präformirt vorkommt, am nächsten dem Ovomucoid ähneln und also wasserlöslich sein soll, darf sie nicht in dem durch Ansäuern und Verdünnen des Serums erhaltenen Globulin vorkommen. Uebrigens bin ich nicht durch die vorläufige Mittheilung Zanettis von der Präexistenz dieser Mucinsubstanz in freier Form überzeugt. Durch Erhitzen des Serumglobulins mit Wasser habe ich eine gummähnliche, stickstoffhaltige Substanz erhalten. Da Zanetti die Eiweissstoffe durch Hitze coagulirte, scheint es mir nicht ausgeschlossen, dass das gefundene «Mucin» dabei aus einer Verbindung mit Eiweiss abgespalten wurde.

2) Eichholz, Journal of physiol., Bd. XXIII, S. 176.



kann: er hat nämlich das Globulin (38 g) in 20%iger Kalilauge (175 ccm.) auf dem Wasserbade gelöst und, nach Zusatz von gleich viel Wasser, eine Stunde am Rückflusskühler gekocht. Die reducirende Substanz kann dadurch in unberechenbarem Grade zerstört werden. Der bei der Darstellung von Osazonkrystallen erhaltene negative Befund, welcher übrigens nicht völlig negativ war, erscheint mir daher wenig beweisend und nicht geeignet, die Bedeutung von meinen (und bezüglich der Reduction auch seinen eigenen) positiven Ergebnissen zu entkräften.

Wie ich in meiner oben erwähnten Publication kürzlich angegeben habe, wurde die reducirende Substanz trotz der verschiedenen Provenienz und trotz der verschiedenen Darstellungsweise des Globulins erhalten: Aus Pferdeblutserum habe ich das Globulin sowohl durch Neutralisation und Verdünnen mit Wasser, als durch Sättigen mit Magnesiumsulfat dargestellt; ich habe auch das Globulin mit Magnesiumsulfat fractionirt und die erste und zweite Fraction besonders untersucht: ich habe das durch Sättigen mit Kochsalz fällbare Globulin und den dadurch nicht fällbaren Theil desselben je für sich untersucht und stets die reducirende Substanz darstellen können: ebenso habe ich das durch Dialyse fällbare Globulin und den dadurch nicht fällbaren Theil je für sich untersucht. Ich habe mich überzeugt, dass die Coagulation des Globulins im Kochen und die Behandlung mit Alkohol und Aether ohne Einfluss sind. Das Globulin aus Menschenblutserum gab auch reducirende Substanz: aus Ascitesflüssigkeit wurde das Globulin mit Magnesiumsulfat gefällt und (nach Entfernung des Sulfats) durch Sättigen mit Kochsalz fractionirt; beide Fractionen gaben reducirende Substanz. Aus dem Harn eines Nephritikers wurde die durch Zusatz von Essigsäure und Dialyse fällbare Substanz entfernt, und dann das Globulin mit Magnesiumsulfat gefällt; auch dieses gab reducirende Substanz. Da ich aus allen diesen, nach so verschiedenen Verfahren dargestellten Präparaten in einfacher Weise durch Erhitzen mit Salzsäure eine reducirende Substanz erhalten konnte und mehrmals Osazonkrystalle darstellte, während ich aus einigen anderen Eiweisssubstanzen (Myosin aus Rinderfleisch, Vitellin

des Hühnereies, Globuline aus der Linse des Kaninchenauges, Serumalbumin des Pferdeblutserums, Ovalbumin des Hühnereies und Fibrinogen nach derselben einfachen Methode keine reducirende Substanz erhielt,<sup>1)</sup> kann ich nicht die Bildung der reducirenden Substanz bei dem Erhitzen mit Salzsäure als etwas für das Globulin Fremdes betrachten.<sup>2)</sup>

Wenn ich mich also auf Grund der Bildung der reducirenden Substanz nicht genöthigt finde, die Einheitlichkeit des «Serumglobulins» zu bezweifeln, so gibt es doch andere Umstände, welche diese Einheitlichkeit fraglich zu machen scheinen.

Seitdem durch Hammarsten<sup>3)</sup> das Magnesiumsulfat als Mittel zur Trennung des Globulins von dem Albumin im Blutserum zur allgemeinen Verwendung kam, hat Burckhardt<sup>4)</sup> darauf hingewiesen, dass die durch Magnesiumsulfat bewirkte Fällung nicht einheitlich wäre, indem ein Theil des Eiweisses durch Dialyse fällbar wäre, der andere aber nicht; wenn man die Unlöslichkeit in Wasser als für die Gruppe der Globuline kennzeichnend betrachtet, wäre dann dieses Eiweiss eher mit dem Albumin zusammenzuführen. Dagegen hebt Hammarsten<sup>5)</sup> hervor, dass, wenn man aus dem Blutserum zuerst das Globulin möglichst vollständig durch Dialyse etc. entfernt und darauf mit Magnesiumsulfat sättigt, man aus dem dann entstandenen Niederschlag eine Fällung mit den Eigenschaften des Globulins erhalten kann, wenn man durch Dialyse das Sulfat

1) Ich will mit diesem gar nicht bestreiten, dass man mit einer mehr empfindlichen Methode eine Kohlenhydratgruppe in diesen Körpern nachweisen kann. Für das Ovalbumin geht ja dies aus mehreren, späteren Untersuchungen hervor, und ich kann dem aus eigener Erfahrung beipflichten.

2) Wenn man das Globulin selbst, wie es im Pferdeblutserum vorkommt, als ein Glykoprotein bezeichnen will, scheint mir bei der jetzigen Lage der Frage über den Kohlenhydratgehalt des Eiweisses ziemlich indifferent. Dieses Globulin in die Mucingruppe einzureihen, scheint mir aber nicht berechtigt, da es die Coagulirbarkeit und Fällbarkeit der Globuline hat.

3) Hammarsten, Arch. d. ges. Physiol., Bd. 17, 1878, S. 445 ff. und Bd. 18, S. 38.

4) Burckhardt, Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 16, 1882, S. 322.

5) Hammarsten, Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. VIII, 1884, S. 467.



entfernt, mit Kochsalz sättigt und den dabei entstandenen Niederschlag durch Dialyse von Kochsalz befreit, wobei eine Fällung mit den typischen Eigenschaften des Globulins erhalten wird. Das Filtrat von der Kochsalzfällung kann wieder in ähnlicher Weise und mit demselben Resultat bearbeitet werden u. s. w. «So lange, als es noch möglich war, mit Magnesiumsulfat etwas Eiweiss auszufällen, liess sich also die Anwesenheit von Globulin in diesem Niederschlage leicht und sicher nachweisen.» An einer andern Stelle sagt er: «Dasjenige Eiweiss des Blutserums, welches bei der gewöhnlichen Versuchsanordnung weder durch Dialyse, noch durch Säurezusatz, sondern erst durch Eintragen von Magnesiumsulfat gefällt wird, und welches von Burckhardt als ein mit den Albuminen verwandtes Eiweiss betrachtet wurde, besteht also nicht nur — wie ich schon vor mehreren Jahren behauptet habe — aus einer Globulinsubstanz, sondern dieses Globulin scheint sogar mit dem typischen Paraglobulin identisch zu sein, wenn auch die Löslichkeits- resp. Fällbarkeitsverhältnisse in Folge besonderer Umstände etwas andere sind.»

Kauder<sup>1)</sup> fand in einigen Versuchen, wo das Serumglobulin mit Magnesiumsulfat fractionirt gefällt wurde, keine wesentliche Differenz des Gerinnungspunktes der einzelnen Fractionen. In der neuesten Zeit ist diese Frage wieder aufgenommen worden. E. Marcus<sup>2)</sup> kommt bei Nachprüfung von Hammarsten's Versuchen zu dem Resultat, dass man die Fällbarkeit durch Magnesiumsulfat und durch halbe Sättigung mit Ammoniumsulfat als charakteristisch für Globulin betrachten darf, die Wasserunlöslichkeit aber nicht mehr als Characteristicum der Globuline ansehen darf; man muss daher einen in Wasser löslichen Theil des Serumglobulins anerkennen. In der neuesten Auflage seines Lehrbuches sagt Hammarsten:<sup>3)</sup> «Das Serumglobulin ist ohne Zweifel keine einheitliche Substanz, sondern ein Gemenge von zwei oder mehreren Proteinsubstanzen,

1) Kauder, Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 20, 1886, S. 422.

2) E. Marcus, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXVIII, 1899, S. 559.

3) Hammarsten, Lehrb. d. physiol. Chemie, 4. Aufl., 1899, S. 130.

deren vollständige und sichere Trennung von einander noch nicht gelungen ist.» Fuld und Spiro<sup>1)</sup> sagen, dass im Blutserum sich, soviel bisher ersichtlich, drei verschiedene Eiweisskörper finden, die meist den Globulinen beigezählt werden: 1. das Fibringlobulin Hammarsten's, welches sich nach Reye durch 28<sup>o</sup>/oige Sättigung mit Ammoniumsulfat von den anderen Globulinen trennen lässt: 2. ein durch Dialyse ausfällbares Globulin («Euglobulin»); 3. ein durch Dialyse nicht ausfällbares Globulin («Pseudoglobulin»), welches mit dem sub 2. genannten Körper zusammen das «Paraglobulin» (Serumglobulin nach üblichem Sprachgebrauch) darstellt.»

Die Auffassung scheint also in der Richtung zu gehen, dass man den Niederschlag, welcher Magnesiumsulfat im Blutserum bewirkt, als ein Gemenge betrachtet, welches, auch wenn man von dem «Fibringlobulin» absieht, aus zwei oder mehreren Proteinstoffen besteht.

Schon zur Zeit meiner Publication über die reducirende Substanz aus Serumglobulin hatte ich betreffs dieser Frage Versuche angestellt; da ich seitdem verhindert wurde, diese Frage weiter zu verfolgen, und es unsicher ist, wann es mir möglich werden kann, dieselbe wieder aufzunehmen, will ich das Hauptsächlichste meiner Beobachtungen jetzt mittheilen, und dies umsomehr, als die Frage über die Einheitlichkeit des «Serumglobulins» auch für den Gegenstand dieser Abhandlung Interesse haben kann.

Wenn neutralisirtes Pferdeblutserum durch Sättigen mit Magnesiumsulfat gefällt wurde, und die Lösung des ausgewaschenen (albuminfreien) Globulins nach Entfernung des Magnesiumsulfats durch Dialyse mit reinem Kochsalz bei etwa 30—35<sup>o</sup> C. gesättigt und Kohlensäure eingeleitet wurde, bewirkte ich scheinbar eine (doch nicht immer vollständige) Trennung zwischen zwei verschiedenen Substanzen: die eine (ich bezeichne sie hier als  $\alpha$ -Präparat) wurde dabei ausgefällt, während die andere (ich bezeichne sie hier als  $\beta$ -Präparat)

<sup>1)</sup> Fuld und Spiro, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXXI, 1900, S. 139. Die daselbst versprochene ausführlichere Publication von B. Haake ist meines Wissens noch nicht erschienen.



dabei in der Lösung blieb. Eine Ascitesflüssigkeit verhielt sich wie das Blutserum. Auch bei fractionirtem Aussalzen des Serums mit Magnesiumsulfat, wobei ich zwei Fractionen darstellte und die eine derselben durch Dialyse in zwei Fractionen zerlegte, wurde auch eine scheinbare Trennung bewirkt, wobei der am schwersten lösliche Theil dem  $\alpha$ -Präparat entsprach, und die zwei anderen (besonders der am wenigsten fällbare Theil) mit dem  $\beta$ -Präparat übereinstimmten.

Die Verschiedenheit eines  $\alpha$ - und eines  $\beta$ -Präparats (welche beide frei von Albuminen waren) gab sich durch folgende Eigenschaften kund (die Angaben beziehen sich auf Lösungen von 1—3<sup>0</sup>/<sub>10</sub>):

$\alpha$ -Präparat: Die Lösungen in Kochsalz waren opalescent (bisweilen stark); beim Verdünnen mit Wasser trübten sie sich und bald wurde eine reichliche Fällung gebildet: Verdünnen mit Wasser und Zusatz von ein wenig Essigsäure gab dasselbe Resultat; beim Sättigen mit Kochsalz bei etwa 30—35° und Einleitung von Kohlensäure wurden sie reichlich gefällt, und im Filtrate fand sich eine nur sehr geringe Menge des Eiweisses.

$\beta$ -Präparat: Die Lösungen in Kochsalz waren nicht opalescent: sie fluorescirten stark (fast wie eine Chininlösung). Beim Verdünnen mit Wasser konnte nur eine geringfügige Trübung erhalten werden, und wenn diese sich absetzte, wurde nur eine minimale Fällung gebildet, welche nicht flockig, sondern klebrig war. Zusatz von ein wenig Essigsäure hatte dabei keinen bemerkbaren Einfluss. Beim Sättigen mit Kochsalz bei 30—35° und Einleitung von Kohlensäure wurde entweder gar keine Trübung erhalten, oder nur eine sehr geringe: wenn eine Fällung dabei entstand, war sie ganz minimal. Ein Präparat dieser Eigenschaften wich also am meisten von dem ab, was man als charakteristisch für das Serumglobulin zu betrachten gewöhnt ist.

Diese Verschiedenheiten, welche nur das Aussehen der Lösungen und die Löslichkeit, resp. die Fällbarkeit der Substanz betreffen, können allzu leicht durch fremde Beimengungen hervorgerufen werden, um als Zeichen einer wirklichen Andersartigkeit der Substanzen gelten zu können. Ich will daher

auch andere und nach meinem Erachten wichtigere Eigenschaften der erwähnten Präparate vergleichen. Zur Analyse wurden sie mit Alkohol und Aether behandelt.

### Schwefelgehalt des Globulins.

	Schwefel % S	Anal. Bel. Nr.	Bemerkungen
$\alpha$ -Präparate . .	1,00	48 a	Aus Pferdeblutserum.
» . .	1,11	53 b	» Ascitesflüssigkeit.
Im Mittel .	1,06		
$\beta$ -Präparate . .	0,96	49 b	Aus Pferdeblutserum.
» . .	0,91	49 c	» »
» . .	1,02	51 c	» »
» . .	0,96	51 b	» »
» . .	0,99	50 b	» » m. MgSO <sub>4</sub> fract. gef.
» . .	1,03	52 b	» Menschenblutserum.
» . .	1,08	54 b	» Ascitesflüssigkeit.
Im Mittel .	1,00		
Gewöhl. Glob.	1,01	55 b	Aus Pferdebluts. d. Neutr. u. Verd.
» »	1,06	55 a	» » » » » »
Im Mittel .	1,04		

### Stickstoffgehalt des Globulins.

	Stickstoff % N	Anal. Bel. Nr.	Bemerkungen
$\alpha$ -Präparate . .	15,29	53 b	Aus Ascitesflüssigkeit.
$\beta$ -Präparate . .	15,34	51 b u. c	Aus Pferdeblutserum.
» . .	15,42	49 b u. c	» »
» . .	15,31	54 c	» Ascitesflüssigkeit.
Im Mittel .	15,36		
Gewöhl. Glob.	15,28	55 b	» Pferdeblutserum.



## Optisches Drehungsvermögen des Globulins.

	$\alpha_D = -\alpha$	Anal. Bel. Nr.	Bemerkungen
$\alpha$ -Präparate . .	51.7	48b	Aus Pferdeblutserum.
„ . .	49.0	56	„ „ „
„ . .	51.5	53a u. b	„ Ascitesflüssigkeit.
Im Mittel .	50.4		
$\beta$ -Präparate . .	49.4	51a	Aus Pferdeblutserum.
„ . .	50.0	49a	„ „ „ fract. m. MgSO <sub>4</sub> .
„ . .	47.2	50a	„ „ „ „ „
„ . .	50.7	52a	„ Menschenblutserum.
„ . .	47.0	54a	„ Ascitesflüssigkeit.
Im Mittel .	48.8		

Gewönl. Glob. 47.8 Hammarsten (Lehrbuch); Angaben nach Fré-deriq und nach eigenen Untersuchungen.

In den jetzt mitgetheilten Thatsachen kann ich keinen Grund finden, die Globulinpräparate ( $\alpha$ -,  $\beta$ - und gewöhnliches Globulin) als verschiedene Substanzen zu betrachten. Der Gehalt an Schwefel und an Stickstoff spricht entschieden gegen eine solche Annahme. Die Unterschiede in dem optischen Drehungsvermögen sind allzu klein, um als ein Beweis gegen die Identität gedeutet zu werden. Eben das  $\beta$ -Präparat, welches unter dieser Voraussetzung am meisten von dem gewöhnlichen abweichen dürfte, hat ein Drehungsvermögen, welches nicht viel von den in der Litteratur vorhandenen Werthen für das gewöhnliche Serumglobulin abweicht.

In der Gerinnungstemperatur habe ich auch keinen bestimmten Unterschied gefunden. Wenn diese in verschiedenen Versuchen um einen oder ein paar Grade verschieden ausfällt, so kann dies nicht viel sagen. In Kochsalzlösung von etwa 5–10% bei einem Eiweissgehalt von 1–3% bildete sich ein flockiger Niederschlag, am häufigsten zwischen 72 und 74° C.,

vereinzelt bei  $75^{\circ}$  oder bei  $70\text{--}72^{\circ}$ : nur einmal ( $\beta$ -Präparat) sah ich dies schon bei  $69^{\circ}$ . Wenn ein Unterschied obwaltet, würde dieser nur darin bestehen, dass die Gerinnungstemperatur des  $\beta$ -Präparates um ein paar Grade niedriger wäre, als für das  $\alpha$ -Präparat. Dies kann aber auf Neben Umständen beruhen.

In der Gerinnungstemperatur finde ich also keine Berechtigung, das  $\alpha$ - und das  $\beta$ -Präparat als wirklich verschiedene Substanzen zu betrachten.

Aus  $\alpha$ - sowohl wie  $\beta$ -Präparat habe ich beim Erhitzen mit Salzsäure eine reducirende Substanz entstehen sehen. Aus dem  $\beta$ -Präparat habe ich auch Osazonkrystalle erhalten; das  $\alpha$ -Präparat in dieser Hinsicht zu untersuchen, habe ich nicht für nöthig erachtet, weil ich mehrmals das mit diesem am nächsten verwandte gewöhnliche (durch Neutralisiren und Verdünnen des Serums dargestellte) Globulin mit positivem Ergebniss untersucht habe.

Da ich also in den mehr wesentlichen Eigenschaften der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Präparate keinen sicheren Unterschied nachweisen konnte, sondern nur Uebereinstimmung fand, liegt es nahe, dass den Unterschied zwischen diesen Präparaten nur Neben umstände verschulden.

Es fragt sich dann, ob einige Nebenumstände nachweisbar sind, durch welche man diese Verschiedenheit erklären kann. Ich glaube dies mit einiger Wahrscheinlichkeit bejahen zu können.

Das gewöhnliche (durch Neutralisation und Verdünnen des Serums gefällte) Globulin, und ebenso das  $\alpha$ -Präparat gibt mit Kochsalz eine trübe (opalescente) Lösung. Diese Trübung scheint von fremden, verunreinigenden Stoffen bedingt zu sein. Dass von diesem Globulin Lecithin mit niedergerissen wird, findet man angegeben; ich habe auch einige Mal in dem Aetherextracte Phosphor nachgewiesen. In dem Aetherextracte (Präparate aus Pferdeblutserum und aus Ascitesflüssigkeit) habe ich auch Schwefel in nicht unbeträchtlicher Menge gefunden. Auch habe ich aus diesem Extracte Krystalle anschiessen sehen, welche denen von fetten Säuren ähnlich waren; dass



im Blutserum Seifen vorkommen, hat Hoppe-Seyler<sup>1)</sup> längst angegeben.

Die Bedeutung dieser fremden Substanzen für die Fällbarkeit des Globulins kann kaum experimentell geprüft werden; für die Seifen habe ich doch einige Beobachtungen gemacht, welche deren Bedeutung in dieser Hinsicht etwas beleuchten können.

Die Lösung (3,346 g Eiweiss in 100 ccm.) eines  $\beta$ -Präparates (durch fractionirte Fällung mit  $MgSO_4$  erhalten: Fraction von mittlerer Löslichkeit), mit Kochsalz bereitet, wurde durch Verdünnen nur ganz schwach getrübt; durch Zusatz von Essigsäure wurde die Trübung kaum stärker; nach einem Tage hatte sich eine winzige Fällung gebildet. Zu dieser Lösung (230 ccm.) wurde die Lösung von 0,5 g Oelseife, deren alkalische Reaction auf Lackmus durch Essigsäure abgestumpft worden war, zugesetzt. Beim Zusatz der Seifenlösung wurde die vorher klare Flüssigkeit opalescent, und beim Verdünnen mit 10 Volumen Wasser wurde sie stärker opalescent. Bei Zusatz von 10 ccm. Essigsäure (N/10) zu der Flüssigkeit (2700 ccm.) entstand binnen Kurzem ein reichlicher feinflockiger Niederschlag, welcher einer Serumglobulinfällung ähnlich war; bei Zusatz von Kochsalz (zu etwa 10%) zu einer Probe wurde die Fällung gelöst (auch wenn ein kalkhaltiges Salz verwendet wurde); die Flüssigkeit war dann, wie eine Lösung des gewöhnlichen Serumglobulins, opalescent (nicht trübe). Der in reichlicher Menge entstandene Niederschlag wurde durch Centrifugiren gesammelt. Der Niederschlag löste sich mit Kochsalz vollständig zu einer stark opalescenten Flüssigkeit auf; die Gerinnungstemperatur der Flüssigkeit war 73—74°. Ein Theil des Niederschlages wurde mit ganz wenig Alkali gelöst, mit Essigsäure gefällt; die mit Kochsalz (8%) bereitete Lösung gerann bei 73°. Wenn sie mit Essigsäure ganz schwach angesäuert wurde, gab sie bei dem Verdünnen mit Wasser eine Trübung, und in nicht langer Zeit setzte sich eine flockige, leicht abzufiltrierende Fällung ab; beim Sättigen der Lösung mit NaCl bei 37° wurde das Eiweiss fast ganz vollständig ge-

1) F. Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. VII 1884. S. 503.

fällt (die ursprüngliche Globulinlösung gab dabei eine nur sehr geringe Fällung): durch Sättigen mit  $MgSO_4$  wurde das Eiweiss ganz vollständig gefällt.

Auch in einer anderen Weise habe ich die Wirkung von Seifen zu prüfen gesucht. Pferdeblutserum wurde mit Essigsäure schwach angesäuert und mit 12 Volumen Wasser verdünnt. Nachdem die Globulinfällung sich abgeschieden hatte, wurde filtrirt und das Filtrat mit etwas Oelseife und ein wenig Essigsäure versetzt: es entstand dann ein reichlicher Niederschlag, welcher sich gut absetzte; der abfiltrirte Niederschlag löste sich in 10% iger Kochsalzlösung zu einer opalescenten Flüssigkeit auf; diese Lösung gerann bei 74—75°. (In einem Kontrollversuch mit reinem Serumalbumin konnte ich durch Zusatz von Seife unter ähnlichen Verhältnissen keine Fällung bewirken.)

Aus dem Gesagten scheint mir hervorzugehen, dass die Gegenwart von Seifen die Fällbarkeit des Globulins beeinflussen kann, so dass ein  $\beta$ -Präparat des Globulins die Eigenschaften eines  $\alpha$ -Präparates erhält.

Da Seifen in dem Blutserum vorkommen und ich (siehe oben) Zeichen von Gegenwart fetter Säuren in der Fällung des Serumglobulins gesehen habe, kann ich es nicht ausschliessen, dass ihre Gegenwart für das Zustandekommen einiger Eigenschaften des aus Serum durch Neutralisation und Verdünnen gefällten «typischen» Serumglobulins von Bedeutung ist. Ich will hierdurch nicht ausschliessen, dass auch andere Körper (wie Lecithin u. A.) dabei wirksam sein können. Unter diesen Umständen kann man sich fragen, ob nicht die Eigenschaften des Serumglobulins eigentlich diejenigen sind, welche ich für ein  $\beta$ -Präparat angegeben habe; also ob nicht die Opalescenz der Lösung in Kochsalz, die Fällbarkeit durch Verdünnen dieser Lösung und die (partielle) Fällbarkeit für Kochsalz durch fremde Stoffe bedingt sind. Eine solche Auffassung würde, wenn ich nicht irre, mit der Ansicht Marcus' (a. a. O.) übereinstimmen.

Wenn dem so wäre, würden die jetzt erwähnten Eigenschaften des «typischen» Globulins verschwinden, wenn man die fremden Stoffe entfernt: diese Entfernung durchzuführen,



ist aber misslich, so lange man die Natur der zu entfernenden Stoffe nicht näher kennt. Ich habe einige Versuche durch Behandlung mit Alkohol und Aether ausgeführt, aber mit wenig Glück: oft wurde das Globulin völlig unlöslich, und wo es noch zum Theil löslich war, blieb die Frage offen, ob die Erschöpfung vollständig gewesen war.

Da ich, wie oben gesagt, in den mehr hauptsächlichen Eigenschaften keinen bestimmten Unterschied bei verschiedenen Präparaten und Fractionen von Globulin aus Serum fand, und da es möglich ist, dass die Verschiedenheit, welche man in den mehr nebensächlichen Eigenschaften beobachtet, von der Gegenwart fremder Stoffe abhängt, neige ich natürlicher Weise der Ansicht zu, dass die Hauptmenge von dem Globulin des Serums ein einheitlicher Stoff ist. (Ich sehe dabei von dem Fibringlobulin ab. Wenn man das Serumglobulin damit und mit anderen Substanzen verunreinigt erhält, ist das ja eine andere Sache.)

Meine unten mitzutheilenden Untersuchungen über die Bindungsweise des Schwefels widersprechen nicht der Auffassung, dass es nur ein «Serumglobulin» gibt.

Zur Cystindarstellung wurden 60 g von dem mit Magnesiumsulfat zweimal gefällten albuminfreien Globulin (58½ g trockenes Globulin entsprechend) mit 150 ccm. Salzsäure (1,124) und 150 ccm. Wasser auf dem Wasserbade 7 Tage ununterbrochen erhitzt. Kaum Spuren von Schwefelwasserstoff wurden dabei entwickelt. Keine merkbare Ausscheidung von freiem Schwefel fand statt. Die Flüssigkeit war dunkelbraun. Nach Entfärben mit Thierkohle gab sie mit Kupfersulfat und Alkali kaum merkbare Violett färbung.

Mit Nitroprussidnatrium und Alkali gab sie keine Andeutung von Rothfärbung (nach dem Zusatz von ein ganz wenig Cystein wurde schöne Rothfärbung erhalten); Cystein fand sich also nicht in nachweisbarer Menge vor.

Die Lösung wurde im Vacuum auf dem Wasserbade bis 100 ccm. eingeeengt, mit Natronlauge versetzt, bis die Reaction nur ganz schwach alkalisch war, und etwas mehr als das

gleiche Volumen Weingeist zugefügt. Nach einigen Tagen wurde der in der Kälte abgesetzte Niederschlag gesammelt und auf Cystin und Tyrosin verarbeitet.

Die Tyrosinmenge betrug 1,8 g, d. h. etwa 3% des Globulins.

Das Cystin wurde hauptsächlich in sechsseitigen Tafeln erhalten: ausserdem wurde auch eine geringe Menge Nadeln erhalten. Bei dem Umkrystallisiren wurden zuletzt nur Tafeln erhalten: das so gereinigte Cystin wog 0,51 g und betrug also von dem Globulin beinahe 0,9%. Der Schwefelgehalt des Cystins war 26,68% S (Anal. Bel. Nr. 46), also genau die berechnete Menge. Die Identität des Cystins war also unzweifelhaft.

Zur quantitativen Untersuchung wurden folgende Bestimmungen ausgeführt:

Die Aschenbestimmung (Anal. Bel. Nr. 43) gab 0,18% Asche, in welcher Schwefelsäure nachgewiesen werden konnte.

Die Bestimmung des Gesamtschwefels (Anal. Bel. Nr. 44) gab 1,02% S.

Der als Schwefelmetall abspaltbare (bleischwärende) Schwefel war (Anal. Bel. Nr. 45) 0,67% S.

Nach dem Erhitzen mit Salzsäure wurden folgende Ergebnisse erhalten (Anal. Bel. Nr. 47):

S im ungelösten Bodensatz	0,016% S
S in der Form von Schwefelsäure	0,050% »
S des Cystinniederschlages»	0,402% »
	(entspr. Cystin = 1,51%)
Bleischw. S d. Cystinniederschlages»	0,333% S
	(entspr. Cystin = 1,66%)
Ges.-S im Filtr. v. d. Cystinniederschl.»	0,557% S
Bleischw. S im Filtr. v. d. Cystinniederschl.»	0,294% S
	<hr/>
	Summa S 1,025% S.

Der ungelöste Bodensatz betrug 1,11% von dem Globulin. Der Schwefelgehalt desselben ist bedeutungslos.

Die Uebereinstimmung zwischen der Summe der einzelnen



Schwefelbestimmung und der unmittelbar mit der Substanz ausgeführten Bestimmung des Gesamtschwefels zeigt, dass flüchtige schwefelhaltige Produkte nicht gebildet wurden.

