

Über die Oxydation von Leim und Hühnereiweiß mit Calciumpermanganat.¹⁾

Von

Dr. **John Seemann**,
Privatdozent und Assistent am Institute.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Marburg.)
(Der Redaktion zugegangen am 15. März 1905.)

Zum Zweck der Erforschung seiner Konstitution mußte man das komplexe Eiweißmolekül in einzelne Stücke zerlegen, welche man chemisch bestimmen kann; es ist klar, daß man bei einer möglichst energischen Zertrümmerung, welche bis zum Auftreten kristallinischer Produkte von bekanntem oder erkennbarem Bau führte, zunächst weiter kommen mußte als mit gelinder Spaltung, wobei man Produkte erhält (Albumosen, Peptone), die mehr oder weniger dem intakten Eiweiß noch gleichen. Erst nachdem man die größte Zahl der einfacher gebauten Spaltungsprodukte und ihre Konstitution kennt und womöglich quantitativ für die einzelnen Eiweißkörper bestimmt hat, wird man daran denken können, mit Hilfe dieser Tatsachen auch die bei «stufenweisem Abbau» anfangs erhaltenen,

¹⁾ Diese Arbeit war unternommen worden zur Bewerbung um den Preis der Külz-Althoffstiftung, welche die Aufgabe gestellt hatte: «Es soll untersucht werden, ob durch Spaltung von Eiweißkörpern mit oxydierenden Mitteln weitere Beiträge zur Aufklärung der Konstitution der Eiweißkörper erhalten werden können.»

Der Arbeit ist der Preis zuerkannt worden. Sie kommt mit geringfügigen Abänderungen in der Form zum Abdruck, wie sie im September vorigen Jahres eingereicht worden ist. Auf die seitdem erschienene Literatur (Kutscher und M. Schenck, Otori, v. Fürth) kann darum nicht mehr Rücksicht genommen werden.

Bei der Ausführung der experimentellen Untersuchung wurde ich im Anfang von Herrn Prof. Dr. F. Kutscher mit Rat unterstützt.

komplizierteren Spaltungsprodukte und deren Sprengstücke für die Erkenntnis der Eiweißkonstitution zu verwerten.

Die Mittel, welche zur Spaltung des Eiweißes zur Verfügung stehen und zu diesem Zwecke verwendet wurden, sind verschiedener Art. Die Erfahrung hat gelehrt, daß die zwar auch gründlich spaltende, aber doch schonendste Art der Behandlung die Spaltung mit siedenden Säuren oder ähnlich wirkenden Verdauungsfermenten (Trypsin) ist, schonend insofern, als kein Verlust¹⁾ an Substanz bei den Manipulationen eintritt, in dem alle Spaltungsprodukte sich in dem Reaktionsgemisch vorfinden, in dem, wie man anzunehmen berechtigt ist, keine Zerstörung der Kohlenstoffketten erfolgt und andererseits auch die Bindung des Stickstoffs am Kohlenstoff größtenteils erhalten bleibt: nur der lockere Amidstickstoff ($-\text{CO} \cdot \underline{\text{N}}\text{H}_2$) scheint abgesprengt zu werden: aber das gebildete Ammoniak bleibt in der spaltenden Säure gebunden. Diese älteste Art der Spaltung ist also als eine einfache hydrolytische anzusehen und für die quantitative Erforschung der Eiweißzusammensetzung muß diese Methode die maßgebende und souveräne bleiben.

Die Beobachtung, daß manche Säuren, z. B. Salzsäure und Schwefelsäure, eine etwas verschiedenartige²⁾ Spaltung, wenigstens nach quantitativer Richtung hin bewirken, kann als Überleitung verwendet werden zur Betrachtung einer Reihe anderer Spaltungsmittel. Diese letzteren haben das gemeinsam, daß einerseits bei ihrer Verwendung Verluste an Substanz kaum zu vermeiden sind, welche durch Entweichen von gasförmigen Spaltungsprodukten (NH_3 , CO_2 , HCN usw.) eintreten, und daß dabei andererseits neben der Spaltung oder vor der Spaltung sekundäre Veränderungen an den erhaltenen Produkten mit unterlaufen. Diese Mittel, und dazu gehören die oxydierenden Mittel, können also zur Entscheidung von Fragen über quanti-

¹⁾ Es ändert daran nicht viel, daß u. U. in geringer Menge Kohlensäure abgespalten werden kann, welche in sauren Reaktionsgemischen in Verlust geraten wird. (cf. Emerson, Hofmeisters Beiträge, Bd. I, S. 505.)

²⁾ Kossel, Diese Zeitschrift, Bd. XXVIII, S. 165; Goto, Diese Zeitschrift, Bd. XXXVII, S. 112; Kutscher, Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 165.

tative Verhältnisse nichts beitragen; dagegen wird man, mit diesen Mitteln arbeitend, über die Konstitution des Eiweißes, über die Art des Zusammenhanges der einzelnen «Bausteine» manche Aufklärung erwarten dürfen: denn man betrachtet auf diese Weise den Bau des Eiweißmoleküles von neuen, sonst nicht zugänglichen Seiten.

Wenn von den folgenden Betrachtungen auch manches zutreffen wird, auf andre Mittel, mit denen das Eiweiß angegriffen werden kann (Wirkung verschiedener Alkalien, Trockendestillation etc.), so will ich mich dabei doch beschränken auf die oxydierenden Mittel, speziell die übermangansauren Salze; denn diese wurden in den dieser Arbeit zugrundeliegenden experimentellen Untersuchungen verwendet.

Aus den älteren Arbeiten, welche Permanganate benutzten, geht hervor, und das ist besonders von Bernert¹⁾ noch begründet und betont worden, daß bei ihrer Einwirkung sowohl eine Oxydation als eine Hydrolyse des Eiweißmoleküles erfolgt. Unter dem Einflusse der Permanganate wird man aus dem Eiweiß teils Substanzen erhalten, welche durch sekundäre Veränderung (Oxydation) der schon bekannten hydrolytischen Spaltungsprodukte entstanden sind und solchen Körpern gleichen oder ähneln, welche man durch Einwirkung von Permanganaten auf die einzelnen als hydrolytische Spaltungsprodukte erkannten Bausteine gewinnt. Ihr tatsächliches Auftreten bei der Oxydation des Eiweißes kann andererseits als Wahrscheinlichkeitsbeweis dafür angesehen werden, daß die bei der Hydrolyse entstandenen Produkte in ihrer Atomgruppierung wirklich schon im intakten Eiweißmolekül vorkommen. Daneben wird man neue Bruchstücke unter den Oxydationsprodukten kennen lernen, deren Isolierung vielleicht leichter gelingt als die der zugehörigen hydrolytischen Spaltungsprodukte, und deren Entdeckung wird dann den Anstoß zur Auffindung auch dieser hydrolytischen Spaltungsprodukte geben.

Dieses Programm solcher Oxydationsversuche, das Kutschner²⁾ vor zwei Jahren aufgestellt hat, kann meines Erachtens

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXVI, S. 293.

²⁾ Sitzungsbericht der kgl. preuß. Akad. d. Wissensch., 28. Mai 1903.

noch nach einigen Richtungen erweitert werden. Man darf von vornherein erwarten, daß hier und da unter dem Einfluß der Oxydationsmittel die Sprengung an anderen Stellen erfolgt, als bei der Hydrolyse, und man wird in geeigneten neuen Bruchstücken, die sich nicht direkt auf eins der bekannten hydrolytischen Endprodukte zurückführen lassen, vielleicht doch verbundene Fragmente solcher erkennen und gerade durch die Art der Verbindung der Fragmente in dem neuen Körper Aufschluß über die Einfügung des einen oder andern hydrolytischen Zersetzungsproduktes in den Bau des Eiweißmoleküles bekommen.

Weiterhin wird es bis zu einem gewissen Grade statthaft sein, sich über die topographische Verteilung der Atomkomplexe im großen Molekül des Eiweißes annähernde Vorstellungen zu machen, wenn man folgendes erwägt. Verwendet man zum Sprengen kräftiger wirkende Mittel, wie es die Permanganate sind, und erhält Substanzen, welche selbst durch das Permanganat leicht zersetzt zu werden pflegen, in beträchtlicherer Menge, so ist es wahrscheinlich, daß dieselben erst kurz vor dem Abbrechen der Reaktion gebildet wurden; und hat man Grund zu der Annahme, daß die Reaktion ganz oder nahezu vollständig zur Zertrümmerung des Ausgangsmateriales geführt hat, so wird man berechtigt sein, zu schließen, daß die genannten reichlich noch vorhandenen zersetzlichen Substanzen an geschützter Stelle, im Kern, des Eiweißmoleküles ihren Sitz gehabt haben.

Eine andere Möglichkeit, einen Einblick in die topographische Verteilung der Substanzen zu gewinnen, bietet sich, wenn man das Permanganat nur wenig einwirken läßt, nur bis zum Auftreten dem Eiweiß selbst noch nahe verwandter Körper (Oxyprotosulfonsäure, Peroxyprotosäure Malys) und dann diese durch Hydrolyse (Säure- oder Alkaliwirkung) spaltet. Findet man dann die gleichen oder ähnliche Spaltungsprodukte am Schlusse, wie bei direkter kräftiger Einwirkung, so ist der Schluß berechtigt, daß diese an leicht erreichbaren und exponierten Stellen, die wir in ihrer Gesamtheit als Peripherie oder Seitenketten (Kosel) zusammenfassen können, im

Molekül eingefügt waren: finden sich in dem Falle solche Zer-
setzungsprodukte, wie sie auch durch Hydrolyse des intakten
Eiweißes gewonnen werden, so wird man diese wiederum in
den Kern zu verlegen haben.

Untersuchungen, welche zur Beantwortung dieser letzt-
aufgeworfenen Frage herangezogen werden können, sind nament-
lich von Maly¹⁾ angestellt worden. Er erhielt durch Baryt-
spaltung²⁾

aus Eiweiß:	aus Oxyprotosulfonsäure:
CO ₂	CO ₂
NH ₃	NH ₃
Pyrrrol	Pyrrrol
Essigsäure	Essigsäure
Oxalsäure	Oxalsäure
Leucin	Leucin
Tyrosin	—

Aus denselben Substanzen erhielt er durch schmelzendes
Kali³⁾

—	SO ₂
Indol	—
Skatol	—
Phenol	} Benzoesäure } resp. Benzol
p-Oxybenzoesäure	
Säuren der Fettsäurereihe	der Fettsäurereihe (Ameisens.)
Oxalsäurereihe	der Oxalsäurereihe (Oxalsäure, Bernsteinsäure)

Aus der Peroxyprotosäure, einem weiteren, stärker oxy-
dierten Produkt, erhielt er⁴⁾

NH₃
SO₂
Oxalsäure (24⁰/o)!

