

Hydrolyse des krystallisirten Oxyhämoglobins aus Pferdeblut.

Von
Emil Abderhalden.

(Aus dem ersten chemischen Institut der Universität Berlin.)
(Der Redaction zugegangen am 5. März 1903.)

In einer früheren Arbeit¹⁾ war gezeigt worden, dass sich bei der Hydrolyse des krystallisirten Oxyhämoglobins aus Pferdeblut mit Salzsäure nach der Veresterungsmethode²⁾ die folgenden Spaltungsproducte nachweisen lassen: Alanin, Leucin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Phenylalanin, und α -Pyrrolidincarbonsäure. Anschliessend an diese Untersuchung wurde nun versucht, einestheils die Mengenverhältnisse der genannten Verbindungen festzustellen und anderentheils weitere am Aufbau des Globinmoleküls betheiligte Complexe zu isoliren. Neu aufgefunden wurden: Tyrosin, Cystin, Serin, Oxy- α -Pyrrolidincarbonsäure, Lysin, Arginin, Histidin und Tryptophan.

Das Serin wurde nach den Angaben von Emil Fischer und Peter Bergell³⁾ als β -Naphtalinsulfoverbindung isolirt. Die Isolirung der Oxy- α -Pyrrolidincarbonsäure erfolgte nach den Angaben von Emil Fischer⁴⁾ aus dem bei der Ausätherung der Ester verbleibenden Rückstande. Bei dem Nachweise des Lysins, des Arginins und des Histidins folgte ich den Angaben von Kossel und Kutscher.⁵⁾ Das Tryptophan endlich

1) Emil Fischer und Emil Abderhalden. Hydrolyse des Oxyhämoglobins durch Salzsäure. Diese Zeitschr., Bd. XXXVI, 1902, S. 268.

2) Emil Fischer. Ueber Hydrolyse des Caseins durch Salzsäure. Diese Zeitschr., Bd. XXXIII, S. 154, 1901.

3) Emil Fischer und Peter Bergell. Ueber die β -Naphtalinsulfo-derivate der Aminosäuren. Ber. d. deutsch. chem. Ges., Jg. 35, 1902, S. 3779.

4) Emil Fischer. Ueber eine neue Aminosäure aus Leim. Ber. d. deutsch. chem. Ges., Jg. 35, 1902, S. 2660.

5) A. Kossel und F. Kutscher. Beiträge zur Kenntniss der Eiweisskörper. Diese Zeitschr., Bd. XXXI, S. 165, 1900/01.

wurde mit der von Hopkins¹⁾ ausgearbeiteten Methode nachgewiesen.

Experimenteller Theil.

Für die Hydrolyse wurden 1000,0 g bei 100° getrocknetes Pferdeoxyhämoglobin verwandt. Dasselbe war nach der Methode von Zinoffsky-Abderhalden²⁾ dargestellt und zweimal umkrystallisirt worden.

Nach 6 stündigem Kochen des genannten Materials mit 3000 g rauchender Salzsäure vom specifischen Gewicht 1,19 am Rückflusskühler wurde die Lösung in der bekannten Weise bei 10 mm Druck zum Syrup eingedampft, der Rückstand in absolutem Alkohol (3000 g) gelöst, mit gasförmiger Salzsäure gesättigt, und um das bei der Veresterung sich bildende Wasser möglichst zu entfernen, der ganze Process wiederholt. Nach nochmaligem Eindampfen wurden die Ester durch Zusatz von Aether, Kaliumcarbonat und sehr concentrirter Natroulauge unter starker Kühlung isolirt.

Die fractionirte Destillation erfolgte zunächst aus dem Wasserbade bei 10 mm Druck, und nächher bei 0,2 mm Druck wiederum zuerst aus dem Wasserbad und zum Schluss aus dem Oelbad.