Es ist kaum anzunehmen, dass die gefundene Schwefelsäure mit dem Globulin verbunden war. Da die Asche schwefelsäurehaltig befunden wurde und die Asche, wenn sie aus Magnesiumsulfat bestand, etwa ebenso viel Schwefelsäure entsprechen würde, als die gefundene Schwefelsäure ausmacht, liegt kein Grund vor, anzunehmen, dass die Schwefelsäure als ein «Globulinsulfat» gebunden war, welches mit dem oben besprochenen «Sulfat» des Serumalbumins analog wäre. Der Sulfatschwefel ist natürlicher Weise bei den folgenden Berechnungen von dem Gesamtschwefel abzuziehen, da er nicht dem Globulin selbst angehört.

Man hat also mit einem Gesamtschwefelgehalt von 0,97% S zu rechnen.

Beim Waschen des Schwefelbleies bot die Bestimmung des bleischwärenden Schwefels in dem «Cystinniederschlage» besondere Schwierigkeiten dar, wodurch es wahrscheinlich ist, dass dieser Werth zu hoch ausgefallen ist. Da dem so ist, darf man sagen, dass die Uebereinstimmung zwischen dem Gesamtschwefel und dem bleischwärenden Schwefel dieses Niederschlages so gut ist, wie man erwarten kann. Man kann daher den Gesamtschwefel des «Cystinniederschlages» (0,402% S) als ein Maass für die auskrystallisirte Cystinmenge betrachten und diese zu 1,51% Cystin veranschlagen.

Der Schwefel des auskrystallisirten Cystins macht also 42% von dem Gesamtschwefel des Globulins aus; dieser Cystinschwefel ist doch als ein Minimalwerth zu betrachten, welcher von dem höheren, wirklichen Werth relativ um so mehr entfernt liegt, als die Substanz schwefelarm ist, und daher die Ausfällung des Cystins relativ mehr unvollkommen ist, als bei den schwefelreicheren Substanzen.

Im Filtrate von dem «Cystinniederschlage» fanden sich 0,294% S; eine entsprechende Cystinmenge würde 0,392 S enthalten, welcher Werth um 0,165 hinter dem Gesamtschwefel dieses Filtrats zurückbleibt, was dem Schwefel entsprechen würde,

welchen man nicht als an Cystin gebunden annehmen darf. Man darf aber dieser Ziffer nicht allzu viel Bedeutung beimessen. Durchgehend habe ich nämlich bei diesen Zersetzungsversuchen gefunden, dass nach Zersetzen mit Salzsäure der Werth des bleischwärenden Schwefels des «Cystinniederschlags» zusammen mit dem bleischwärenden Schwefel im Filtrate von demselben nicht den Werth erreicht, welcher bei unmittelbarer Bearbeitung der Substanz als Gehalt an bleischwärendem Schwefel gefunden wurde. Ein geringer Theil des bleischwärenden Schwefels scheint in andere Bindungsform überzugehen.

Wenn man die unmittelbar für die Substanz bestimmte Menge von bleischwärendem Schwefel auf Cystin umrechnet, würde der Schwefel dieses Cystins 0,89% des Globulins ausmachen. Von dem Gesamtschwefel des Globulins sind dies 92%.

Unter Hinweisung auf die oben, bei Besprechung der Hornsubstanz gegebene Auseinandersetzung darf ich also auch betreffend das Serumglobulin (oder die Hauptmasse der Substanz, welche sich in dem «Serumglobulinniederschlag» vorfindet) sagen, dass man nicht genöthigt ist, mehr als eine Bindungsform des Schwefels anzunehmen.

### Fibrinogen.

Das Fibrinogen wurde nach Hammarsten aus Oxalatplasma des Pferdeblutes durch Zusatz des gleichen Volumens kalkfreier gesättigter Kochsalzlösung gefällt, ausgepresst und mit halbgesättigter Kochsalzlösung gewaschen. Es wurde dann in Wasser gelöst und noch einmal mit Kochsalzlösung gefällt, zerkleinert und mit halbgesättigter Kochsalzlösung gewaschen, dann unter Weingeist mit einigen Tropfen Essigsäure aufbewahrt, wodurch es unlöslich wurde. Das Fibrinogen wurde mit warmem und kaltem Wasser ausgewaschen, mit Weingeist und Aether behandelt.

Die Bestimmung der Asche gab 0,10% Asche (Anal. Bel. Nr. 57).

Zwei Bestimmungen des Gesamtschwefels (Anal. Bel.



Nr. 58 a und b) gaben resp. 1,10 und 1,16% S, oder im Mittel 1,13% S.

Die Bestimmung des bleischwärenden Schwefels (Anal. Bel. Nr. 59) gab 0,465% als Schwefelmetall abspaltbaren Schwefel.

Nach dem Erhitzen mit Salzsäure wurden folgende Ergebnisse erhalten (Anal. Bel. Nr. 60):

S im ungelösten Rückstand	0,016% S
S in der Form von Schwefelsäure	0,063% »
S des «Cystinniederschlages»	0,312% »
	(entspr. Cystin = 1,17%)
Bleischw. S d. «Cystinniederschlages»	0,233% S
	(entspr. Cystin = 1,16%)
Ges. S im Filtr. v. d. «Cystinniederschl.»	0,786% S
Bleischw. S im Filtr. v. d. «Cystinniederschl.»	0,188% S
	Summa S 1,177% S.

Der ungelöste Rückstand war 1,6% von dem Fibrinogen. Dessen Schwefel fällt nicht ins Gewicht.

Wie die kleine Menge Schwefelsäure zu deuten ist, wage ich nicht zu sagen. Die ganze Menge derselben kann nicht als anorganisches Salz gebunden gewesen sein. Eine Spur kann vielleicht bei dem Erhitzen gebildet worden sein (vergl. Cystinversuch S. 208); diese dürfte aber allzu klein gewesen sein, um wesentlich zur Erklärung der Gegenwart der Schwefelsäure beitragen zu können. Andererseits erscheint mir die Menge der Schwefelsäure allzu klein, um darauf die Annahme eines Fibrinogensulfats begründen zu können.

Mit diesem Eiweissstoffe habe ich aus Mangel an Material keinen Versuch ausführen können, das Cystin zu isoliren. Ich muss daher um so mehr Gewicht darauf legen, dass das Verhältniss zwischen dem Gesamtschwefel und dem bleischwärenden Schwefel in dem «Cystinniederschlage» genau dem entspricht, was für Cystin gefordert wird, und dass dadurch die Gegenwart von Cystin und keiner anderen schwefelhaltigen Substanz sichergestellt zu werden scheint.

Von dem Gesamtschwefel des Fibrinogens nach Abzug für die Schwefelsäure (1,07%) macht dieser Cystinschwefel (0,312%) 29% aus.

Im Filtrate von dem «Cystinniederschlage» fanden sich nur 0,188% bleischwärender Schwefel vor: wenn dieser Schwefel in Cystin enthalten war, was gut möglich ist, da das Cystin ja nicht vollständig auskrystallisieren kann, würde dieser Cystinschwefel 0,25% von dem Fibrinogen ausmachen. Dies gibt zusammen mit dem Schwefel des auskrystallisirten Cystins (0,312%) eine Summe von 0,562% S, was von dem Gesamtschwefel des Fibrinogens, nach Abzug für die Schwefelsäure, 53% ausmacht.

Wenn man von dem direkt bestimmten bleischwärenden Schwefel des Fibrinogens (0,465) ausgeht und diesen auf Cystinschwefel unrechnet, so kommt man zu fast demselben Resultate. Der Schwefel der so berechneten Cystinmenge würde von dem Fibrinogen 0,62% ausmachen und von dem Gesamtschwefel desselben (nach Abzug für die Schwefelsäure) 58%.

In Betreff des Fibrinogens scheint man also genöthigt zu sein, zwei Formen für die Bindung des Schwefels anzunehmen. Die Ergebnisse lassen sich recht gut mit der Annahme vereinbaren, dass die Hälfte des Schwefels in einer «cystin-gebenden Gruppe» enthalten und die andere Hälfte in anderer Form gebunden sei.

Es würde also (vorausgesetzt, dass das Fibrinogen ein einheitlicher Eiweissstoff ist) ein grundwesentlicher Unterschied zwischen dem Fibrinogen einerseits und dem Serumalbumin nebst dem Serunglobulin andererseits obwalten.

Eine Bildung von Cystein habe ich nicht nachweisen können (vergl. Anal. Bel. Nr. 60 vor e) und nehme also an, dass die «cystin-gebende Gruppe» gewissermassen präformirtes Cystin enthält. Wenn das Cystin zwei Schwefelatome enthält, würde das Fibrinogen dann wahrscheinlich (wenigstens) vier Schwefelatome im Molekül enthalten.



**Ovalbumin, nicht krystallisirt.**

Verdünntes Hühnereiweiss wurde geschlagen und mit Magnesiumsulfat gesättigt, um Globulin u. A. abzuscheiden. Das Filtrat wurde mit Wasser verdünnt und das Eiweiss in der Hitze unter Zusatz der nöthigen Menge Essigsäure coagulirt. Der Niederschlag wurde mit Wasser ausgewaschen und mit Alkohol und Aether behandelt.

Ein in dieser Weise dargestelltes, einige Jahre altes Präparat wurde zur Cystindarstellung gebraucht. Von dem Albumin wurden 85 g mit 200 ccm. Salzsäure (1,124) und 200 ccm. Wasser auf dem Wasserbade ununterbrochen 7 Tage erhitzt. Keine Entwicklung von Schwefelwasserstoff und keine Ausscheidung von freiem Schwefel fand statt. Die dunkelbraune Flüssigkeit wurde mit Thierkohle entfärbt. Das Filtrat gab mit Kupfersulfat und Natronlauge eine schwache, aber deutliche Violettfärbung.

Mit Nitroprussidalkali und Natronlauge trat gar keine Rothfärbung auf. Wenn man dagegen ein ganz wenig Cystein zugesetzt hatte, wurde die Flüssigkeit schön purpurroth. Cystein fand sich also nicht in nachweisbarer Menge vor.

Bei Bearbeitung der Flüssigkeit auf Cystin wurden sechseckige Tafeln nebst Körnern erhalten. Das Präparat war fast reines Cystin. Der Schwefelgehalt war 26,20% S. (Anal. Bel. Nr. 64). Die Menge des Cystins war 0,375 g, was, auf das Albumin berechnet, 0,4% Cystin entspricht.

Zu den quantitativen Versuchen diente ein neubereitetes, in der beschriebenen Weise dargestelltes Präparat.

Die Aschenbestimmung (Anal. Bel. Nr. 61) gab 0,78% Asche, in welcher ein wenig Schwefelsäure nachgewiesen werden konnte.

Die Bestimmung des Gesamtschwefels (Anal. Bel. Nr. 62) gab 1,56% S.

Die Bestimmung des bleischwärenden Schwefels gab 0,54% S (Anal. Bel. Nr. 63).

Nach dem Zersetzen des Albumins mit Salzsäure wurden die folgenden Ergebnisse erhalten (Anal. Bel. Nr. 65):

S in dem ungelösten Rückstand	0,085 <sup>0/0</sup> S
S in der Form von Schwefelsäure	0,014 <sup>0/0</sup> »
S des Cystinniederschlags	0,078 <sup>0/0</sup>
	(entspr. Cystin = 0,30 <sup>0/0</sup> )
Ges.-S im Filtr. v. d. «Cystinniederschl.»	1,17 <sup>0/0</sup> »
Bleischw. S im Filtr. v. d. «Cystinniederschl.	0,275 <sup>0/0</sup> S
	<hr/>
	Summa S 1,347 <sup>0/0</sup> S.

Der ungelöste Rückstand betrug 3,8<sup>0/0</sup> des Albumins. Der Schwefelgehalt desselben machte von dem Gesamtschwefel 6,4<sup>0/0</sup> aus. Ob dieser Schwefel in organischer Bindung vorkam, oder ob er frei ausgeschieden war, habe ich nicht besonders untersucht, da dieser Schwefel jedenfalls für die vorliegende Frage von untergeordneter Bedeutung ist.

Die Schwefelsäure fand sich, trotzdem der Aschengehalt nicht unbedeutend war, in nur sehr geringer Menge vor. Man findet also ein ganz anderes Verhalten als beim Serumalbumin, wo ein Sulfat des Albumins gebildet wurde. Da die beiden Albumine unter übereinstimmenden Verhältnissen dargestellt worden waren, deutet dies auf eine wirkliche Verschiedenheit derselben hin.

Die Summe der einzelnen Schwefelbestimmungen (1,347) bleibt nicht ganz unbedeutlich hinter dem Werthe des Gesamtschwefels (1,56) zurück. Dies deutet auf einen Verlust an Schwefel hin. Da Alles, nur mit Ausnahme von flüchtigen Produkten, untersucht wurde, macht dies es wahrscheinlich, dass flüchtige schwefelhaltige Produkte (doch nicht Schwefelwasserstoff) gebildet wurden. Ich werde unten auf diese Frage zurückkommen.

Das Cystin ist offenbar in diesem Falle sehr unvollständig auskrystallisirt, da ich bei der Darstellung des Cystins 0,4<sup>0/0</sup> gereinigtes und umkrystallisirtes Cystin erhalten konnte. Dies ist dadurch erklärlich, dass ich bei den quantitativen Versuchen eine Ausscheidung von anderen schwefelhaltigen Substanzen als Cystin vermeiden wollte, da es mir eher darauf ankam, das Cystin von anderen schwefelhaltigen Substanzen zu scheiden (gerade um beurtheilen zu können, ob solche zu-



gegen waren), als die möglichst grösste Ausbeute an Cystin zu gewinnen. Es ist daher möglich, dass ich manchmal zu wenig Weingeist zusetzte. Diese Unvollkommenheit der Methode kann natürlicher Weise besonders bei den cystinarmen Körpern bewirken, dass der Cystinwerth viel zu niedrig gefunden wird. Wenn es auch wünschenswerth wäre, die Menge des Cystins genau kennen zu lernen, so wird doch der Werth der Untersuchung nicht durch diesen Mangel vernichtet, da auch der bleischwärende Schwefel im Filtrate von dem «Cystinniederschlage» bestimmt und in Erwägung gezogen wird; auch im Uebrigen gibt die Untersuchung Anhaltspunkte zur Beurtheilung der Bindung des Schwefels; man muss sich aber vergegenwärtigen, dass der Cystinwerth ein Minimalwerth ist, und dass bei den cystinarmen Körpern der wirkliche Cystinwerth relativ beträchtlich höher liegen kann.

Es liegt auf der Hand, dass die Ergebnisse dafür sprechen, dass der Schwefel des Ovalbumins in mehr als einer Bindungsform vorkomme, und dass nicht aller Schwefel als «Cystinschwefel» gebunden sein kann. Wenn man nämlich den bleischwärenden Schwefel, welchen man bei unmittelbarer Bestimmung in der Substanz erhält, auf Cystin umrechnet, so würde der Schwefel dieses Cystins 0,72% ausmachen, also nicht der Hälfte des Gesamtschwefels des Albumins entsprechen.

Wenn man den bleischwärenden Schwefel im Filtrate von dem «Cystinniederschlage» auf Cystin umrechnet und den Schwefel dieses Cystins mit dem Schwefel des auskrystallisirten Cystins zusammenrechnet, so erhält man  $(0,366 + 0,078)$  0,444% S, also nur etwas mehr als ein Viertel des Gesamtschwefels.

Da diese Ergebnisse hauptsächlich mit denen übereinstimmen, welche ich bei der Untersuchung des krystallisirten Ovalbumins erhalten habe, dieses Albumin aber eine bessere Garantie der Einheitlichkeit liefert, kann ich übrigens auf die Besprechung der Resultate bei diesem Albumin hinweisen.

**Krystallisirtes Ovalbumin.**

In dem Eierklar nahm man früher die Gegenwart von nur einem Eiweisskörper, dem Eialbumin, an. Später hat es sich aber gezeigt, dass mehrere Proteinkörper da vorkommen, und vermuthungsweise hat man noch mehrere angenommen. Von Hammarsten und Dillner<sup>1)</sup> wurde ein Globulin dasselbst beschrieben; später wurde durch C. Th. Mörner<sup>2)</sup> das Ovomucoid nachgewiesen.

In der neuesten Zeit hat Eichholz<sup>3)</sup> ein «Ovomucin» beschrieben: diese Substanz spaltet bei der Behandlung mit Salzsäure einen Stoff ab, welcher alkalische Kupferoxydlösung reducirt. Nach der Beschreibung von Eichholz und der Darlegung von Th. Osborne und G. Campbell<sup>4)</sup> und später von Langstein<sup>5)</sup> entspricht dieses Ovomucin (wenigstens zum Theil) dem, was man früher als Ovoglobulin beschrieb; da diese Substanz im Uebrigen sich wie ein Globulin verhält, durch Kochen coagulirt, in Salzen löslich ist, durch Dialyse oder Verdünnung gefällt wird, finde ich ebenso wie Langstein es sehr fraglich, ob es berechtigt ist, auf Grund des Auftretens der reducirenden Substanz sie als ein Mucin zu bezeichnen: das Serumglobulin (siehe oben), das Ovalbumin und vielleicht noch mehrere Körper, welche man als eigentliche Eiweissstoffe zu betrachten gewöhnt ist, wären dann der Mucingruppe zuzurechnen. Wie dem auch sei, so hat die Aehnlichkeit des Serumglobulins und der globulinartigen Substanz des Eierklars darin, dass sie beide nach dem Kochen mit Säuren eine reducirende Substanz geben, nicht wenig Interesse.

1) Dillner, Upsala Läkarefören. Förh., Bd. 20, 1884, S. 199.

2) C. Th. Mörner, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XVIII, 1893, S. 525.

3) Eichholz, The Journal of Physiol., Bd. XXIII, 1898—1899, S. 167.

4) Osborne und Campbell, 23 Report of the Connecticut Agricultural Exp. Station, und Journal of the Amer. Chem. Soc., Vol. 22, S. 379, 413, 422.

5) L. Langstein, Beitr. z. chem. Physiol. u. Patholog., Bd. 1, 1901, S. 83.



Einen grossen Fortschritt in dem Studium der Eiweissstoffe des Eierklars und auch anderer Eiweissstoffe wurde durch F. Hofmeister<sup>1)</sup> herbeigeführt, als er lehrte, mit Ammoniumsulfat Krystalle des Albumins des Eierklars darzustellen. Die Methode wurde später von Hofmeister selbst<sup>2)</sup> und besonders von F. G. Hopkins und S. N. Pinkus<sup>3)</sup> durch das sogenannte «Säureverfahren» verbessert und Arbeiten über das krystallisirende Ovalbumin ausgeführt durch Gabriel,<sup>4)</sup> Bondzynski und Zoja,<sup>5)</sup> Fr. N. Schulz,<sup>6)</sup> Th. Osborne,<sup>7)</sup> F. G. Hopkins,<sup>8)</sup> Th. Osborne und G. Campbell,<sup>9)</sup> und in der allerneuesten Zeit von L. Langstein.<sup>10)</sup>

Durch die Untersuchungen von Bondzynski und Zoja wurde es fraglich, ob nur ein oder mehrere verschiedene Albumine aus dem Eierklar krystallisirt erhalten werden. Hofmeister trat dieser Auffassung entgegen. Durch die in den letzten Jahren ausgeführten sehr eingehenden und sorgfältigen Untersuchungen mittels fractionirter Krystallisation, welche Hopkins, Osborne und Campbell ausführten, wobei die verschiedenen Fractionen besonders untersucht wurden, darf man diese Frage als endgültig in dem Sinne entschieden betrachten, dass das Eierklar nur ein Albumin enthält, welches krystallisationsfähig ist. Diese Untersuchungen gaben für die specifische Rotation und die Zusammensetzung des krystallisirenden Albumins sehr gut übereinstimmende Resultate.

1) F. Hofmeister. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XIV, 1890, S. 165.

2) F. Hofmeister. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XVI, 1891, S. 187 und Bd. XXIV, 1897, S. 161—166.

3) Hopkins und Pinkus, The journal of physiol., Bd. XXIII, 1898—1899, S. 130.

4) S. Gabriel, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XV, 1891, S. 456.

5) Bondzynski und Zoja, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XIX, 1893, S. 1.

6) Fr. N. Schulz, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXV, 1898, S. 30 und Bd. XXIX, 1899, S. 88.

7) Th. Osborne, Journ. Amer. Chem. Soc., Bd. 21, S. 486.

8) F. G. Hopkins, The journal of physiol., Bd. 25, 1899—1900, S. 306.

9) Th. Osborne und Campbell, a. a. O.

10) L. Langstein, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol., Bd. 1, 1901, S. 83.

Bezüglich der Zusammensetzung sind indes alle Ansichten noch nicht übereinstimmend. Die ersten Analysen Hofmeister's von diesem Albumin gaben einen höheren Gehalt an Kohlenstoff und einen niedrigeren Gehalt an Stickstoff und besonders an Schwefel, als man in den von Bondzynski und Zoja ausgeführten Analysen und denen von Hopkins, Osborne und Campbell findet. Die späteren aus Hofmeister's Laboratorium erschienenen Analysen von Schulz und Langstein zeigen zwar grössere Uebereinstimmung mit diesen; ein merklicher Unterschied in dem Schwefelgehalt findet sich doch immer vor. Da die Frage, betreffend den Schwefelgehalt des Ovalbumins, für meine Untersuchungen Interesse hat, theile ich die Ergebnisse der besprochenen Analysen mit:

Kohlenstoff	Wasserstoff	Stickstoff	Schwefel	
%	%	%	%	
53.28	7.26	15.00	1.09	Hofmeister.
—	—	—	1.25	Schulz.
52.26	7.4	15.19	1.23	»
52.46	7.19	15.29	1.34	Langstein.
52.07—52.44	6.95—7.26	15.11—15.58	1.614—1.7	Bondzynski u. Zoja.
52.75	7.12	15.43	1.57	Hopkins.
52.57	6.94	15.68	1.61	Osborne.
52.75	7.10	15.51	1.62	Osborne und Campbell.

Die Analysen von Hopkins, Osborne, Osborne und Campbell und in der Hauptsache auch die von Bondzynski und Zoja stimmen untereinander gut überein. Von den Analysen Langstein's und noch mehr von denen von Schulz und Hofmeister differiren sie besonders in dem Gehalt an Schwefel. Zwar haben Osborne und Campbell im Eierklar noch ein Albumin, «Conalbumin», gefunden, welches nicht krystallisirt, ein höheres optisches Drehungsvermögen, einen etwas (doch nur wenig) höheren Gehalt an Schwefel hat und bei anderer (niedrigerer) Temperatur gerinnt; die Existenz dieses Albumins wurde von Langstein bestätigt. Man kann doch nicht die verschiedenen Analysenresultate durch Beimengung von diesem Albumin erklären: ebenso wenig können sie durch Annahme



einer Verunreinigung der analysirten Präparate mit der Globulin-Substanz («Ovomucin») oder mit Ovomuroid erklärt werden. Sowohl da, wo ein niedriger Schwefelgehalt gefunden wurde, als da, wo der Schwefelgehalt höher war, waren die analysirten Präparate sehr sorgfältig gereinigt, mehrmals unkrystallisirt, und derselbe Werth wurde in mehreren gut übereinstimmenden Analysen gefunden. Verschiedenheit der Darstellungsmethode, sei es, dass das Hofmeister'sche ursprüngliche Verfahren oder die «Säuremethode» von Hopkins angewandt wurde, kann nicht die Discrepanz der Analysen erklären: Schulz und Langstein haben nach dem «Säureverfahren» gearbeitet und niedrige Werthe erhalten; Hopkins, Osborne und Campbell haben hauptsächlich nach diesem gearbeitet, aber auch die ursprüngliche Hofmeister'sche Methode gebraucht und immer gleich hohe Werthe erhalten. Ich kann daher Langstein beistimmen, da er den Grund der Analysendifferenzen in anderen Momenten sucht. Dass der von ihm erwähnte Farbstoffgehalt von besonderer Bedeutung sei, scheint mir aber wenig wahrscheinlich, da man nach dem «Säureverfahren» farblose Präparate erhält. Eine andere Erklärung ist vielleicht möglich; ich will sie nennen, obgleich die Beurtheilung ihrer Bedeutung kaum durch die vorliegenden Untersuchungen ermöglicht ist.

Von mehreren Seiten und auch durch die oben erwähnten Untersuchungen ist es festgestellt worden, dass das Ovalbumin beim Kochen mit Säuren eine reducirende Substanz gibt; diese wird in der Form von einem stickstoffhaltigen Kohlenhydrat, Glykosamin, gefunden. Ueber die Menge der reducirenden Substanz, welche aus krystallisirtem Albumin<sup>1)</sup> erhalten wird, ist nicht viel bekannt. Bei Untersuchung eines nach dem ursprünglichen Hofmeister'schen Verfahren dargestellten Albumins erhielt Hofmeister eine so grosse Menge Osazonkrystalle, dass er die Kohlenhydratmenge auf 15% des Albumins veranschlägt (Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXXIV,

1) Für das nicht krystallisirte Albumin fand Seemann (Arch. f. Verda.-Krankh., Bd. 4, 1898) bis 7.2% reducirender Substanz, als Glykose berechnet.

S. 169). Osborne und Campbell fanden bei der Untersuchung von vier Fractionen des nach dem «Säureverfahren» dargestellten Albumins Osazonmengen, nach welchen sie 3—5% Kohlenhydrat für dieses Albumin berechnen. In welcher Weise das Kohlenhydrat am Eiweisse gebunden ist, wissen wir nicht: wir wissen aber, dass es ziemlich leicht abgespalten wird. Es ist daher von vornherein nicht sicher, dass das Kohlenhydrat für das Albumin constituirend ist; es scheint mir also nicht undenkbar, dass es mit dem Eiweiss nur mehr locker verbunden ist, und dass das mehrwerthige Eiweiss, wie es sich mit anderen Substanzen (z. B. Säuren nach Osborne) in verschiedenen Verhältnissen vereinigen kann, auch mit verschiedenen Mengen von der Kohlenhydratgruppe vereinigt sein kann, ohne dass die Haupteigenschaften und die Krystallisationsfähigkeit des Körpers dadurch verändert werden. Die Angaben von Hofmeister, Osborne und Campbell sprechen nicht gegen eine solche Annahme, sind aber nicht entscheidend: um dies zu entscheiden, wären sehr eingehende Untersuchungen nöthig, welche noch nicht vorliegen. Eine theilweise Abspaltung der Kohlenhydratgruppe würde einen höheren Werth sowohl des Stickstoffs, als besonders des Schwefels hervorrufen; insofern sind die oben angeführten analytischen Data mit der Annahme nicht unvereinbar; es würde aber auch eine Erhöhung des Kohlenstoffs folgen, welche sich nicht so vorfindet, wie man es erwarten konnte.

Wodurch ein verschiedener Gehalt an der Kohlenhydratgruppe herbeigeführt würde, ist unmöglich zu sagen. Ich habe den bei den verschiedenen Untersuchungen befolgten Weg, das Eiweiss trocken zu erhalten (bezw. Dialyse und Eintrocknen, Coagulation durch Alkohol oder durch Kochen), notirt, aber dabei keinen Anhaltspunkt zur Beleuchtung der Frage gefunden.

Wenn die Verschiedenheiten der Schwefelmenge des Albumins von einem verschiedenen Gehalt an der Kohlenhydratgruppe abhängig wären, so wäre es für die jetzt zu besprechenden Untersuchungen bedeutungslos, ob das gebrauchte Albumin mehr oder weniger Schwefel enthält.

Zur Darstellung des krystallisirten Ovalbumins habe ich



hauptsächlich die Angaben von Hopkins und Pinkus befolgt. Das Klar von Hühnereiern, welche nur einen oder ein paar Tage alt waren, wurde durch ein Tuch getrieben, mit dem gleichen Volumen gesättigter, neutraler Ammoniumsulfatlösung gemischt und nach Absetzen des Niederschlags filtrirt. Die Lösung wurde mit Essigsäure bis zu eben beginnender Trübung versetzt<sup>1)</sup> (die Reaction auf Lackmus war immer noch alkalisch) und dann in die Kälte (unter 0° C.) hingestellt,<sup>2)</sup> wobei eine reichliche Krystallmenge ausschied. Schon diese Krystalle erwiesen sich unter dem Mikroskop frei von amorphen Beimengungen: sie bildeten kleine Nadeln oder Rosetten von solchen. Nach einem oder ein paar Tagen wurden sie gesammelt. Die alkalische Mutterlauge wurde bei Zimmertemperatur mit Essigsäure bis zu eben merklich saurer Reaction versetzt: sie gab dann bisweilen in der Kälte mehr Krystalle von derselben Form und Reinheit.

Die Krystalle waren in Wasser ohne Zusatz von Natriumcarbonat leicht und klar löslich; sie waren also in dieser Hinsicht von den Serumalbuminkrystallen verschieden.

Die Krystalle wurden in Wasser gelöst und ein wenig Natriumcarbonatlösung zugesetzt. Dann wurde mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammoniumsulfatlösung gemischt und so viel Essigsäure, als ohne bestehende Trübung möglich war, zugesetzt. In der Kälte setzten sich wieder reichlich Krystalle desselben Aussehens wie früher ab.

Nach einem oder zwei Tagen wurden sie gesammelt und die Mutterlauge möglichst entfernt. Da man nach Hopkins schon nach einmaligem Umkrystallisiren ein reines Ovalbumin erhält, habe ich mich damit begnügt. Nach einem oder zwei Tagen wurden die Krystalle gesammelt und die Mutterlauge

1) Hopkins und Langstein setzen mehr Säure zu. Wenn auch der geringere Zusatz von Säure möglicher Weise eine niedrigere Ausbeute bedingen kann, so kann er der Reinheit der Krystalle nur nützlich sein.