¹⁾ R. Maly, Monatshefte f. Chem., Bd. VI, S. 107; Bd. IX, S. 255,
Bd. X, S. 26.

²⁾ l. c., Bd. VI, S. 140.

³⁾ l. c., Bd. VI, S. 144.

⁴⁾ l. c., Bd. IX, S. 271.

(Isoglyzerinsäure?)

(Pyrrol (Spur))

Leucin

Amidovaleriansäure

Glutaminsäure

Benzoessäure

Ameisensäure

Die Peroxyprottsäure aus Leim verhielt sich ähnlich, er gewann aus derselben durch Barytspaltung:

NH₃

Oxalsäure

Pyrrol

Leucin

Glutaminsäure

Benzoessäure

Essigsäure

Propionsäure

Bernert,¹⁾ der in Hofmeisters Laboratorium ähnliche Untersuchungen anstellte, gewann bei der Behandlung von kristallisiertem Eiereiweiß mit Kaliumpermanganat neben der Oxyprottsulfonsäure:

Peptonartige Substanzen (entstanden durch Hydrolyse infolge der sich bildenden Kalilauge(?))

Fettsäuren (Essigsäure, Propionsäure [Buttersäure?] Valeriansäure)

Basische Substanzen.

Die Spaltung der Oxyprottsulfonsäure mit Salzsäure lieferte ihm:

Leucin

Asparaginsäure

und reichlich durch Phosphorwolframsäure fällbare basische Substanzen (? Hexonbasen).

Dazu würde eine Beobachtung Siegfrieds²⁾ passen, der aus der Oxyprottsulfonsäure durch Spaltung mit Salzsäure die Drechselschen Basen isolieren und analysieren konnte.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXVI, S. 272.

²⁾ Ber. der Deutsch. chem. Gesellschaft, Bd. XXIV, S. 427.

Die Spaltung der Peroxyprotsäure mit Ätzbaryt lieferte Bernert endlich ähnliche Substanzen, wie sie auch Maly gewonnen hatte, nämlich:

Leucin

Pyridin?

Fettsäuren, Essigsäure, Buttersäure

Benzoesäure

Glutaminsäure.

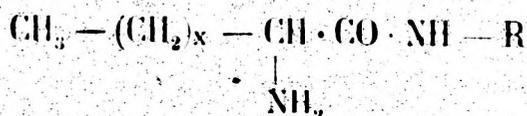
Diese Versuchsergebnisse lassen erkennen, daß Leucin, Asparaginsäure, Glutaminsäure und die Diaminosäuren im Kern des Moleküles stecken müssen, während für das Tyrosin, wenigstens so weit die aliphatische Seitenkette desselben in Betracht kommt, eine mehr periphere Anfügung erschlossen werden darf.

Aber noch nach einer anderen Richtung hin werfen diese Versuche Licht. Die Biuretreaktion der Eiweißkörper, sowie ihr gleichzeitig saurer und basischer Charakter¹⁾ müssen zu der Vermutung führen, daß die Aminosäuren des Eiweißmoleküles, welche alle soweit bekannt α -Säuren sind, nach Art von Säureamiden zusammengefügt sind, der Art, daß immer die Carbonylgruppe der einen Säure mit der Aminogruppe der zweiten in Verbindung tritt. An die dadurch gebildete $\text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{R}$ -Gruppe schließt sich die weitere Kette dann an (Hofmeister). Diesen spekulativen Betrachtungen ist durch die neueren Synthesen von E. Fischer ein reeller Hintergrund geschaffen worden. Durch Verkuppelung von α -Aminosäuren in der angegebenen Weise ist es ihm bekanntlich gelungen, neue Dipeptide, und «Polypeptide» zu bilden, welche in ihren Eigenschaften den Eiweißkörpern sich nähern. Besteht nun ein solcher Kern aus Amidosäuren, an welchen sich in der besprochenen Weise ein Kranz neuer Amidosäuren anfügt, so werden bei der Oxydation die fettkörperartigen «Seitenketten» abbrennen müssen bis zur $-\text{CH} \cdot \text{NH}_2$ -Gruppe oder an dieser Stelle abgesprengt werden: man wird dann erhalten neben freier Kohlensäure oder einer Fettsäure, da die dann endständige $-\text{CH}_2 \cdot \text{NH}$ -Gruppe ebenfalls

¹⁾ Siehe darüber genaueres Hofmeister, *Ergebn. d. Phys.* Bd. I. I. S. 787 ff. und Cohnheim, *Eiweißkörper*, 2. Auflage, S. 60.

von der Oxydation ergriffen wird, noch Ammoniak und als Endgruppe des höher molekulären Restes die Karboxylgruppe.

Aus



wird



oder



Wenn diese Gruppierung in der Peripherie vielfach vorkommt, muß der vom Eiweiß noch übrigbleibende Rest eine sehr starke Säure werden, und bei hydrolytischer Spaltung muß sich eine reichliche Menge Oxalsäure abspalten lassen: das ist nun beides¹⁾ bei der Peroxyprotsäure der Fall, aus welcher Maly 24% Oxalsäure gewonnen hat. Damit dürfte gezeigt sein, daß die angeführten Untersuchungen einen neuen Wahrscheinlichkeitsbeweis bringen, einmal für die Anschauung, daß im Eiweißmolekül ein aus bestimmten Amidosäuren bestehender Kern vorhanden ist (Kossel), und ferner, daß an diesen Kern andere Amidosäuren sich in der mehrfach besprochenen Weise angliedern.

Diesen Arbeiten gegenüber, welche mit mehr oder weniger gelinder Oxydation des Eiweißes vorgingen, stehen die, welche gleich mit kräftiger Oxydation das Eiweiß angriffen. Die hierher gehörigen Untersuchungen lassen sich in zwei Gruppen zusammenfassen: die eine befaßte sich mit der Feststellung der flüchtigen Zersetzungsprodukte, die zweite Reihe von Untersuchungen hatte die Absprengung der harnstoffbildenden Gruppe zum Ziel.

Schon in älterer Zeit sind in Liebig's Laboratorium zum Zweck der Vergleichung einzelner Eiweißkörper (Fibrin, Casein, Leim, Weizenkleber) die flüchtigen Substanzen untersucht worden, welche durch Zersetzung der Eiweißstoffe mit Mangansuperoxyd oder Chromsäure unter Mitwirkung von Schwefelsäure auftreten.

A. Schlieper²⁾ erhielt bei der Oxydation des Leucins mittelst Chromsäure:

¹⁾ Maly, Monatshefte f. Chemie, Bd. IX, S. 271, Bd. X, S. 28.

²⁾ Liebig's Annalen, Bd. LIX, S. 1.

Nitrile: Blausäure, Valeronitril und Valeracetonitril(?)

Säuren: Essigsäure, Valeriansäure.

Benzoessäure

und ein nach Zimmt riechendes schweres Öl.

G. Guckelberger¹⁾ fand bei der Einwirkung von Mangan-superoxyd und Schwefelsäure auf Casein:

Aldehyde: der Essigsäure, Propionsäure(?), Buttersäure.
Benzoessäure.

Säuren: Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure, Butter-säure.

Valeriansäure, Capronsäure.

Benzoessäure.

Die Oxydation mit Chromsäure lieferte ihm

außer Aldehyden (der Propionsäure?, Benzoessäure),
und Säuren Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure,
Buttersäure, Valeriansäure, Capronsäure (Spuren),
Benzoessäure
noch Nitrile (Blausäure, Valeronitril).

Die gleichen Substanzen fand F. Keller²⁾ als Oxydations-
produkte des Weizenklebers. Hierher möchte ich noch ein-
reihen, da es sich dabei ebenfalls um ätherlösliche Substanzen
handelt, daß Béchamp³⁾ bei der Oxydation mit Kalium-
permanganat neben Harnstoff auch Oxalsäure gefunden hat, und
daß Maly⁴⁾ bei direkter Oxydation der Gelatine mit heißer
Permanganatlösung außer Fettsäuren und Benzoessäure auch
Bernsteinsäure in beachtenswerter Menge erhalten haben will.

Die andere Reihe hierhergehöriger Arbeiten befaßt sich
mit der harnstoffbildenden Gruppe im Eiweiß, deren Existenz
im Eiweißmolekül man heutzutage erwarten muß: denn aus
dem Arginin, das man als hydrolytisches Spaltungsprodukt
bisher bei keinem Eiweißkörper vermißt hat, erhält man nach
Schultze, Likiernik und Winterstein bei der Behand-

¹⁾ Liebigs Annalen, Bd. LXIV, S. 39.

²⁾ Liebigs Annalen, Bd. LXXII, S. 24.

³⁾ Compt. rend., Bd. LXX, S. 866.

⁴⁾ Monatshefte f. Chemie, Bd. X, S. 31.

lung mit Baryt Harnstoff und Ornithin,¹⁾ nach Kutscher²⁾ bei der Oxydation mit Kaliumpermanganat Guanidin und Bernstein-säure, resp. Guanidinbuttersäure. Die fraglichen Untersuchungen gehen historisch zurück auf Béchamp,³⁾ der angab, durch Oxydation mittels Kaliumpermanganates Harnstoff aus Eiweiß erhalten zu haben. Den mehrfachen Widersprüchen gegenüber, die seine Publikationen durch C. Stödeler, Subbotin, Löw, Tappeiner erfahren haben, fand sich nur ein Verfechter seiner Beobachtung in E. Ritter, der ebenfalls Harnstoff bei der Oxydation von Eiweiß in der Reaktionsflüssigkeit fand. Später isolierte dann Lossen aus der Zersetzungsflüssigkeit, die ihm die Behandlung von Eiweiß mit Kaliumpermanganat, bei Gegenwart von reichlich Magnesiumsulfat, und bei Zimmer-temperatur lieferte, nicht Harnstoff, sondern Guanidin. Auch diesem Befunde wurde widersprochen durch Pommerenig, bis jüngst Kutscher und Zickgraf⁴⁾ von neuem das Auftreten von Guanidin bei der Oxydation von Leim mit Permanganaten bestätigen konnten und damit endgültig den Beweis führten, daß diese Atomgruppe integrierender Bestandteil des Eiweißes sein muß.