Hierbei wurden folgende Fractionen erhalten:

1. Fraction:	bis 40° (Temp. der Dämpfe gemessen)	bei 10 mm Druck	45,0 g
2. „	40-60° („ „ „ „)	„ 10	69,5 „
3. „	100° („ des Wasserbades „)	„ 0,2	240,2 „
4. „	100-130° („ „ Oelbades „)	„ 0,2	52,5 „
5. „	130-160° („ „ „ „)	„ 0,2	56,1 „

Im Destillationskolben blieb eine dunkelroth gefärbte, beim Erkalten erstarrende Masse zurück. Dieselbe löste sich leicht in siedendem absoluten Alkohol. Nach Entfärbung der

1. Hopkins und Cole, A contribution to the chemistry of proteins. Journ. of Physiol., Bd. 27, S. 418, 1902.

2. Emil Abderhalden, Resorption des Eisens etc., Zeitschr. f. Biologie, Bd. 39, 1901, S. 143. Nach der angeführten Methode erhält man ca. 80% der theoretisch berechneten Ausbeute an reinem Oxyhämoglobin.

dunkelroth gefärbten Lösung mit Thierkohle und Einengen derselben schieden sich voluminöse Krystallmassen aus. Dieselben schmolzen bei 296° und erwiesen sich als Leucinimid. Isolirt wurden 5,5 g.

0,1145 g Substanz gaben 0,2672 g CO_2 und 0,0991 g H_2O .

Berechnet für $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2$:

63,71 % C und 9,73 % H.

Gefunden:

63,65 % C und 9,70 % H.

Die beim Ausäthern¹⁾ der Ester zurückbleibende dickbreiige Masse wurde in Wasser gelöst, mit Salzsäure schwach übersättigt und auf dem Wasserbad eingengt. Von Zeit zu Zeit wurden die auskrystallisirenden Salze abfiltrirt. Der zuletzt übrig bleibende dicke, dunkelgefärbte Syrup wurde mit dem gleichen Volumen Alkohol, der etwas gasförmige Salzsäure enthielt, versetzt, die ausgeschiedenen Salze abfiltrirt, das Filtrat im Vacuum eingedampft, und der Rückstand nochmals mit salzsäurehaltigem Alkohol behandelt. Die gesammten Salz mengen wurden wiederholt mit absolutem Alkohol extrahirt, bis sich keine organische Substanz mehr nachweisen liess. Die Alkoholauszüge wurden vereinigt und im Vacuum eingedampft. Der zurückbleibende Syrup wurde mit absolutem Alkohol aufgenommen und mit dem oben genannten Rückstande vereinigt. Diese Masse wurde nun in ganz analoger Weise, wie oben geschildert, verestert, und die Ester in der üblichen Weise isolirt.

Bei dieser zweiten Veresterung wurden folgende Fractionen erhalten:

1. Fraction	bis 40° (Temp. der Dämpfe gemessen)	bei 10 mm Druck	12,0 g
2. "	$40-60^{\circ}$ (" " " ")	" 10 "	25,5 "
3. "	100° (" des Wasserbades)	" 0,2 "	125,0 "
4. "	$100-130^{\circ}$ (" " Oelbades)	" 0,2 "	20,1 "
5. "	$130-160^{\circ}$ (" " ")	" 0,2 "	25,9 "

Aus dem im Fractionirkolben zurückbleibenden Rückstand wurde auch hier Leucinimid isolirt. Die Menge desselben betrug 2,5 g.

¹⁾ Emil Fischer, Ueber eine neue Aminosäure aus Leim. Berichte d. deutsch. chem. Ges., Jg. 35, 1902, S. 2660.

Da die Ausbeute an Estern noch sehr bedeutend war, wurde der ganze oben geschilderte Process wiederholt.

Die dritte Veresterung ergab folgende Fractionen:

1. Fraction	bis 40° (Temp. der Dämpfe gemessen) bei 10 mm Druck	7.2 g
2. „	40–60° („ „ „ „)	12.0
3. „	100° („ des Wasserbades „)	38.2
4. „	100–130° („ Oelbades „)	9.1
5. „	130–160° („ „ „)	11.0

Auch hier konnte aus der bei der Destillation zurückbleibenden Masse Leucinimid isolirt werden. Die Menge desselben betrug 1,2 g.

Die einander entsprechenden, verseiften Fractionen wurden gemeinsam verarbeitet und ergaben folgende Resultate:

Fraction 1 (bis 40°).

Dieselbe enthielt neben Alkohol und Aether hauptsächlich Alanin. Glycocoll konnte keines isolirt werden.¹⁾ Die Menge des Alanins aus allen drei Fractionen betrug 14,2 g. Der Schmelzpunkt war 293° (uncorr.).

0,2012 g Substanz gaben 0,2988 g CO₂ und 0,1450 g H₂O.