2) Dass dies für die Krystallisation nachtheilig wäre, wie es Langstein angibt, habe ich nicht gefunden: meine Erfahrung geht eher in der entgegengesetzten Richtung.

möglichst entfernt. Nach dem Lösen in Wasser wurde das Albumin durch Kochen ausgeschieden, durch Aufschwemmen und Waschen mit Wasser, bis das stark eingeeengte Filtrat keine Reaction auf Schwefelsäure mehr gab, sorgfältig von der Mutterlauge gereinigt: nach dem Behandeln mit Weingeist und Aether wurde das Albumin getrocknet. Die Ausbeute war etwa 200 g umkrystallisirtes, trockenes Albumin aus 200 Eiern, also fast so gross, wie Hopkins, Osborne und Campbell angeben.

Zur Darstellung des Cystins wurden 80 g mit 200 ccm. Salzsäure (1,124) und 100 ccm. Wasser auf dem Wasserbade  $6\frac{1}{2}$  Tage erhitzt; Schwefelwasserstoff wurde dabei nicht entwickelt. Die Flüssigkeit hatte einen unangenehmen lauchartigen Geruch. Mit Kupfersulfat und Alkali gab die entfärbte Lösung eine kaum merkbare Violettfärbung; die Zersetzung war also nicht ganz vollständig.

Mit Nitroprussidalkali und Natronlauge gab sie eine schwache, rasch vorübergehende Rothfärbung, nach deren Verschwinden eine rothbraune Farbe auftrat. Um zu sehen, wie viel Cystein dieser Rothfärbung entsprechen könnte, wenn sie überhaupt von Cystein herrührte, wurde ein vergleichender, colorimetrischer Versuch mit einer Cysteinlösung gemacht, deren Cysteingehalt (durch Schwefelbestimmung) möglichst genau bekannt war. Dadurch wurde gefunden, dass die Cysteinmenge der ganzen Zersetzungsflüssigkeit höchstens 0,03 g ausmachen konnte, also einen unbedeutenden Theil des später gefundenen Cystins (0,3 g).

Die Lösung wurde im Vacuum eingekocht, mit Weingeist aufgenommen, mit Natronlauge neutralisirt und mit Essigsäure schwach angesäuert und zwei Wochen im Eisschrank stehen gelassen. Der entstandene Niederschlag wurde auf Cystin verarbeitet.

Die erhaltene Menge von umkrystallisirtem und gereinigtem Cystin betrug 0,30 g, also von dem Albumin etwa 0,38%. Der Schwefelgehalt desselben (Anal. Bel. Nr. 70) war 26,88% S, wodurch die Identität desselben sichergestellt wurde. Das Cystin bestand zum Theil aus sechsseitigen Tafeln: hauptsächlich aber aus Krystallen, welche zu Kugeln vereinigt waren.



Die Menge des gleichzeitig erhaltenen Tyrosins war 1,24 g = 1,5% des Albumins.

Eine Aschenbestimmung (Anal. Bel. Nr. 66) gab 0,66% Asche in dem Albumin. Dass dieser Werth so hoch ausfiel, kann vielleicht dadurch erklärt werden, dass kein Ueberschuss an Säure bei der Darstellung gebraucht wurde. Hopkins, der mit einem reichlicheren Zusatz von Säure arbeitete, fand in seinen Präparaten einen nur sehr geringen Aschengehalt.

Zwei Bestimmungen des Gesamtschwefels (Anal. Bel. Nr. 68) gaben resp. 1,59 und 1,57% S: im Mittel also 1,58% S. Der Schwefelgehalt dieses Albumins stimmt also mit dem von Hopkins, Osborne und Campbell gefundenen überein.

Da, nach dem oben über das Vorkommen der Kohlenhydratgruppe Gesagten, auch der Stickstoffgehalt für die Vergleichung des Albumins mit dem von anderen dargestellten krystallisirten Ovalbumin von Bedeutung sein kann, habe ich auch diesen Werth ermittelt. Die Bestimmung des Stickstoffs (Anal. Bel. Nr. 67) gab im Mittel aus zwei Bestimmungen 15,55% N. Der Stickstoffgehalt war also mit dem von Osborne und Campbell gefundenen übereinstimmend.

Der bleischwärende Schwefel wurde 0,43% S befunden (Anal. Bel. Nr. 69).

Nach dem Zersetzen mit Salzsäure wurden folgende Werthe erhalten (Anal. Bel. Nr. 71):

S im ungelösten Bodensatz	0,130%	S
S in der Form von Schwefelsäure	0,010%	»
S im Ungelösten des «Cystinniederschlag»	0,012%	»
S des «Cystinniederschlag»	0,076%	»
(entspr. Cystin = 0,29%)		
Bleischw. S d. «Cystinniederschlag»	0,063%	S
(entspr. Cystin = 0,31%)		
Ges.-S im Filtr. v. d. «Cystinniederschl.»	1,180%	»
Bleischw. S im Filtr. v. d. «Cystinniederschl.»	0,32%	S
Summa S	1,408%	S

Im Grossen und Ganzen stimmten diese Versuchsergeb-

nisse mit denen überein, welche bei dem nicht krystallisirten Albumin erhalten wurden.

Die Menge der Schwefelsäure ist ganz unbedeutend. Es findet sich keine Berechtigung, von einem «Albuminsulfat» zu sprechen. Trotzdem, dass das Ovalbumin und das Serumalbumin unter ganz ähnlichen Verhältnissen dargestellt und coagulirt worden waren, verhielten sich diese beiden Eiweisskörper ganz verschieden, indem das Serumalbumin Schwefelsäure aufnahm und so fest zurückhielt, dass sie nicht durch Waschen entfernt werden konnte, das Ovalbumin aber kein solches Säurebindungsvermögen zeigte.

Der ungelöste Bodensatz war ziemlich gross (= 4<sup>o</sup>/<sub>o</sub> des Albumins). Der darin enthaltene Schwefel war grösser, als ich sonst gefunden habe. Ob dieser Schwefel der ungelösten organischen Substanz selbst angehörte, lasse ich dahingestellt.<sup>1)</sup>

Dass das Cystin sehr unvollständig auskrystallisirte, ist offenbar, da ich bei der Darstellung von Cystin aus demselben Albumin 0,5<sup>o</sup>/<sub>o</sub> durch fractionirte Krystallisation gewonnenes Rohcystin und beinahe 0,4<sup>o</sup>/<sub>o</sub> analysenreines Cystin (s. oben) darstellen konnte. Wahrscheinlich war der Zusatz von Weingeist beim Ausfällen des Cystins unzureichend (vergl. S. 272). In dem Filtrate von dem «Cystinniederschlage» fand sich eine verhältnissmässig grosse Menge bleischwärenden Schwefels vor. Dass dies zum Theil von einer mangelhaften Abscheidung des Cystins abhängt, kann man aus dem eben Gesagten schliessen; im Uebrigen verweise ich auf das oben bei der Hornsubstanz Gesagte und die Auseinandersetzung, welche ich unten geben werde.

Dass der Schwefel des «Cystinniederschlages» in der Form von Cystin vorkam, ist ja durch die oben besprochene Darstellung von Cystin gestützt und ebenso durch den (doch der grossen Salzmenge wegen nicht gut gelungenen) qualitativen Nachweis von Cystin in demselben Niederschlage (Anal. Bel.

<sup>1)</sup> Bei der Bearbeitung der Hornsubstanz habe ich bisweilen eine Ausscheidung von freiem Schwefel beobachten können. (Vergl. vorig. Abh. S. 600.) Dies wurde hauptsächlich beobachtet, wenn die Erhitzung längere Zeit (etwa 2 Wochen) andauerte.



Nr. 71, vor d). Die Uebereinstimmung der Cystinmengen, welche sich aus dem Gesamtschwefel und dem bleischwärenden Schwefel des «Cystinniederschlags» berechnen lassen, bezeugt dasselbe; diese letzterwähnte Untersuchungsmethode hat sich auch bei diesem schwefelarmen Körper bewährt.

Für das Ovalbumin kann man die Ergebnisse kaum anders deuten, als dass neben der «cystingebenden» Gruppe Schwefel auch in anderer Bindung vorkomme. Wenn man annimmt, dass aller direkt bestimmte, bleischwärende Schwefel der «cystingebenden Gruppe» angehöre und man diesen Schwefel (0,43%) auf Cystin umrechnet, würde der Gesamtschwefel dieses Cystins 0,57% ausmachen, also höchstens 36% des Gesamtschwefels des Albumins.

Wenn man von den Daten ausgeht, welche bei der Zersetzung mit Salzsäure erhalten wurden, und den Gesamtschwefel des «Cystinniederschlags» (0,076%) mit dem Werthe (0,43%) zusammenrechnet, welcher sich in der eben erwähnten Weise aus dem bleischwärenden Schwefel im Filtrate von dem «Cystinniederschlage» berechnen lässt, so kommt man zu fast demselben Resultate: der Cystinschwefel wäre dann höchstens zu 0,51% des Albumins anzuschlagen, d. h. höchstens zu 32% von dem Gesamtschwefel des Albumins.

Dies spricht für die Gegenwart einer Dreizahl Schwefelatome in dem Ovalbumin. Wenn das Cystin mit seinen zwei Schwefelatomen gewissermaassen präformirt in dem Albumin vorkäme, wie es mir wahrscheinlich vorkommt, würde man im Molekül des Ovalbumins sechs Schwefelatome anzunehmen haben.

Die Summe der Einzelbestimmungen zeigte in diesem Versuch mit dem krystallisirten Ovalbumin einen bemerkbaren Verlust an Schwefel (0,17%); in noch höherem Grade war dies in der Untersuchung mit dem nicht krystallisirtem Albumin der Fall (vergl. S. 272;  $1,56 - 1,35 = 0,21\%$ ). Bei der letzterwähnten Untersuchung war ein lauchartiger Geruch auffallend.<sup>1)</sup>

1) Ein solcher Geruch trat nicht immer bei dem Erhitzen des Ovalbumins mit Salzsäure auf. Die Temperatur (vielleicht auch die Salzsäuremenge) scheint darauf Einfluss zu haben. Das Auftreten eines

Um zu untersuchen, ob die Bildung einer flüchtigen Schwefelverbindung vorkomme, wurde ein besonderer Versuch ausgeführt, wo das krystallisirte Ovalbumin durch Erhitzen mit Salzsäure zersetzt wurde (Anal. Bel. Nr. 72). Die gebildete Schwefelwasserstoffmenge war nicht grösser als dass im Ableitungsrohr, wo dieses in die Bleiacetatlösung eintauchte, ein ganz unbedeutender Ring gebildet wurde; sie war eben so minimal als in den übrigen Zersetzungsversuchen und kann den gefundenen Werth nicht merklich beeinflusst haben. Nach beendeter Erhitzung fand sich gar kein Schwefelwasserstoff in den Dämpfen der heissen Flüssigkeit: ein eingehängtes, mit Bleiacetat getränktes Papier wurde gar nicht gefärbt. Der Geruch der Flüssigkeit war lauchartig.

Das Abdestilliren der Flüssigkeit auf dem Wasserbade im Vacuum wurde so weit getrieben, wie es möglich war, um etwa vorhandene flüchtige Stoffe möglichst vollständig auszutreiben: bei der Abwesenheit von Salzen in diesem Versuche konnte dies leichter als sonst geschehen. Das Ergebniss der Untersuchung war auffallend. Statt der Gesamtschwefelmenge von 1,57 % S wurden nur 1,10 % S wiedergefunden. Nicht weniger als 30 % des Schwefels hatten sich verflüchtigt. Die Natur des flüchtigen Körpers habe ich noch nicht näher untersucht (es kann sich nicht um Schwefelwasserstoff gehandelt haben): nach den Angaben Drechsel's<sup>1)</sup> denkt man natürlicher Weise zuerst an Aethylsulfid. Dieser Versuch ist selbstverständlich hauptsächlich als ein Anfang von fortgesetzten Untersuchungen zu betrachten, welche, soviel ich gegenwärtig sehen kann, am nächsten für die cystinarmen Proteinkörper (Ovalbumin, Casein u. a.) Interesse darzubieten scheinen.

ähnlichen Geruchs habe ich bei Casein beobachtet. In einem Versuche mit der Schalenhaut des Hühnereies war dies vielleicht auch der Fall. Bei der Bearbeitung der Substanz des Rinderhorns habe ich mehrmals einen unangenehmen Geruch notirt; dieser ist doch vielleicht etwas anders als der jetzt besprochene.

<sup>1)</sup> Drechsel, Centralbl. f. Physiologie, Bd. 10, 1896, S. 529.



## Casein.

Das Casein der Kuhmilch wurde nach Hammarsten mit Essigsäure gefällt, gut gewaschen, mit schwachem Alkali aufgelöst, wiederholt ausgefällt, gut gewaschen, mit Alkohol und Aether entfettet und getrocknet.

Im Mittel von zwei Bestimmungen (Anal. Bel. Nr. 73) wurde der bleischwärende Schwefel zu 0,067 % S gefunden.

Dieser niedrige Gehalt an bleischwärendem Schwefel konnte Zweifel erregen, ob das Caseinpräparat rein war. Hammarsten<sup>1)</sup> gibt aber an, dass er kein Casein gesehen habe, welches nicht eine ganz unzweifelhafte Schwefelreaction (gelbe oder braungelbe Färbung) beim Kochen mit Bleiacetat und Alkali gab; diese Reaction war stärker, wenn das Casein mit Salzsäure gefällt worden war, als wenn Essigsäure bei der Darstellung benutzt wurde; er fügt die Bemerkung hinzu: «es fragt sich also, ob nicht doch jenes Casein vielleicht als Verunreinigung eine zweite schwefelreichere Eiweisssubstanz enthalten könnte: er betrachtet aber eine solche Verunreinigung (mit einer globulin- oder albuminähnlichen schwefelreicheren Substanz) als etwas nicht constant Vorkommendes, was nach dem Fällen des Caseins mit Salzsäure vorkommen kann: bei den qualitativen und quantitativen Untersuchungen des mit Essigsäure gefällten und gereinigten Caseins fand er sich nicht veranlasst, die Einheitlichkeit dieses Caseins zu bezweifeln. Um einen Beitrag zur Beleuchtung der Frage über die Einheitlichkeit des Caseins zu liefern, habe ich ein Caseinpräparat durch fünfmaliges Fällen mit Essigsäure bereitet; die Mutterlauge war bei jeder Fällung stark sauer und dürfte etwaige Globulinsubstanz aufgelöst enthalten haben. Das fertige (mit Alkohol und Aether behandelte) Casein hatte unveränderte Löslichkeit, und bei Gegenwart von Kochsalz coagulirte es typisch, mit Lab. Die Bestimmung des bleischwärenden Schwefels (Anal. Bel. Nr. 74) gab 0,061 % S.

<sup>1)</sup> Hammarsten, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. VII, 1883, S. 249 u. ff.

Der Gehalt an bleischwärendem Schwefel war also nach fünfmaligem Fällen nicht deutlich geringer als nach zweimaligem. Da Hammarsten im Uebrigen gefunden hat, dass die Zusammensetzung des Caseins und die qualitativen Eigenschaften desselben unverändert bleiben, wenn man das Casein mehrmals fällt und auflöst, kann man nicht anders, als das Casein wenigstens insofern als «einheitlich» zu betrachten, als es nicht durch mehrmaliges Fällen und Wiederauflösen zerlegt werden kann. Die erwähnten Ergebnisse sprechen auch für die Auffassung, dass das Casein ein chemisch einheitlicher Stoff sei. Wenn es mit einem fremden, unbekanntem Körper<sup>1)</sup> gemengt wäre, ohne damit vereinigt zu sein, würde es schwierig sein, zu erklären, dass dieser stets in derselben Proportion vorkomme und dass er durch Fällen, Wiederauflösen u. s. w. sich gar nicht entfernen lasse. Man muss aber andererseits hervorheben, dass, wenn man das Casein als chemisch einheitlich betrachtet, man demselben eine auffallende Molekulargrösse zuerkennen muss.

Von dem zweimal gefällten lufttrockenen Casein wurden 100 g mit 250 ccm. Salzsäure (1,124) und 250 ccm. Wasser auf dem Wasserbade 5 Tage erhitzt, wobei die Entwicklung eines lachartigen Geruches auffallend war. Bei der Bearbeitung von Cystin wurden 17 mg tyrosinfreie, schön ausgebildete sechseckige Tafeln erhalten, welche bleischwärend waren und zu Millon's Reagens sich wie Cystin verhielten. Die Bildung von Cystin war also unzweifelhaft.

---

<sup>1)</sup> Ich finde mich nicht veranlasst, dabei an das Opalisin Wroblewski's zu denken. Zwar hat das Opalisin Fällbarkeit wie ein Albuminat, und F. Alexander (Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. XXV, 1898, S. 414) vermuthet auf Grund der Ergebnisse beim fractionirten Fällen mit Ammoniumsulfat, dass das Casein eine «sehr geringe» Menge einer albuminatähnlichen Substanz enthalte. Wroblewski (Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. XXVI, 1898, S. 311) findet in dem einmal gefällten Kuhmilchcasein (über das mehrmals gefällte Casein äussert er sich nicht) Opalisin. Die Menge desselben ist aber in der Kuhmilch gering, und ausserdem kann es hier nicht in Betracht kommen, da das Opalisin (aus Stutenmilch) «fast keinen bleischwärenden Schwefel abspaltet» (weniger als das Casein).



Das Tyrosin, welches in diesem Versuche erhalten wurde, betrug etwa 3,2 g.

Dieser Versuch hat auch deshalb Interesse, weil er zeigt, dass man nach meiner Methode das Cystin auch da wiederfinden kann, wo die Menge desselben sehr gering ist: eine quantitative Bestimmung zu versuchen, scheint jedoch hoffnungslos zu sein.

**Geht der Cystinbildung eine Bildung von Cystein voran?**

Da man bei der Hydrolyse der Proteinstoffe Cystin erhält, entsteht die Frage, ob das Cystin primär entsteht, oder ob es aus zuerst gebildetem Cystein durch Oxydation gebildet wird.

In meiner vorigen Abhandlung (S. 610—612) habe ich mit recht grosser Wahrscheinlichkeit eine Bildung von Cystein nach zweiwöchentlichem Erhitzen von Hornsubstanz mit Salzsäure nachweisen können. Nachdem das Cystin möglichst vollständig durch Neutralisation und Krystallisation abgetrennt worden war, wurde die Mutterlauge unter Einhaltung von neutraler oder schwach saurer Reaction theils mit Kupferacetat und theils mit Quecksilberchlorid und Mercuriacetat gefällt. Nach dem Zersetzen dieser Niederschläge mit Schwefelwasserstoff wurden die Lösungen stark eingeeengt: keine Ausscheidung von Cystin fand dabei statt. Die Lösungen gaben mit Eisenchlorid, mit Kupfersulfat und mit Nitroprussidnatrium nebst Natronlauge dieselben Farbenreactionen wie Cystein. Nach der Oxydation mit Jod konnte Cystin leicht auskrystallisirt erhalten werden.

Zwar habe ich später gefunden, dass die erwähnten Farbenreactionen nicht eindeutig und also wenig beweisend sind. Ich habe nämlich nach dem Zersetzen der Quecksilberfällungen mit Schwefelwasserstoff diese Reactionen mit grosser Stärke auch da auftreten sehen, wo ich vor dem Fällen mit Quecksilbersalz gar keine Cysteinreaction mit der empfindlichen Nitroprussidalkaliprobe erhalten konnte und wo die Bearbeitung der Quecksilberfällung mir kein Cystin gab. Da ich in dem oben erwähnten Falle das Cystin zuerst möglichst vollständig entfernt hatte und bei der Bearbeitung der erwähnten Fällungen

nicht nur die Farbenreactionen erhielt, sondern auch eine nicht unbeträchtliche Menge Cystin durch Oxydation mit Jod darstellen konnte, so scheint mir die gemachte Annahme, dass Cystein sich vorfand, berechtigt.

Diese Bildung von Cystein scheint mir aber der Cystinbildung nicht voranzugehen, sondern nachzufolgen, also etwas Secundäres zu sein. In anderen Versuchen, wo die Hornsubstanz kürzere Zeit (4 Tage bis eine Woche) andauerte, konnte ich keine Cysteinbildung aufweisen. In dem in Paris gehaltenen Vortrag habe ich mich deshalb dahin ausgesprochen, dass das Cystin bei der Spaltung des Proteinstoffes direkt gebildet zu werden scheint und nicht aus einem zuerst abgespaltenen Cystein entsteht.

Seitdem ist eine Abhandlung von Embden<sup>1)</sup> erschienen, in der er zu der Auffassung kommt, dass er zwar für die Keratinsubstanzen eine unmittelbare Abspaltung von Cystin zugibt, aber bei den schwefelarmen Eiweissstoffen bei kurzdauernder Erhitzung nur Cystein findet.

Es wäre sehr interessant, wenn dem so wäre. Die Entstehung der Keratinsubstanzen würde dadurch eine Beleuchtung erhalten und eine Grenze zwischen diesen Substanzen und den eigentlichen Eiweisskörpern gezogen werden. Ich sehe mich dadurch veranlasst, auf diese Frage etwas näher einzugehen.

Mehrmals habe ich bei den Arbeiten nach meiner Methode die entfärbte Lösung der Zersetzungsprodukte mittels der empfindlichen Nitroprussidreaction auf Cystein geprüft und ein negatives Ergebniss erhalten. Vergl. Serumalbumin (Anal. Bel. Nr. 42 vor e); Serumglobulin (Anal. Bel. Nr. 47 vor e); Fibrinogen (Anal. Bel. Nr. 60 vor e); Ovalbumin (Anal. Bel. Nr. 71 vor f). Es fand sich doch stets eine mehr oder weniger reichliche Menge bleischwärenden Schwefels im Filtrate von dem «Cystinniederschlage» vor; wenn dieser Schwefel, oder ein mehr beträchtlicher Theil desselben in der Form von Cystein sich vorgefunden hätte, würde diese empfindliche Probe nicht negativ ausgefallen sein.

<sup>1)</sup> Embden, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXXII, 1901, S. 94.



Ein colorimetrischer Versuch mit Ovalbumin (s. oben S. 280), wo diese Reaction nicht völlig negativ war, zeigte doch, dass auch in diesem Falle die etwa gegenwärtige Cysteinmenge verschwindend klein war.

Der Jodverbrauch in dem Filtrate von dem «Cystin-niederschlage» war auch so minimal, dass die Cysteinmenge, wenn Cystein überhaupt da vorkam, so gering war, dass man ihr schwerlich eine Bedeutung zumessen kann (vergl. einen Versuch mit Haaren, Anal. Bel. Nr. 76).

Man könnte vielleicht einwenden, dass Cystein primär gebildet wird, sich aber bei dem langdauernden Erhitzen zu Cystin oxydirt. Ich will dabei bemerken, dass ich weder bei der Darstellung des Cystins einen Unterschied fand, wenn das Zersetzen unter Wasserstoff geschah (vorige Abhandl. S. 613), noch bei den quantitativen Versuchen eine Einwirkung sah, wenn die Luft aus dem Zersetzungskolben durch Kohlensäure verdrängt worden war (Anal. Bel. Nr. 20, 21 und 27).

Diese Beobachtungen sprechen gegen die Annahme einer Cystinbildung durch Oxydation von Cystein.

Es schien mir doch nothwendig, die spontane Oxydation des Cysteins beim Erhitzen von dessen salzsaurer Lösung näher zu verfolgen. Zuerst versuchte ich das dabei gebildete Cystin durch Neutralisation abzuscheiden und zu bestimmen. Es erwies sich aber, dass das Cystein bei neutraler oder schwach saurer Reaction allzuleicht oxydirt wurde, um überzeugende Resultate hervorgehen zu lassen. Ein in dieser Weise ausgeführter Versuch, wobei Cystein 4<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Tage in salzsaurer Lösung (10% HCl) erhitzt wurde, gab eine Oxydation von etwa der Hälfte des Cysteins.

Zur sicheren Ermittlung der Frage wurde die Oxydation durch Bestimmung der Veränderung der optischen Drehung bei der spontanen theilweisen Oxydation und bei der durch Jodzusatz bewirkten vollständigen Oxydation untersucht. Es besteht nämlich ein bedeutender Unterschied in dem Drehungsvermögen des Cystins und des Cysteins: das typische Links-Cystin hat eine spezifische Drehung von  $\alpha_D = -223-224^\circ$ ; das entsprechende Cystein hat eine Drehung, welche nahe

bei 0 liegt: in einem Versuche schien es schwach rechtsdrehend zu sein (vergl. Anal. Bel. Nr. 76 b).<sup>1)</sup> Bei der Ausführung der Versuche wurde auch auf die Gegenwart von anderen Zersetzungsprodukten des Proteinstoffes Rücksicht genommen.

Die in dieser Weise ausgeführten Versuche (Anal. Bel. Nr. 75 und 76) haben ergeben, dass in dem einen Versuche sich während des viertägigen Erhitzens ein Viertel des Cysteins oxydiert hatte, und in dem anderen Versuche während des fünftägigen Erhitzens etwa die Hälfte. Ich hatte diese Dauer der Erhitzung gewählt, weil dies am nächsten dem entsprechen dürfte, was bei dem Spalten der Proteinstoffe mit Salzsäure vorkam. Die Proteinstoffe wurden nämlich 4, 6, 7 Tage mit der Säure erhitzt; manchmal war die Substanz erst am zweiten Tage gelöst; die vollständige Spaltung derselben mit Verschwinden der Biuretreaction fand erst mehrere Tage später statt. Man kann daher auf gute Gründe annehmen, dass Cystein, wenn solches gebildet wurde, im Ganzen nicht länger als 4—5 Tage der Einwirkung der Luft ausgesetzt war. Es ist übrigens hierbei zu bemerken, dass in den Versuchen, wo die Proteinstoffe zersetzt wurden, der freie Zutritt der Luft dadurch verhindert war, dass der Kolben mit einem eingeschliffenen Ableitungsrohr versehen war, welches in eine Flüssigkeit (Bleiacetatlösung) eintauchte, während in den jetzt besprochenen Versuchen mit Cystein absichtlich keine besonderen Massregeln getroffen waren, um den Zutritt der Luft zu verhindern.

Diese Versuche über die Oxydation des Cysteins sprechen entschieden dafür, dass, wenn zuerst Cystein und erst dann aus diesem das Cystin gebildet werde, ich zu der Zeit, wo die Erhitzung der Proteinstoffe mit der Säure abgebrochen

<sup>1)</sup> Baumann (Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. VIII, 1884, S. 304 und Bd. XVI, 1892, S. 564) gibt für das Cystin  $\alpha_D = -12,6^\circ$  an. Diese Angabe gründet sich auf einen Versuch, wo die salzsaure Lösung des Cysteins zum Trocknen abgedampft wurde. Die Möglichkeit der Oxydation war dabei nicht ausgeschlossen, wodurch Cystinbildung und Erhöhung der Linksdrehung (bezw. Uebergang von Rechtsdrehung zu Linksdrehung) eintreten konnte.



wurde, einen grossen oder wahrscheinlich den grösseren Theil des eventuell gebildeten Cysteins als solches dürfte wieder gefunden haben. Da ich aber mit der empfindlichen Nitroprussidalkalireaction entweder gar keine Färbung wie von dem Cystein erhielt, oder nur eine ganz schwache, andererseits aber bei längerer Erhitzung (zwei Wochen) eine nicht unbedeutliche Bildung von Cystein gefunden habe, so scheint es mir nicht annehmbar, dass bei der Zersetzung von den Proteinstoffen das Cystein ein Vorstadium des Cystins sei.

Um diesen Schluss noch sicherer zu begründen und die Auffassung Embden's zu prüfen, habe ich auch die Zersetzung eines eigentlichen Eiweissstoffes nach den Vorschriften Embden's ausgeführt. Zu diesem Zwecke habe ich das Serumalbumin gewählt, weil die cystingebende Gruppe darin verhältnissmässig reichlich vertreten ist, und eine eventuelle Bildung von Cystein daher relativ leicht nachgewiesen werden darf; bei Bearbeitung von diesem Eiweissstoff entgeht man der Complication, welche die in dem Ovalbumin reichlich vorkommende Kohlenhydratgruppe verursachen kann.

Von dem oben erwähnten, nicht krystallisirten Serumalbumin, aus welchem 2,27% Cystin auskrystallisirt erhalten wurden (s. oben), wurden 5 g mit 15 ccm. Salzsäure (1,124) am Rückflusskühler 6 Stunden gekocht; da die Flüssigkeit in völligem Kochen gehalten wurde, war der Zutritt der Luft dadurch verhindert. Die mit Thierkohle entfärbte und filtrirte Lösung wurde sogleich untersucht. Sie gab mit Nitroprussidnatrium und Natronlauge nur eine braunrothe Färbung, keine Purpurfarbe, wie vom Cystein bemerkt wurde. Die neutralisirte und mit zwei Volumen Weingeist versetzte Lösung setzte allmählich Krystalle von Cystin ab.

In einem zweiten Versuche mit demselben Albumin wurden 5 g in derselben Weise verarbeitet. Das Volumen der entfärbten Lösung war 80 ccm. Diese Lösung gab mit Nitroprussidalkali und Natronlauge gar keine Farbe. Da die Empfindlichkeitsgrenze der Reaction unter diesen Umständen zu 1 : 20 000 veranschlagt werden kann (Anal. Bel. Nr. 77), konnte die Lösung nicht soviel als 4 mg Cystein enthalten haben,

während die aus dem Albumin erhältliche Cystinmenge wenigstens 112 mg ausmachte. Eine Cysteinbildung, wenn sie überhaupt stattfand, war also ganz bedeutungslos.