Ann. Diese Untersuchungen beschäftigen sich damit, die im Eiweißmolekül präformierte Harnstoffgruppe zu erkennen und nachzuweisen, und dürfen nicht glattweg in eine Reihe gestellt werden mit namentlich unter Hofmeister angestellten Untersuchungen, welche die Harnstoffbildung aus Eiweiß überhaupt zum Thema genommen haben.

Man wird heute besonders auf Grund der oben angeführten Arbeiten darüber einig sein, daß die direkte Entstehung des

¹⁾ Schultze u. Likiernik, Ber. der Deutsch. chem. Gesellschaft, Bd. XXIX, S. 2701. Schultze u. Winterstein, Ebenda Bd. XXX, S. 2879 und Diese Zeitschrift, Bd. XXVI, S. 1.

²⁾ Kutscher u. Bénech, Diese Zeitschrift, Bd. XXXII, S. 278.

Kutscher, Diese Zeitschrift, Bd. XXXII, S. 413.

³⁾ Thèse Strasbourg 1856. Siehe die ausführlichere Literaturübersicht bei Zickgraf, Inaug.-Dissert. Marburg, 1904.

⁴⁾ Sitzungsbericht der kgl. preuß. Akad. d. Wissensch., 28. Mai 1903.

G. Zickgraf, Inaug.-Dissert. Marburg 1904 und diese Zeitschrift, Bd. XLI.

Harnstoffes im Tierkörper aus Eiweiß chemisch möglich und begründet und darum wahrscheinlich ist, umsomehr als durch Kossel und Dakin¹⁾ Fermente bekannt geworden sind, welche eine hydrolytische Spaltung des Arginins in Harnstoff und Ornithin bewirken. Der Stickstoff des im Organismus verbrannten Eiweißes wird nun größtenteils als Harnstoff ausgeschieden. Von dem auf eine bestimmte verfütterte Eiweißmenge entfallenden Harnstoff, der zur Ausscheidung gelangt, kann durch direkte Abspaltung der harnstoffbildenden Gruppe auch bei den argininreichsten Eiweißkörpern (abgesehen von den Protaminen) höchstens der zehnte Teil²⁾ gedeckt werden. Darum muß rein physiologisch betrachtet die Bedeutung dieser Art der Harnstoffbildung in den Hintergrund treten gegenüber der ebenfalls sicher gestellten synthetischen Bildung aus Ammoniak und Kohlensäure. So wichtig aber andererseits die Hofmeisterschen Versuche für diese Frage der Synthese des Harnstoffes und ihrer Art sind, so wenig können sie aussagen über die direkte Abspaltung des Harnstoffes aus Eiweiß; das geht am einfachsten daraus hervor, daß unter der Einwirkung des Permanganates in stark ammoniakalischer Lösung auch aus N-freien Substanzen (Milchsäure, Weinsäure) von ihm³⁾ Harnstoff und von Halsey⁴⁾ Oxaminsäure, welche sie als Vorstufen des Harnstoffes betrachten, erhalten worden ist.

Man darf aber auch nicht vergessen, daß das Interesse, welches die direkte Abspaltung von Harnstoff aus Eiweißkörpern hat, zunächst ein chemisches ist, und daß deren größere Bedeutung darin liegt, zur Aufklärung der Eiweißkonstitution wesentlich mit beizutragen.

Experimenteller Teil.

Die eigenen Versuche lehnen sich an die von Kutscher und Zickgraf ausgeführten Oxydationen von Leim mit Per-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLI, S. 321 u. Bd. XLII, S. 185.

²⁾ cf. Drechsel, Ber. der Deutsch. chem. Gesellschaft, Bd. XXIII, S. 3101; cf. auch Gulewitsch, Diese Zeitschrift, Bd. XXX, S. 526 u. 532.

³⁾ Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm., Bd. XXXVII, S. 436.

⁴⁾ Halsey, Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 329.

manganaten an: es wurde mit Hilfe von Calciumpermanganat eine ziemlich weitgehende Oxydation vorgenommen. Dieselbe wurde aber nicht bis zu vollständigem Verschwinden der Biuretreaktion durchgeführt.

Insgesamt wurden 1500 g beste Handelsgelatine verarbeitet und zwar in folgender Weise. In Portionen von je 200 oder 300 g wurde die Gelatine in 3 l Wasser eingeweicht und in einem großen Topfe durch Erwärmen gelöst. In die siedendheiße Lösung wurde nach und nach in kleinen Mengen von ca. 100 ccm von einer angewärmten 10%igen Calciumpermanganatlösung hinzugefügt, solange bis im ganzen die vierfache Menge (800—1200 g) der verwandten Leimmenge an Calciumpermanganat eingewirkt hatte: dann trat die Entfärbung der Flüssigkeit langsamer ein, und das Sieden erfolgte unter starker feimblasiger Gasentwicklung (CO_2) weit ruhiger. Im Anfang der Oxydation dichte sich regelmäßig die Flüssigkeit stark ein; dabei trat sehr starkes Schäumen auf, so daß, um Überkochen zu vermeiden, das Reaktionsgemisch öfter durch Hinzufügen kalten Wassers vorübergehend abgekühlt werden mußte. Von vornherein rochen die entweichenden Dämpfe deutlich nach Blausäure¹⁾ und röteten blaues Lakmuspapier; gegen Ende der Reaktion herrschte Ammoniakgeruch vor: die Dämpfe reagierten dann amphoter.

Wenn im ganzen die vierfache Menge an Calciumpermanganat hinzugefügt worden war, dann wurde siedendheiß die Oxydationslösung auf der Kosselschen Filterpresse rasch abgesaugt, der zurückbleibende Manganschlamm zweimal mit 2—3 l Wasser ausgekocht und die heiß gewonnenen Filtrate mit den ersten vereinigt. Die gegen Lakmus schwach alkalisch reagierenden Filtrate wurden darauf in großen Porzellanschalen, in welche gepulvertes Calciumkarbonat gegeben war, um das Ammoniak zu verjagen, zunächst auf offener Flamme unter

¹⁾ Ich habe diesen Blausäuregeruch niemals vermißt bei den vielfachen Oxydationen von Leim und Eiweiß und muß dies ausdrücklich hervorheben. Plimmer (Journal of Physiology, Bd. XXXI, S. 65) hat bei der Oxydation mit Mangansuperoxyd und Schwefelsäure oder mit Kaliumpermanganat und Schwefelsäure vergeblich nach Blausäure gefahndet.

häufigerem Aufrühren eingedampft auf etwa 1½–2 l Flüssigkeit, dann wurde das Calciumkarbonat durch Filtration in siedendem Zustande abgetrennt, noch mehrmals ausgekocht und die vereinigten Filtrate dann auf dem Wasserbade weiter eingengt bis auf ca. ½ l. Nach dem Erkalten fielen kristallinische gelbrötliche Substanzen aus, nach 24 Stunden wurden dieselben abgesaugt und das Filtrat von neuem etwas eingengt zwecks Gewinnung weiterer Kristalle: diese Manipulation wurde so oft wiederholt, als noch Kristalle zu gewinnen waren: zu starkes Einengen bis zur Konsistenz eines dünnen Sirups war dabei zu vermeiden, weil in dem Falle die Ausscheidung der schwerlöslichen Massen hintangehalten wurde. Nachdem dieser Niederschlag gewonnen war, wurden die aus einer Reihe von Oxydationen erhaltenen Filtrate vereinigt, mit Schwefelsäure angesäuert, sodaß sie etwa 5% H_2SO_4 enthielten: von dem Calciumsulfat, welches in reichlicherer Menge erst nach Zusatz von etwas Äther ausfiel, wurde abgesaugt, der Filtrerrückstand gut nachgewaschen und nun die Flüssigkeit in den ersten Versuchen im Scheidetrichter bis zur Erschöpfung mit Äther ausgeschüttelt; später wurde die Flüssigkeit zur Ausätherung in dem von Kutscher und Steudel¹⁾ beschriebenen Extraktionsapparat mehrere Wochen extrahiert.

In der gleichen Weise habe ich 300 g von Grübler bezogenes eingetrocknetes Eieralbumin behandelt, nur wurde die 4½fache Menge an Permanganat verwendet.

In beiden Fällen habe ich (sowohl beim Leim wie beim Eiweiß) nur die schwerlöslichen Kristallmassen und den Ätherextrakt weiter untersucht.

1. Die schwerlöslichen Kristallmassen.

Durch Behandlung mit konzentrierter Salzsäure hat Zickgraf aus diesem kristallinischen Niederschlag ein neues stickstoffhaltiges Oxydationsprodukt isoliert: eine in feinen glänzenden Nadeln kristallisierende, in kaltem Wasser sehr schwer,

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXIX, S. 473.

in heißem leicht lösliche, bei 260° sublimierende Substanz, deren Lösungen sauer reagierten.

Loening¹⁾ hatte gleichzeitig vermutlich die gleiche Substanz in Händen, er hält sie für Leucin wegen der Sublimationsfähigkeit, der Kristallform und des Verhaltens des Kupfersalzes.

In meinen Versuchen war die bei den einzelnen Oxydationen erhaltene Menge dieser kristallinen Massen wechselnd, 12 g, 8 g, 5, aus je 200 g Handelsgelatine. Dieselben wurden aus heißem Wasser zunächst einmal umkristallisiert: die Lösung gab sowohl mit Calciumchlorid- als mit Ammoniumoxalatlösung einen starken Niederschlag von Calciumoxalat.

Die so durch das Umkristallisieren etwas gereinigten Kristalle wurden darauf nach dem Zickgrafschen Vorbild mit konzentrierter Salzsäure verrührt; nach etwa 1 Stunde wurde der weißliche Rückstand abgesaugt und kurz mit Wasser, Alkohol und Äther gewaschen. Das salzsaure Filtrat ließ auf Zusatz von Wasser in geringer Quantität eine schleimige Masse ausfallen, welche sich beim Verbrennen auf dem Platinblech als größtenteils aus unverbrennlicher Kieselsäure bestehend erwies.

Die Gallerte gab außerdem die Biuretreaktion, sie enthielt also vermutlich in geringer Menge noch Anfangsstufen der Leimoxydation. Im übrigen lieferten die vereinigten salzsauren Filtrate, nachdem sie über Schwefelsäure und Kalistücken im Vacuum längere Zeit aufgehoben waren, eine salzige Masse, welche aus Calciumchlorid, Calciumoxalat, Ammoniumchlorid und Ammoniumoxalat bestand.