Berechnet für C₃H₇NO₂

40,45% C und 7,87% H.

Gefunden:

40,50% C und 8,08% H.

Fraction 2 (40–60°).

Isolirt wurden durch wiederholte fractionirte Krystallisation 26,0 g Alanin, 30,7 g Leucin und 1,0 g α-Pyrrolidincarbonsäure.

1) Spiro, Karl, (Ueber Nachweis und Vorkommen des Glycocolls, diese Zeitschr., Bd. XXVIII, 1899, S. 174–191), und Dubrowin, Fr., (Ueber den Gehalt an Glycocoll in verschiedenen Eiweisskörpern, Diss., St. Petersburg, 1902), geben an, im Hämoglobin Glycocoll nachgewiesen zu haben. Da das Serumglobulin des Pferdes einen sehr hohen Glycocollgehalt besitzt (ca. 3¼–4%), liegt die Vermuthung nahe, dass die beiden Autoren nicht ganz reine Präparate untersucht haben. Ein nur einmal umkrystallisirtes Präparat ergab 0,62% Glycocoll, während nach dem zweiten Umkrystallisiren kein Glycocoll mehr nachweisbar war.

Fraction 3 (100°).

Sie bestand aus 247,5 g Leucin und 21,5 g α -Pyrrolidincarbonsäure.

Der Schmelzpunkt des Leucins lag bei 298° (uncorr.).

0,2114 g Substanz gaben 0,4263 g CO₂ und 0,1905 g H₂O.

Berechnet für C ₆ H ₁₃ NO ₂ :	Gefunden:
54,96% C und 9,92% H.	54,99% C und 10,10% H.

Die α -Pyrrolidincarbonsäure schmolz bei 208° (uncorr.).

0,1185 g Substanz gaben 0,2264 g CO₂ und 0,0844 g H₂O.

Berechnet für C ₅ H ₉ NO ₂ :	Gefunden:
52,48% C und 7,83% H.	52,10% C und 7,98% H.

• Fraction 4 (100—130°).

Hier wurde jede einzelne Fraction für sich sofort nach der Destillation auf Phenylalanin¹⁾ verarbeitet. Es wurden erhalten 19,5 g Phenylalanin. Der Zersetzungspunkt lag bei 280° (uncorr.).

0,2198 g Substanz gaben 0,5276 g CO₂ und 0,1330 g H₂O.

Berechnet für C ₉ H ₁₁ NO ₂ :	Gefunden:
65,45% C und 6,66% H.	65,46% C und 6,77% H.

Das vom Phenylalaninester getrennte Estergemisch wurde mit Baryt verseift. Die aus den drei Destillationen erhaltenen Fractionen wurden vereinigt, der Baryt, nachdem das auskrystallisirte asparaginsäure Baryum abfiltrirt worden war, mit Schwefelsäure quantitativ gefällt. Das Filtrat vom BaSO₄-Niederschlag wurde im Vacuum eingeeengt, und hierauf in zwei gleiche Portionen getheilt. Die eine diente zur Isolirung von Glutamin- und Asparaginsäure, die andere wurde zur Prüfung auf Serin verwandt. Aus der ersteren wurden 4,2 g Glutaminsäure und 9,2 g Asparaginsäure isolirt. Aus dem asparaginsäuren Baryt wurden durch Zersetzen mit Schwefelsäure 2,1 g Asparaginsäure erhalten.

Die Elementaranalyse ergab:

0,1089 g Substanz gaben 0,1627 g CO₂ und 0,0588 g H₂O.

Berechnet für C ₅ H ₉ NO ₄ :	Gefunden:
40,81% C und 6,12% H.	40,74% C und 6,05% H.

¹⁾ Emil Fischer und Emil Abderhalden, l. c., S. 273.

0.1002 g Substanz gaben 0.1323 g CO_2 und 0.0477 g H_2O .

Berechnet für $\text{C}_4\text{H}_7\text{NO}_4$:

36.09% C und 5.26% H.

Gefunden:

36.01% C und 5.38% H.

Aus der anderen Hälfte dieser Fraction wurde das Serin nach der von Emil Fischer und Peter Bergell¹⁾ beschriebenen Methode als β -Naphthalinsulfoverbindung isolirt. Es wurden erhalten 4.8 g β -Naphthalinsulfoserin, daraus berechnet 1.7 g Serin.