In einem dritten Versuche wurden 10 g desselben Albumins in derselben Weise bearbeitet: nach dem Kochen wurde die heisse Flüssigkeit in ein Probirröhrchen gegossen und mit einer Schicht Wasser vor der Einwirkung der Luft geschützt. Nach dem Entfärben und Waschen der Thierkohle betrug die Lösung 80 ccm. Die Biuretprobe fiel gänzlich negativ aus; die Zersetzung des Albumins war also hinreichend vollständig. Bei Ausführung der Nitroprussidreaction gab sie vielleicht eine Andeutung von einer Purpurfarbe, wie bei Gegenwart von Cystein; der mögliche Cysteingehalt der Lösung kann also höchstens 1:20 000 gewesen sein, was für die ganze Flüssigkeit höchstens 4 mg ausmacht, während die aus dem Albumin erhältliche Menge Cystin wenigstens 227 mg war.

In diesem Versuche wurde auch der Jodverbrauch der Lösung bestimmt. 20 ccm. verbrauchten 0,15 ccm. Jodlösung  $n/10$ , was 8 mg Cystein entsprechen würde (wenn der Jodverbrauch gänzlich von Cystein bedingt wäre). Gegen die aus dem Albumin erhältliche Cystinmenge (227 mg) wäre also das Cystein, wenn es überhaupt zugegen war, verschwindend klein (nicht 4% von dem Cystin).

Aus diesen Versuchen kann ich schliessen, dass auch bei dem von Embden benutzten Verfahren, wo das Erhitzen mit der Säure nur 5—6 Stunden dauerte, aus dem Serumalbumin entweder gar kein Cystein gebildet wurde, oder die Menge desselben jedenfalls bedeutungslos war.

Andere, leicht zugängliche eigentliche Eiweisskörper, wie Ovalbumin und Serumglobulin, habe ich nicht in diese Untersuchung hineingezogen, weil ein positiver Ausschlag mit diesen wenig beweisend ist, da sie beide reich an Kohlenhydratgruppen sind und eine Cysteinbildung, wenn solche auftritt, secundär und durch eine reducirende Einwirkung des Kohlenhydrats bedingt sein könnte. Die oben bei dem Berichte über die einzelnen Eiweisskörper und die S. 288 mitgetheilten That-sachen sprechen jedoch dafür, dass auch für sie dasselbe wie



für Serumalbumin gilt, da ich nämlich mit der Nitroprussid-reaction kein Cystein, oder wenigstens keine beachtenswerthe Menge desselben nachweisen konnte.

Auf Grund meiner Versuche kann ich also Embden nicht beistimmen. Ich muss deshalb versuchen, eine Ursache unserer verschiedenen Auffassung zu finden. Der einzige Versuch, über welchen Embden nähere Mittheilungen gibt, ist mit käuflichem (also wahrscheinlich mucoidhaltigem) Eiereiweiss ausgeführt worden, wobei die Gegenwart der Kohlenhydrat-gruppe nicht berücksichtigt wurde. Uebrigens scheint mir der Nachweis des Cysteins nicht bindend. Die Abspaltung von Schwefelalkali mit Natronlauge, die Farbenreactionen mit Eisen-chlorid und mit Kupfersulfat, die Rothfärbung mit Nitroprussid-alkali und Natronlauge habe ich (s. S. 287) nach dem Zer-setzen von Quecksilberniederschlägen mit Schwefelwasserstoff auch da mit grosser Stärke (wie für Cystein) auftreten sehen, wo ich weder durch Oxydation Cystin gewinnen konnte, noch vor dem Fällern mit dem Quecksilbersalz und dem Behandeln mit Schwefelwasserstoff die Spur von den genannten Farben-reactionen finden konnte. Es scheint mir daher, trotz der gewissermassen gegentheiligen Behauptung Suter's,<sup>1)</sup> möglich, dass bei der Einwirkung von Schwefelwasserstoff Körper ent-stehen, welche diese Reactionen geben. Als beweisend für die Gegenwart von Cystein kann ich also ihr Auftreten nicht betrachten. Dazu kommt, dass es nicht überzeugend bewiesen ist, dass das Cystin, welches Embden nach Durchleitung von Luft aus der Lösung gewann, durch eine Oxydation wirklich gebildet wurde: es kann von Anfang an als Cystin vorge-kommen sein. Nach dem Zersetzen mit Salzsäure wurde nämlich die neutralisirte Lösung mit Quecksilberchlorid (und Natronlauge) gefällt, der Niederschlag mit Schwefelwasserstoff zersetzt und die Lösung nach Zusatz von ein wenig Salzsäure durch Kochen vom Schwefelwasserstoff befreit. Es wird nicht angegeben, dass diese Flüssigkeit auf präformirtes Cystin unter-sucht wurde. Die Flüssigkeit wurde ammoniakalisch gemacht

1) Suter, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XX, 1895, S. 580.

und während ca. 24 Stunden ein langsamer Luftstrom hindurchgeleitet: die Farbenreactionen wurden dann nicht mehr erhalten. Nachdem die Lösung bei salzsaurer Reaction stark eingeeengt worden war, wurde sie mit Ammoniak neutralisirt und mit Essigsäure schwach angesäuert. Beim Stehen in dem Vacuumexsiccator schieden sich in acht Tagen Krystalle von Cystin ab: da auf die Abwesenheit von präformirtem Cystin nicht geprüft worden war, beweist dies nicht, dass das gefundene Cystin durch Oxydation aus Cystein entstanden war. Unter der Einwirkung der Luft verschwanden zwar die Farbenreactionen: dies beweist aber nicht eine Cystinbildung aus Cystein, wenn diese Reactionen, wie es möglich scheint, durch andere Substanzen als Cystein bedingt waren. Auch wenn es so wäre (was Embden nicht erwähnt), dass das Cystin vor dem Fällen mit Quecksilbersalz gesucht, aber nicht gefunden wurde, und dass es also erst nach dem Fällen mit Quecksilbersalz nachgewiesen werden konnte, bewiese dies auch nicht die Abwesenheit von präformirtem Cystin. Dass die Gegenwart von grossen Mengen von anderen Stoffen (wie Salze) für die Abscheidung des Cystins hinderlich sein kann, habe ich beobachtet. Da Cystin nach Suter (S. 573) sowohl als Cystein mit Quecksilberchlorid schwerlösliche Verbindungen eingeht (was mit meinen Beobachtungen, vorige Abhandlung S. 603 und 606, übereinstimmt) und also in dieser Weise von anderen Stoffen gewissermaassen getrennt werden kann, ist es leicht erklärlich, wenn es erst nach der Fällung mit Quecksilbersalz isolirt werden kann, als es in geringer Menge vorkommt.

Da ich beim Arbeiten nach meiner Methode keine primäre Cysteinbildung nachweisen konnte,<sup>1)</sup> und da ich bei Wiederholung von Embden's Versuchen auch keine Cysteinbildung (wenigstens nicht in nennenswerthem Grade) fand, und da Embden eine primäre Cysteinbildung nicht überzeugend bewiesen hat, muss ich für die von mir untersuchten Protein-

<sup>1)</sup> Die Spuren von Cystein, welche vielleicht bisweilen zugegen waren, können secundär entstanden sein, wie es bei länger dauerndem Erhitzen mit nicht geringer Wahrscheinlichkeit nachgewiesen werden kann.



substanzen (mit Ausnahme vielleicht für das Casein, welches in dieser Hinsicht nicht untersucht werden konnte) die Cysteinbildung als etwas Primäres in Abrede stellen und dagegen die primäre Entstehung des Cystins selbst annehmen.

Da ich keine Cysteinbildung als Vorstadium für die Entstehung des Cystins gefunden habe, muss ich als wahrscheinlich annehmen, dass das Cystin sozusagen präformirt in dem Molekül des Proteinstoffes enthalten sei. Diese Annahme gewinnt dadurch an Wahrscheinlichkeit, dass Cystin nicht nur durch Zersetzen mit Salzsäure, sondern auch durch Trypsindigestion erhalten werden kann. Wie diese «cystingebende Gruppe» aufgebaut ist, muss doch bis auf Weiteres dahin gestellt bleiben, bis man Zwischenstadien bei der Cystinbildung finden kann, was mir nicht aussichtslos erscheint.

Wenn Baumann's Cystinformel richtig ist, dürfte man annehmen, dass die zwei Schwefelatome, welche das Cystinmolekül nach dieser Formel enthalten soll, in einer und derselben «cystingebenden Gruppe» sich befinden: rücksichtlich der cystinarmen Eiweisskörper (wie Ovalbumin und Casein) scheint dies doch etwas befremdend.

#### **Ueber die Bindung des Schwefels in den untersuchten Proteinkörpern.**

Um diese Frage durch die ausgeführten Zersetzungsversuche näher zu beleuchten, stelle ich die Ergebnisse der in dieser Richtung ausgeführten quantitativen Bestimmungen tabellarisch zusammen (Tab. 1). Unter den untersuchten Präparaten befindet sich auch das nicht krystallisirte Serumalbumin und das nicht krystallisirte Ovalbumin. Da diese Präparate nicht als einheitlich, sondern als Gemenge zu betrachten sind, kann man selbstverständlich an diese Substanzen ein nur untergeordnetes Interesse knüpfen, wenn ich das krystallirte Serumalbumin und Ovalbumin untersucht habe.

Ueber die Einheitlichkeit des Serunglobulins habe ich mich schon oben ausgesprochen: wenn es auch nicht gelingt, das Serunglobulin frei von geringen Mengen fremder Substanzen darzustellen, so finde ich es mit den Thatsachen meiner Untersuchungen am besten übereinstimmend, wenn man

Tabelle 1.

	Blei- schwärzender Schwefel.		Gesamtschwefel % (* nach Abzug f. SO <sub>3</sub> )	Erhitzen mit HCl; im ungelösten Bodensatz %	Erhitzen mit HCl; abgespal. SO <sub>3</sub> %	Erhitzen m. HCl: der «Cystin- niederschlag» Ges. Schwefel		Erhitzen m. HCl: der «Cystin- niederschlag» Blei- schwärzender Schwefel		Erhitzen m. HCl: Filtrat v. d. «Cystin- niederschlag» Bleischwärzend. Schwefel		Erhitzen m. HCl.; Filtr. v. d. «Cystinnieder- schlage»; Ges. Schwefel: %	Nach d. Erhitz. mit HCl wiedergef. Schwefel. % S (* Nach Abzug f. SO <sub>3</sub> )	VI + X z. Vergl. mit I
	0 %	S				Entspr. Cystin in 0 %	0 %	S	Entspr. Cystin in 0 %	0 %	S			
Rinderhorn . . . .	2.48	3.30	3.23*	—	0.16	1.82	6.8	—	—	1.05	1.40	1.34	3.16*	2.87
Menschenhaare . .	4.07	5.43	5.435*	0.0066	0.195	3.712	13.92	2.774	13.83	0.947	1.26	1.545	5.323*	4.66
Serumalbumin (nicht kristall.)	1.02	1.33	1.36*	—	0.464	0.607	2.27	—	—	0.657 <sup>1)</sup>	0.87 <sup>1)</sup>	0.794	1.40*	1.25 <sup>1)</sup>
Serumalbumin (kristallisiert)	1.29	1.72	1.73*	0.0023	0.421	0.55	2.06	0.406	2.02	0.54	0.72	0.858	1.44*	1.09
Serumglobulin . .	0.67	0.89	0.97*	0.016	0.05	0.674	2.53	0.483	2.41	0.757	1.01	1.11	1.81*	1.43
Schalenhaut des Hühneries .	2.47	3.29	4.19	0	0.26	2.03	7.62	—	—	0.294	0.39	0.557	0.975*	0.70
Fibrinogen . . . .	0.465	0.62	1.07*	0.016	0.063	0.312	1.17	0.233	1.16	0.84	1.12	1.93	4.22	2.87
Oralbumin (nicht kristallisiert)	0.54	0.72	1.55*	0.085	0.014	0.078	0.30	—	—	1.03	1.37	2.15	4.29	2.92
Oralbumin (kristallisiert) . .	0.43	0.57	1.58*	0.13	0.010	0.076	0.29	0.063	0.31	0.275	0.37	1.17	1.33*	0.50

1) Wahrscheinlich zu hoch.



annimmt, dass der bisherige Begriff «Serumglobulin» nur einem Eiweisskörper entspricht, welcher die grosse Hauptmasse der Globulinsubstanzen des Blutserums darstellt.

Das Casein ist in der Tabelle nicht aufgenommen worden, da es nicht möglich war, mit diesem cystinarmen Körper eine ganze Untersuchungsreihe durchzuführen.

Das käufliche Bluteiweiss wurde nur zur Darstellung des Cystins benutzt und kann daher in der Tabelle keinen Platz finden.

Die drei ersten Spalten der Tabelle I beziehen sich auf die mit den Substanzen unmittelbar ausgeführten Bestimmungen des Gesamtschwefels und des «bleischwärenden» Schwefels, d. h. des durch die Einwirkung des Alkalis in der Form von Schwefelkali abspaltbaren Schwefels. Die Spalten IV – XIV beziehen sich auf die nach dem Zersetzen der Substanz mit Salzsäure ausgeführten Bestimmungen.

Die Spalte IV enthält die Werthe für den Schwefel des ungelösten Rückstandes. Dieser Schwefel kann aus frei ausgeschiedenem Schwefel bestanden haben, er kann möglicher Weise in der ungelösten Substanz organisch gebunden gewesen sein; da die Menge desselben von ganz untergeordneter Bedeutung ist, habe ich dies nicht näher untersucht.

In der Spalte V wird der Schwefel verzeichnet, welcher in der Form von Schwefelsäure gefunden wurde. Für die Substanz des Rinderhorns und der Menschenhaare und besonders für das Serumalbumin habe ich oben dargelegt, dass diese Schwefelsäure nicht der Substanz selbst angehört, sondern mit derselben salzartig (als ein Sulfat derselben) gebunden ist. Für das Serumglobulin und das Ovalbumin, vielleicht auch für das Fibrinogen ist es anzunehmen, dass dieser Schwefel den Aschenbestandtheilen angehört. Für die jetzt erwähnten Proteinstoffe wird daher dieser Schwefel abgerechnet. Für die Substanz der Schalenhaut liegt die Sache weniger klar vor: bei direkter Untersuchung konnte ich nur den Mindertheil von diesem Schwefel mit Ammoniak auslaugen; ich kann daher nicht ausschliessen, dass der grössere Theil von diesem Schwefel in der Schalenhaut organisch ge-

bunden sei, und ich finde mich daher nicht berechtigt, diesen Schwefel abzurechnen.

Die Spalte XIII enthält die Summe der Schwefelbestimmungen nach dem Erhitzen mit Salzsäure (mit Abrechnung des als Schwefelsäure wiedergefundenen Schwefels, wie eben gesagt). Für die Mehrzahl der Substanzen stimmen diese Werthe mit dem Gehalt an Gesamtschwefel (Spalte III) gut überein. Eine sehr interessante Ausnahme macht das Ovalbumin; es zeigt sich nämlich, dass bei der Zersetzung des Ovalbumins flüchtige schwefelhaltige Produkte (nicht  $H_2S$ ) gebildet werden können (Aethylsulfid?): aus dem besonderen Versuch, dessen Resultat durch die letzte Ziffer der Spalte XIII wiedergegeben wird, geht dies unzweideutig hervor. Für die Menschenhaare findet sich eine kleine Differenz: sie ist aber allzu klein, um einen sicheren Rückschluss zuzulassen, und ist jedenfalls von untergeordneter Bedeutung.

Aus allen Proteinstoffen, welche bleischwärenden Schwefel enthalten, habe ich, so weit die Untersuchungen bisher reichen, Cystin erhalten können: dies gilt auch für das Casein, welches nicht mehr als etwa 0,06—0,07% bleischwärenden Schwefel enthält.

Spalte VI—IX beziehen sich auf die Bestimmungen des nach meinem oben beschriebenen Verfahren erhaltenen, auskrystallisirten Cystins. Als hierbei maassgebend betrachte ich die Bestimmungen des Gesamtschwefels in dem «Cystinniederschlage» (Spalte VI) und die aus diesen Werthen berechneten Cystinmengen (Spalte VII); auch diese Werthe betrachte ich aber aus Gründen, welche ich oben (S. 217) angeführt habe, als Minimalwerthe: die höchsten derselben dürften daher die beste Auskunft geben: wo mehrere Untersuchungen derselben Substanz vorlagen, habe ich deshalb (bei dem Serumalbumin und der Schalenhaut) auch Untersuchungsreihen in die Tabelle aufgenommen, welche nicht vollständig durchgeführt waren, die aber den höchsten Cystinwerth gegeben hatten; für die Menschenhaare habe ich aber drei und für die Schalenhaut eine Versuchsreihe aus der Tabelle ausgeschlossen, da sie weder den höchsten Cystinwerth gegeben



hatten, noch vollständig durchgeführt waren, und also wenig Interesse darbieten.

Tabelle 2.

	XV	XVI	XVII	XVIII	XIX	XX	XXI
	Ges.-S des Cystinniederschlages in Proc. von dem Ges.-S der Subst. (* Nach Abzug f. d. SO <sub>3</sub> )	Bleischw.-S des Cystinniederschl. in Proc. v. d. bleischw.-S d. Substanz (+ Berechn. a. d. Ges.-S d. Cystinniederschlages)	Bleischw.-S im Filtrate v. d. Cystinniederschl. i. Proc. v. d. bleischw.-S der Substanz	Vergl. Tabelle I Werthe i. d. Sp. II i. Proc. v. d. Werthen d. Spalte III	Vergl. Tabelle I Werthe i. d. Spalte VI + die i. Sp. XI in Proc. von denen in der Spalte III	Differenz zw. Spalte XII und XI	Differenz zw. Spalte XII und XI in Proc. von Spalte III
Rinderhorn . . . . .	56*	† 55	42	102	100	- 0,06	(- 2)
Menschenhaare . . . . .	68*	68	24	100	92 <sup>2)</sup>	+ 0,29	(+ 5)
Serumalbumin (n. krystall.)	45*	† 45	64 <sup>1)</sup>	98	109 <sup>1)</sup>	- 0,086	(- 6)
	41*	40	53		93	+ 0,14	(+ 10)
Serumalbumin (krystall.) .	39*	37	58	100	97	+ 0,10	(+ 6)
Serumglobulin . . . . .	42*	49	14	92	82	+ 0,17	(+ 17)
Schalenhaut des Hühnereies .	49	† 61	34	78	75 <sup>3)</sup>	+0,80+0,26 = +1,06	+ 25
	45	58	42		78	+0,78+0,25 = +1,03	+ 25
Fibrinogen . . . . .	29*	50	40	58	53	+ 0,536	+ 50
Ovalbumin (n. krystall.) . .	(5*)	(† 18)	(50)	(46)	(29)	—	—
Ovalbumin (krystall.) . . .	5*	15	75	36	32	—	—

Die Bestimmungen des bleischwärenden Schwefels in dem «Cystinniederschlage» wurden der Kontrolle wegen ausgeführt. Wenn man mit Kenntniss der Menge bleischwärenden Schwefels, welche das Cystin gibt — nach meinem oben beschriebenen Verfahren  $\frac{3}{4}$  (genauer 75,16%) des Gesamtschwefels — die Werthe in der Spalte VIII auf Cystin umrechnet und dabei dieselben Werthe wie in Spalte VII findet, so gibt dies eine sehr gute Gewährleistung, dass Cystin vorlag, und dass keine andere schwefelhaltige Substanz in dem

1) Wahrscheinlich etwas zu hoch.  
 2) Ein anderer Versuch mit Menschenhaaren (S. 227, Vers A) gab 94.  
 3) Ein dritter Versuch mit der Schalenhaut (S. 233, Vers A) gab 75%.

«Cystinniederschlage» vorkam (wenigstens keine nennenswerthe Menge einer solchen). Die Uebereinstimmung zwischen den Werthen in den Spalten VII und IX ist eine gute. Die gefundenen Cystinwerthe (Spalte VII) können daher als sicher betrachtet werden, doch mit der gemachten Reservation, dass sie Minimalwerthe sind.

In der Tabelle 2, Spalte XV findet sich ein Vergleich zwischen dem Schwefel des auskrystallisirten Cystins (des «Cystinniederschlages») und dem Gesamtschwefel der Substanz (mit Berücksichtigung der Schwefelsäure), und in Spalte XVI derselben Tabelle zwischen dem bleischwärenden Schwefel des auskrystallisirten Cystins und dem bleischwärenden Schwefel der Substanz. Es geht daraus hervor, dass bei den schwefelreicheren Substanzen (Rinderhorn, Menschenhaaren, Serumalbumin, Schalenhaut) etwa die Hälfte bis über zwei Drittel des Gesamtschwefels in dem auskrystallisirten Cystin vorkamen.

Da die jetzt erwähnten Cystinwerthe als Minimalwerthe zu betrachten sind, fragt es sich: Wie viel von dem Schwefel der Substanz kann überhaupt in der «cystingebenden» Gruppe der Substanz enthalten sein? und: Kommt der Schwefel in mehr als einer Bindungsform vor?

Oben (S. 221) habe ich die gang und gäbe Auffassung erwähnt, dass der als Schwefelmetall abspaltbare, «bleischwärende» Schwefel in anderer Form als der nicht in dieser Weise wiedergefundene Schwefel gebunden sei: diesen Schwefel hat man im Gegensatz zu jenem «oxydirt» oder «fest gebunden» genannt. Ich habe schon oben hervorgehoben, dass diese Auffassung eine wesentliche Einschränkung erleiden muss. Während der Zersetzung mit Salzsäure kann man kein neues Auftreten von bleischwärendem Schwefel finden; im Gegentheil kann man bisweilen eine geringe Verminderung desselben spüren. Im Filtrate von dem auskrystallisirten Cystin (dem «Cystinniederschlage») findet sich bleischwärender Schwefel vor. Wenn man diesen Schwefel zu dem Schwefel des auskrystallisirten Cystins addirt, erhält man Werthe, die in der Spalte XIV, Tab. 1 angegeben sind. Wenn man diese Werthe



mit denen in der Spalte I derselben Tabelle vergleicht, findet man für die schwefelreicheren Substanzen sehr deutlich, dass jene höher sind, das will mit anderen Worten sagen, dass von dem Schwefel, welchen man als «oxydirt» oder «fest gebunden» bezeichnen würde, sich ein Theil in der «cystingebenden» Gruppe der Substanz vorfindet. Da das Cystin den Schwefel in nur einer Bindungsform enthält, und man nicht anders für diesen Schwefel annehmen kann, auch wenn er noch in der «cystingebenden» Gruppe der Substanz gebunden ist, muss man also sagen, dass wenigstens dieser Theil des sog. «oxydirt» oder «fest gebundenen» Schwefels sich nicht in anderer Weise gebunden vorfindet, als die Hauptmasse des bleischwärenden Schwefels.

Aus dieser Ueberlegung können wir auch schliessen, dass die «cystingebende» Gruppe sich darin mit dem freien Cystin übereinstimmend verhält, dass beim Behandeln mit alkalischer Bleilösung nicht aller Schwefel in der Form von Schwefelalkali erscheint.

Da man findet, dass die Lehre von der zweifachen Bindungsweise des Schwefels (resp. als «fest» und als «locker» gebunden) wenigstens für einige Substanzen eine wesentliche Einschränkung erleiden muss, so fragt es sich, in wie weit sie überhaupt als gültig angesehen werden darf.

Da gefunden wurde, dass die «cystingebende» Gruppe, ebenso wie das freie Cystin, nur einen Theil von ihrem Schwefel bei dem Behandeln mit alkalischer Bleilösung als Schwefelalkali erscheinen lässt, ist es nicht unberechtigt, die Möglichkeit hervorzuheben und von der Annahme auszugehen, dass sie in dieser Hinsicht auch quantitativ mit dem freien Cystin übereinstimmt. Dieses gibt nach meinen Bestimmungen (S. 216) rund 75% von seinem Schwefel als Schwefelalkali ab. In Tabelle 1, Spalte II findet sich der bleischwärende Schwefel (vergl. Spalte I) der verschiedenen, untersuchten Substanzen auf Cystin umgerechnet, so dass in der Spalte II angegeben wird, wie viel der Gesamtschwefel einer Cystinmenge ausmachen würde, welche sich in angedeuteter Weise aus dem bleischwärenden Schwefel berechnen lässt. Für die



Substanz des Rinderhorns und der Menschenhaare, für das Serumalbumin stimmen diese Werthe so gut mit denen für den Gesamtschwefel (Tabelle 1, Spalte III) überein, dass es sehr grosse Wahrscheinlichkeit gewinnt, dass aller Schwefel in diesen Substanzen in ähnlicher Weise wie im Cystin gebunden ist.<sup>1)</sup> Für das Serunglobulin scheint dies in der Hauptsache auch gültig zu sein; die Differenz kann auf Beimengungen in dem untersuchten Präparate beruhen. In der Tabelle 2, Spalte XVIII ist dasselbe, nämlich der aus dem bleischwänzenden Schwefel berechnete Cystinschwefel im Vergleich mit dem Gesamtschwefel procentisch ausgedrückt: die Uebereinstimmung tritt für die genannten Substanzen deutlich hervor, indem diese Ziffern nahe bei 100 liegen. Für diese Substanzen liegen also keine triftigen Gründe vor, mehr als eine Bindungsform des Schwefels anzunehmen.

Bei den anderen untersuchten Substanzen sind die Verhältnisse anderartig. Für die Schalenhaut, wenn sie eine einheitliche Substanz ist, können nur drei Viertel des Schwefels in der «cystingebenden Gruppe» enthalten sein: ein Viertel findet sich in anderer als cystinartiger Bindung vor. — Bei dem Fibrinogen stimmen die Verhältnisse am besten damit überein, dass die Hälfte des Schwefels sich in cystinartiger Bindung findet und die andere Hälfte anderartig ge-

1) Wenn man diesen Schwefel auf Cystin berechnet, würde dieses anderthalb Mal des thatsächlich auskrystallirten Cystins ausmachen, d. h. etwa 20% der Substanz der Haare. Da diese Keratinsubstanz wahrscheinlich durch «prothetische» Anlagerung der «cystingebenden» Gruppe an eine Eiweisssubstanz entsteht, kann man vermuthen, dass die «cystingebende» Gruppe ausser dem Cystin eine Substanz enthält, welche reich an Kohlenstoff und Stickstoff ist; das Cystin ist nämlich viel ärmer an diesen Stoffen als das Eiweiss; trotzdem hat die Haarsubstanz etwa dieselbe Zusammensetzung wie das Eiweiss (vergl. Angaben in Hoppe-Seylers «Physiologische Chemie» 1877, S. 90), der Stickstoffgehalt ist sogar vergleichsweise hoch. Eine Vermuthung über die Natur dieser Substanz liegt nahe; ich enthalte mich jedoch eines weiteren Eingehens auf diese Frage, bis es mir möglich wird, experimentelle Daten vorzulegen.



bunden ist. — Für das krystallisirte Ovalbumin (das nicht krystallisirte darf hier nicht in Betracht kommen) stimmt diese Ueberlegung damit überein, dass ein Drittel des Schwefels in cystinartiger Bindung vorkomme, der übrige Schwefel aber in anderer Weise gebunden sei: bei diesem Eiweisskörper ist übrigens zu bemerken, was ich schon gesagt habe, nämlich, dass etwa ein Drittel des Schwefels unter geeigneten Umständen als eine flüchtige Schwefelverbindung (nicht  $H_2S$ ) entfernt werden konnte.

Die jetzt gegebene Auseinandersetzung gründet sich auf die für die Substanzen direkt bestimmten Werthe des Gesamtschwefels und des bleischwärenden Schwefels. Wenn die vorgebrachte Anschauung richtig ist, muss man auch nach Zergliederung des Schwefels in verschiedene Fractionen Ergebnisse erhalten, welche sich damit vereinbaren lassen: wenn dem so ist, gewinnt die Anschauung selbstverständlich viel an Sicherheit. Dass dem so ist, werde ich in dem Folgenden zeigen.

Zuerst muss ich dann den Schwefel im Filtrate von dem «Cystinniederschlage» besprechen. In diesem Filtrate habe ich sowohl den bleischwärenden wie den Gesamtschwefel bestimmt. In welcher Beziehung kann der bleischwärende Schwefel zu Cystin stehen?