Der auf der Filterplatte nach der Behandlung mit HCl zurückbleibende weißgelbliche Brei wurde mehrmals mit absolutem Alkohol und zum Schluß einmal mit Äther aufgeköcht und endlich noch mit kaltem Wasser extrahiert. Der schließlich noch bleibende Rückstand wurde in heißem Wasser gelöst, mit Tierkohle kurz aufgeköcht und rasch abgesaugt; schon während des Erkaltens fielen in schneeweißen flaumfederartigen Büscheln weiße Kristallnadeln aus.

Die heiße Lösung reagierte neutral, sonst zeigte die Substanz

¹⁾ Inaug.-Dissert. Jena 1903.

die von Zickgraf angegebenen Eigenschaften. Sie ist in kaltem Wasser fast unlöslich, in heißem dagegen ziemlich leicht löslich, in kochendem Wasser oder verdünnter Salzsäure zersetzt sich die Substanz: einige Male, als beim Umkristallisieren die Lösungen etwas längere Zeit gekocht und eingeeengt wurden, waren die Kristalle nicht wieder zu gewinnen, vielmehr ließen sich nach dem Einengen in der Lösung Oxalsäure, Ammoniak und Harnstoff nachweisen.

Aus einer durch Kochen mit Wasser zersetzten Lösung schieden sich nach dem Einengen prismatische Kristalle eines sauer reagierenden Körpers vom Schmelzpunkt $98/99^{\circ}$ aus, welche ein explodierendes Silbersalz lieferten und ein in Essigsäure unlösliches Calciumsalz; das Ag-Salz¹⁾ enthielt 70,95 % Ag, für oxalsaures Silber $\text{Ag}_2\text{C}_2\text{O}_4$ berechnet sich 71,04 % Ag.

Mit Platinchlorid entsteht ein gelblicher kristallinischer Niederschlag²⁾ von 43,31 % Pt, ber. für $(\text{NH}_4)_2\text{PtCl}_6$ 43,80 % Pt.

Aus einer zweiten, durch kochendes Wasser zersetzten Lösung wurde Platinat³⁾ gewonnen von 43,79 % Pt. Der Rest der Lösung wurde mit kaltem Barytwasser ausgefällt, der Barytniederschlag⁴⁾ enthielt 60,96 % Ba, für oxalsauren Baryt berechnet sich 61,02 % Ba. Das Filtrat von dem Barytniederschlag wurde mit Salpetersäure genau neutralisiert und mit gepulvertem Baryumkarbonat zunächst auf offener Flamme unter Umrühren, dann auf dem Wasserbade zur Trockene abgedampft. Der Rückstand wurde mit Alkohol mehrmals extrahiert, aus den vereinigten Extrakten der Alkohol wiederum verjagt und der Rückstand nochmals mit Alkohol erschöpft. Es schieden sich aus diesem Alkohol-extrakt einige spießige Kristalle aus.

Dieser Extrakt im trockenen Reagensglas bis zum Schmelzen einige Zeit leicht erhitzt, gab nach dem Auflösen der Schmelze in Wasser und Hinzufügung von Natron-

¹⁾ Analytische Belege 1.

²⁾ Analytische Belege 2.

³⁾ Analytische Belege 3.

⁴⁾ Analytische Belege 4.

lauge und Kupfersulfat die rotviolette Farbe des Biurets. Etwas länger erhitzt, bis zum Zurückbleiben eines trockenen Rückstandes liefern sie Cyanursäure, nach dem Auflösen der Schmelze in verdünntem Ammoniak und Zusatz von etwas ammoniakalischer Kupferlösung entsteht nach einiger Zeit ein amethystfarbener Niederschlag. Damit ist also in der zersetzten Lösung Harnstoff nachgewiesen.

Die Reaktion solcher durch Kochen mit Wasser zersetzter Lösungen war schwach sauer. Mit Natriumpikrat gaben sie keinen Niederschlag.

Die kristallinische Substanz war in konzentrierter Schwefelsäure unzersetzt löslich, auf Zusatz von Wasser zu der schwefelsauren Lösung fiel sie wieder aus. Der Körper sublimierte bei ca. 260°, schmolz aber bis 310° nicht, sondern erfuhr unter schwacher Gelbfärbung eine gelinde Zersetzung.

Bei 110° getrocknet verlor die Substanz nichts an Gewicht. Sie war frei von Schwefel und Chlor.

Die Analysen¹⁾ ergaben folgende prozentische Zusammensetzung.

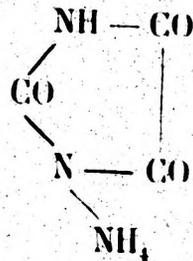
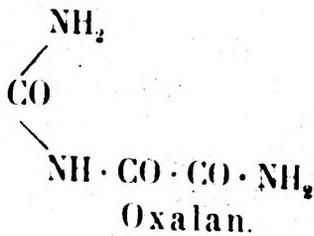
C	H	N	Cl	S
—	—	31,72	—	—
—	—	31,71	—	—
27,31	3,53	—	—	—
27,01	4,01	—	—	—
—	—	—	0	0
—	—	32,12	—	—

Die elementare Zusammensetzung spricht also für einen Körper von der Formel $C_3H_5N_3O_3$; für einen solchen berechnet sich

C	H	N
27,45%	3,84%	32,11%

Die durch ihren Schmelzpunkt scharf charakterisierten Trioximidopropan (Schmelzpunkt 171°), Diformylamidoharnstoff (Schmelzpunkt 158°) und das Amid der Oximidomalonsäure (Schmelzpunkt 187°) können von vornherein ausgeschlossen werden, und in Betracht zu ziehen sind nur noch das Oxalan (= Amid der Oxalursäure) und die ihm isomere Ammoniumverbindung der Parabansäure.

¹⁾ Analytische Belege 5.



Parabansaures Ammonium.

Auch letztere Verbindung kann ausgeschlossen werden, denn sie geht schon bei gewöhnlicher Temperatur in wässriger Lösung in oxalursaures Ammon über; auf 100° erwärmt, zerfällt sie in Ammoniak und Parabansäure, es muß also beim Trocknen bei 100° ein starker Gewichtsverlust eintreten. Die hier in Frage stehende Substanz wurde längere Zeit bei 110° im Trockenschrank gehalten: sie verlor dabei nichts an Gewicht.

Dagegen passen alle Eigenschaften zu den vom Oxalan bekannten, besonders auch die leichte Zersetzlichkeit in Oxalsäure, Harnstoff und Ammoniak durch einfaches Kochen. Bezüglich der Löslichkeit und im Schmelzrohr verhielt sich die Substanz genau gleich wie künstlich aus Alloxan und Ammoniak und Blausäure dargestelltes Oxalan.

Auch die etwas zu geringen Stickstoffwerte sprechen für Oxalan: Strecker¹⁾ beobachtete an dem synthetisch aus Alloxan gewonnenen Oxalan ebenfalls regelmäßig zu niedrige Stickstoffzahlen.

Bei der leichten Zersetzlichkeit des Oxalans ist es verständlich, daß die Mengenverhältnisse, in denen es erhalten wurde, keine konstanten waren: beim Leim wurden einmal aus 17 g der Kristallmassen unter dem geschilderten Vorgehen 0,86 g Oxalan gewonnen, ein anderes Mal aus 11,5 g der Kristallmassen 1,14 g Oxalan: beim Eiweiß wurden in einem Versuch aus 200 g Albumin nur ca. 1,5 g kristallinische Abscheidungen erhalten, daraus aber 0,48 g (Oxalan²⁾) gewonnen. Von der gleich zu erwähnenden, durch Alkohol beim Leucin von dem unreinen Oxalan zu trennenden Beimengung waren beim Albumin nur Spuren vorhanden.

¹⁾ Liebigs Annalen. Bd. CXIII, S. 47.

²⁾ Analytische Belege 6.

Die bei der Reinigung des Oxalans erhaltenen Alkohol-extrakte des mit Salzsäure behandelten Kristallniederschlags wurden zum Teil vereinigt und auf dem Wasserbade eingeeengt: nach dem Erkalten kristallisierten daraus in warzigen Gruppen feine makroskopisch sichtbare Nadelchen von saurer Reaktion, dieselben wurden mehrmals aus Alkohol umkristallisiert, doch gelang es nicht, einheitliche analysenreine Präparate davon zu gewinnen.

Ein Präparat, das nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Alkohol den konstanten Schmelzpunkt 193/194 zeigte, wies nach dem Trocknen über Schwefelsäure einen Stickstoffgehalt von 16,2%¹⁾ auf, das Silbersalz enthielt 62,78 resp. 62,44% Ag.²⁾ Um ein möglichst gereinigtes Präparat zu gewinnen, wurde das Silbersalz mit Schwefelwasserstoff zerlegt und das Filtrat vom Schwefelsilber auf dem Wasserbade eingeeengt. Die aus der Lösung gewonnenen und über Schwefelsäure getrockneten Kristalle schmolzen bei 210/211°. Über Schwefelsäure trat nur ein minimaler Gewichtsverlust ein, beim Trocknen bei 110° dagegen ein so großer, daß eine Zersetzung bei dieser Temperatur angenommen werden muß (über 50%³⁾). Die elementare Zusammensetzung war folgende:⁴⁾

C	H	N
—	—	15,53%
20,81%	5,65%	—
21,00%	5,84%	—

Ein zweites Präparat, das lediglich durch Umkristallisieren aus Alkohol gewonnen war, dem etwas Essigsäure zur eventuellen Fixierung von Ammoniak zugesetzt war und keine Oxalsäure- und keine Chlorreaktion gab, hatte den Schmelzpunkt 183/189° und enthielt von vornherein nur 12,6% Stickstoff.⁵⁾

Da es sich hier um eine offenbar sehr leicht zersetzliche Substanz handeln mußte, wurden die Alkoholextrakte,

¹⁾ Analytische Belege 7.

²⁾ Analytische Belege 8.

³⁾ Analytische Belege 7.

⁴⁾ Analytische Belege 9.

⁵⁾ Analytische Belege 10.

die von einer größeren Menge der zersetzten Kristallmassen gewonnen wurden, zunächst getrennt auf Anwesenheit von Oxalsäure geprüft. Der erste Extrakt, der mit Calciumchlorid einen mäßigen Niederschlag lieferte, wurde nicht weiter untersucht: der zweite und dritte Extrakt gaben keine Oxalsäurereaktion mehr, und die aus ihnen sich abscheidenden Kristalle wurden weiter analysiert.