0.1112 g Substanz gaben 0.2161 g CO_2 und 0.0448 g H_2O .

Berechnet für $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{O}_5\text{NS}$:

52.88% C und 4.41% H.

Gefunden:

53.00% C und 4.51% H.

Die aus heissem Alkohol unkrystallisirte Verbindung schmolz bei 213° (uncorr.).

Fraction 5 (130—160°).

Diese Fraction wurde genau in derselben Weise wie Fraction 4 verarbeitet. Es wurden gefunden: 21.1 g Phenylalanin, 4.1 g Glutaminsäure, 11.0 g Asparaginsäure und 1.0 g Serin.

Der nach der dritten Ausätherung verbleibende Rückstand wurde in Wasser gelöst, mit Salzsäure schwach übersättigt, und hierauf in der oben geschilderten Weise von allen anorganischen Bestandtheilen befreit. Die zuletzt verbleibende Mutterlauge wurde zur Entfernung der überschüssigen Salzsäure mehrmals im Vacuum eingedampft. Hierauf wurde $\frac{1}{10}$ der gesammten wässerigen Lösung des Rückstandes zur gänzlichen Entfernung der Salzsäure mit Silbersulfat geschüttelt, und das Filtrat zur Entfernung des überschüssigen Silbers mit Schwefelwasserstoff behandelt. Nach Verjagen des Schwefelwasserstoffes wurde die Lösung mit Phosphorwolframsäure gefällt. Der Phosphorwolframsäureniederschlag wurde abgesaugt und nach der Kossel'schen²⁾ Methode auf Diaminosäuren ver-

1) Emil Fischer und Peter Bergell, Ueber die β -Naphthalinsulfoderivate der Aminosäuren. Berichte d. deutsch. chem. Ges., Jg. 35, 1902, S. 3779.

2) A. Kossel und E. Kutscher, Beiträge zur Kenntniss der Eiweisskörper. Diese Zeitschr., Bd. XXXI, S. 165, 1900-01.

arbeitet. Es wurden identifiziert das Lysin als Pikrat, das Histidin als Dichlorid und das Arginin als Nitrat.

Es wurden erhalten 4,1 g Lysin, 5,2 g Arginin und 10,5 g Histidin. Berechnet auf die ganze Menge 41,0 g Lysin, 52,0 g Arginin und 105,0 g Histidin.

Das Filtrat vom Phosphorwolframsäureniederschlag wurde zur Entfernung der Phosphorwolframsäure mit überschüssigem Arynhydroxyd und mit Kohlensäure behandelt, und aus dem Filtrat der Baryt quantitativ mit Schwefelsäure gefällt. Die Mutterlauge wurde im Vacuum eingeeengt. Es verblieb ein hellbraun gefärbter Syrup, welcher nach mehrtägigem Stehen im Vacuumexsiccator nach Einimpfung eines Kryställchens von Oxy- α -Pyrrolidincarbonensäure erstarrte.

Es wurden erhalten 1,0 g Oxy- α -Pyrrolidincarbonensäure.

0,1233 g Substanz gaben 0,2076 g CO_2 und 0,0761 g H_2O .

Berechnet für $\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_3\text{N}$:

Gefunden:

45,80% C und 6,86% H. 45,91% C und 6,91% H.

Schmelzpunkt: 268° (uncorr.).

Von dieser Substanz wurde auch die β -Naphthalinsulfoverbindung dargestellt.

0,2512 g Substanz gaben 0,4941 g CO_2 und 0,1130 g H_2O .

Berechnet für $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{O}_2\text{NS} + \text{H}_2\text{O}$:

Gefunden:

53,09% C und 5,01% H. 53,01% C und 4,97% H.

Schmelzpunkt: 91° (uncorr.).

Bestimmung des Tyrosins.

250 g Hämoglobin wurden mit einem Gemisch von 500 ccm concentrirter Schwefelsäure und 2500 g Wasser 18 Stunden am Rückflusskühler gekocht. Die Lösung wurde dann noch warm mit ca. 2 kg Barythydrat versetzt, der überschüssige Baryt mit Kohlensäure entfernt, und die neutrale Flüssigkeit heiss auf einer Nutsche abgesogen. Der Barytniederschlag wurde wiederholt mit Wasser ausgekocht. Die vereinigten Filtrate wurden bis zur beginnenden Krystallisation eingeeengt. Die nach dem Erkalten abfiltrirte Krystallmasse wurde mit

wenig heissem Wasser ausgekocht. Es verblieben nach erfolgter Entfärbung mit Thierkohle 3,2 g Tyrosin.