Dass etwas gewöhnliches Links-Cystin da vorkommen kann und vorkommen muss, ist selbstverständlich, da eine Methode, welche auf dem Auskrystallisiren des Cystins fusst, nicht alles Cystin zur Ausscheidung bringen kann. Dass diese Cystinmenge nicht besonders gross sein kann, darf ich behaupten. Da ich bei der Bearbeitung der besonderen Proteinstoffe nicht allzu verschieden (bezüglich Weingeistzusatz u. s. w.) verfahren habe, dürfte die Menge dieses Cystins in den verschiedenen Versuchen nicht viel schwanken. Sie darf daher kaum höher sein, als wie es dem gefundenen niedrigsten Gehalt an bleischwärendem Schwefel in diesem Filtrate entspricht (Fibrinogen = 0,188% bleischwärender Schwefel; Tabelle 1, Spalte X). Ich habe oben (S. 208) gezeigt, dass aus dem Links-Cystin ein etwas abweichendes Cystin ganz einfach



durch Erhitzen mit Salzsäure entstehen kann. Dieses, in Nadeln und anderen Formen krystallisierende Cystin ist leichter löslich als das Links-Cystin. Es besteht aus diesem zusammen mit Rechts-Cystin. Das Rechts-Cystin ist noch nicht isolirt worden (dies wird in der nächsten Zukunft mein Bestreben sein). Auf Grund des Verhaltens des nadelförmigen Cystins kann man aber annehmen, dass es entschieden löslicher (schwieriger krystallisirbar) als das Links-Cystin sei. Mit der Auffassung, dass der bleischwärende Schwefel im Filtrate von dem «Cystinniederschlage» wesentlich als Rechts-Cystin vorkomme, stimmt es auch überein, dass die Menge desselben im grossen Ganzen mit der Menge des bleischwärenden Schwefels<sup>1</sup> der Substanzen wechselt (Tabelle 1, Spalte X), so dass die grössten Mengen bei den schwefelreichen Substanzen vorkommen (selbstverständlich kann diese Menge auch durch andere Umstände in hohem Grade beeinflusst werden). Wenn das präsumirte Rechts-Cystin aus Links-Cystin gebildet wird, muss natürlicher Weise die Menge von jenem gewissermassen von der Menge dieses abhängig sein. Da dem in der That so ist, entbehrt es nicht der Wahrscheinlichkeit, dass der bleischwärende Schwefel im Filtrate von dem «Cystinniederschlage» zum grossen Theil als Rechts-Cystin vorkomme; jedenfalls ist diese Möglichkeit gegenwärtig nicht von der Hand zu weisen.

Eine einfache Erklärung würde man finden, wenn in dem erwähnten Filtrate Cystein vorkäme; wie ich oben nachgewiesen habe, ist dies aber nicht der Fall, oder das Cystein, wenn gegenwärtig, kommt in so verschwindender Menge vor, dass es bedeutungslos ist. Eine andere Möglichkeit, welche auch hervorgehoben werden muss, ist die, dass eine mit dem gewöhnlichen Cystin homologe Cystinsubstanz da vorkomme. Diese Möglichkeit kann nicht ausgeschlossen werden, da es bisher nicht gelang, die bleischwärende Substanz in diesem Filtrate zu isoliren. Die jetzt behandelte Auseinandersetzung wird aber dadurch nicht beeinflusst.

Man könnte auch daran denken, dass die Spaltung der Substanz nicht hinreichend wäre; ich habe nämlich oben



(Seite 214) gezeigt, dass man bei unvollständiger Spaltung nur wenig Schwefel in dem «Cystinniederschlage» bekommt. Man könnte annehmen, dass der bleischwärende Schwefel aus dieser Ursache bisweilen reichlich in das Filtrat übergehe. Zwar würden meine Schlüsse dadurch nicht verändert werden; ich will doch hervorheben, dass diese Annahme nicht zutreffend zu sein scheint, da dieses Filtrat nach erneuertem Erhitzen mit Salzsäure weder Cystin gab (Seite 215), noch eine nennenswerthe Aenderung der optischen Activität zeigt. (Anal. Bel. Nr. 76a.)

Wenn man auch nicht eine bestimmte Behauptung aussprechen kann, so ist es doch annehmbar, dass der bleischwärende Schwefel in dem Filtrate von dem «Cystinniederschlage» in ähnlicher Weise wie in Cystin gebunden ist, d. h., dass er in einem Cystin oder einer nahe verwandten Substanz vorkomme.

Um diese Frage durch die gewonnenen Ergebnisse möglichst vollständig zu beleuchten, muss man auch die quantitativen Verhältnisse berücksichtigen. Wenn man dabei das findet, was von der Annahme einer cystinartigen Bindung des bleischwärenden Schwefels in dem Filtrate von dem «Cystinniederschlage» gefordert wird, so gewinnt diese Annahme selbstverständlich nicht unbeträchtlich an Wahrscheinlichkeit.

Wenn in diesem Filtrate eine cystinartige Substanz vorliegt, darf diese bei dem Erhitzen mit Salzsäure ebenso beständig gegen die Einwirkung der Säure wie das Cystin sein und bei den von mir eingehaltenen Bedingungen in nur sehr geringem Grade zerstört werden, wenn sie auch stereochemisch verändert wird. Dieser bleischwärende Schwefel und der bleischwärende Schwefel des «Cystinniederschlages» dürften unter dieser Voraussetzung ziemlich genau dem ursprünglichen bleischwärenden Schwefel entsprechen. (Dass das Cystin gegen die Einwirkung der Säure nicht ganz absolut widerstandsfähig ist, kann man mit Cystin finden.)

In der Tabelle 2, Spalte XVI und XVII sind die Werthe von dem bleischwärenden Schwefel des «Cystinniederschlages»



und des Filtrates von demselben als Procenten von dem ursprünglichen bleischwärenden Schwefel der Substanz angegeben. Die beiden Ziffern für jede Substanz dürften zusammen 100 oder beinahe 100 ausmachen. Eine Durchsicht der Tabelle zeigt, dass dem so ist. (In der Spalte XVII sind einige Werthe nicht direkt bestimmt, sondern aus dem Gesamtschwefel des «Cystinniederschlage» berechnet.)

Statt der Bestimmungen des bleischwärenden Schwefels in dem «Cystinniederschlage» kann man die Werthe für den Gesamtschwefel desselben heranziehen, um dieselbe Sache mit anderen Ziffern zu beleuchten. Der Gesamtschwefel des «Cystinniederschlage» zusammen mit dem bleischwärenden Schwefel im Filtrate von demselben, wenn man diesen auf Gesamtschwefel einer entsprechenden Cystinmenge umrechnet (d. h. mit  $\frac{4}{3}$  multiplicirt); dürfte von dem Gesamtschwefel der Substanz ebenso viel oder beinahe ebenso viel ausmachen, wie der ursprüngliche bleischwärende Schwefel der Substanz, wenn man diesen auf Cystinschwefel umrechnet (d. h. mit  $\frac{4}{3}$  multiplicirt). Die so berechneten Werthe finden sich in der Tabelle 2, Spalte XVIII und XIX. Beim Vergleiche dieser Werthe findet man so grosse Uebereinstimmung, wie man erwarten kann.

Eine andere Reihe von Bestimmungen kann auch für diesen Zweck nutzbar gemacht werden, nämlich die von dem Gesamtschwefel im Filtrate von dem «Cystinniederschlage». Wenn die Substanz von Anfang an nur cystinartig gebundenen Schwefel enthielt, dürfte dies nach dem Erhitzen ohne bedeutende Veränderung bestehen. Wenn von Anfang an andersartiger, als in der Form von Cystin gebundener Schwefel zugegen war, dürfte dieser Schwefel nach dem Erhitzen in beinahe unveränderter Menge wiedergefunden werden, wenn er nicht, wie dies für das Ovalbumin der Fall ist, zum Theil verflüchtigt wird. Für diesen Schwefel erhält man einen Ausdruck, wenn man den bleischwärenden Schwefel in dem Filtrate durch Multipliciren mit  $\frac{4}{3}$  auf Cystinschwefel umrechnet (siehe Tabelle 1, Spalte XI) und diesen Werth von dem Gesamtschwefel des Filtrates (siehe Tabelle 1, Spalte XII)



abzieht. Die so gefundenen Werthe finden sich in Tabelle 2, Spalte XX verzeichnet, und in Spalte XXI derselben Tabelle finden sich diese Werthe in Procenten von dem Gesamtschwefel der Substanz ausgerechnet. (Für die Schalenhaut ist dabei auf den Schwefel der Schwefelsäure gehörige Rücksicht genommen.) Die Werthe in Spalte XXI müssen dann mit denen in Spalte XIX der Tabelle 2 zusammen 100 ausmachen. Wie ersichtlich, ist dies ganz genau der Fall.

In welcher Weise ich die bei Untersuchung der Zersetzungsprodukte erhaltenen Werthe auch zusammenstelle, so komme ich also zu dem Resultate, dass sie sich mit der Annahme vereinbaren lassen, dass die ganze Menge des als Schwefelmetall abspaltbaren Schwefels in ähnlicher Weise wie in Cystin gebunden sein kann, und dass also auch eine entsprechende Menge Schwefel, welcher nicht in der Form von Schwefelalkali abgespalten wird, mit dem bleischwärenden Schwefel zusammen gehört.

Es wird also auch durch diese Untersuchungen bezeugt, dass in der Substanz der Hornsubstanz, in derjenigen der Menschenhaare (welche sich betreffs der Schwefelbindung unerwartet einheitlich erwiesen hat) und in dem Serumalbumin aller Schwefel in cystinähnlicher Weise gebunden sein kann. Dies scheint auch für das Serumglobulin zutreffend zu sein.

Die Schalenhaut des Hühnereies, wenn sie eine einheitliche Substanz ausmacht, kann höchstens drei Viertel des Schwefels in der Form einer cystingebenden Gruppe enthalten; ein Viertel muss in anderer Weise gebunden sein. Wenn die «cystingebende Gruppe» der Substanz zwei Atome Schwefel enthält, wie man es nach der Baumann'schen Cystinformel annehmen dürfte, würde das Molekül derselben acht Schwefelatome enthalten.

Für das Fibrinogen stimmen die Ergebnisse recht gut mit der Annahme überein, dass die Hälfte des Schwefels cystinartig gebunden ist. Es würde also, wenn die cystingebende Gruppe zwei Schwefelatome enthält, vier Schwefelatome (oder ein Multipel davon) enthalten.

In dem Ovalbumin kann nur etwa ein Drittel des

Schwefels cystinartig gebunden sein. Da es möglich ist, etwa ein Drittel des Schwefels in der Form einer flüchtigen schwefelhaltigen Substanz zu erhalten, ist es nicht unwahrscheinlich, dass der Schwefel dieses Eiweisses in drei verschiedenen Formen gebunden ist. Wenn man auch da zwei Schwefelatome in der cystingebenden Gruppe annehmen darf, würde das Ovalbumin sechs Schwefelatome im Molekül enthalten. Weniger befremdend würde es sein, wenn es annehmbar wäre, dass das Cystin und auch die «cystingebende Gruppe» des Eiweisses nur ein Atom Schwefel enthielten; das Ovalbumin würde dann nur drei Atome Schwefel enthalten.

Das Casein mit 0,06—0,07 % bleischwärendem Schwefel würde nur etwa ein Zehntel des Schwefels in der cystingebenden Gruppe enthalten; wenn das Casein wirklich ein chemisches Individuum ist, muss die Molekulargrösse desselben auffallen, auch wenn die «cystingebende Gruppe» nur ein Schwefelatom enthält.

Wie die «cystingebende Gruppe» der Proteinstoffe des Näheren zusammengesetzt und gebunden ist, kann man noch nicht sagen. Doch darf man behaupten, dass keine Beziehung zwischen dem Gehalt an dieser Gruppe und der Tyrosinmenge sich vorfindet. Bei der Darstellung des Cystins wurde das Tyrosin gesammelt, wo es zusammen mit Cystin auftrat, von diesem getrennt und gewogen. Um das eben Gesagte zu beweisen, theile ich die erhaltenen Werthe des Tyrosins mit, obgleich ich ihnen keine grosse Genauigkeit beimessen will. (Die von verschiedenen Forschern gefundenen Tyrosinwerthe differiren manchmal sehr; vergl. Reach: Arch. f. path. Anat. u. Physiol. u. f. kl. Med., Bd. 158, 1899, S. 288: mit den meinigen vergleichbare Werthe kommen da vor). Aus der Hornsubstanz erhielt ich 4%, aus der Substanz der Menschenhaare 1,6%, aus der Schalenhaut 0%, aus dem Serumalbumin 2%, aus dem Serumglobulin 3%, aus dem Ovalbumin 1,5%, aus dem Casein etwa 3,2% Tyrosin (frei von Cystin), welche Ziffern in keiner Beziehung zu den Cystinmengen stehen.

---



Die jetzt gebräuchliche Eintheilung der Proteinkörper ist wesentlich auf die Löslichkeit und Fällbarkeit derselben gegründet. Dass diese Eintheilung sehr nützlich gewesen ist, kann man nicht verneinen. Wahrscheinlich wird sie auch stets in analytischer Hinsicht ihren Werth behalten. Dass sie rationell ist, kann man jedoch nicht sagen. Eine rationelle Eintheilung dürfte wohl, so weit möglich, den Aufbau der Proteinkörper berücksichtigen. Uebereinstimmung in Löslichkeit und Fällbarkeit zweier Proteinkörper kann trotz Verschiedenheit in mehr wesentlichen Punkten bestehen, und umgekehrt. In der Löslichkeit und Fällbarkeit stehen das Serumalbumin und das Ovalbumin einander nahe. Jedoch finden sich Unterschiede vor, welche wesentlicher als diese Uebereinstimmung sind, so in Gehalt an Kohlenhydratgruppen, in der Bindungsweise des Schwefels, wahrscheinlich auch im Säurebindungsvermögen u. s. w.

Eine rationelle Eintheilung wird wahrscheinlich von der Stickstoffbindung ausgehen und die stickstoffhaltigen Gruppen, welche als Kern der Proteinstoffe betrachtet werden können (vergl. die Arbeiten von Drechsel, Kossel, Hedin u. A.), zuerst berücksichtigen. Die Seitengruppen, wo der Schwefel allem Anschein nach sich befindet, können dann Unterabtheilungen zu Grunde gelegt werden. (Vergl. S. 307—308.)

## Analytische Belege.

### Bleischwärendender Schwefel des Cystins.

Nr. 1. Von einem aus Hornspänen dargestellten, in sechsseitigen Tafeln krystallisirenden Cystin.  $\alpha_D = -223^\circ$ , wurden 0.5262 g (bei  $95^\circ$  getrocknet) nach der oben (S. 210) beschriebenen Methode  $8\frac{1}{2}$  Stunden mit Bleilösung gekocht und weiter bearbeitet. Erhaltenes  $\text{BaSO}_4 = 0.7630$  g  $= 0.1055$  g S. Also wurden  $75.13\%$  von dem Schwefel des Cystins als bleischwärend wiedergefunden.

Nr. 2. Cystinpräparat (aus Menschenhaaren), aus Kugeln und Nadeln bestehend, frei von Tyrosin; Schwefelgehalt im Mittel aus zwei Bestimmungen (resp.  $26.36$  und  $26.28\%$  S)  $= 26.32\%$  S (Anal. Bel. Nr. 17a). Von diesem wurden 0.7654 g (bei  $95^\circ$  getrocknet) wie in Nr. 1 mit Bleilösung während  $7\frac{1}{2}$  Stunden gekocht u. s. w.  $\text{BaSO}_4 = 1.0988$  g.

Schwefel also = 0,1509 g. Also wurden 75,80% des Schwefels als bleischwärend wiedergefunden.

Nr. 3. Cystinpräparat (aus Schalenhaut des Hühneries), sechseckige Tafeln,  $\alpha_D = -223^\circ$ ; der Schwefelgehalt zu 26,51% S bestimmt (Anal. Bel. Nr. 25). Von diesem wurden 0,4917 g (bei  $95^\circ$  getrocknet)  $8\frac{1}{2}$  Stunden mit alkalischer Bleilösung gekocht und weiter wie in Nr. 1 verfahren.  $\text{BaSO}_4 = 0,7111$  g; Schwefel = 0,0972 g. Von dem Schwefel des Cystins wurden also 74,60% als bleischwärender Schwefel wiedergefunden.

Im Mittel aus diesen drei Bestimmungen wurden 75,16% des Cystinschwefels als bleischwärend wiedergefunden.

### Die Substanz des Rinderhorns.

Nr. 4. Bestimmung der Asche: Von den bei  $120^\circ$  getrockneten Hornspänen gaben 6,698 g bei der Veraschung 0,0156 g Asche = 0,23%. Die Asche enthielt Eisen und Phosphorsäure, welche entfernt wurden. Im Filtrate wurden 0,00056 g CaO als Oxalat gefällt und durch Chamäleontitration bestimmt; CaO = 0,01%.

Nr. 5. Gesamtschwefel der Hornspäne:

a) 3,4802 g Hornspäne (bei  $120^\circ$  getrocknet) wurden mit KOH (10 g) nebst etwas  $\text{KNO}_3$  und ein wenig Wasser eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  unter Erhitzung über der Weingeistflamme verbrannt, und weiter wie S. 209 beschrieben verfahren;  $\text{BaSO}_4 = 0,8538$  g; Schwefel also = 0,1172 g = 3,37% S.

b) 1,1204 g Hornspäne (bei  $120^\circ$  getrocknet) wurden mit Soda (10 g) vermischt und mit Natriumsuperoxyd (5 g) verbrannt. Die Lösung wurde mit etwas Brom versetzt und mit Salzsäure angesäuert u. s. w.  $\text{BaSO}_4 = 0,2791$  g; Schwefel also = 0,0383 g = 3,42% S.

Nr. 6. Bleischwärender Schwefel:

a) 1,519 g Hornspäne wurden mit 50 g Natronlauge (33%) und Bleiacetat u. s. w. 9 Stunden gekocht.  $\text{BaSO}_4 = 0,2802$  g; Schwefel = 0,0385 g = 2,53% S.

b) 2,2925 g Hornspäne (bei  $120^\circ$  getrocknet) wurden mit 20 g NaOH, 3 g Bleiacetat und 50 cem. Wasser nach Zusatz von einem Stückchen Zink 9 Stunden gekocht u. s. w.  $\text{BaSO}_4 = 0,3946$  g; Schwefel = 0,05418 g = 2,42% S.

c) 4,081 g Hornspäne (bei  $120^\circ$  getrocknet) wurden mit 50 g NaOH, 12 g Bleiacetat und 200 cem. Wassers nach Beifügung von einem Zinkstückchen 7 Stunden gekocht u. s. w.  $\text{BaSO}_4 = 0,7464$  g = 0,1025 g Schwefel = 2,51% S.

Nr. 7. Von dem dargestellten Cystin wurden 0,7759 g in Salzsäure von 3% gelöst; Volumen = 26,5 cem.; die Drehung, welche durch eine Schicht von 20 cem. bewirkt wurde, war =  $12,97^\circ$  nach links;  $\alpha_D = -222,7^\circ - 223^\circ$ .



Nr. 8. Dargestelltes Cystin:

a) 0,2603 g Cystin, mit KOH und  $\text{KNO}_3$  verbrannt, gaben 0,5044 g Baryumsulfat; Schwefel = 26,60% S.

b) Von demselben Cystin wurden 0,5013 g in Salzsäure von 2% gelöst; das Volumen der Lösung = 26,5 ccm.; eine Schicht von 20 ccm. bewirkte eine Drehung von  $4,505^\circ$  nach links:  $\alpha_D = -119^\circ$ .

Nr. 9. Erhitzen mit Salzsäure: 17,913 g ausgewaschene Hornspäne wurden mit 40 ccm. Salzsäure (Eig. g. = 1,124) und 20 ccm. Wasser auf dem Wasserbade erhitzt; zur Prüfung der Flüssigkeit wurden  $\frac{1}{20}$  der Flüssigkeit abgenommen. Nach 46 Stunden gab die Flüssigkeit noch die Biuretreaction ziemlich stark. Der Hornstoff war noch nicht ganz vollständig gelöst. Das Erhitzen wurde jedoch abgebrochen.

a) Nach Abdestilliren im Vacuum und Auflösen wurde mit  $\text{BaCl}_2$  gefällt:  $\text{BaSO}_4 = 0,1957$  g; Schwefel = 0,0269 g = 0,16% S, welcher nach dem Erhitzen mit Salzsäure als Schwefelsäure zugegen war.

b) Das Filtrat wurde mit Natronlauge neutralisirt, mit Essigsäure schwach angesäuert und mit Weingeist versetzt. In der ausgeschiedenen geringfügigen Fällung wurde der Schwefel bestimmt. Nach Verbrennen mit KOH und  $\text{KNO}_3$  wurden 0,0497 g  $\text{BaSO}_4$  erhalten; S = 0,0068 g = 0,04%. Dies würde nur einer Ausscheidung von 0,16% Cystin entsprechen.

Nr. 10. Erhitzen mit Salzsäure: 17,6223 g (bei  $120^\circ$  getrocknet) Hornspäne wurden mit 40 ccm. HCl (1,124) und 30 ccm. Wasser auf dem Wasserbade während 96 Stunden auf  $80-90^\circ$  erhitzt, im Vacuum abdestillirt, mit Weingeist und etwas Wasser aufgenommen, mit reiner Natronlauge neutralisirt, und der ausgeschiedene Niederschlag gesammelt. Aus diesem wurden durch Ausziehen mit Ammon und Abdampfen der Lösung 1,07 g Krystalle erhalten. Nach Abdestilliren des Filtrats im Vacuum und Ausziehen mit Wasser wurde noch eine Portion Krystalle erhalten (? Tyrosin), welche mit den vorigen vereinigt wurde. Nach dem Waschen mit Weingeist, Aether, Schwefelkohlenstoff und zuletzt wieder mit Aether wurde der Schwefelgehalt durch Verbrennen mit KOH und  $\text{KNO}_3$  bestimmt. Erhaltenes  $\text{BaSO}_4 = 0,9804$  g; Schwefel = 0,1346 g = 0,76% S. Die entsprechende Menge Cystin = 2,86%.

Nr. 11. Erhitzen mit Salzsäure: 15,712 g Hornspäne (bei  $120^\circ$  getrocknet) wurden mit 40 ccm. reiner Salzsäure (1,124) und 20 ccm. Wasser 144 Stunden auf dem Wasserbade erhitzt. Ein klein wenig der Hornsubstanz blieb ungelöst. Nach dem Abdestilliren im Vacuum und Lösen in Wasser wurde die Schwefelsäure gefällt.  $\text{BaSO}_4 = 0,1866$  g; Schwefel = 0,0256 g = 0,16% S, welcher in der Form von Schwefelsäure zugegen war. Die weitere Bearbeitung verunglückte.

Nr. 12. Erhitzen mit Salzsäure: 18,86 g derselben Hornspäne wie in Nr. 8 wurden mit 50 ccm. Salzsäure (1,124) und 40 ccm. Wasser 187 Stunden auf etwa  $87^\circ$  erhitzt. Zuletzt war eine ganz ge-



ringe Entwicklung von Schwefelwasserstoff bemerkbar. Der Hornstoff war völlig aufgelöst. Auf dem Filter blieb ein geringer Rückstand (Pigment und vielleicht auch freier Schwefel), welcher 0.2066 g wog, 18.65 g der Substanz waren also in Lösung gegangen. Die Lösung wurde mit  $\text{BaCl}_2$  versetzt und im Vacuum abdestillirt. Der Rückstand wurde mit Weingeist und etwas Wasser ausgezogen und filtrirt, mit Ammon neutralisirt und mit Essigsäure schwach angesäuert.

a) Der allmählich entstandene «Cystinniederschlag», welcher aus Kugeln bestand, wurde mit Weingeist und Aether gewaschen und der Schwefel durch Verbrennung mit  $\text{NaOH}$  und  $\text{KNO}_3$  bestimmt:  $\text{BaSO}_4 = 2.4114$  g; Schwefel  $= 0.3311$  g  $= 1.78\%$  S. Dazu kommen noch  $0.04\%$  S, welcher als Cystin aus dem Filtrate erhalten wurde. Im Ganzen wurden also  $1.82\%$  Cystinschwefel gefunden, was  $6.8\%$  Cystin entspricht.

b) Die eine Hälfte des Filtrats wurde im Vacuum abdestillirt und der Rückstand mit Wasser aufgelöst.

Dabei blieben Nadeln ungelöst, die keinen freien Schwefel enthielten (Prüfung mit Schwefelkohlenstoff). Die Bestimmung des Schwefels gab  $\text{BaSO}_4 = 0.0294$  g oder Schwefel  $= 3.98$  mg, was  $0.04\%$  S entspricht (s. oben).

Die Mutterlauge wurde mit 35 g  $\text{NaOH}$  und 5 g Bleiacetat nebst einem Zinkstückchen am Rückflusskühler 7 Stunden gekocht. Aus dem Schwefelblei wurden 0.7136 g  $\text{BaSO}_4$  erhalten; Schwefel  $= 0.098$  g  $1.05\%$  bleischwärender Schwefel.

c) In der anderen Hälfte der Mutterlauge wurde der Gesamtschwefel bestimmt:  $\text{BaSO}_4 = 0.9080$  g  $= 0.1247$  g S  $= 1.34\%$  S.

Nr. 13. Gehalt an Schwefelsäure: Von der Hornsubstanz wurden (nach Abzug der besonders bestimmten Feuchtigkeit) 9.29 g mit 50 ccm. Ammoniakflüssigkeit und 200 ccm. Wasser ohne Erwärmung ausgezogen und mit Wasser ausgewaschen. Das Filtrat wurde eingedampft und die Schwefelsäure bestimmt.  $\text{BaSO}_4 = 0.1152$  g. Der Schwefel, welcher in der Form von Schwefelsäure zugegen war, betrug also 0.0158 g oder  $0.17\%$  S.

### Menschenhaare.

Nr. 14. Aschenbestandtheile: 6.4454 g Haare (bei  $115^\circ$  getrocknet) liessen bei der Verbrennung 0.0669 g Asche zurück  $= 1.4\%$ . Ein grosser Theil derselben (0.0614 g) war in Salzsäure unlöslich (Kieselsäure u. s. w.). Die lösliche Asche betrug 0.0055 g  $= 0.09\%$ . In derselben wurde der Kalk als Oxalat gefällt und durch Titrirung bestimmt; es wurde gefunden 0.56 mg  $\text{CaO} = 0.009\%$ .

Nr. 15. Cystin aus Menschenhaaren:

a) Zur Bestimmung des optischen Drehungsvermögens wurden 0.3716 g mit Salzsäure von etwa  $3\%$  gelöst; das Volumen  $= 27.5$  ccm.



Die durch eine 20 cm.-Schicht bewirkte Ablenkung war =  $5.98^\circ$ , was  $\alpha_D = -217^\circ$  entspricht.

b) Die Bestimmung des Stickstoffs geschah nach Kjeldahl-Wilfarth. 0.3033 g Cystin verbrauchten 25.0 ccm. Säure  $N_{10}$ . Der Stickstoff war also =  $11.57\%$  N.

c) Aus 0.3178 g Cystin wurden 0.6115 g  $BaSO_4$  erhalten, was  $26.42\%$  S entspricht.

Nr. 16. Cystin aus Menschenhaaren:

a) Die Stickstoffbestimmung gab für 0.3159 g Substanz einen Verbrauch von 25.83 ccm. Säure  $N_{10}$ , was  $11.48\%$  N entspricht.

b) Bei einer zweiten Stickstoffbestimmung in 0.2970 g Cystin wurden 24.33 ccm. Säure  $N_{10}$  verbraucht, was  $11.52\%$  N entspricht.

Der Stickstoff im Mittel von a) und b) war also =  $11.50\%$  N.

c) Die Bestimmung des Schwefels in 0.3057 g Substanz gab nach Verbrennung mit NaOH und  $KNO_3$  u. s. w. 0.5866 g  $BaSO_4$ , was  $26.35\%$  S entspricht.

Nr. 17. Zersetzen mit Salzsäure: 148 (bei  $120^\circ$  getrocknete) Haare wurden mit 350 ccm. HCl und 300 ccm. Wasser 7 Tage ununterbrochen erwärmt. Die Temperatur war etwa  $93^\circ$ . Ein klein wenig Schwefelwasserstoff entwich zuletzt. Kein freier Schwefel war in dem Kolbenhalse sichtbar. Nach dem Entfärben mit Thierkohle und Abdestilliren im Vacuum wurde der Rückstand in 350 ccm. Wasser aufgenommen und 650 ccm. Weingeist zugesetzt. Die Lösung wurde mit NaOH (in Weingeist von  $50\%$  gelöst) neutralisirt und mit Essigsäure schwach angesäuert.

Der Niederschlag wurde nach zwei Tagen gesammelt. (Aus der Mutterlauge konnte ich kein Cystin mehr gewinnen; daraus wurden aber 2.3 g Tyrosin erhalten.) Der abgesaugte und etwas gewaschene Niederschlag wurde mit Ammon gelöst, noch einmal mit Thierkohle entfärbt und durch Destilliren im Vacuum zu fractionirter Krystallisation gebracht. Die drei ersten Fractionen waren frei von Tyrosin; sie wurden vereinigt (= Präparat A). Aus der Mutterlauge wurden durch Zusatz von Essigsäure und weiteres Einengen im Vacuum zwei als Nadeln und Kugeln ausgeschiedene Fractionen erhalten. Sie wurden vereinigt (= Präparat B).

Präparat A. Das getrocknete Präparat wog 14.3706 g.

a) Eine Schwefelbestimmung in 0.2804 g gab nach Verbrennen mit NaOH und  $KNO_3$  0.5367 g  $BaSO_4$ ; der Schwefel also =  $0.0737$  g =  $26.28\%$  S.

b) Eine andere Schwefelbestimmung gab nach Verbrennen von 0.5015 g mit NaOH und  $KNO_3$  0.9627 g  $BaSO_4$ ; Schwefel also =  $0.1322$  g =  $26.36\%$  S.

Schwefel im Mittel aus a) und b) =  $26.32\%$  S. Die daraus berechnete Menge Cystin = 14.18 g.

Präparat B. Das getrocknete Präparat wog 2,865 g. Die Schwefelbestimmung in 0,2460 g gab nach Verbrennung mit NaOH und  $\text{KNO}_3$  0,3616 g  $\text{BaSO}_4$ ; Schwefel also = 0,0524 g = 21,3% S. Die daraus berechnete Menge Cystin = 2,29 g.

In Ganzen wurden also 16,47 g Cystin erhalten, was auf 148 g Haare berechnet 11,1% entspricht.