Der Schmelzpunkt derselben lag bei 193° (unkorr.), bei welcher Temperatur sie sich unter Gasentwicklung zersetzten. Über Schwefelsäure verloren sie nur einige Milligramm an Gewicht, ebenso blieb beim Trocknen im Vacuum über Schwefelsäure bei 60° und bei 80° das Gewicht auch nach tagelangem Trocknen konstant: dagegen trat beim Trocknen unter denselben Bedingungen bei 110° sehr rasch ein starker Gewichtsverlust ein. Die Analyse der Substanz lieferte folgende Werte.¹⁾

C	H	N
—	—	18,35%
—	—	18,70%
25,42%	4,08%	—
25,03%	4,04%	—

Ein Teil der Säure wurde mit Ammoniak neutralisiert und nach dem Absaugen einer geringen Menge eines bräunlichen Niederschlages mit Silbernitratlösung ausgefällt. Dabei fiel zunächst eine gallertige Masse aus, die bei weiterem Silberzusatz und unter Umrühren in weiße Flocken zerfiel und aus mikroskopisch feinen Nadelchen zusammengesetzt war. Diese Kristalle lösten sich leicht in heißem Wasser, sie wurden daraus zweimal umkristallisiert und fielen dann beim Erkalten wiederum in Form haarfeiner Nadelchen aus, welche sich zu Rosetten zusammenlagerten. Beim Kochen derselben in ammoniakalischer Lösung trat eine Reduktion nicht ein. Ihr Silbergehalt betrug 55,11% resp. 54,91% Ag.²⁾

Die aus dem durch Schwefelwasserstoff zerlegten Silber-

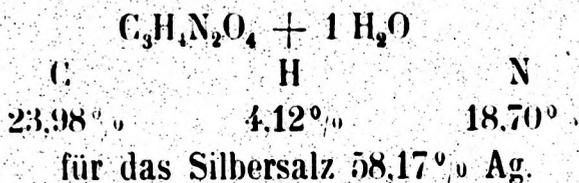
¹⁾ Analytische Belege 11.

²⁾ Analytische Belege 12.

salz gewonnene freie Säure hatte einen Stickstoffgehalt von 16,57%¹⁾

In Anbetracht dessen, daß es sich bei der analysierten Substanz um eine rohe Fraktion handelt, würde man die Werte der Analysen zu den für Oxalursäure berechneten passend erachten können.

Für die freie Säure berechnen sich unter Annahme von 1 Mol. Kristallwasser:



Für diese Säure würde auch das Verhalten des Blei-, Zink- und Cadmiumsalzes passen.

Eine mit Ammoniak neutralisierte Lösung gab mit Bleizuckerlösung versetzt zunächst keinen Niederschlag; erst nach einiger Zeit fiel ein schweres Pulver aus, nachdem sich die Lösung getrübt hatte. Der Niederschlag erwies sich als kristallinisch, er bestand aus vierseitigen Prismen, die an beiden Enden durch mehrere schiefe Flächen abgeschrägt waren. Diese Form wird vom oxalursäuren Blei angegeben (Huppert u. Thomas, S. 240).

Auch mit Cadmiumchlorid und mit Chlorzink lieferte die Lösung des Ammonsalzes erst nach einiger Zeit kristallinische Niederschläge.

Aus diesen Befunden geht hervor, daß in dem Alkohol-extrakt vermutlich Oxalursäure enthalten war; wenn auch der absolut sichere Nachweis nicht gelungen ist, so spricht doch namentlich das Verhalten der Metallsalze sehr dafür.

2. Der Ätherextrakt.

Das Verfahren, wie es sich nach einigen Vorversuchen zur Aufteilung des Ätherextraktes als brauchbar und zweckmäßig erwies, ist folgendes:

Die von dem eben abgehandelten Kristallniederschlag abfiltrierte Flüssigkeit wurde mit Schwefelsäure angesäuert und

¹⁾ Analytische Belege 13.

nach der Trennung vom ausgefallenen Calciumsulfat im Ätherextraktionsapparat von Kutscher und Steudel mehrere Wochen extrahiert. Nachdem der Äther keine Säure mehr aufnahm, wurde die Vorlage abgenommen und der Äther bei 37° abdestilliert.

Dann wurde der Extrakt mit 10% Phosphorsäure versetzt und der Destillation im strömenden Wasser und Dampf unterworfen, solange als noch Säuren übergingen: die übergegangenen Säuren wurden in einer Lösung von Natriumkarbonat aufgefangen. Damit war der Extrakt in zwei Teile zerlegt: eine Fraktion der flüchtigen Säuren und eine zweite der nicht flüchtigen Säuren, welche im Destillierkolben zurückblieben.

a) Die flüchtigen Säuren.

In dem Destillat fanden sich ölige, aromatisch riechende Tropfen vor, welche durch mehrmaliges Ausschütteln mit Äther abgetrennt werden konnten. Nach der Erschöpfung mit Äther wurde auf dem Wasserbade die Flüssigkeit zur Trockne abgedampft.

Nach dem Verjagen des Äthers, bei niedrigerer Temperatur, hinterblieben einige Tropfen einer öligen Flüssigkeit von aromatischem Geruch: mit konzentrierter Natronlauge gab diese Flüssigkeit einen gallertigen Niederschlag: alkalische Silberlösung wurde sofort reduziert. Nach $\frac{1}{2}$ stündigem Kochen mit verdünnter Salzsäure schwammen in der Lösung Blätter einer ätherlöslichen Säure, welche den Geruch und den Schmelzpunkt ($120/121^{\circ}$) der Benzoesäure hatte.

Es handelte sich hier also um Aldehyde, von denen Benzaldehyd nachgewiesen werden konnte.

Die zur Trockne abgedampften Natronsalze der flüchtigen Säuren wurden dann mit wenig halbkonzentrierter Schwefelsäure zersetzt. Es blieb dann eine voluminöse, weißgelbliche Säure ungelöst, dieselbe wurde abfiltriert, mit eiskaltem Wasser nachgewaschen und dadurch gereinigt, daß sie in Äther gelöst über etwas Wasser geschichtet wurde. Nach dem Abdunsten des Äthers schwammen dann auf dem Wasser reinlich weiße

Blättchen, welche den Schmelzpunkt (123°) und die Zusammensetzung der Benzoesäure hatten: das aus Albumin gewonnene Präparat enthielt:

	C 68,83%	H 4,08%
(berechnet für $C_7H_5O_2$	G 68,82%	H 4,02%).
Das Silbersalz enthielt	46,76% Ag	
(berechnet für $C_7H_5O_2Ag$	47,13% Ag).	

Das Silbersalz der aus der Leimoxydation gewonnenen Säure enthielt 47,05% Ag, resp. 47,26 Ag.

Die Menge der erhaltenen Benzoesäure betrug aus 200 g Albumin 2,7 g, aus 300 g Leim 0,9 g.

Die nach dem Abfiltrieren der Benzoesäure übrig gebliebene Flüssigkeit wurde mit Wasser verdünnt und von neuem in etwa 8 Tagen im Ätherextraktionsapparat erschöpft. Zur Aufteilung der darin enthaltenen flüchtigen Fettsäuren erwies sich die von Erlenmeyer¹⁾ empfohlene fraktionierte Fällung mit Silberkarbonat als besonders zweckmäßig. Über die Brauchbarkeit der Methode wurden ein paar Vorversuche angestellt, deren Ergebnisse in Nr. 17 und 18 der analytischen Belege mitgeteilt sind. Es bildet sich zunächst das Silbersalz der Ameisensäure, welche die bei weitem größte Azidität besitzt, und danach das Silbersalz des höchsten in dem Gemenge vorkommenden Gliedes der Fettsäurereihe usw. bis eventuell zur Essigsäure hin.

Nach dem Verjagen des Äthers durch Destillation bei 37° wurde diese Fraktion der flüchtigen Fettsäuren also mit einer kleinen Portion feuchten Silberkarbonats versetzt (etwa 0,2 g), nach einigem Stehen (im Dunkeln) wurde das entstandene Silbersalz abgesaugt, kurz mit ein paar Tropfen abgekühlten Wassers nachgewaschen und das Filtrat von neuem mit Silberkarbonat behandelt und so fort, solange, bis schließlich neutrale Reaktion eingetreten war. Die Silbersalzfraktionen mußten dabei einmal umkristallisiert werden, weil sie meistens noch etwas Silberkarbonat beigemischt enthielten; das Umkristallisieren erwies sich aber als überflüssig bei den ersten Fraktionen, wenn sie ameisensaures Silber enthielten, und dann sogar schädlich, weil durch das Erwärmen der Salzlösung starke Reduktion des Silbers

¹⁾ Erlenmeyer und Hell, Ann., Bd. CLX, S. 295, Anm.

eintrat. Deshalb wurden die ersten Fraktionen sofort der Analyse unterworfen, bis die Silberbestimmung ein starkes Ansteigen des Silbergehaltes ergab, das durch eine reichlichere Beimengung von Silberkarbonat (78,25% Ag) bedingt ist.

Von da ab wurden die Fraktionen durch einmaliges Umkristallisieren gereinigt.

Da ameisensaures Silber beim Erhitzen explodiert, wurden alle Silberbestimmungen in der Weise angestellt, daß das betreffende Salz im Porzellantiegel mit einigen Tropfen konzentrierter Salpetersäure und konzentrierter Salzsäure versetzt wurde; nachdem dann noch etwas Wasser zugesetzt war, um das Schäumen zu vermeiden, wurde der Tiegelinhalt auf dem Wasserbade zur Trockne abgedampft, danach die noch anhaftenden Säurereste abgeraucht und das Chlorsilber bis zum Beginn des Schmelzens erhitzt; nach dem Erkalten wurde es dann zur Wägung gebracht. Für die meisten Bestimmungen wurde die Behandlung mit Salzsäure und Salpetersäure dann noch einmal wiederholt, ohne daß andere Analysenwerte erhalten wurden, welche um mehr als Bruchteile eines Milligramms differierten.

Die erhaltenen Analysen aus der entsprechenden Fraktion bei der Leim- und bei der Albuminoxidation sind in den Nummern 19 und 20 der analytischen Belege wiedergegeben: sie zeigen, daß in beiden Fällen Ameisensäure, Buttersäure und Essigsäure sich hat nachweisen lassen. Der niedrige Wert der letzten Fraktion beim Leim erklärt sich vermutlich durch die Anwesenheit einer geringen Menge von Benzoesäure, die vermutlich auch die Zahlen der 6. und 7. Fraktion etwas gedrückt hat. Ob möglicherweise bei der Albuminoxidation noch Valeriansäure (Fraktion 6) und Propionsäure (Fraktion 8) sich gebildet hat, muß dahingestellt bleiben.