0,2115 g Substanz gaben 0,1622 g CO_2 und 0,1132 g H_2O .

Berechnet für $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_3$:

Gefunden:

59,66% C und 6,07% H. 59,60% C und 5,99% H

Zersetzungspunkt: 316° uncorr.

Bestimmung des Cystins.¹⁾

300 g Hämoglolin wurden mit 900 cem rauchender Salzsäure (vom specifischen Gewicht 1,19) 6 Stunden am Rückflusskühler gekocht. Nach dem Erkalten wurde die wiederholt mit Thierkohle ausgekochte Flüssigkeit mit concentrirter Natronlauge bis zur schwach sauren Reaction versetzt. Nach 12stündigem Stehen hatte sich ein Niederschlag abgesetzt, welcher abgesaugt wurde. Er bestand im Wesentlichen aus Tyrosin und Cystin. Zur Trennung der beiden wurde der Niederschlag in heissem, 10procentigem Ammoniak gelöst, die Lösung abgekühlt und das ausgeschiedene Tyrosin abfiltrirt. Zur Abscheidung des Cystins wurde das Filtrat mit Eisessig allmählich versetzt.

Das ausgeschiedene Cystin gab keine Millon'sche Reaction mehr. Seine Menge betrug 0,9 g.

0,2841 g Substanz gaben 0,5547 g BaSO_4 = 0,0762 g S.

Berechnet für $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_2\text{S}_2\text{O}_4$:

Gefunden:

26,66% S.

26,82% S.

Nachweis des Tryptophans.

100 g Oxyhämoglolin wurden in einem Liter Wasser suspendirt, mit 2 cem Ammoniak und 4 g Pankreatin²⁾ versetzt. Zur Verhinderung der Fäulniss wurden Toluol und Chloroform zugesetzt. Nach dreimal 24stündigem Stehen bei

¹⁾ Vergl. E. Friedmann, Beiträge zur Kenntniss der physiologischen Beziehungen der schwefelhaltigen Eiweissabkömmlinge. Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie, Bd. 3, 1902, und K. A. H. Mörner, Zur Kenntniss der Bindung des Schwefels in den Proteinstoffen. Diese Zeitschr., Bd. XXXIV, 1902, S. 207.

²⁾ Das Präparat stammte von der chemischen Fabrik Rhénania, Aachen.

37° fiel die Reaction mit Bromwasser bereits positiv aus. Nach weiterem 14tägigen Stehen des Gemisches bei 37° wurden das abgeschiedene Hämatin und das unverdaute Hämoglobin abfiltrirt. Zum Filtrat wurde Schwefelsäure bis zu einem Gehalt von 5% zugesetzt, und hierauf mit einer Lösung von 10% Quecksilbersulfat und 5% Schwefelsäure gefällt. Nach 24 Stunden wurde der Niederschlag abfiltrirt. Derselbe enthält Cystin, Tyrosin etc., und wie die „Tryptophanreaction“ mit Bromwasser und die Pyrrolreaction zeigte, auch Tryptophan.¹⁾

Berechnet man die Mengen der erhaltenen Spaltungsproducte auf 100,0 g Oxyhämoglobin, dann erhält man folgende Resultate:

Alanin	4.02
Leucin	27.82
α -Pyrrolidincarbon säure	2.25
Phenylalanin	4.06
Glutaminsäure	1.66
Asparaginsäure	4.25
Cystin	0.3
Serin	0.54
Oxy- α -Pyrrolidincarbon säure	1.0
Tyrosin	1.28
Lysin	4.1
Histidin	10.5
Arginin	5.2
Tryptophan	vorhanden.
In Summa	66.98 %.

Dazu kommen noch 0.92% Leucinimid.²⁾

Auf 100 g Globin³⁾ berechnet, erhält man folgende Mengenverhältnisse:

1) Weitere Untersuchungen wurden nicht ausgeführt, weil Hopkins das Gebiet bearbeitet. Vergl. Hopkins und Cole, A contribution to the chemistry of proteids, Journ. of Physiol., Bd. 27, S. 418, 1902.