Nr. 18. A. Bestimmung des Gesamtschwefels. 2,7257 g Haare bei 120° getrocknet wurden mit 15 g NaOH und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt;  $\text{BaSO}_4$  = 1,0436 g; der Gesamtschwefel war also = 0,1433 g = 5,26% S.

B. Bleischwärzender Schwefel. 3,916 g Haare (bei 120° getrocknet) wurden mit 30 g NaOH, 5 g Bleiacetat und 150 cem. Wasser u. s. w. 7 Stunden gekocht. Aus dem Schwefelblei wurden 1,1856 g  $\text{BaSO}_4$  erhalten, was 0,1628 g oder 4,16% S bleischwärendem Schwefel entspricht.<sup>1)</sup>

C. Erhitzen mit Salzsäure. Von denselben Haaren wurden 12,003 g (bei 120° getrocknet) mit 30 cem. Salzsäure (1,124) und 30 cem. Wasser ununterbrochen 8 Tage auf dem Wasserbade erhitzt. Nur eine Spur Schwefelwasserstoff wurde entwickelt. Die Haare waren völlig zersetzt. Es fand sich doch ein ungelöster Rückstand (Pigment, etwas Staub; vielleicht auch ausgeschiedener freier Schwefel).

a) Der Rückstand wurde gesammelt, ausgewaschen und getrocknet. Er wog 0,2422 g davon 0,2 mg Asche; er betrug also 2% der Haare.

b) Die Lösung wurde im Vacuum möglichst vollständig auf dem Wasserbade abdestillirt, mit Wasser aufgenommen und mit  $\text{BaCl}_2$  gefällt. Das dabei erhaltene  $\text{BaSO}_4$  wog 0,0908 g = 0,0125 g S. Es erschien also 0,11% S in der Form von Schwefelsäure.

Das Filtrat wurde mit 2 Vol. Weingeist versetzt, mit  $\text{NH}_4$  neutralisirt und mit Essigsäure schwach angesäuert. Es entstand ein Niederschlag, aus Kugeln und Nadeln bestehend, welcher gesammelt und mit Weingeist gewaschen wurde.

c) Dieser «Cystinniederschlag», nebst einer geringen Menge von Krystallen, die sich aus der Mutterlauge beim Einengen im Vacuum absetzten, wurde durch  $\text{NH}_3$  nebst etwas Ammoniumcarbonat in Wasser gelöst. Diese Lösung wurde mit 5 g NaOH eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt u. s. w.  $\text{BaSO}_4$  = 2,9357 g; Schwefel = 0,4031 g. In diesem Cystinniederschlage fanden sich also 3,36% S. Die daraus berechnete Cystinmenge beträgt 12,6% der Haare.

d) Das Filtrat von dem Cystinniederschlage wurde durch Destillation im Vacuum eingeeengt und filtrirt. Die Hälfte davon wurde zu 200 cem. aufgefüllt, mit 50 g NaOH und 10 g Bleiacetat versetzt und,

<sup>1)</sup> Dieser Werth ist wahrscheinlich etwas zu hoch ausgefallen. Diese Bestimmung war unter den ersten, welche ich ausführte; die Fehlerquellen der Methode waren mir dann noch nicht völlig bekannt.



wie beschrieben, 7 Stunden gekocht. Aus dem Schwefelblei wurden 0,5113 g  $\text{BaSO}_4 = 0,0702$  g S erhalten. Der bleischwärende Schwefel im Filtrate von dem «Cystinniederschlage» machte also 1,19% von den Haaren aus.

Nr. 19. Erhitzen mit Salzsäure. Von derselben Haarportion wie in Nr. 18 wurden 10,7320 g bei  $120^\circ$  getrocknet mit 25 ccm. Salzsäure (1,124) und 25 ccm. Wasser ununterbrochen 8 Tage auf dem Wasserbade erhitzt; dann wurde mit Wasser verdünnt und filtrirt.

a) Der Bodensatz (Pigment, vielleicht auch freien ausgeschiedenen Schwefel u. s. w. enthaltend) wurde mit 5 g NaOH und etwas  $\text{KNO}_3$  eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt u. s. w.  $\text{BaSO}_4 = 0,1073$  g; Schwefel = 0,0147 g = 0,14% S.

b) Die filtrirte Flüssigkeit wurde im Vacuum abdestillirt, der Rückstand mit Wasser gelöst und mit  $\text{BaCl}_2$  gefällt.  $\text{BaSO}_4 = 0,1576$  g; Schwefel = 0,0216 g = 0,20% S, welcher in der Form von Schwefelsäure zugegen war.

Das Filtrat wurde mit Weingeist bis zu einem Gehalt von 60% versetzt, mit reinem Natriumhydrat neutralisirt und mit Essigsäure schwach angesäuert. Nach 4 Tagen wurde der gebildete braungefärbte Niederschlag gesammelt und mit verdünntem Weingeist gewaschen.

c) Dieser «Cystinniederschlag» wurde mit Ammoniakflüssigkeit und etwas Ammoniumcarbonat gelöst und filtrirt. Die Bestimmung des Schwefels in der einen Hälfte dieser Lösung verunglückte. In der anderen Hälfte wurde der bleischwärende Schwefel bestimmt. Aus dem Schwefelblei wurden 1,0686 g  $\text{BaSO}_4$  erhalten, was 0,1467 g oder 2,73% Schwefel entspricht, welcher als Schwefelmetall abgespalten wurde. Daraus wird ein Cystingehalt von 13,62% berechnet.

d) Die eine Hälfte von dem Filtrate von c) wurde zu einer Bestimmung des bleischwärenden Schwefels benutzt, die jedoch verunglückte. Die andere Hälfte wurde mit 10 g NaOH und etwas  $\text{KNO}_3$  eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt. Daraus wurden 0,5890 g  $\text{BaSO}_4$  erhalten, was 1,51% Gesamtschwefel entspricht.

Nr. 20. Erhitzen mit Salzsäure. Von derselben Portion Haare wie in Nr. 18 wurden 12,1060 g bei  $120^\circ$  getrocknet mit 30 ccm. Salzsäure (1,124) und 30 ccm. Wasser übergossen. Die Luft wurde durch Kohlensäure verdrängt und der (wie in den anderen Versuchen) mit eingeschliffenem Ableitungsrohr, das in Bleiacetat eintauchte, versehene Kolben auf dem Wasserbade 200 Stunden erhitzt. Zuletzt wurden dabei Spuren von Schwefelwasserstoff entwickelt.

a) Der Bodensatz wurde abfiltrirt. Er wog 0,3768 g (= 3,1%). Die Untersuchung desselben verunglückte.

b) Das Filtrat wurde mit  $\text{BaCl}_2$  gefällt.  $\text{BaSO}_4 = 0,1788$  g. Der Schwefel, welcher als Schwefelsäure vorhanden war, betrug also 0,02455 g was 0,20% entspricht.



Das Filtrat wurde im Vacuum abdestillirt, mit etwas Wasser aufgenommen, mit reinem Natriumhydrat neutralisirt und mit Essigsäure schwach angesäuert. Die etwa 90 cem. betragende Lösung wurde so lange mit Weingeist (95%) versetzt, als die entstehende milchige Trübung beim Umrühren verschwand. Dabei wurden etwa zwei Volumen Weingeist verbraucht. Nach zweitägigem Stehen in der Kälte wurde der Niederschlag gesammelt und mit verdünntem Weingeist gewaschen. Dieser Cystinniederschlag wurde mit Ammoniakflüssigkeit und etwas Ammoniumcarbonat behandelt und filtrirt.

c) Die eine Hälfte dieser Lösung wurde mit 5 g NaOH nebst etwas  $\text{KNO}_3$  eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 1,3587$  g; der Gesamtschwefel des Cystinniederschlages war also  $0,1866 \times 2$  g =  $3,08\%$  S. Die entsprechende Cystinmenge ist =  $11,55\%$ .

d) Die andere Hälfte der Lösung wurde zur Bestimmung des bleischwärenden Schwefels benutzt. Sie wurde mit 40 g NaOH und 10 g Bleiacetat u. s. w. 7 Stunden gekocht. Bei Bearbeitung des Schwefelbleies wurden 0,9906 g  $\text{BaSO}_4$  erhalten. Der bleischwärende Schwefel des Cystinniederschlages war also =  $0,1360 \times 2$  g =  $2,25\%$  S, was  $11,20\%$  Cystin entspricht.

e) Das Filtrat von dem Cystinniederschlage wurde in zwei Theile getheilt. Der eine Theil wurde zur Bestimmung des Gesamtschwefels mit 10 g NaOH nebst etwas  $\text{KNO}_3$  eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0,8253$  g. Der Gesamtschwefel des Filtrates also =  $0,1133 \times 2$  g =  $1,87\%$  S.

Die Bestimmung des bleischwärenden Schwefels in der anderen Hälfte des Filtrates verunglückte.

Nr. 21. Dieser Versuch wurde mit einer anderen Portion Haare, als die in dem vorigen Versuche benutzte, ausgeführt.

A. Bestimmung des Gesamtschwefels. 3,0920 g Haare (bei  $120^\circ$  getrocknet) wurden mit 15 g NaOH, 3 g  $\text{KNO}_3$  und etwas Wasser eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt u. s. w.  $\text{BaSO}_4 = 1,2694$  g. Der Gesamtschwefel war also =  $0,1743$  g =  $5,63\%$  S.

B. Bleischwärender Schwefel. 3,760 g (bei  $120^\circ$  getrocknet) wurden mit 50 g NaOH, 10 g Bleiacetat und 200 cem. Wasser u. s. w.  $8\frac{1}{2}$  Stunden gekocht. Aus dem Schwefelblei wurden 1,1326 g  $\text{BaSO}_4$  erhalten (was  $4,15\%$  S entsprechen würde); das Schwefelblei war etwas gelblich und wurde daher mit Soda umgeschmolzen;  $\text{BaSO}_4$  war dann =  $1,1144$  g =  $0,1530$  g S =  $4,07\%$  S.

C. Erhitzen mit Salzsäure. 11,1781 g (bei  $110^\circ$  getrocknete) Haare mit 25 cem. Salzsäure (1,124) und ebensoviel Wasser wurden in einem mit eingeschliffenem Ableitungsrohr, das in Bleiacetatlösung eintauchte, versehenen Kolben, wo die Luft durch Kohlensäure verdrängt worden war, ununterbrochen 8 Tage auf dem Wasserbade erhitzt.

a) Der ungelöste Rückstand (Pigment, vielleicht auch ausgeschie-



denen freien Schwefel u. s. w. enthaltend) wurde mit NaOH und  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0,0542 \text{ g}$ . Schwefel also  $= 0,00744 \text{ g} = 0,066\% \text{ S}$ .

b) Das Filtrat wurde mit  $\text{BaCl}_2$  gefällt.  $\text{BaSO}_4 = 0,1584 \text{ g}$ . Der Schwefel, welcher in der Form von Schwefelsäure abgespalten wurde, betrug also  $0,0217 \text{ g} = 0,195\% \text{ S}$ .

Das Filtrat von b) wurde auf dem Wasserbade im Vacuum abdestillirt, mit Weingeist aufgenommen (Volumen  $=$  etwa  $300 \text{ ccm}$ ), mit reiner Natronlauge neutralisirt und mit Essigsäure schwach angesäuert; Weingeistgehalt der Flüssigkeit etwa  $66\%$ . Nach viertägigem Stehen in der Kälte wurde der Niederschlag gesammelt und mit verdünntem Weingeist gewaschen.

Der Niederschlag wurde mit Ammoniakflüssigkeit und etwas Ammoniumcarbonat ausgezogen. Diese Lösung wurde in zwei Theile getheilt.

c) In der einen Hälfte wurde der Gesamtschwefel nach Eintrocknen mit  $10 \text{ g}$  NaOH und Verbrennen mit  $\text{KNO}_3$  bestimmt.  $\text{BaSO}_4 = 1,5114 \text{ g}$ . Gesamtschwefel des «Cystinniederschlags» also  $= 0,2075 \times 2 \text{ g} = 3,712\% \text{ S}$ . Die entsprechende Cystinmenge  $= 13,92\% \text{ Cystin}$ .

d) In der anderen Hälfte derselben Lösung wurde der bleischwärende Schwefel bestimmt. Das Schwefelblei gab bei Bearbeitung in der angegebenen Weise  $1,1295 \text{ g}$   $\text{BaSO}_4$ . Der bleischwärende Schwefel des «Cystinniederschlags» war also  $= 0,1551 \times 2 \text{ g} = 2,774\% \text{ S}$ . Die entsprechende Cystinmenge beträgt  $13,83\% \text{ Cystin}$ .

Das Filtrat von dem «Cystinniederschlage» wurde im Vacuum eingeeengt und dann in zwei Theile getheilt.

e) Die eine Hälfte wurde mit  $15 \text{ g}$  NaOH und etwas  $\text{KNO}_3$  eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0,6289 \text{ g}$ . Der Gesamtschwefel im Filtrate von dem «Cystinniederschlage» war also  $= 0,8635 \times 2 \text{ g} = 1,545\% \text{ S}$ .

f) Die andere Hälfte wurde nach Zusatz von Wasser zu  $200 \text{ ccm}$ , mit  $50 \text{ g}$  NaOH und  $10 \text{ g}$  Bleiacetat u. s. w.  $8$  Stunden gekocht. Das Schwefelblei gab bei der weiteren Behandlung  $0,3854 \text{ g}$   $\text{BaSO}_4$ . Der bleischwärende Schwefel im Filtrate von dem «Cystinniederschlage» war also  $= 0,0529 \times 2 \text{ g} = 0,947\% \text{ S}$ .

Nr. 22. Gehalt an Schwefelsäure. Von den Haaren wurden  $9,14 \text{ g}$  (nach Abzug der besonders bestimmten Feuchtigkeit) mit  $50 \text{ ccm}$  Ammoniakflüssigkeit und  $200 \text{ ccm}$  Wasser ohne Erwärmung ausgezogen und mit Wasser gewaschen. Das Filtrat wurde eingeeengt und die Schwefelsäure bestimmt.  $\text{BaSO}_4 = 0,1289 \text{ g}$ . Der Schwefel, welcher in der Form von Schwefelsäure zugegen war, machte also  $0,0177 \text{ g}$  S oder  $0,193\% \text{ S}$  aus.

### Die Schalenhaut des Hühnereies.

Nr. 23. Asche: 6,1196 g Schalenhaut (bei 115° getrocknet) wurden verbrannt. Die erhaltene Asche = 0,0052 g = 0,085%. Von der Asche waren 0,0041 g in Salzsäure löslich; der Kalk wurde als Oxalat gefällt und durch Titrirung bestimmt = 0,005% CaO.

Nr. 24. Bleischwäzender Schwefel:

a) 5,641 g Schalenhaut (bei 120° getrocknet) wurden mit 200 ccm. Wasser, 40 g NaOH und 10 g Bleiacetat u. s. w. 7 Stunden gekocht. Das Schwefelblei gab 1,0116 g BaSO<sub>4</sub>. Der bleischwäzende Schwefel war also = 0,139 g = 2,46% S.

b) 4,103 g Schalenhaut (bei 110° getrocknet) wurden ebenso wie in a) bearbeitet. BaSO<sub>4</sub> = 0,7408 g. Der bleischwäzende Schwefel also = 0,1017 g = 2,48% S.

Nr. 25. Dargestelltes Cystin:

a) 0,2601 g (bei 90° getrocknet) wurden mit Salzsäure (3%) zu 27 ccm. gelöst. Eine Schicht von 20 ccm. bewirkte eine Drehung von 4,29° nach links;  $\alpha_D$  also = -222,8° (223°).

b) Stickstoff nach Kjeldahl-Wilfarth: 0,2119 g (bei 95° getrocknet) verbrauchten 17,55 ccm. Säure N/10. Stickstoff = 0,0246 g = 11,60% N.

c) Der Schwefel wurde durch Eintrocknen mit 4 g NaOH und etwas Wasser und Verbrennen mit KNO<sub>3</sub> bestimmt. 0,3060 g (bei 100° getrocknet) gaben 0,5908 g BaSO<sub>4</sub>. Der Schwefel also = 0,08112 g = 26,51% S.

Nr. 26. Erhitzen mit Salzsäure: 13,277 g Schalenhaut (bei 110° getrocknet) wurden mit 30 ccm. Salzsäure (1,124) und 40 ccm. Wasser 180 Stunden auf 85° erhitzt. Zuletzt wurde eine Spur von Schwefelwasserstoff entwickelt. Ein ganz geringer Theil (0,025 g) war ungelöst. Das Filtrat wurde auf dem Wasserbade im Vacuum abdestillirt.

a) Die Lösung in Wasser gab mit BaCl<sub>2</sub> 0,1737 g BaSO<sub>4</sub>. Der Schwefel, welcher in der Form von Schwefelsäure vorkam, war also = 0,0238 g = 0,18% S.

Das Filtrat wurde durch Destillation im Vacuum eingeengt, mit 4 Volumen Weingeist versetzt, mit reiner Natronlauge stark alkalisch gemacht und mit etwas Ammoniumcarbonat gefällt. (Der Niederschlag wurde auf Abwesenheit von Cystin geprüft.) Die Lösung wurde bei saurer Reaction eingeengt, mit Weingeist versetzt und neutralisirt. Der gebildete Cystinniederschlag wurde mit verdünntem Weingeist gewaschen.

b) Die Schwefelbestimmung in dem Niederschlage gab 1,5555 g BaSO<sub>4</sub> = 0,2136 g S = 1,61% S. Der entsprechende Cystingehalt der Schalenhaut ist 6,04%.

Das Filtrat von dem Cystinniederschlage wurde in zwei Theile getheilt.



c) Die eine Hälfte, 200 cem., wurde mit 40 g NaOH und 12 g Bleiacetat u. s. w. 7 Stunden gekocht. Das Schwefelblei gab 0,5507 g  $\text{BaSO}_4$ . Der bleischwärende Schwefel im Filtrate von dem «Cystinniederschlage» war also  $= 0,0756 \times 2 \text{ g} = 1,14\% \text{ S}$ .

Die Bestimmung des Gesamtschwefels verunglückte.

Nr. 27. Erhitzen mit Salzsäure: 6,3190 g Schalenhaut (bei  $115^\circ$  getrocknet) wurden mit 20 cem. Salzsäure (1,124) und 20 g Wasser übergossen; die Luft wurde aus dem Kolben durch Kohlensäure verdrängt und Eintritt von Luft während der Erhitzung möglichst vorgebeugt. Die Erhitzung dauerte 7 Tage. Weder eine Entwicklung von Schwefelwasserstoff, noch Absetzen von Schwefel im Kolbenhalse wurde bemerkt. Die Substanz wurde bis auf einige kaum sichtbare Flöckchen aufgelöst.

a) Die Lösung gab mit  $\text{BaCl}_2$  0,1187 g  $\text{BaSO}_4$ . In der Form von Schwefelsäure fanden sich also 0,0163 g oder 0,26% S vor.

Das Filtrat wurde durch Destillation im Vacuum eingeengt, mit  $1\frac{1}{2}$  Volumen Weingeist versetzt, mit reiner Natronlauge neutralisirt und mit Essigsäure schwach angesäuert. Das Volumen der Lösung war 250 cem. Die in der Kälte abgesetzte Fällung nahm die Hauptmenge des Farbstoffes auf. Dieser «Cystinniederschlag» wurde mit verdünntem Weingeist gewaschen, mit Ammoniakflüssigkeit und ein wenig Ammoniumcarbonat gelöst, filtrirt und die Lösung in zwei Theile getheilt.

b) Die eine Hälfte der Lösung von dem «Cystinniederschlag» wurde mit 7 g NaOH eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0,4676 \text{ g}$ . Der Gesamtschwefel des «Cystinniederschlages» war also  $= 0,0642 \times 2 \text{ g} = 2,03\%$  der Substanz. Die entsprechende Cystinmenge ist 7,62% Cystin.

Die Bestimmung des bleischwärenden Schwefels in derselben Lösung verunglückte.

Das Filtrat von dem «Cystinniederschlage» wurde in zwei Theile getheilt.

c) Die eine Hälfte des Filtrats wurde mit 15 g NaOH und 3 g  $\text{KNO}_3$  eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt. Das erhaltene  $\text{BaSO}_4$  war  $= 0,4429 \text{ g}$ . Der Gesamtschwefel im Filtrate von dem «Cystinniederschlage» war also  $= 0,0608 \times 2 \text{ g} = 1,93\% \text{ S}$ .

d) In der anderen Hälfte wurde der bleischwärende Schwefel bestimmt. Aus dem Schwefelblei wurden 0,1927 g  $\text{BaSO}_4$  erhalten. Der bleischwärende Schwefel im Filtrate von dem «Cystinniederschlage» war also  $= 0,0265 \times 2 \text{ g} = 0,84\% \text{ S}$ .

Nr. 28. Erhitzen mit Salzsäure: 5,1959 g Schalenhaut (bei  $115^\circ$  getrocknet) wurden mit 20 g HCl (1,124) und 30 cem. Wasser ohne Verdrängung der Luft 7 Tage ununterbrochen erhitzt. Kaum Spuren von Schwefelwasserstoff wurden entwickelt. Die Substanz löste sich fast vollständig auf. Die Farbe der Lösung war (wie in allen Versuchen mit der Schalenhaut) besonders dunkel.

a) Die Lösung wurde mit  $\text{BaCl}_2$  gefällt.  $\text{BaSO}_4 = 0,0963 \text{ g}$ . Der



Schwefel, welcher in der Form von Schwefelsäure zugegen war, betrug also  $0.0132 \times 2 \text{ g} = 0.25\% \text{ S}$ .

Das Filtrat wurde auf dem Wasserbade im Vacuum abdestillirt, mit Wasser aufgenommen, mit reiner Natronlauge neutralisirt und mit Essigsäure schwach angesäuert. Das Volumen war 100 ccm. Die Flüssigkeit wurde mit  $1\frac{1}{2}$  Volumen Weingeist (95%) und in der Kälte 2 Tage stehen gelassen. Der «Cystinniederschlag» war stark gefärbt. Er wurde mit verdünntem Weingeist gewaschen, mit Ammoniakflüssigkeit und ein wenig Ammoniumcarbonat aufgelöst, wobei auch der Farbstoff sich löste. Diese Lösung wurde in drei Theile getheilt.

b) Ein Drittel der Lösung des «Cystinniederschlages» wurde mit 5 g NaOH und 1 g  $\text{KNO}_3$  eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt u. s. w.  $\text{BaSO}_4 = 0.1860 \text{ g}$ . Der Gesamtschwefel des «Cystinniederschlages» war also  $= 0.02554 \times 3 \text{ g} = 1.47\% \text{ S}$ . Die entsprechende Menge Cystin ist  $= 5.53\%$  der Substanz. Dazu ist noch zu addiren  $0.42\% \text{ S}$  oder  $1.59\%$  Cystin, der in d) gefunden wurde.

c) In einem Drittel der Lösung wurde der bleischwärende Schwefel bestimmt.  $\text{BaSO}_4 = 0.1402 \text{ g}$ . Der bleischwärende Schwefel des «Cystinniederschlages» war also  $= 0.01925 \times 3 \text{ g} = 1.11\% \text{ S}$ . Die entsprechende Cystinmenge beträgt  $5.54\%$  Cystin. Dazu ist noch zu addiren  $1.59\%$  Cystin ( $0.32\% \text{ S}$ ), das in d) gefunden wurde.

Das Filtrat von dem «Cystinniederschlage» wurde in drei Theile getheilt.

d) Ein Drittel wurde einige Tage stehen gelassen. Ein weisser Niederschlag schied sich ab, welcher auf ein gewogenes Filtrum gesammelt wurde. Er wog  $0.0248 \text{ g}$ . Durch Einengen des Filtrats wurde noch eine geringe Menge der in Ammoniak löslichen Substanz gewonnen. In diesem Niederschlage wurde, nach Auflösen in Ammoniak, der Schwefel bestimmt.  $\text{BaSO}_4 = 0.0534 \text{ g}$ , was  $0.00733 \times 3 \text{ g} = 0.42\% \text{ S}$  oder  $1.59\%$  Cystin entspricht.

e) Ein Drittel desselben Filtrats von dem «Cystinniederschlage» wurde mit 15 g NaOH und 3 g  $\text{KNO}_3$  eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0.3248 \text{ g}$ . Der Gesamtschwefel des Filtrats war also  $= 0.0446 \times 3 \text{ g} = 2.57\% \text{ S}$ . Davon müssen aber, nach der Bestimmung in d),  $0.42\% \text{ S}$  abgerechnet werden. Rückstand  $= 2.15\% \text{ S}$ .

f) In einem Drittel desselben Filtrats wurde der bleischwärende Schwefel bestimmt. Das Schwefelblei lieferte  $0.1709 \text{ g BaSO}_4$ . Der bleischwärende Schwefel im Filtrate von dem «Cystinniederschlage» war also  $= 0.02345 \times 3 \text{ g} = 1.35\% \text{ S}$ . Von diesem Werthe müssen jedoch  $\frac{3}{4}$  des in d) gefundenen Cystinschwefels, also  $0.32\% \text{ S}$ , abgerechnet werden. Der Werth des bleischwärenden Schwefels nach dem Auskrystallisiren des Cystins wird also  $= 1.03\% \text{ S}$ .

Nr. 29. Gehalt an Schwefelsäure: Von der Schalenhaut wurden  $9.32 \text{ g}$  (nach Abzug der besonders bestimmten Feuchtigkeit) mit



50 cem. Ammoniakflüssigkeit und 200 cem. Wasser ohne Erwärmung ausgezogen und mit Wasser gewaschen: das vollständige Auswaschen gelang jedoch nicht, weil die Substanz stark aufquoll. Das Filtrat wurde eingeeengt und die Schwefelsäure bestimmt.  $\text{BaSO}_4 = 0,0599 \text{ g}$ . Der Schwefel, welcher in der Form von Schwefelsäure vorkam, war also  $= 0,00822 \text{ g} = 0,088\% \text{ S}$ .

### Käufliches Bluteiweiss.

Nr. 30. Cystin, dargestellt durch Erhitzen mit Salzsäure:

a) 0,3288 g (bei  $100^\circ$  getrocknetes) Cystin wurde mit Salzsäure ( $3^\circ$ ) zu 25 cem. gelöst. Eine Schicht von 10 cm. bewirkte eine Ablenkung von  $2,93^\circ$  nach links:  $\alpha_D = -223^\circ$ .

b) Bei der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl-Wilfährdt wurden für 0,3080 g Cystin (bei  $100^\circ$  getrocknet) 25,33 cem. Säure  $\text{N}/10$  verbraucht. Der Stickstoff also  $0,0355 \text{ g} = 11,55\% \text{ N}$ .

c) Schwefelbestimmung: 0,2629 g Cystin (bei  $100^\circ$  getrocknet) wurden mit 5 g NaOH und etwas Wasser eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0,5153 \text{ g}$ ; der Schwefel also  $= 0,0707 \text{ g} = 26,91\% \text{ S}$ .

Nr. 31. Cystin, dargestellt durch Pankreasdigestion: 0,0833 g Cystin (bei  $90^\circ$  getrocknet) wurden mit 1 g NaOH und etwas Wasser eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0,1628 \text{ g}$ . Der Schwefelgehalt also  $= 0,0223 \text{ g} = 26,82\% \text{ S}$ .

### Serumalbumin, nicht krystallisirt.

Nr. 32. Asche: 4,0040 g Albumin (bei  $100^\circ$  getrocknet) gaben 0,0054 g Asche  $= 0,12\%$ . Die Asche wurde mit etwas Bromwasser und Salzsäure behandelt. Im Filtrate war Schwefelsäure nicht nachweisbar.

Nr. 33. Bestimmung des Gesamtschwefels:

a) 5,0730 g (bei  $115^\circ$  getrocknet) wurden mit 15 g NaOH gut gemischt und mit Natriumsuperoxyd verbrannt. Die Lösung in Wasser wurde mit etwas Bromwasser versetzt, mit Salzsäure sauer gemacht und mit  $\text{BaCl}_2$  gefällt.  $\text{BaSO}_4 = 0,6690 \text{ g}$ . Schwefel  $= 0,09185 \text{ g} = 1,81\% \text{ S}$ .

b) 5,1210 g Albumin (bei  $115^\circ$  getrocknet) wurden mit 25 g NaOH und 4 g  $\text{KNO}_3$  nach Zusatz von etwas Wasser eingetrocknet (zuletzt bei  $150^\circ$ ) und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0,6893 \text{ g}$  Schwefel  $= 0,0946 \text{ g} = 1,85\% \text{ S}$ .

Nr. 34. Bestimmung des bleischwärenden Schwefels: 4,6380 g Albumin (bei  $115^\circ$  getrocknet) wurden mit 200 g Wasser, 40 g NaOH, 10 g Bleiacetat u. s. w. 7 Stunden gekocht. Das Schwefelblei gab 0,3450 g  $\text{BaSO}_4$ . Der bleischwärende Schwefel  $= 0,0474 \text{ g} = 1,02\% \text{ S}$ .

Nr. 35. Dargestelltes Cystin: 0,1901 g Cystin (bei  $97^\circ$  getrocknet) wurden mit 3 g NaOH gemengt und mit Natriumsuperoxyd verbrannt. Die Lösung wurde mit etwas Bromwasser versetzt und mit Salzsäure angesäuert.  $\text{BaSO}_4 = 0,3648 \text{ g} = 0,0501 \text{ g}$  Schwefel  $= 26,35\% \text{ S}$ .