Im Anfange wurden andere Verfahren zur Aufteilung dieser Fraktion der flüchtigen Fettsäuren angewendet.

Ein aus Albumin gewonnener Extrakt wurde nach Verjagung des Äthers der fraktionierten Destillation unterworfen und die aus den einzelnen Fraktionen dargestellten Silbersalze analysiert.

1. Fraktion. Schmelzpunkt $78/80^{\circ}$. Es waren in diesem Falle noch nicht die Aldehyde durch Äther entfernt worden. Diese Fraktion enthielt Aldehyde; mit Natronlauge trat ein Gallertniederschlag auf: Silberlösung wurde unter Bildung eines Silberspiegels reduziert.

2. Fraktion, Schmelzpunkt bis 105° , reduziert stark Silber. Aus der Lösung des Silbersalzes wurden zwei nacheinander sich abscheidende Kristallfraktionen gewonnen.

Die erste explodierte im Tiegel beim Erhitzen, bestand also wahrscheinlich aus ameisensaurem Silber.

Die zweite wies einen Silbergehalt von $60,38\%$ auf.

3. Fraktion. Schmelzpunkt bis 125° . Aus dieser wurden vier nacheinander sich abscheidende Kristallfraktionen des Silbersalzes gewonnen mit

63,73% Ag

62,63% „

62,46% „

56,68% „

4. Rückstand. Danach blieb ein sich schwärzender Rückstand zurück.

In einem zweiten Falle wurde der hierhergehörige Teil des Ätherextraktes von den ersten Leimoxydationen (1,2 kg) nach dem von Liebig¹⁾ und Keller²⁾ angegebenen Verfahren der fraktionierten Absättigung mit Natriumkarbonat behandelt. Doch konnte nur der erste Rückstand untersucht werden, der Rest ging durch ein Mißgeschick verloren.

Das restierende Natriumsalz wurde mit Silbernitrat gefällt und einmal umkristallisiert: es schieden sich zunächst einige Kristalle aus, deren Silbergehalt $71,15\%$ betrug; bei weiterem Einengen schieden sich spießige Kristalle mit $69,78\%$ Ag aus. (Berechnet für ameisensaures Silber $70,57\%$ Ag.)

b) Die nicht flüchtigen Säuren:

Die bei der Destillation im strömenden Wasserdampf zurückgebliebenen nicht flüchtigen Säuren wurden ebenfalls von

¹⁾ Ann. d. Chem., Bd. LXXI, S. 355.

²⁾ Ann. d. Chem., Bd. LXXII, S. 27.

neuem längere Zeit (3 Wochen) mit Äther bis zur Erschöpfung extrahiert. Der Sirup, der nach dem Abdestillieren des Äthers zurückblieb, wurde mit etwas Wasser aufgenommen und zur Kristallisation über Schwefelsäure gestellt. Die ersten Kristallfraktionen, welche sich sofort reichlich ausschieden, bestanden aus Oxalsäure. Es waren lange, wasserklare, spießige Kristalle, welche bei 98° schmolzen: das Silbersalz der aus dem Albumin erhaltenen Kristalle explodierte beim Erhitzen, sein Silbergehalt betrug $70,86\%$ Ag¹⁾ (für oxalsaures Silber berechnet $71,04\%$ Ag); die Analyse der aus Leim gewonnenen freien Säure lieferte folgende Werte:²⁾

	C	H
	18,68%	4,80%
Für $C_2O_4H_2 + 2H_2O$ berechnet	19,04%	4,80%

Als mehrere Gramme Oxalsäure umkristallisiert waren, begann bei weiterem Einengen sich eine neue Säure in halbkugeligen, strahlig zusammengesetzten Warzen neben weiteren Oxalsäurekristallen abzuschneiden. Die weitere Untersuchung erwies diese Säure als Bernsteinsäure. Zur Gewinnung eines analysenreinen Präparates davon wurden zunächst durch mechanische Auslese mit Hilfe der Lupe die halbkugeligen Kristalle von den langen Oxalsäurekristallen getrennt: die Auslese wurde dadurch wesentlich erleichtert, daß diese Kristalle den gelbbraunen Farbstoff der Lösung mit in ihre Kristallkonglomerate einschlossen. Dieselben wurden dann mehrmals aus Wasser umkristallisiert, dabei mußte das erstemal von neuem eine mechanische Trennung von einigen mitausgeschiedenen Oxalsäurekristallen vorgenommen werden. Beim zweiten und dritten Mal hielt die Mutterlauge etwa noch anhaftende Oxalsäure gelöst, aber auch da waren die Kristalle noch nicht rein, wie angestellte Verbrennungen und Silberbestimmungen ergaben; auch der Schmelzpunkt war um einige Grad zu niedrig (180 bis 182°). Nachdem die Säure viermal umkristallisiert war, wurde sie noch einmal gelöst und mit Tierkohle aufgeköcht. Die nach dem Einengen ausfallenden blättchenförmigen Kristalle

¹⁾ Analytische Belege 23.

²⁾ Analytische Belege 24.

zeigten den für Bernsteinsäure stimmenden Schmelzpunkt (185°) und die richtige Zusammensetzung sowohl bei dem aus Leim wie dem aus Albumin gewonnenen Präparat.

	C	H	Ag-Gehalt des Silbersalzes
Aus Leim	40,34 ^o %	5,34 ^o %	64,74 ^o % ¹⁾
Aus Albumin	40,36 ^o %	5,33 ^o %	64,95 ^o % ²⁾
Ber. f. Bernsteinsäure	40,53 ^o %	5,10 ^o %	65,04 ^o %

Die Mutterlaugen, aus denen sich der größte Teil der Oxalsäure und Bernsteinsäure ausgeschieden hatte, wurden vereinigt, mit Ammoniak neutralisiert und mit Silbernitrat gefällt; dann wurden sowohl das Filtrat von dem Silberniederschlag als dieser selbst mit Schwefelwasserstoff zersetzt.

Nach dem Abfiltrieren des Schwefelsilbers wurde das Filtrat noch mehr mit Salpetersäure angesäuert und mit Äther mehrmals ausgeschüttelt. Nach dem Verjagen des Äthers schied sich aus dem gelblichen Sirup im Verlauf weniger Tage eine minimale Menge kleiner warziger Kriställchen von weißer Farbe aus; deren Schmelzpunkt lag bei 182°, das aus denselben dargestellte Silbersalz hatte einen Silbergehalt von 63,65^o %;³⁾ es handelte sich dabei also wohl um Bernsteinsäure, deren Silbersalz bei der Hauptfällung in Lösung geblieben sein mußte. Aus dem Rest des Sirups, der von den Bernsteinsäurekristallen abfiltriert war, wurde ebenfalls das Silbersalz dargestellt. Die Menge reichte nur für eine Silberbestimmung; es ergab sich ein Silbergehalt von 56,48^o %.⁴⁾ Das gilt für den Leim; beim Albumin ging diese Fraktion der in Lösung gebliebenen Silbersalze verloren.

Der bei der Hauptfällung erhaltene gelbliche Silberniederschlag wurde ebenfalls mittels Schwefelwasserstoff zersetzt, das Filtrat vom Schwefelsilber eingeeengt und die sich danach abscheidenden Oxalsäure- und Bernsteinsäurekristalle abfiltriert. Die Mutterlauge enthielt Phosphorsäure; sie gab deutlich die Reaktion mit molybdänsaurem Ammon nach Ansäuern mit Sal-

¹⁾ Analytische Belege 25.

²⁾ Analytische Belege 26.

³⁾ Analytische Belege 27.

⁴⁾ Analytische Belege 28.

petersäure. In der Erwartung, auf Glutarsäure¹⁾ fahnden zu müssen, wurde die Mutterlauge auf ca. 750 cem verdünnt und mit überschüssigem Zinkoxyd kalt geschüttelt, danach filtriert, eingengt und heiß filtriert. Auf dem Filter blieb sowohl beim Leim als beim Albumin nur eine geringe Menge Zinksalz zurück, das nach dem Ansäuern mit Salpetersäure die Molybdänsäurereaktion der Phosphorsäure gab. Nach dem Abkühlen des Filtrates schied sich noch weiter etwas phosphorsäurehaltiges Zinksalz aus.

Glutarsäure ließ sich also weder beim Leim, noch beim Albumin unter den Oxydationsprodukten nachweisen; mit Sicherheit wurden Oxalsäure und Bernsteinsäure aufgefunden.

Zusammenfassung der Resultate.

Unter den Oxydationsprodukten des Leims und des Albumins aus Eiern sind durch die mitgeteilten Untersuchungen nachgewiesen:

Fettsäuren (Ameisensäure, Essigsäure, Buttersäure
vielleicht noch Propionsäure u. Valeriansäure).

Benzoessäure, Benzaldehyd.

Oxalsäure, Bernsteinsäure, nicht dagegen Glutarsäure.

Oxaluramid und wahrscheinlich Oxalursäure.

Die in den ersten drei Reihen aufgezählten Substanzen sind als Oxydationsprodukte von Eiweißkörpern bereits bekannt; eine Ableitung derselben aus bestimmten, im Eiweiß bekannten Atomgruppen ist zum Teil bereits in der Einleitung vorgenommen. Wenn auch in meinen Versuchen die Oxydation nicht bis zum Verschwinden der Biuretreaktion getrieben ist, so weist doch die relativ große Menge so leicht oxydabler Körper, wie Bernsteinsäure, Oxalsäure, Ameisensäure usw., im Sinne der eingangs angestellten Betrachtungen darauf hin, daß diese Substanzen vermutlich aus Atomgruppen in näherer Nachbarschaft des Kernes im Eiweißmolekül ihren Ursprung nehmen: für die Oxalsäure ist bei dem Referat über die Malyschen Arbeiten eine Entstehungsmöglichkeit angegeben, welche gleichzeitig eine

¹⁾ G. Zickgraf, Die Oxydation des Lysins.

Ber. d. Deutsch. chem. Ges., 1902, Bd. XXXV, S. 3401.