2) Vergl. die Bemerkung am Schlusse der Arbeit über das Leucinimid.

3) Die Menge des Hämatins ist nach F. N. Schulz (Diese Zeitschrift, Bd. XXIV, 1898, S. 469) als 4.2% des Oxyhämoglobins angenommen.

Alanin	4.19
Leucin	29.04
α -Pyrrolidincarbonsäure	2.34
Phenylalanin	4.21
Glutaminsäure	1.73
Asparaginsäure	4.43
Cystin	0.31
Serin	0.56
Oxy- α -Pyrrolidincarbonsäure	1.04
Tyrosin	1.33
Lysin	4.28
Histidin	10.96
Arginin	5.42
Tryptophan	vorhanden.
In Summa	69.87

Die erhaltenen Spaltungsproducte betreffend, ist Folgendes zu bemerken: Das Leucinimid ist höchst wahrscheinlich ein aus Leucin secundär entstandenes Product. Salaskin¹⁾ hat zwar bei der tryptischen und bei der peptischen Verdauung Leucinimid isolirt. Die Art der Isolirung desselben schliesst eine Bildung desselben aus Leucin nicht mit absoluter Sicherheit aus. Sehr fraglich ist auch, ob das Cystin im Eiweissmolekül präformirt ist. Es ist nicht unwahrscheinlich, dass dasselbe sich secundär bildet.

Gefunden wurden nach den vorstehenden Tabellen 66,98 % an Spaltungsproducten des Hämoglobins oder 69,87 % des Globins. Von dieser Summe muss das bei der Spaltung aufgenommene Wasser abgezogen werden. Es fällt dadurch der Procentsatz der noch fehlenden Spaltungsproducte noch sehr gross aus. Andererseits ist zu bedenken, dass bei der Isolirung der einzelnen Spaltungsproducte Verluste unvermeidlich sind, auch gelingt es selbst nach dreimaliger Veresterung nicht, die Monoaminosäure quantitativ zu gewinnen. Der Rückstand zeigte auch nach dem letzten Ausäthern der Ester immer noch einen

1) S. Salaskin. Ueber die Bildung des Leucinimids bei der peptischen und tryptischen Verdauung des Oxyhämoglobins resp. des Globins. Diese Zeitschrift, Bd. XXXII, 1901, S. 592. Vergl. auch H. Ritt-hausen, Ueber Leucinimid, ein Spaltungsproduct der Eiweisskörper beim Kochen mit Säuren, deutsch. chem. Berichte, 1896, S. 2109.

sehr starken Estergeruch. Wie eine genaue Untersuchung der einzelnen Fractionen zeigte, ist die Hauptaufmerksamkeit den höheren Fractionen zuzuwenden.

Anmerkung.

Zinoffsky¹⁾ gibt als elementare Zusammensetzung des von ihm nach seiner Methode dargestellten Präparates: C 51,15, H 6,76, N 17,94, S 0,3899, Fe 0,335, O 23,421 an. Es weichen diese Zahlen von den von anderen Autoren an nach anderen Methoden erhaltenen Präparaten gewonnenen Werthen in Bezug auf Kohlenstoff und Wasserstoff wesentlich ab. F. N. Schulz²⁾ spricht deshalb die Vermuthung aus, dass die nach der Methode von Zinoffsky erhaltenen Krystalle eine andere Zusammensetzung hatten, als die von anderen Autoren dargestellten Oxyhämoglobinkrystalle. Wie meine an 10 verschiedenen Präparaten ausgeführten Elementaranalysen ergaben, ist dies nicht der Fall. Es wurden im Mittel erhalten: C 54,75, H 6,98, N 17,35, S 0,42, Fe 0,38, O 20,12. Zur Lösung der Stromata wurde allerdings nicht Ammoniak, sondern Aether verwendet. Allein auch ein unter Anwendung von Ammoniak dargestelltes Präparat zeigte dieselben Analysenzahlen.

1) Zinoffsky, Ueber die Grösse des Hämoglobinmoleküls. Diese Zeitschrift, Bd. X, S. 16, 1886.

2) F. N. Schulz, Die Krystallisation von Eiweissstoffen und ihre Bedeutung für die Eiweisschemie, Jena, Gustav Fischer, 1901, S. 37.