Nr. 36. Erhitzen mit Salzsäure: 19,994 g Albumin (bei 120° getrocknet) wurden mit 50 cm. Salzsäure (1,124) und 50 cm. Wasser auf dem Wasserbade 5 Tage erhitzt. Zuletzt wurde eine Spur Schwefelwasserstoff entwickelt. Es fand sich ein dunkler Rückstand in nicht unbeträchtlicher Menge vor, welcher nicht untersucht wurde.

a) Die Lösung wurde im Vacuum abdestillirt, mit Wasser aufgenommen und mit  $\text{BaCl}_2$  gefällt.  $\text{BaSO}_4 = 0,6761$  g. Der Schwefel, welcher sich in der Form von Schwefelsäure vorfand, war also  $= 0,0928$  g oder  $0,464\%$  S.

Das Filtrat wurde durch Destillation im Vacuum zu etwa 80 ccm. eingeeengt, mit 4 Vol. Weingeist versetzt und mit reiner Natronlauge (10° in 50° Weingeist) neutralisirt (wobei etwa 10 g NaOH verbraucht wurden) und dann mit Essigsäure schwach angesäuert.

b) Der «Cystinniederschlag» wurde mit verdünntem Weingeist gewaschen, mit Ammoniakflüssigkeit und etwas Ammoniumcarbonat aufgenommen, filtrirt, mit 7 g NaOH eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0,8840$  g. Der Schwefelgehalt des «Cystinniederschlages» war also  $= 0,1214$  g  $= 0,607\%$  S. Die entsprechende Cystinmenge beträgt  $2,27\%$ .

Das Filtrat wurde im Vacuum eingeeengt und in zwei Theile getheilt.

c) Die eine Hälfte des Filtrats wurde mit 15 g NaOH eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0,5782$  g. Der Gesamt-Schwefel im Filtrate von dem «Cystinniederschlage» war also  $0,0794 \times 2$  g  $= 0,794\%$  S.

d) Die andere Hälfte wurde mit 40 g NaOH, 10 g Bleiacetat u. s. w. 7 Stunden gekocht. Das Schwefelblei gab  $0,4788$  g  $\text{BaSO}_4$ . Der bleischwärende Schwefel im Filtrate von dem «Cystinniederschlage» war also  $0,06574 \times 2$  g  $= 0,657\%$  S.

Nr. 37. Erhitzen mit Salzsäure: 23,888 g Albumin (bei 115° getrocknet) wurden mit 80 cm. Salzsäure (1,124) und 100 cm. Wasser auf dem Wasserbade 7 Tage ununterbrochen erhitzt. Eine Spur Schwefelwasserstoff wurde zuletzt entwickelt. Ein schwarzbrauner, in Lauge nicht löslicher Rückstand fand sich vor.

a) Der ungelöste Niederschlag (aus Melanoidinsäure, vielleicht auch freiem Schwefel u. a. bestehend) wurde gesammelt und ausgewaschen. Er wog  $0,5448$  g ( $= 2,28\%$  des Eiweisses). Er wurde mit 5 g NaOH und etwas Wasser eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0,0487$  g  $= 0,0067$  g Schwefel  $= 0,028\%$  des Albumins.

b) Das Filtrat wurde mit  $\text{BaCl}_2$  gefällt.  $\text{BaSO}_4 = 0,8219$  g. Der Schwefel, welcher in der Form von Schwefelsäure zugegen war, betrug also  $0,1128$  g  $= 0,472\%$  S.

Das Filtrat wurde im Vacuum eingekocht, mit reiner Natronlauge neutralisirt, mit Essigsäure schwach angesäuert und mit Weingeist so lange versetzt, als die zuerst entstehende Trübung beim Umrühren verschwand (etwa 2 Volumen Weingeist wurden zugesetzt; Volumen der



Flüssigkeit etwa 500 cem). Nach 4tägigem Stehen in der Kälte wurde der Niederschlag gesammelt. Dieser «Cystinniederschlag» wurde mit ganz wenig Wasser ausgerührt und mit verdünntem Weingeist gewaschen. Er wurde dann mit Ammoniakflüssigkeit und ein wenig Ammoniumcarbonat behandelt, filtrirt und in 3 Theile getheilt.

c) Ein Drittel der Lösung des «Cystinniederschlages» wurde mit 5 g NaOH und etwas  $\text{KNO}_3$  eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0.3193$  g. Der Gesamtschwefel des «Cystinniederschlages» war also  $= 0.04384 \times 3 \text{ g} = 0.55\% \text{ S}$ . Die entsprechende Cystinmenge ist  $= 2.06\%$ .

d) In einem Drittel der Lösung des «Cystinniederschlages» wurde der bleischwärende Schwefel bestimmt. Das Schwefelblei gab 0,2353 g  $\text{BaSO}_4$ . Der bleischwärende Schwefel war also  $= 0.0323 \times 3 \text{ g} = 0.406\% \text{ S}$ . Die entsprechende Menge Cystin ist  $= 2.02\%$ .

Das Filtrat von dem «Cystinniederschlag» wurde in 3 Theile getheilt. Es gab nicht die Biuretreaction. Beim Zusatz von Nitroprussidalkali und Natronlauge entstand gar keine Rothfärbung. Cystein war also nicht nachweisbar. (Nach Zusatz von ein wenig Cystein wurde schöne Rothfärbung erhalten.)

e) Ein Drittel des Filtrats wurde mit 20 g NaOH und  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0.4976$  g. Der Gesamtschwefel des Filtrats von dem «Cystinniederschlage» war als  $0 = 0.0683 \times 3 \text{ g} = 0.858\% \text{ S}$ .

f) Ein Drittel desselben Filtrats gab bei Bestimmung des bleischwärenden Schwefels 0,3129 g  $\text{BaSO}_4$ . Der bleischwärende Schwefel des Filtrats von dem «Cystinniederschlage» war also  $= 0.043 \times 3 \text{ g} = 0.54\% \text{ S}$ .

Nr. 38. Serumalbumin, bereitet ohne Zusatz von Sulfat (nicht frei von Globulin): 13,135 g des Präparats (bei  $115^\circ$  getrocknet) wurden mit 40 cem. Salzsäure (1,124) und 40 cem. Wasser auf dem Wasserbade 8 Tage erhitzt. Die filtrirte Lösung wurde mit  $\text{BaCl}_2$  gefällt.  $\text{BaSO}_4 = 0.0375$  g. Der Schwefel, welcher in der Form von Schwefelsäure abgespalten wurde, war also  $= 0.00515 \text{ g} = 0.039\% \text{ S}$ .

### Krystallisirtes Serumalbumin.

Nr. 39. a) Gesamtschwefel: 5,172 g wurden mit 20 g NaOH und 4 g  $\text{KNO}_3$  mit etwas Wasser angefeuchtet und eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0.8433$  g. Der Gesamtschwefel  $= 0.1158 \text{ g} = 2.24\% \text{ S}$ .

b) Gesamtschwefel: 4,095 g des vollkommen ausgewaschenen Albumins (bei  $115^\circ$  getrocknet) wurden mit 15 g NaOH, etwas  $\text{KNO}_3$  und Wasser eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0.6544$  g. Der Gesamtschwefel  $= 0.0899 \text{ g} = 2.20\% \text{ S}$ .

c) Gesamtschwefel: 6,191 g desselben Albumins wie in b) wurden mit 25 g NaOH, 5 g  $\text{KNO}_3$  und etwas Wasser eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0.9456$  g. Der Gesamtschwefel  $= 0.1298 \text{ g} = 2.10\% \text{ S}$ .

Gesamtschwefel im Mittel aus b und c = 2.15 % S.

d Asche: 1.7652 g gaben 0,9 mg Asche; diese also = 0,05 %.

Nr. 40. Präformirte Schwefelsäure:

a 7,151 g Albumin (bei 115° getrocknet) wurden mit verdünntem Ammoniak ausgezogen und mit Wasser ausgewaschen. Das Filtrat wurde eingetrocknet, mit Wasser und Salzsäure aufgenommen und mit  $\text{BaCl}_2$  gefällt.  $\text{BaSO}_4 = 0,2293$  g. Durch Ammoniak konnten also 0,0315 g oder 0,44 % S in der Form von Schwefelsäure aus dem «Albuminsulfat» ausgelöst werden.

b Das mit Ammoniak behandelte Albumin wurde getrocknet und analysirt. 6,201 g desselben wurden mit 20 g NaOH, 4 g  $\text{KNO}_3$  und etwas Wasser eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0,776$  g. Der Gesamtschwefel nach dem Auslaugen mit Ammoniak war also = 0,1065 g = 1,72 % S.

Nr. 41. Bleischwärender Schwefel: Aus 5,285 g Albumin (bei 120° getrocknet) wurden 0,4947 g  $\text{BaSO}_4$  erhalten. Der bleischwärende Schwefel war also = 0,0679 g = 1,29 % S. (Nach Umschmelzen des  $\text{BaSO}_4$  mit Soda und erneuertem Ausfällen der Schwefelsäure wurden 1,28 % S erhalten.)

Nr. 42. Erhitzen mit Salzsäure: 19,392 g des mit Wasser (vergl. Nr. 39b) vollständig ausgewaschenen Albumins (bei 115° getrocknet) wurden mit 50 ccml. Salzsäure (1,124) und 70 ccml. Wasser auf dem Wasserbade 7 Tage erhitzt. Zuletzt wurde eine Spur Schwefelwasserstoff entwickelt. Ein braunschwarzer Rückstand blieb ungelöst. Die Flüssigkeit war nicht besonders stark gefärbt.

a Der ungelöste Rückstand wurde ausgewaschen und getrocknet. Er wog 0,2508 g (= 1,24 % des Albumins). Derselbe wurde mit 2 g NaOH, etwas  $\text{KNO}_3$  und Wasser eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0,0332$  g. Der Rückstand (aus Melanoidinsäure u. a., vielleicht auch etwas freiem Schwefel bestehend) enthielt also 0,00456 g oder, auf Albumin bezogen, 0,023 % S.

b Die Flüssigkeit wurde mit  $\text{BaCl}_2$  gefällt.  $\text{BaSO}_4 = 0,5948$  g. Der Schwefel, welcher in der Form von Schwefelsäure gefunden wurde, war also = 0,0817 g = 0,421 % S.

Das Filtrat wurde auf dem Wasserbade im Vacuum eingekocht, mit reiner Natronlauge neutralisirt, mit Essigsäure schwach sauer gemacht und mit Weingeist (etwa 1½ Volumen) versetzt, bis eine schwache Trübung bestehen blieb (das Volumen der Flüssigkeit etwa 400 ccml.) und in der Kälte stehen gelassen. Der Niederschlag war nicht besonders stark gefärbt. Er wurde mit verdünntem Weingeist gewaschen.

Dieser «Cystinniederschlag» wurde mit Ammoniakflüssigkeit und etwas Ammoniumcarbonat ausgezogen und die Lösung in 3 Theile getheilt.

c Ein Drittel der Lösung des «Cystinniederschlags» wurde mit 4 g NaOH, etwas  $\text{KNO}_3$  und Wasser eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  ver-



brannt.  $\text{BaSO}_4 = 0,3176 \text{ g}$ . Der Gesamtschwefel des Cystinniederschlags also  $= 0,0436 \times 3 \text{ g} = 0,674\%$  S. Die entsprechende Menge Cystin ist  $= 2,53\%$ .

d) In einem anderen Drittel der Lösung wurde der bleischwärende Schwefel bestimmt, wobei  $0,2274 \text{ g BaSO}_4$  erhalten wurden. Der bleischwärende Schwefel des «Cystinniederschlags» also  $= 0,0312 \times 3 \text{ g} = 0,483\%$  S. Die entsprechende Cystinmenge ist  $= 2,41\%$  Cystin.

Das Filtrat von dem «Cystinniederschlag» wurde in 3 Theile getheilt. Nach dem Einengen gab es keine Rothfärbung mit Nitroprussidalkali und Natronlauge; Cystein war also nicht nachweisbar (nach Zusatz von nur sehr wenig Cystein wurde eine schöne Rothfärbung erhalten).

e) Ein Drittel des Filtrats wurde mit  $15 \text{ g NaOH}$ , etwas  $\text{KNO}_3$  und Wasser eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0,5227 \text{ g}$ . Der Gesamtschwefel im Filtrate von dem «Cystinniederschlag» war also  $= 0,0718 \times 3 \text{ g} = 1,11\%$  von dem Albumin.

f) In einem anderen Drittel desselben Filtrats wurde der bleischwärende Schwefel bestimmt, wobei  $0,3564 \text{ g BaSO}_4$  erhalten wurden. Der bleischwärende Schwefel im Filtrate von dem «Cystinniederschlag» war also  $= 0,0489 \times 3 \text{ g} = 0,757\%$  S auf das Albumin berechnet.

### Serumglobulin.

Nr. 43. Asche:  $3,389 \text{ g}$  Globulin bei  $145^\circ$  getrocknet gaben  $0,0063 \text{ g}$  Asche  $= 0,18\%$ . Die Asche wurde mit etwas Bromwasser und Salzsäure ausgezogen. Diese Lösung gab mit  $\text{BaCl}_2$  einen geringen Niederschlag.

Nr. 44. Gesamtschwefel:  $4,937 \text{ g}$  Globulin bei  $115^\circ$  getrocknet wurden mit  $20 \text{ g NaOH}$ ,  $3 \text{ g KNO}_3$  und etwas Wasser eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0,3662 \text{ g}$ . Der Gesamtschwefel war also  $= 0,0503 \text{ g} = 1,02\%$  S.

Nr. 45. Bleischwärender Schwefel:  $4,267 \text{ g}$  Globulin bei  $120^\circ$  getrocknet mit  $40 \text{ g NaOH}$ ,  $10 \text{ g}$  Bleiacetat,  $150 \text{ ccm}$  Wasser u. s. w.  $8\frac{1}{2}$  Stunden gekocht, gaben aus dem Schwefelblei  $0,2094 \text{ g BaSO}_4$ . Der bleischwärende Schwefel war also  $= 0,02875 \text{ g} = 0,67\%$  S.

Nr. 46. Dargestelltes Cystin:  $0,2059 \text{ g}$  Cystin bei  $95^\circ$  getrocknet wurden mit  $3 \text{ g NaOH}$  und etwas Wasser eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0,4001 \text{ g}$ . Der Schwefel war also  $26,68\%$  S.

Nr. 47. Erhitzen mit Salzsäure:  $19,922 \text{ g}$  Globulin bei  $115^\circ$  getrocknet wurden mit  $50 \text{ ccm}$  Salzsäure  $1,124$  und  $45 \text{ ccm}$  Wasser auf dem Wasserbade 7 Tage erhitzt. Kaum eine Spur Schwefelwasserstoff wurde entwickelt. Die Flüssigkeit war dunkel und etwas röthlich gefärbt. Ein braunschwarzer Rückstand war ungelöst.

a) Der ungelöste Rückstand (Melanoidinsäure, vielleicht auch freien Schwefel enthaltend) wurde gewaschen und getrocknet. Er be-

trug 0,3051 g 1,11% des Globulins). Er wurde mit 4 g NaOH und etwas Wasser eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0,0233$  g. Der Schwefel also = 0,0032 g = 0,016% des Globulins.

b) Die Lösung wurde mit  $\text{BaCl}_2$  gefällt.  $\text{BaSO}_4 = 0,0721$  g. Der Schwefel in der Form von Schwefelsäure war also = 0,0099 g = 0,050% S.

Das Filtrat wurde auf dem Wasserbade im Vacuum eingeeengt, mit reiner Natronlauge neutralisirt und mit Essigsäure schwach angesäuert (das Volumen war etwa 125 ccm), dann mit Weingeist so lange versetzt, als die entstehende milchige Trübung beim Umrühren verschwand (etwa 150 ccm. Weingeist von 95%), und dann 2 Tage in der Kälte stehen gelassen. Der entstandene Niederschlag hatte einen grossen Theil des Farbstoffes aufgenommen. Dieser «Cystinniederschlag» wurde mit verdünntem Weingeist ausgewaschen, mit Ammoniakflüssigkeit und ein wenig Ammoniumcarbonat ausgezogen. Die Lösung wurde in 3 Theile getheilt.

c) Ein Drittel der Lösung wurde mit 5 g NaOH und etwas  $\text{KNO}_3$  eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0,1945$  g. Der Gesamtschwefel des «Cystinniederschlages» war also =  $0,0267 \times 3$  g = 0,402% S. Die entsprechende Menge Cystin ist = 1,51% des Globulins.

d) In einem anderen Drittel derselben Lösung wurde der bleischwärende Schwefel bestimmt. Die Auswaschung des Schwefelbleis war dabei sehr mühsam; der Filter verstopfte sich leicht, und die Flüssigkeit hatte grosse Neigung, trüb durchzulaufen. Das Auswaschen konnte daher nicht so vollständig geschehen, wie erwünscht wurde; der gefundene Werth ist daher vielleicht ein wenig zu hoch ausgefallen.  $\text{BaSO}_4 = 0,4610$  g. Der bleischwärende Schwefel des «Cystinniederschlages» war also =  $0,0221 \times 3$  g = 0,333% S. Die entsprechende Cystinmenge ist = 1,66% des Globulins.

Das Filtrat von dem «Cystinniederschlage» wurde in 3 Theile getheilt. Nach dem Entfärben mit Thierkohle und Einengen gab es keine Rothfärbung mit Nitroprussidalkali und Natronlauge; Cystein konnte also nicht, trotz der Empfindlichkeit dieser Reaction, nachgewiesen werden. Nach Zusatz von sehr wenig Cystein wurde die Rothfärbung schön erhalten.

e) Ein Drittel des Filtrats wurde mit 15 g NaOH und 2 g  $\text{KNO}_3$  eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0,2696$  g. Der Gesamtschwefel im Filtrat von dem «Cystinniederschlage» war also  $0,037 \times 3$  g = 0,557% S.

f) Ein anderes Drittel desselben Filtrates wurde zur Bestimmung des bleischwärenden Schwefels benutzt. Das Schwefelblei gab 0,1424 g  $\text{BaSO}_4$ . Der bleischwärende Schwefel im Filtrate von dem «Cystinniederschlage» war also  $0,01955 \times 3$  g = 0,294% S.

Nr. 48. a) Globulin,  $\alpha$ -Präparat aus Pferdeblutserum (vergl. Nr. 51): Aussalzen mit  $\text{MgSO}_4$ ; der Niederschlag gelöst und die



Lösung dialysirt; Sättigen mit NaCl und Einleiten von  $\text{CO}_2$ ; der Niederschlag gelöst; die Lösung (nach Ausführung der Bestimmung b) durch Kochen coagulirt. 2.2853 g gaben nach Verbrennung mit 10 g KOH und  $\text{KNO}_3$  0.1663 g  $\text{BaSO}_4 = 0.0228$  g S = 1.00% S.

b) Die Lösung, aus welcher a) später coagulirt wurde, enthielt in 100 cem. 1.277 g Eiweiss. Eine Schicht von 10 cem. derselben bewirkte eine optische Drehung von  $0.66^\circ$  nach links;  $\alpha_D = -51.7^\circ$ .

Nr. 49. a) Globulin aus Pferdeblutserum (vergl. Nr. 50 u. 56): fractionirtes Fälln mit Magnesiumsulfat; die erste Fraction, in Wasser gelöst, dialysirt; das Filtrat von dem dabei entstandenen Niederschlage enthielt Globulin, welches die Eigenschaften eines  $\beta$ -Präparates hatte; Sulfate durch Dialyse entfernt; Asche des eingetrockneten Präparates = 0.36%. Eiweissgehalt der Lösung = 3.346 g in 100 cem.; Schicht 10 cem., Drehung =  $-1.69^\circ$ ,  $\alpha_D = -50.5^\circ$ ; — 4 Vol. mit 1 Vol. ges. Kochsalzl., 10 cem., Dreh. =  $-1.335^\circ$ ,  $\alpha_D = -50.0^\circ$ ; — 2 Vol. mit 1 Vol. ges. Kochsalzl., 10 cem., Dreh. =  $-1.105^\circ$ ,  $\alpha_D = -49.6$ . Im Mittel  $\alpha_D = -50.0^\circ$ .

b) Ein Theil der Lösung wurde mit Weingeist gefällt (Asche = 0.27%).

Schwefelgehalt des Globulins: 1.9168 g (aschenfrei) Substanz gaben 0.1340 g  $\text{BaSO}_4 = 0.0184$  g S = 0.96% S.

Stickstoff des Globulins: 0.3077 g Substanz (aschenfrei) verbrauchten nach Kjeldahl-Wilfarth 33.9 cem. Säure  $\text{N}_{10} = 0.0475$  g = 15.43% N.

c) Ein Theil der Lösung wurde durch Kochen coagulirt (Asche = 0.3%).

Schwefelgehalt des Globulins: 1.1873 g Substanz (aschenfrei) gaben 0.1453 g  $\text{BaSO}_4 = 0.0199$  g S = 0.91% S.

Stickstoffgehalt nach Kjeldahl-Wilfarth: 0.2938 g Substanz (aschenfrei) verbrauchten 32.36 cem. Säure  $\text{N}_{10} = 0.0453$  g N = 15.42% N.

Nr. 50. Globulin aus Pferdeblutserum (Vergl. Nr. 49 u. 56): fractionirtes Fälln mit Magnesiumsulfat; letzte Fraction, bei Sättigung unter Erwärmung auf  $40^\circ$  erhalten. Die Sulfate durch Dialyse entfernt. Eigenschaften eines  $\beta$ -Präparates.

a) Eiweissgehalt der Lösung = 0.986 g aschefreies Globulin (Asche = 1.57% des Eiweisses) in 100 cem.; Drehungsvermögen: Schicht 10 cem. =  $-0.465^\circ$ ;  $\alpha_D = -47.2^\circ$ .

b) Schwefelbestimmung: Globulin durch Kochen coagulirt; 0.6741 g mit 4 g KOH und  $\text{KNO}_3$  verbrannt gaben 0.0489 g  $\text{BaSO}_4 = 0.0067$  g = 0.99% S.

Nr. 51. Globulin aus Pferdeblutserum (aus demselben Serum wie Nr. 48):  $\beta$ -Präparat: Aussalzen mit  $\text{MgSO}_4$ , Dialyse, Aussalzen mit NaCl und Einleiten von Kohlensäure; Filtrat (von dem  $\alpha$ -Präparat) dialysirt.

a) Optische Activität: Eiweissgehalt der Lösung = 3.686 g in 100 cem. (Asche = 0.9% von dem Eiweiss). Drehung: 20 cem. Schicht.

— 3.66°,  $\alpha_D = -49.4^\circ$ ; — 2 Vol. und 1 Vol. ges. Kochsalzl. 10 cm. Schicht. = — 1.22°,  $\alpha_D = -49.4^\circ$ ; — 2 Vol. und 1 Vol. Wasser. 10 cm. Schicht. = — 1.21°,  $\alpha_D = -49.2^\circ$ .

b) Das Globulin durch Kochen coagulirt aus einem Theil der Lösung (Asche nicht bestimmbar).

Schwefelgehalt des Globulins. 2.7715 g mit 10 g KOH und  $\text{KNO}_3$  verbrannt gaben 0.1938 g  $\text{BaSO}_4 = 0.0266$  g S = 0.96% S.

Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl-Wilfarth. 0.3005 g verbrauchten 32.8 ccm. Säure  $\text{N}_{10} = 0.046$  g N = 15.27% N. — 0.3120 g verbrauchten 34.15 ccm. Säure  $\text{N}_{10} = 0.0478$  g N = 15.32% N. Im Mittel = 15.30% N.

c) Ein anderer Theil der Lösung wurde durch Weingeist gefällt. (Asche des Eiweisses = 0.26%.)

Schwefelbestimmung. 2.0865 g gaben nach Verbrennen mit 7.5 g KOH und  $\text{KNO}_3$  0.1548 g  $\text{BaSO}_4 = 0.02126$  g S = 1.02% S.

Stickstoff nach Kjeldahl-Wilfarth. 0.2971 g verbrauchten 32.64 ccm. Säure  $\text{N}_{10} = 0.0457$  g N = 15.38% N.

Nr. 52. Globulin aus Menschenblutserum dargestellt, wie in Nr. 51 angegeben.  $\beta$ -Präparat. ( $\alpha$ -Präparat, welches in etwa derselben Menge erhalten wurde, wurde nicht näher untersucht.)

a) Drehungsvermögen: Eiweissgehalt der Lösung = 0.4326 g in 100 ccm. Drehung. 30 cm. Schicht. = 0.658°;  $\alpha_D = -50.7^\circ$ .

b) Schwefelbestimmung: 0.6159 g gaben, nach Verbrennen mit 2 g KOH und  $\text{KNO}_3$ , 0.0461 g  $\text{BaSO}_4 = 0.00633$  g S = 1.03% S.

Nr. 53. Globulin aus Ascitesflüssigkeit, nach dem in Nr. 51 angegebenen Verfahren dargestellt.  $\alpha$ -Präparat (bei dem Sättigen mit Kochsalz und Einleiten von Kohlensäure niedergeschlagen), die Lösung dialysirt.

a) Drehungsvermögen: Eiweissgehalt der Flüssigkeit = 6.04 g in 100 ccm. Die Drehung nach Verdünnen mit 4 Vol. Kochsalzlösung (6%), 10 ccm. Schicht. = — 0.625°;  $\alpha_D = -51.7^\circ$ .

b) Die Lösung wurde durch Sättigen mit reinem Kochsalz bei 30—35° und Einleiten von Kohlensäure gefällt; der erhaltene Niederschlag wurde noch einmal in derselben Weise behandelt und die Fällung in Wasser gelöst.

Drehungsvermögen: Eiweissgehalt der Lösung = 3.14 g in 100 ccm. Drehung, nach Verdünnen mit 4 Vol. reiner Kochsalzlösung (5%), 10 ccm. Schicht. = — 0.325°;  $\alpha_D = -51.4^\circ$ .

Schwefelbestimmung: von dem durch Kochen coagulirten u. s. w. Globulin (Asche = 0.1%) wurden 2.351 g mit 6 g KOH und  $\text{KNO}_3$  verbrannt u. s. w.  $\text{BaSO}_4 = 0.1905$  g = 0.02616 g = 1.11% S.

Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl-Wilfarth: 0.2207 Substanz (aschenfrei) verbrauchten 24.11 ccm. Säure  $\text{N}_{10} = 0.0337$  g N = 15.29% N.

Nr. 54. Globulin aus derselben Ascitesflüssigkeit:  $\beta$ -Prä-



parat (Filtrat von der Kochsalzfällung dialysirt). (Salzgehalt = 0.46 in 100 cem.).

a) Drehungsvermögen: Eiweissgehalt der Flüssigkeit = 1.64 in 100 cem.; Drehung, Schicht 10 cm., =  $-0.77^\circ$ ;  $\alpha_D = -47^\circ$ .

b) Schwefelgehalt: Das Globulin durch Kochen coagulirt; 1.7923 g gaben nach dem Verbrennen mit KOH (3 g) und  $\text{KNO}_3$  0.1410 g  $\text{BaSO}_4$  = 0.0194 g S = 1.08%.

c) Stickstoffgehalt (nach Kjeldahl-Wilfarth): 0.1495 g verbrauchten 16.35 cem. Säure  $\text{N}/10 = 15.31\%$  N.

Nr. 55. Serumglobulin in gewöhnlicher Weise durch Neutralisiren von Pferdeblutserum und Verdünnen mit Wasser ausgefällt, durch Auflösen mit sehr wenig Alkali und Fällen mit Essigsäure einige Mal gereinigt; in Kochsalzlösung völlig löslich. Das Globulin war nicht coagulirt, sondern nur mit Alkohol und Aether behandelt.

a) Schwefelbestimmung: 1.0802 g wurden mit KOH (5 g) und  $\text{KNO}_3$  verbrannt, u. s. w.  $\text{BaSO}_4 = 0.0834$  g = 0.01145 g S = 1.06% S.

b) Ein anderes Globulinpräparat in derselben Weise dargestellt. Schwefelbestimmung: 2.7406 g mit 10 g KOH und  $\text{KNO}_3$  verbrannt gaben 0.2018 g  $\text{BaSO}_4 = 0.0277$  g S = 1.01% S.

Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl-Wilfarth: 0.3084 g verbrauchten 33.58 cem. Säure  $\text{N}/10 = 0.0470$  g N = 15.24% N.

Stickstoffbestimmung: 0.2660 g Substanz verbrauchten 28.93 cem. Säure  $\text{N}/10 = 0.0405$  g N = 15.28% N.

Nr. 56. Globulin aus Pferdeblutserum (vergl. 49. und 50): fractionirtes Aussalzen mit Magnesiumsulfat; der durch Dialyse abgetrennte Theil aus der ersten Fraction;  $\alpha$ -Präparat; vorsichtig behandelt mit Alkohol und Aether; nach Auflösen in sehr schwachem Alkali und Ausfällen war es in Kochsalz löslich. Eiweissgehalt der Flüssigkeit = 1.142 g in 100 cem. Die Drehung, 10 cm. Schicht, =  $-0.56^\circ$ ;  $\alpha_D = -49.0^\circ$ .

### Fibrinogen.

Nr. 57. Asche: 1.012 g Fibrinogen (bei  $115^\circ$  getrocknet) gaben 0.0010 Asche = 0.10%.

Nr. 58. Bestimmung des Gesamtschwefels: a) 4.4040 g Fibrinogen (bei  $115^\circ$  getrocknet) wurden mit 16 g NaOH, etwas  $\text{KNO}_3$  und Wasser eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0.3508$  g. Der Schwefel = 0.0482 g = 1.10% S.

b) 4.1940 g Fibrinogen wurden mit 15 g NaOH, etwas  $\text{KNO}_3$  und Wasser eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0.3567$  g. Der Schwefel also = 0.0489 g = 1.16% S.