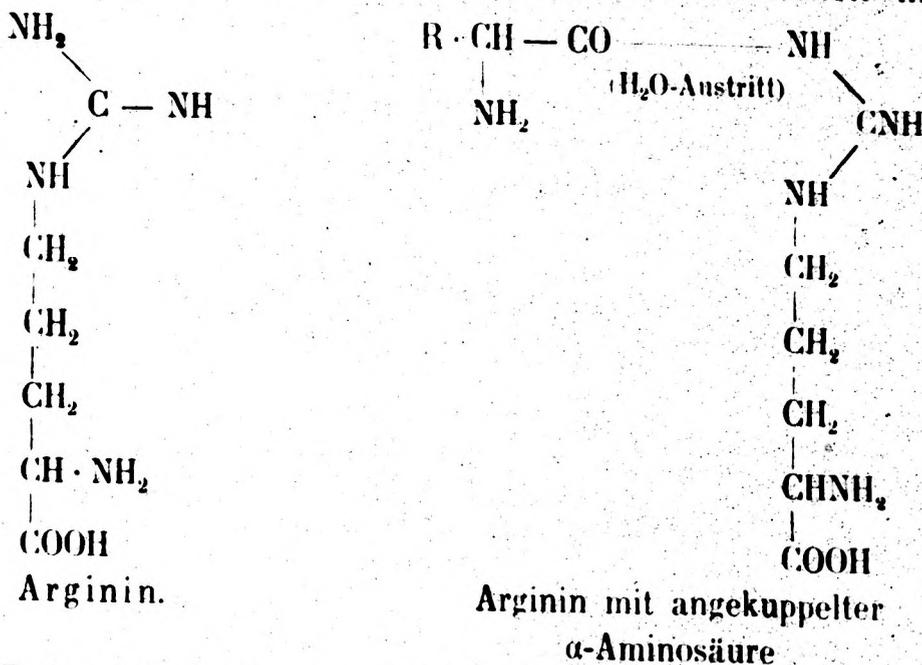
befriedigende Erklärung für das Auftreten der Fettsäuren bietet; Bernsteinsäure würde aus der Arginingruppe herzuleiten sein, oder aus derjenigen, welche bei der Hydrolyse als Asparagin resp. Asparaginsäure erscheint. Auffallend ist, daß sich keine Glutarsäure gefunden hat, welche Zickgraf als Oxydationsprodukt des Lysins nachgewiesen hat. Für diesen Befund, wenn er sich als Regel herausstellen sollte, wären mehrere Deutungen möglich unter der Voraussetzung, daß das Lysin als solches wirklich Bestandteil und Baustein des Eiweißes ist, eine Annahme, welche wohl keinem Zweifel unterliegen kann. Es könnte sein, daß in solchen Versuchen, wie den hier mitgeteilten, die eventuell entstandene Glutarsäure weiter oxydiert und damit verschwunden ist: man müßte dann wohl die Lysinkomponente ebenso wie die Tyrosinkomponente in die Peripherie des Eiweißmoleküles verlegen. Es spricht aber gegen eine derartige Annahme immerhin, daß auch keine Malonsäure unter den Spaltungsprodukten sich hat nachweisen lassen: eine weitergehende Oxydation der einmal gebildeten Glutarsäure wäre kaum anders denkbar, als in der Richtung Glutarsäure, Bernsteinsäure, Malonsäure, Oxalsäure. Die andere Möglichkeit wäre die, daß unter dem Einfluß der Permanganatoxydation eine andersartige Sprengung der Lysingruppe stattfindet, als bei der Hydrolyse, eine Sprengung, welche sofort diese Kette in kleinere Stücke zerlegt: dann könnte die Lysingruppe auch im Kern ihren Sitz beibehalten.

Was endlich das Auffinden der Oxalursäure resp. ihres Amides anlangt, so wird dadurch einmal Béchamps (usw.) Angabe, Harnstoff und Oxalsäure als Oxydationsprodukte des Eiweißes erhalten zu haben, von neuem wesentlich gestützt; denn mit großer Wahrscheinlichkeit ist zu erwarten, daß sich aus dem Reaktionsgemisch die Spaltungsprodukte der Oxalursäure, also besonders der Harnstoff, werden isolieren lassen.

Bei der leichten Zersetzlichkeit des Oxaluramids und der Säure selbst kann an einen Aufbau aus vorübergehend gebildetem Harnstoff und Oxalsäure kaum ernstlich gedacht werden; man wird in ihr vielmehr ein Spaltungsprodukt des Eiweißes sehen müssen. Da das Arginin der einzig komplexere Körper

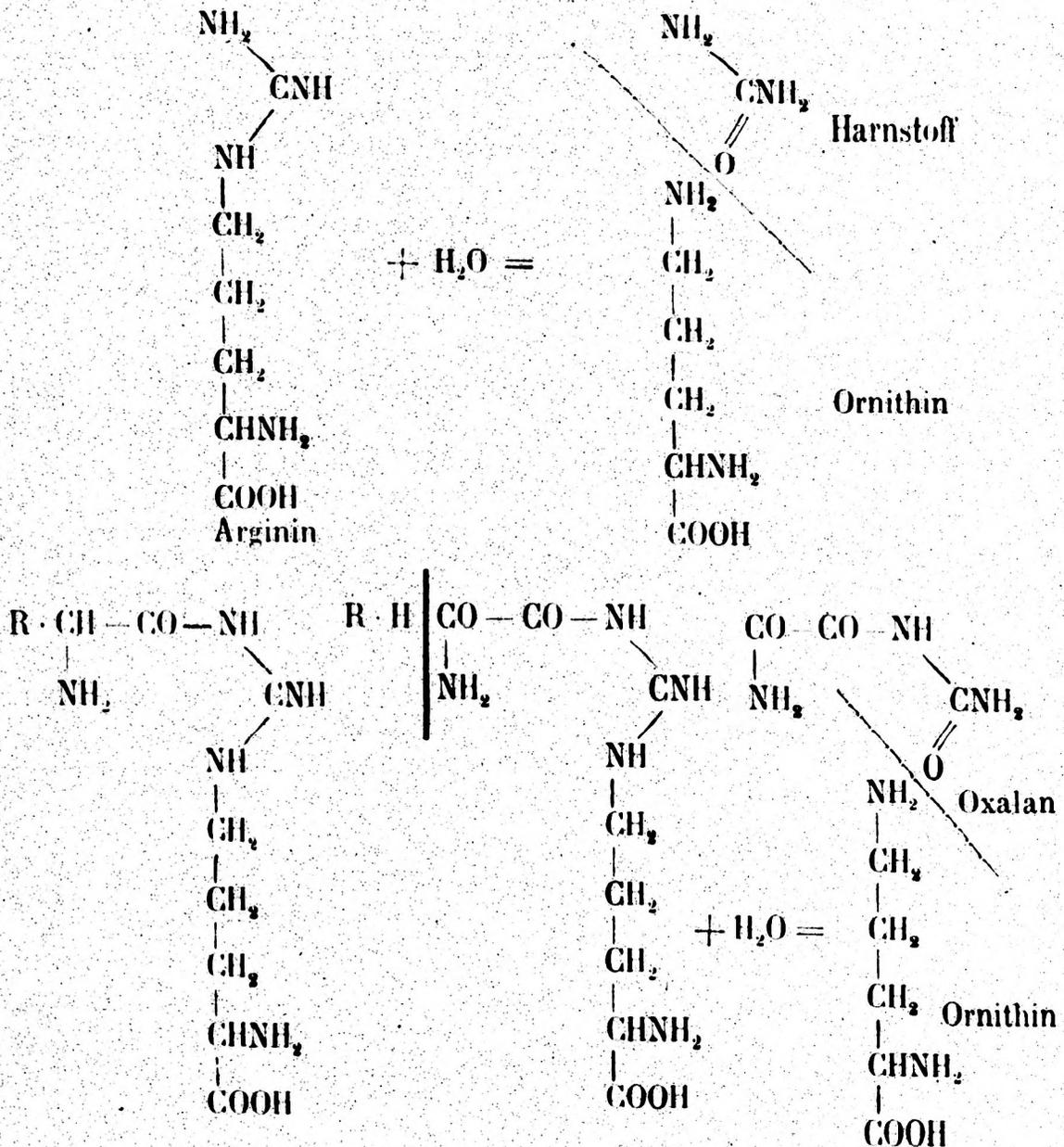
unter den bekannten hydrolytischen Spaltungsprodukten ist, welcher die Harnstoffgruppe resp. Guanidingruppe enthält, wird man die Oxalursäure zum Arginin in Beziehung bringen müssen, und damit auch das Defizit an dem bei der Oxydation erhaltenem Guanidin gegenüber dem theoretisch nach dem Arginingehalt des Leims zu erwartenden erklären können (cf. Zickgraf, Inaug.-Diss., S. 11). Bei der direkten Oxydation des Arginins entsteht nun keine Oxalursäure, vielmehr Guanidinbuttersäure oder Guanidin und Bernsteinsäure (Kutscher), und auch bei der Versetzung mit Barythydrat (Schulze) oder der fermentativen Zersetzung durch Arginase (Kossel und Dakin) wird außer Harnstoff nur Ornithin gebildet. Das drängt alles zu der Vermutung, daß am Guanidinende der Arginingruppe sich eine andere Atomkette anreihen muß, aus der die Oxalsäurekomponente der Oxalursäure ihre Entstehung nehmen kann.

Nach den in der Einleitung angeführten Vorstellungen wäre man zu der Annahme berechtigt, an das Arginin lagere sich eine neue Aminosäure so an, daß ihre Karboxylgruppe sich mit einer Amidogruppe des Arginins unter Wasseraustritt vereinigte. Da die bekannten Amidosäuren alle α -Aminosäuren sind, so würde daraus folgendes Bild von der Atomkette entstehen müssen:



Dabei bliebe der weitere über die (CHNH_2) -Gruppe hinausgelegene Teil (R) des angefügten neuen Moleküls zunächst Nebensache: die angefügte Amidosäure konnte Glykokoll, Tyrosin oder selbst eine Diaminosäure (Lysin, Arginin) sein. Nimmt

man nun an, daß durch die Oxydation der Rest R abgesprengt wird (ev. Bildung von Fettsäure) und daß dann die endständige Gruppe zur Karboxylgruppe (oder zur $-\text{CO} \cdot \text{NH}_2$ -Gruppe) oxydiert wird, so würde sich aus einer solchen Atomkette die Oxalursäure in derselben Weise ableiten lassen, wie die Entstehung von Harnstoff aus Arginin begründet wird.