Nr. 59. Bleischwärender Schwefel: 4.850 g Fibrinogen (bei  $115^\circ$  getrocknet) gaben 0.1641 g  $\text{BaSO}_4$ . Der bleischwärende Schwefel also = 0.0225 g = 0.465% S.

Nr. 60. Erhitzen mit Salzsäure: 14,296 g Fibrinogen (bei 115° getrocknet) wurden mit 40 ccm. Salzsäure (1,124) und 40 ccm. Wasser auf dem Wasserbade 7 Tage erhitzt. Die Flüssigkeit war dunkelbraun. Ein braungefärbter Rückstand war ungelöst.

a) Der Rückstand (aus Melanoidinsäure u. a., vielleicht auch freiem Schwefel bestehend) wurde ausgewaschen und getrocknet. Er wog 0,2364 g (= 1,6% des Fibrinogens). Er wurde mit 2 g NaOH und etwas Wasser eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0,0164$  g. Der Schwefel in dem Rückstand war also =  $0,00225$  g = 0,016% des Fibrinogens.

b) Die Lösung wurde mit  $\text{BaCl}_2$  gefällt.  $\text{BaSO}_4 = 0,0658$  g. Der Schwefel, welcher als Schwefelsäure zugegen war, betrug also  $0,009$  g = 0,063% S.

Das Filtrat wurde auf dem Wasserbade im Vacuum eingengt, mit reiner Natronlauge neutralisirt, mit Essigsäure schwach angesäuert und mit Weingeist so lange versetzt, als die entstehende milchige Trübung noch verschwand (etwa 2 Volumen Weingeist von 95° wurden zugesetzt) dann 4 Tage in die Kälte gestellt. Der Niederschlag enthielt einen grossen Theil des Farbstoffes. Er wurde mit Ammoniakflüssigkeit und ein wenig Ammoniumcarbonat ausgezogen und die Lösung des «Cystinniederschlags» in drei Theile getheilt.

c) Ein Drittel der erwähnten Lösung wurde mit 5 g NaOH und etwas  $\text{KNO}_3$  eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0,1082$  g. Der Gesamtschwefel des «Cystinniederschlags» war also =  $0,0149 \times 3$  g = 0,312% S. Die entsprechende Cystinmenge ist = 1,17% des Fibrinogens.

d) Ein anderes Drittel gab bei der Bestimmung des bleischwärenden Schwefels 0,0829 g  $\text{BaSO}_4$ . Der bleischwärende Schwefel des «Cystinniederschlags» war also =  $0,0114 \times 3$  g = 0,233% S. Die entsprechende Menge Cystin ist = 1,16% des Fibrinogens.

Das Filtrat von dem «Cystinniederschlage» wurde in drei Theile getheilt. Nach dem Entfärben mit Thierkohle und Einengen gab es weder mit Eisenchlorid noch mit Kupfersulfat Färbung wie Cystein: ebensowenig gab es Rothfärbung mit Nitroprussidalkali und Natronlauge. (Zusatz von sehr wenig Cystein rief aber diese Reaction hervor.) Die Buretreaction fiel gänzlich negativ aus.

e) Ein Drittel des Filtrats wurde mit 20 g NaOH und etwas  $\text{KNO}_3$  eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0,2728$  g. Der Gesamtschwefel im Filtrate von dem «Cystinniederschlage» war also =  $0,0375 \times 3$  g = 0,786% S.

f) Ein anderes Drittel gab bei der Bestimmung des bleischwärenden Schwefels 0,0653 g  $\text{BaSO}_4$ . Der bleischwärende Schwefel im Filtrate von dem «Cystinniederschlage» war also =  $0,00897 \times 3$  g = 0,188% S.



**Ovalbumin. nicht krystallisirt.**

Nr. 61. Asche: 4,6064 g [Albumin (bei 120° getrocknet) gaben 0,0347 g Asche = 0,78% S. Die Asche wurde mit Salzsäure und Bromwasser behandelt. Das Filtrat gab mit BaCl<sub>2</sub> 1,7 mg BaSO<sub>4</sub> = 0,24 mg S = 0,005% S.

Nr. 62. Bestimmung des Gesamtschwefels: 5,6100 g Albumin (bei 115° getrocknet) wurden mit 15 g NaOH, etwas KNO<sub>3</sub> und Wasser eingetrocknet und mit KNO<sub>3</sub> verbrannt. BaSO<sub>4</sub> = 0,6355 g. Der Schwefel also = 0,0872 g = 1,56% S.

Nr. 63. Bleischwärender Schwefel: 5,777 g Albumin (bei 120° getrocknet) wurden mit 40 g NaOH, 10 g Bleiacetat, 150 ccm. Wasser u. s. w. 7 Stunden gekocht. Das Schwefelblei lieferte 0,2281 g BaSO<sub>4</sub>. Der bleischwärende Schwefel also = 0,0313 g = 0,54% S.

Nr. 64. Dargestelltes Cystin: 0,1598 g Cystin (bei 95° getrocknet) wurden mit 2 g NaOH und KNO<sub>3</sub> verbrannt. BaSO<sub>4</sub> = 0,3050 g. Schwefel = 0,04187 g = 26,20% S.

Nr. 65. Erhitzen mit Salzsäure: 18,832 g Albumin (bei 120° getrocknet) wurden mit 50 ccm. Salzsäure (1,124) und 50 ccm. Wasser auf dem Wasserbade 5 Tage auf 92° erhitzt. Zuletzt wurde ein wenig Schwefelwasserstoff entwickelt. Die Lösung hatte einen unangenehmen, lauchartigen Geruch, der nicht von Schwefelwasserstoff herrührte. Ein braunschwarzer Rückstand war ungelöst.

a) Der ungelöste Rückstand wurde ausgewaschen und getrocknet. Er wog 0,7126 g (= 3,8% des Albumins). Nach dem Verbrennen mit Soda und Natrium-superoxyd wurden 0,1172 g BaSO<sub>4</sub> erhalten. Der Schwefel also = 0,0161 g = 0,085% des Albumins.

b) Die Lösung wurde auf dem Wasserbade im Vacuum abdestillirt, mit Wasser aufgenommen und mit BaCl<sub>2</sub> gefällt. BaSO<sub>4</sub> = 0,187 g. Der Schwefel in der Form von Schwefelsäure war also = 0,00257 g = 0,014% S.

Das Filtrat wurde im Vacuum zu etwa 150 ccm. eingengt, mit Essigsäure schwach angesäuert, dann mit 2 Volumen Weingeist versetzt und zwei Tage in der Kälte stehen gelassen.

c) Der Niederschlag wurde mit etwas Wasser erweicht und mit verdünntem Weingeist gewaschen, dann mit NaOH eingetrocknet und mit Natrium-superoxyd verbrannt. BaSO<sub>4</sub> = 0,1072 g. Der Schwefel des «Cystinniederschlags» war also = 0,0147 g = 0,078% S. Die entsprechende Menge Cystin ist = 0,30% des Albumins.

Das Filtrat wurde etwas eingengt und in zwei Theile getheilt.

d) Die eine Hälfte wurde mit NaOH eingetrocknet und mit Natrium-superoxyd verbrannt. Die mit etwas Bromwasser versetzte Lösung wurde mit Salzsäure angesäuert und mit BaCl<sub>2</sub> gefällt. BaSO<sub>4</sub> = 0,8046 g. Der Gesamtschwefel im Filtrate von dem «Cystinniederschlag» war also = 0,1105 × 2 g = 1,17% S.

e) Die andere Hälfte derselben Lösung gab bei der Bestimmung des bleischwärenden Schwefels 0,1882 g  $\text{BaSO}_4$ . Der bleischwärende Schwefel im Filtrate von dem »Cystinniederschlage« war also  $= 0,0258 \times 2 \text{ g} = 0,275\%$  S.

### .Krystallisirtes Ovalbumin.

Nr. 66. Asche: 0,6633 g Albumin (bei  $115^\circ$  getrocknet) gaben 4,4 mg Asche  $= 0,66\%$ . In der Asche war Phosphorsäure qualitativ nachweisbar.

Nr. 67. Stickstoff:

a) 0,7337 g Albumin (aschenfrei) bei  $115^\circ$  getrocknet, verbrauchten nach Kjeldahl-Wilfarth 81,6 ccm. Säure  $\text{N}_{10} = 0,1143 \text{ g} = 15,58\%$  N.

b) 0,6771 g aschenfreies Albumin (bei  $115^\circ$  getrocknet) verbrauchten 75,0 ccm. Säure  $\text{N}_{10} = 15,52\%$  N.

Nr. 68. Gesamtschwefel:

a) 6,1900 g Albumin (bei  $115^\circ$  getrocknet) wurden mit 20 g  $\text{NaOH}$ , 4 g  $\text{KNO}_3$  und etwas Wasser eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0,7104 \text{ g}$ . Der Schwefel also  $= 0,0975 \text{ g} = 1,58\%$  S. Auf aschefreie Substanz berechnet  $= 1,59\%$  S.

b) 7,3441 g Albumin (bei  $115^\circ$  getrocknet) wurden mit 26 g  $\text{NaOH}$ , 5 g  $\text{KNO}_3$  und etwas Wasser eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0,8328 \text{ g} = 0,1144 \text{ g} = 1,56\%$  S. Auf aschenfreie Substanz berechnet  $= 1,57\%$  S.

Nr. 69. Bleischwärender Schwefel: 6,0310 g Albumin (bei  $115^\circ$  getrocknet) gaben 0,1860 g  $\text{BaSO}_4$ . Der bleischwärende Schwefel war also  $= 0,0255 \text{ g} = 0,423\%$  S. Auf aschenfreie Substanz berechnet  $= 0,43\%$  S.

Nr. 70. Dargestelltes Cystin: 0,1205 g Cystin mit  $\text{NaOH}$  und  $\text{KNO}_3$  verbrannt, lieferten 0,2359 g  $\text{BaSO}_4$ ; Schwefel also  $= 0,0324 \text{ g} = 26,88\%$  S.

Nr. 71. Erhitzen mit Salzsäure: 20,54 g Albumin (bei  $115^\circ$  getrocknet) wurden mit 60 ccm. Salzsäure und 60 ccm. Wasser auf dem Wasserbade 7 Tage auf  $92^\circ$  erhitzt. Zuletzt wurde eine Spur Schwefelwasserstoff entwickelt. In diesem Versuche war ein lauchartiger Geruch nicht deutlich wahrnehmbar, während bei anderen Gelegenheiten, wo dieses Albumin mit Salzsäure erhitzt wurde, ein solcher sehr deutlich war. Die Flüssigkeit war braungefärbt, wenn auch nicht besonders stark. Ein braunschwarzer Rückstand war ungelöst.

a) Der ungelöste Rückstand (Melanoidinsäure u. s. w., vielleicht auch etwas freien Schwefel enthaltend) wurde ausgewaschen und getrocknet. Er wog 0,8236 g ( $= 4\%$  des Albumins). Er wurde mit 4 g  $\text{NaOH}$  und etwas Wasser eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0,1953 \text{ g} = 0,0268 \text{ g}$  Schwefel  $= 0,13\%$  S.

b) Das Filtrat wurde mit  $\text{BaCl}_2$  gefällt.  $\text{BaSO}_4 = 0,0152 \text{ g}$ . Der



Schwefel, welcher sich in der Form von Schwefelsäure vorfand, war also  $= 0,0021 \text{ g} = 0,01\%$  S. auf Albumin berechnet.

Das Filtrat wurde so weit als möglich durch Destillation im Vacuum eingeeengt, mit reiner Natronlauge neutralisirt und mit Essigsäure schwach sauer gemacht. Das Volumen  $\approx$  etwa 100 ccm. Die Lösung wurde mit  $1\frac{1}{2}$  Volumen Weingeist versetzt und 4 Tage in die Kälte gestellt. Der stark gefärbte, klebrige Niederschlag wurde mit ein wenig Wasser erweicht und mit verdünntem Weingeist gewaschen. Dann wurde er mit Ammoniakflüssigkeit und ein wenig Ammoniumcarbonat ausgezogen. Der Farbstoff ging dabei fast vollständig in die Lösung über.

c) Der geringe Rückstand nach Auslösen mit Ammon (welcher Baryumcarbonat, wahrscheinlich eine geringe Spur Baryumsulfat und sehr wenig Farbstoff enthielt) wurde mit NaOH und  $\text{KNO}_3$  geschmolzen.  $\text{BaSO}_4 = 0,0183 \text{ g}$ . Der Schwefel war also  $= 0,0025 \text{ g} = 0,012\%$  S.

Die ammoniakalische Lösung des «Cystinniederschlags» wurde in drei Theile getheilt. In einem Drittel wurde qualitativ nach Cystin gesucht. Durch die Gegenwart von der verhältnissmässig grossen Salzmenge wurde diese Untersuchung sehr erschwert. Es gelang doch, einige schwerlösliche Krystalle, aus sechsseitigen Tafeln bestehend, zu erhalten.

d) Ein Drittel der ammoniakalischen Lösung des «Cystinniederschlags» wurde mit 3 g NaOH und etwas  $\text{KNO}_3$  eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0,0379 \text{ g}$ . Der Gesamtschwefel des «Cystinniederschlags» war also  $= 0,0052 \times 3 \text{ g} = 0,016\%$  S. Die entsprechende Cystinmenge ist  $= 0,29\%$  des Albumins.

e) Ein Drittel derselben Lösung wurde zur Bestimmung des bleischwärenden Schwefels verwendet. Das Schwefelblei gab  $0,0313 \text{ g BaSO}_4$ . Der bleischwärende Schwefel des «Cystinniederschlags» war also  $= 0,0043 \times 3 \text{ g} = 0,013\%$  S. Die entsprechende Menge Cystin ist  $= 0,31\%$  des Albumins.

Das Filtrat von dem «Cystinniederschlage» war nicht besonders stark gefärbt. Es wurde in drei Theile getheilt. Nach dem Entfärben mit Thierkohle und Einengen gab es keine Rothfärbung mit Nitroprussidalkali und Natronlauge. Cystein konnte also nicht nachgewiesen werden. (Nach Zusatz von ein wenig Cystein wurde schöne Rothfärbung erhalten.)

f) Ein Drittel der Lösung wurde mit 16 g NaOH und etwas  $\text{KNO}_3$  eingetrocknet und mit  $\text{KNO}_3$  verbrannt.  $\text{BaSO}_4 = 0,5865 \text{ g}$ . Der Gesamtschwefel des Filtrats von dem «Cystinniederschlag» war also  $= 0,0805 \times 3 \text{ g} = 1,18\%$  S.

g) Ein anderes Drittel derselben Lösung wurde zur Bestimmung des bleischwärenden Schwefels gebraucht. Erhaltenes  $\text{BaSO}_4 = 0,1588 \text{ g}$ . Der bleischwärende Schwefel im Filtrate von dem «Cystinniederschlage» war also  $= 0,0218 \times 3 \text{ g} = 0,32\%$  S.

Nr. 72. Erhitzen mit Salzsäure: In diesem Versuche beabsichtigte ich besonders zu prüfen, ob flüchtige, schwefelhaltige Stoffe bei

der Zersetzung des Ovalbumins mit Salzsäure gebildet werden und auf diese Weise ein Theil des Schwefels verloren gehe.

11.255 g Albumin (bei 115° getrocknet) wurden mit 36 ccm. Salzsäure (1.124) und 36 ccm. Wasser auf dem Wasserbade 7 Tage (wie gewöhnlich) ununterbrochen auf 82° erhitzt. Schwefelwasserstoff wurde kaum spurenweise gebildet; im Ableitungsrohre entstand nur ein sehr geringer Beschlag von Schwefelblei. Die Flüssigkeit hatte einen unangenehmen lauchähnlichen Geruch. Die Dämpfe färbten ein mit Bleiacetat getränktes Papier gar nicht. Schwefelwasserstoff konnte also nicht zum Geruch beitragen. Die Flüssigkeit wurde, ohne Entfernung des ungelösten Rückstandes, auf dem Wasserbade durch Destillation im Vacuum möglichst eingengt, mit reiner Natronlauge neutralisirt, mit 25 g NaOH nebst 7 g KNO<sub>3</sub> eingetrocknet (zuletzt bei 150°) und dann mit KNO<sub>3</sub> verbrannt. BaSO<sub>4</sub> = 0.9042 g. Gesamtschwefel also = 0.1241 g = 1.10% S. auf das Albumin berechnet.

### Casein.

Nr. 73. Bleischwärender Schwefel: Zwei Mal mit Essigsäure gefälltes Casein.

a) 6.1869 g Casein (bei 120° getrocknet) wurden mit 10 g Bleiacetat, 40 g Natriumhydrat und 150 ccm. Wasser 7 Stunden erhitzt u. s. w. Erhaltenes BaSO<sub>4</sub> = 0.0286 g = 0.0039 g S = 0.063% bleischwärender Schwefel.

b) 6.54 g Casein (bei 120° getrocknet) wurden mit 50 g Natriumhydrat, 10 g Bleiacetat u. s. w. erhitzt. Erhaltenes BaSO<sub>4</sub> = 0.0336 g = 0.0046 g S = 0.071% bleischwärender Schwefel.

Nr. 74. Bleischwärender Schwefel: Fünf Mal mit Essigsäure gefälltes Casein: Das mit Alkohol und Aether behandelte Casein verhielt sich gegen Lab typisch. In 7.782 g (115°) wurde der bleischwärende Schwefel bestimmt, das Casein wurde mit 10 g Bleiacetat, 50 g NaOH, 200 ccm. Wasser und einem Zinkstückchen 4½ Stunden gekocht, in welcher Zeit das Schwefelblei sich abgesetzt hatte (das Filtrat gab bei weiterem Kochen 2½ Stunden keine Spur von Schwefelblei). BaSO<sub>4</sub> = 0.0350 g = 0.0048 g S = 0.061% bleischwärender Schwefel.

### Oxydirbarkeit des Cysteins.

Nr. 75. Typisches, in sechsseitigen Tafeln krystallisirtes Cystin (mp = 223°) wurde in verdünnter Salzsäure gelöst und auf dem Wasserbade 7 Stunden mit Zinn erwärmt. Das Zinn wurde mit Schwefelwasserstoff gefällt und die Lösung im Vacuum abgedampft, in Weingeist zweimal gelöst und abgedampft; zuletzt in Wasser gelöst und mit HCl zu einem Gehalte von 10% versetzt.

a) 20 ccm. dieser Lösung gaben bei der Schwefelbestimmung 1.017 g BaSO<sub>4</sub>, was 0.1396 g S oder 0.5274 g Cystein entspricht. Der



Cysteingehalt wäre also zu 2,64 g in 100 cem. zu veranschlagen. Dieser Werth ist doch wahrscheinlich etwas zu hoch; da die Möglichkeit nicht ausgeschlossen wurde, dass ein wenig Schwefelsäure beim Abdampfen der schwefelwasserstoffhaltigen Flüssigkeit gebildet wurde.

b) Diese Flüssigkeit bewirkte in einem 20 cm.-Rohr eine Ablenkung des polarisirten Lichtes von  $0,16^\circ$  nach links. Für das Cystein würde dies eine spezifische Drehung von  $\alpha_D =$  etwa  $-3^\circ$  geben. Da der Cysteingehalt nicht genau bestimmt werden konnte, ist diese Ziffer natürlicher Weise etwas unsicher, um so mehr, als bei dem zweimaligen Abdampfen der Lösung mit Weingeist etwas Cystin gebildet werden konnte.

c) Von derselben Flüssigkeit wurden 75 cem. in einem Kolben, welcher von der Flüssigkeit zur Hälfte gefüllt wurde, auf dem Wasserbade 4 Tage ununterbrochen erhitzt. Keine besonderen Maassregeln wurden getroffen, um den Luftzutritt zu verhindern; um das Verdampfen des Wassers zu behindern, wurde nur ein Trichter in die Mündung des Kolbens eingesteckt. Nach dem Erhitzen, wobei die Concentration sich nur wenig veränderte, wurde die Lösung auf das ursprüngliche Volumen gebracht. In einem 20 cm.-Rohr bewirkte sie jetzt eine Drehung von  $2,42^\circ$  nach links.

d) Das Cystein wurde dann mit Jod oxydirt. Nach Correction für die durch den Jodzusatz bewirkte Volumenveränderung drehte die Lösung jetzt (20 cm.-Rohr)  $8,68^\circ$  nach links. (Durch Neutralisation wurde das Cystin auskrystallisirt, wobei nur wenige sechsseitige Tafeln, am meisten aber Kugeln mit undeutlichem krystallinischem Bau, erhalten wurden.)

Während des Erhitzens (4 Tage) hatte sich also die Linksdrehung mit  $2,27^\circ$  vermehrt; die vollständige Oxydation des Cysteins bewirkte im Ganzen eine Steigerung der Linksdrehung um  $8,52^\circ$ . Durch die Einwirkung der Luft während des 4-tägigen Erhitzens wurden also 26% des Cysteins oxydirt.

Nr. 76. In einem anderen Versuch wurde die Erhitzung bei Gegenwart der Spaltungsprodukte der Menschenhaare ausgeführt.

Menschenhaare wurden in gewöhnlicher Weise 7 Tage mit Salzsäure erhitzt, und das Cystin durch Neutralisation mit Natronlauge abgeschieden. Von der mit Thierkohle entfärbten Mutterlauge wurde ein Theil, welcher 67,5 g trockenen Haaren entsprach, genommen und mit Salzsäure zu 10% versetzt.

Von demselben Cystin, wie in Nr. 75, wurden 2 g durch Reduction mit Zinn zu Cystein übergeführt, das Zinn entfernt, auf dem Wasserbade im Vacuum abdestillirt und der Rückstand in Wasser gelöst.

a) Ein Drittel der Haarlösung, 100 cem., wurde mit  $35\frac{1}{2}$  cem. Wasser versetzt. Die Drehung der Lösung im 20 cm.-Rohr war  $= +1,71^\circ$ . Von dieser Lösung wurden 100 cem. zur Kontrolle, wie in Nr. 75 be-

schrieben, 5 Tage auf dem Wasserbade erhitzt, nach dem Erkalten auf 100 ccm. gebracht mit 10 g Thierkohle entfärbt, filtrirt, und die Drehung bestimmt. Im 20 ccm.-Rohr war sie =  $+ 1,62^\circ$ , also fast genau dieselbe, wie vor dem Erhitzen. Etwas Jod wurde dann zugesetzt und der Ueberschuss desselben mit Hyposulfit entfernt. Nach Reduction für die Verdünnung war die Drehung jetzt =  $+ 1,61$ ; der Zusatz von Jod hatte also keine Veränderung des Drehungsvermögens bewirkt.

b Ein anderes Drittel der Haarlösung wurde mit der oben erwähnten Cysteinlösung (aus 2 g Cystin) versetzt und auf  $135\frac{1}{2}$  ccm. gebracht. Diese Lösung bewirkte im 20 cm.-Rohr eine Drehung von  $+ 1,92^\circ$ . (Das Cystein war also in diesem Falle rechtsdrehend mit einer specifischen Rotation von einigen Graden). Von dieser Lösung wurden 100 ccm. genau wie in a) erhitzt und entfärbt u. s. w. Die Drehung dieser Lösung war in einem 20 cm.-Rohr =  $- 0,05^\circ$  und hatte sich also während des Erhitzens um  $1,97^\circ$  verändert. Die Lösung wurde jetzt mit Jod oxydirt; nach Einführung von Correction für die Verdünnung, welche bei der Oxydation stattgefunden hatte, war die Drehung =  $- 1,64^\circ$  und hatte sich also von dem ursprünglichen Werth um  $3,56^\circ$  verändert.

Nach Abzug für die Veränderung der Haarlösung, welche in a) gefunden wurde ( $0,09^\circ$ ) war also die durch Oxydation des Cysteins bewirkte Drehungsänderung resp. nach dem Erhitzen =  $1,88^\circ$ , und nach vollständiger Oxydation des Cysteins durch Jod =  $3,47^\circ$  während des fünftägigen Erhitzens wurden also  $54\%$  des Cysteins oxydirt.

### Methoden zur approximativen Bestimmung des Cysteins.

Nr. 77. Zur approximativen Bestimmung des Cysteins habe ich theils die Empfindlichkeitsgrenze der Reaction mit Nitroprussidalkali und Lauge zu bestimmen gesucht und theils den Jodverbrauch des Cysteins untersucht.

Zuerst wurde es versucht, die Cystein-Chlorwasserstoffverbindung aus alkoholischer Lösung durch Aether zu fällen und die getrocknete Substanz zu wiegen. Es zeigte sich dabei schwierig, einer Oxydation des Cysteins zu entgehen, weshalb diese Untersuchungsmethode unsicher schien. Ich erhielt jedoch dabei Werthe, die nicht viel von den unten mitzutheilenden abwichen.

Später habe ich das Cystein möglichst schnell darzustellen versucht und die ganz frische Lösung in Arbeit genommen. Zur Bestimmung des Cysteingehalts derselben habe ich den Stickstoff bestimmt: zwar kann dies einen Fehler im Gefolge haben, wenn eine Abspaltung von Ammoniak bei der Reduction des Cystins stattfindet; nach meiner Erfahrung kann aber dieser Fehler nur unbedeutend sein, und die Uebereinstimmung mit dem berechneten Jodverbrauch ist für den vorliegenden



Zweck hinreichend. Das Cystein durch eine Schwefelbestimmung zu ermitteln, erwies sich in diesem Falle weniger sicher, weil es weder möglich war, einer Bildung von Schwefelsäure beim Behandeln mit Schwefelwasserstoff und Abdampfen der Flüssigkeit zu entgehen, noch konnte diese Schwefelsäure in einfacher Weise entfernt werden.

Eine Cysteinlösung wurde in der oben beschriebenen Weise dargestellt:

A) Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl-Wilfarth:

a) 20 ccm. der Lösung verbrauchten 32,2 ccm. Säure  $N_{10}$ , was 1,95% Cystein entspricht.

b) Andere 20 ccm. verbrauchten 32,4 ccm. Säure  $N_{10}$ , was 1,96% Cystein entspricht.

Der Cysteingehalt wäre also als Maximum = 1,95%.

B) Jodverbrauch: Es erwies sich, dass man in stark saurer Lösung (einige Procent bis 10% HCl) constante Werthe erhalten konnte (in ganz schwach saurer Lösung schien es nicht möglich, brauchbare Resultate zu erhalten). Die Jodlösung wurde bei Gegenwart von Stärkekleister zugesetzt, bis die Blaufärbung wenigstens einige Minuten stehen blieb. Ehe dieser Punkt erreicht wurde, war ein Stadium, in welchem die Blaufärbung nicht augenblicklich nach dem Jodzusatze verschwand, und die Flüssigkeit übrigens sich ziemlich lange röthlich beibehielt.

a) 10 ccm. dieser Cysteinlösung mit 5 ccm. Salzsäure (1,124) und 25 ccm. Wasser verbrauchten 14 ccm. Jodlösung  $N_{10}$ .

b) Andere 10 ccm. mit 10 ccm. der Salzsäure und 20 ccm. Wasser verbrauchten 13,95 ccm. Jodlösung  $N_{10}$ .

Wenn ein Molekül Cystein bei dieser Reaction ein Atom Jod aufnimmt, wäre also die Cysteinmenge nach diesen Bestimmungen 1,69%. (Nach der Stickstoffbestimmung wäre sie 1,95%.)

c) 10 ccm. der Cysteinlösung und 25 ccm. einer Lösung von Serumalbumin, welche durch  $5\frac{1}{2}$ -ständiges Kochen mit der dreifachen Menge Salzsäure, Filtriren und Einfärben bereitet worden war (Salzsäuregehalt desselben = etwa 10%). Der Jodverbrauch der Albuminlösung war für 25 ccm. = 0,2 ccm.  $N_{10}$ . Der Jodverbrauch der gemischten Flüssigkeit war = 14,1 ccm.  $N_{10}$ ; für die Cysteinlösung selbst also = 13,9 ccm.  $N_{10}$ .

Die Gegenwart der Spaltungsprodukte des Albumins bewirkte also keine Veränderung des Jodabsorptionsvermögens.

C) Zur Bestimmung der Empfindlichkeitsgrenze der Nitroprussidreaction wurde die Cysteinlösung verdünnt, bis die vorübergehende purpurrothe Färbung bei Zusatz von Nitroprussidalkali und Natronlauge ganz schwach, aber immer noch deutlich hervortrat. Beim Verdünnen auf 1000 Volumen war dies der Fall; beim Verdünnen auf 1500 Volumen war die purpurrothe Färbung kaum deutlich bemerkbar. Eine braunrothe Färbung wurde nicht berücksichtigt, da sie nicht charakteristisch ist).

Die Empfindlichkeit der Reaction in Wasserlösung kann also zu 1 Theil Cystein auf 50.000 Lösung, oder etwas darüber, veranschlagt werden.

Zur weiteren Prüfung wurde die Cysteinlösung mit der in B) c) erwähnten Albuminlösung verdünnt; diese gab selbst keine deutliche purpurrothe Färbung mit Nitroprussidalkali und Natronlauge. Bei einer Verdünnung mit 400 Volumen Albuminlösung war die Purpurfarbe ganz deutlich; bei einer Verdünnung mit 500 Volumen aber nicht mehr. In diesem Falle war also die Empfindlichkeit geringer, vielleicht wegen der gelben Farbe der Albuminlösung. Unter diesen Verhältnissen kann man die Empfindlichkeitsgrenze zu 1 Theil Cystein auf 20.000 Theile Lösung veranschlagen.