An der mit gestrichelter Linie bezeichneten Stelle befindet sich eine an sich nicht sehr feste Bindung, die durch Baryhydrat oder durch die Arginase gelöst wird (in den Oxydationsversuchen mit Calciumpermanganat bildet sich übrigens vorübergehend Calciumhydrat). Diese Ableitung des Oxalans gibt der Vorstellung von der amidartigen Verkuppelung der Amidosäuren (Hofmeister, E. Fischer) untereinander eine neue Stütze. Ein Spaltungsprodukt, aus dem diese Art der

Arginingruppe entstammen sollte, sondern, wie Kutscher vermutet, aus einem neuen, anderen Kern herzuleiten ist. Es ist ohne weiteres verständlich, daß auch jedes andere Guanidinderivat ähnlicher Art dieselben Dienste für die Ableitung der Oxalursäure tut, wie das Arginin, das oben als Paradigma genommen wurde.

Zum Schluß mag in Kürze darauf hingewiesen werden, daß sich unter den erhaltenen Oxydationsprodukten einige befinden, welche auch im Harn oder Blute der Tiere gefunden sind, und welche man als End- oder Zwischenprodukte des tierischen Stoffwechsels ansehen darf. Dahin gehören die Oxalsäure, die Oxalursäure, Bernsteinsäure, Benzoesäure (Hippursäure). Diese Beziehungen hier aber weiter zu beleuchten, erscheint ungelegen, weil zwar solche Reagensglasversuche vielleicht geeignet sind, dereinst zur Aufklärung der Art der physiologischen Verbrennung beizutragen, weil aber das hierher gehörige Material bis jetzt noch nicht umfangreich genug ist, um eine derartige Parallele einigermaßen aussichtsvoll erscheinen zu lassen: und es kann daher auf eine derartige Behandlung der erhaltenen Resultate verzichtet werden.

Analytische Belege.

1. 0,2064 g des Silbersalzes gaben mit starker Salpetersäure und Salzsäure eingedampft 0,1936 g AgCl.
2. 0,1570 g des Platinates gaben nach der Verbrennung 0,0680 g Platin.
3. 0,1900 g Platinat gaben 0,0830 g Platin.
4. 0,2382 g des Barytsalzes, langsam verkohlt und geglüht, darauf mit einer konzentrierten Ammoniumkarbonatlösung befeuchtet und gelinde geglüht, hinterlassen 0,2086 g BaCO₃.
5. 0,1550 g Substanz liefern bei 15,2° und 748 mm Hg über 29% KOH aufgefangen 42,9 ccm N.
- 0,1344 g Substanz liefern bei 13,3° und 740 mm Hg 37,2 ccm N.
- 0,1594 „ „ „ 0,1596 g CO₂ und 0,0502 g H₂O.
- 0,1616 „ „ „ 0,1600 „ „ „ 0,0580 „ „
- 0,1408 „ „ „ nach Carius verbrannt, gaben weder mit Silbernitrat noch mit Baryumnitrat einen Niederschlag.
- 0,1538 g Substanz liefern bei 13,9° und 745,5 mm Hg über 50% KOH aufgefangen 42,4 ccm N.
6. 0,1394 g Substanz liefern bei 13,4° und 744,5 mm Hg über 50% KOH aufgefangen 38,4 ccm N = 32,10% N.

7. 0,1230 g Substanz liefern bei 10,5° und 748,5 mm Hg über konzentrierter KOH aufgefangen 16,8 ccm N.
 0,2984 g Substanz bei 110° getrocknet verloren 0,1504 g an Gewicht.
8. 0,1800 g Silbersalz liefern 0,1130 g Silber.
 0,1568 „ „ „ 0,0978 „ „
9. 0,1320 „ Substanz liefern bei 14,1° und 746,5 mm Hg über 28,6% KOH aufgefangen 17,8 ccm N.
 0,1562 g Substanz liefern 0,1192 g CO₂ und 0,0790 g H₂O.
 0,1486 „ „ 0,1144 „ „ 0,0776 „ „
10. 0,1434 „ „ bei 15,8° und 752 mm Hg über 29% KOH aufgefangen 15,6 ccm N (= 12,53%).
 0,1252 g Substanz liefern bei 15° und 745 mm Hg über 29% KOH aufgefangen 13,8 ccm N (= 12,62%).
11. 0,1488 g Substanz liefern bei 15,2° und 747 mm Hg über 29% KOH aufgefangen 23,8 ccm N.
 0,1042 g Substanz liefern bei 15,8° und 749 mm Hg über 29% KOH aufgefangen 17,0 ccm N.
 0,1762 g Substanz liefern 0,1642 g CO₂ und 0,0642 g H₂O.
 0,1508 „ „ „ 0,1384 „ „ 0,0544 „ „
12. 0,1588 „ Silbersalz 0,1162 „ AgCl.
 0,2030 „ „ 0,1478 „ „
13. 0,1342 „ Substanz bei 16° und 749 mm Hg über 29% KOH aufgefangen 19,4 ccm N.
14. 0,1646 g Substanz liefern 0,4154 g CO₂ und 0,0748 g H₂O } aus
 15. 0,2254 „ Silbersalz 0,1054 „ Ag } Albumin.
 16. 0,2308 „ „ 0,1086 „ „ }
 0,1460 „ „ 0,0690 „ „ } aus Leim.
17. Es wurden je 1 g Ameisensäure (2 g der 50%igen Kahlbaumschen Lösung), 1 „ Essigsäure und 1 „ Buttersäure

gemischt und fraktioniert mit kleinen Mengen (0,2—0,3 g) in etwas Wasser verriebenem Silbercarbonat behandelt; nach mehrstündigem Stehen wurde der Niederschlag abgesaugt und mit Ausnahme der ersten Fraktionen, die das ameisensaure Silber enthielten, aus heißem Wasser umkristallisiert. Die dann erhaltenen Kristalle wurden wiederum abgesaugt, mit Alkohol und Äther gewaschen und nach dem Trocknen analysiert.

1. Fraktion. Diese wurde auch aus heißem Wasser umkristallisiert und enthielt viel reduziertes Silber.

0,2168 g Subst. gaben 0,2238 g AgCl. Ag = 77,70%.

2. Fraktion. Nicht umkristallisiert.

0,2590 g Subst. gaben 0,2450 g AgCl. Ag = 71,21%.

19. Die aus 300 g Leim gewonnenen, mit Wasserdampf flüchtigen Säuren wurden fraktioniert mit Silberkarbonat behandelt. Von der dritten Fraktion ab wurden die Silbersalze einmal aus heißem Wasser umkristallisiert.

1. Fraktion.	0,2176 g Silbersalz gaben	0,2010 g AgCl.	Ag = 69,53 %.
2.	0,1442 „ „	0,1322 „ „	= 69,01 %.
	0,3306 „ „	0,3034 „ „	= 69,08 %.
3.	0,2526 „ „	0,2170 „ „	= 64,67 %.
	0,1336 „ „	0,1148 „ „	= 64,68 %.
4.	0,0608 „ „	0,0464 „ „	= 57,45 %.
5.	0,0536 „ „	0,0438 „ „	= 61,51 %.
6.	0,0680 „ „	0,0560 „ „	= 62,27 %.
7.	0,1678 „ „	0,1390 „ „	= 62,36 %.
8.	0,1572 „ „	0,0964 „ „	= 46,36 %.

Es berechnet sich für:

Ameisensaures Silber	70,57 % Ag
Essigsaures	64,75 % „
Propionsaures	59,64 % „
Buttersaures	55,36 % „
Valeriansaures	51,64 % „
<hr/>	
Benzoesaures Silber	47,13 % Ag
Kohlensaures	78,25 % „

20. Die aus der Albuminoxidation gewonnenen flüchtigen Säuren wurden fraktioniert mit feuchtem Silberkarbonat gefällt. Die Silbersalzfraktionen wurden von der vierten Fraktion ab einmal aus heißem Wasser umkristallisiert; die Kristalle abgesaugt, mit Alkohol und Äther gewaschen und analysiert.

1. Fraktion. Die erste Analyse, welche mit direkter Veraschung angestellt wurde, explodierte. Daher wurden die weiteren Analysen so angestellt, daß das betreffende Salz mit konzentrierter Salpetersäure im Tiegel, dazu mit konzentrierter Salzsäure und etwas Wasser versetzt wurde, auf dem Wasserbade zur Trockene eingedampft und dann bis zum Schmelzen des Chlorsilbers geglüht wurde.

	0,1000 g Substanz gaben	0,0838 g AgCl.	Ag = 63,08 %.
2. Fraktion.	0,1686 „ „	0,1576 „ „	= 70,36 %.
	0,1650 „ „	0,1532 „ „	= 70,17 %.
3.	0,3550 „ „	0,3538 „ „	= 75,91 %.

Von hier an umkristallisiert.

4. „ 0,0568 g Substanz gaben 0,0476 g AgCl. Ag = 63,08 %.
- Noch ziemlich stark reduzierende Lösungen.

		b) 0,0634 g Substanz gaben 0,0552 g AgCl. Ag = 65,54%.	
5.	Fraktion.	0,0922 » » » 0,0770 » » » = 62,87%.	
(6.	»	0,0378 » » » 0,0270 » » » = 53,77%.)	
7.	»	0,1272 » » » 0,0942 » » » = 55,75%.	
8.	»	0,0970 » » » 0,0756 » » » = 58,67%.	
		0,0984 » » » 0,0762 » » » = 58,30%.	
9.	»	0,1524 » » » 0,1296 » » » = 64,01%.	
10.	»	0,1354 » » » 0,1160 » » » = 64,49%.	
21.	2. Fraktion.	b) 0,1570 g Substanz liefern 0,0948 g Ag = 60,38%.	
3.	»	a) 0,1566 » » » 0,0998 » » » = 63,73%.	
		(b) 0,0958 » » » 0,0600 » » » = 62,63%.)	
		c) 0,1364 » » » 0,0852 » » » = 62,46%.	
		(d) 0,0494 » » » 0,0280 » » » = 56,68%.)	
22.	a)	0,1058 g Substanz liefern 0,1000 g AgCl = 71,15% Ag.	
	b)	0,2000 » » » 0,1854 » » » = 69,78%.	
23.		0,2658 g Substanz liefern 0,2502 g AgCl.	
24.		0,1874 » » » 0,1284 » CO ₂ und 0,0816 g H ₂ O.	
25.		0,1452 » Silbersalz » 0,0940 » Ag.	
		0,1736 » Substanz » 0,2568 » CO ₂ und 0,0830 g H ₂ O	} Leim.
26.		0,1634 » » » 0,2418 » » » 0,0778 » »	
		0,2408 » Silbersalz » 0,1564 Ag	} Albumin.
27.		0,1256 » » » 0,1062 AgCl	
28.		0,1442 » » » 0,1082 AgCl	