

Untersuchungen über die eßbaren indischen Schwalbennester.¹⁾

Von
Heinrich Zeller.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der Universität Tübingen.)

(Der Redaktion zugegangen am 27. Mai 1913.)

Bestimmte Schwalbenarten, welche an der Küste des indischen Archipels heimisch sind, benützen zum Aufbau ihrer Nester, der sogenannten eßbaren Schwalbennester, das Sekret ihrer Speicheldrüsen, welche während des Nestbaues eine bedeutende Vergrößerung erfahren und während dieser Zeit eine reichliche Menge einer zäh-schleimigen Flüssigkeit absondern.

Abgesehen von Blyth und Laidley,²⁾ deren Arbeit mir nicht zugänglich war, ist wohl Döbereiner³⁾ der erste, welcher die Nests substanz chemisch untersucht hat. Er fand, daß sie (ungereinigt) 7,5% Asche (Na, Ca, Fe, Cl) enthält und stickstoffhaltig ist, daß sie in Wasser aufquillt, aber nur zu einem kleinen Teil sich löst. Die Lösung gibt mit Alkohol und mit Bleiacetat Niederschläge, mit Salpetersäure Gelbfärbung, der unlösliche Teil quillt in konzentrierter Essigsäure zu durchsichtiger Gallerte, färbt sich mit Salpetersäure gelb, mit Schwefelsäure und Salzsäure allmählich dunkel, wird mit Ammoniak und Natron-

¹⁾ Die Anregung zu dieser Arbeit ging von Herrn Prof. du Bois-Reymond von der deutschen Medizinschule in Shanghai aus, welcher Herrn Prof. Thierfelder einige Nester schickte. Prof. du Bois-Reymond hatte sie von dem Vizekönig, dem damaligen Generalgouverneur in Nanking Tuan Fang, erhalten, welcher sich sehr für ihre Zusammensetzung interessiert.

²⁾ Erwähnt in Comptes rendus, Bd. 41, 1855. Journal de la Société Asiatique du Bengale, Bd. 14, S. 210.

³⁾ In Schweigers Journal f. Chemie und Physik, Bd. 11, 1814, S. 303—312.

lauge gallertig. Brande¹⁾ sagt, daß die Substanz in Ammoniak löslich sei, eine Angabe, die offenbar unrichtig ist.

Die erste eingehende chemische Untersuchung dieser Nester stammt von Mulder.²⁾ Nach ihm bestehen die Nester in der Hauptsache aus einem besonderen tierischen Stoff, welchen er Neossin nennt. Daneben finden sich in einer kleinen Menge etwas festes weißes Fett (0,22%), sowie Kochsalz und Magnesiumchlorid (zusammen 3,47%), welche durch kochenden Alkohol extrahiert werden, Na_2SO_4 , Spuren von Na_2CO_3 (zusammen 0,77%) und das Kalksalz einer organischen Säure (0,53%), welche durch kochendes Wasser extrahiert werden. Das Neossin ist in Alkohol unlöslich, in kochendem Wasser wenig löslich; in kaltem Wasser quillt es zu einer durchsichtigen voluminösen Gallerte, welche in Essigsäure, Salpetersäure, Salzsäure, verdünnter Schwefelsäure, Ammoniak und schwachem Alkali unlöslich ist. Kaustisches Alkali zersetzt unter Ammoniakentwicklung, starke Salpetersäure bewirkt Gelbfärbung und in der Hitze Zersetzung zu Gas. Kochende Salzsäure löst unter gleichzeitiger Zersetzung zu brauner Flüssigkeit. Beim Erhitzen bläht die Substanz sich auf und hinterläßt 5% Asche (Calcium- und Magnesiumsulfat mit Spuren von Calciumcarbonat). Sie ist schwefelfrei. Die Analyse des Neossins ergibt auf aschefreie Substanz berechnet:

C	54,81	55,05
H	7,02	7,10
N	11,64	11,66
O	26,53	26,19.

Weitere Angaben sind von Hoppe-Seyler³⁾ gemacht worden. Er schreibt: «Ich habe mich überzeugt, daß die Substanz eines möglichst gereinigten indischen Vogelnestes sich gegen Kalkwasser, Essigsäure und beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure wie Mucin verhält. Beim Kochen mit verdünnten Säuren erhält man Acidalbumin und einen Kupferoxyd in alkalischer Lösung beim Erwärmen reduzierenden Körper.»

¹⁾ Home Sir Everard in *Philosoph. Transact.*, 1817, Part. I, S. 338.

²⁾ *Bull. des scienc. phys. et natur. en Néerland*, 1838, S. 172.

³⁾ *Physiologische Chemie*, 1881, S. 198.

Green¹⁾ fand die Nester (von Collocal. nidific.) in kaltem und heißem Wasser unlöslich, ebenso in verdünnter Salzsäure (5%) und verdünnten Alkalien, beim Kochen lösen sie sich in Natronlauge zu brauner Flüssigkeit. Sie sind gegen Magensaft fast ganz widerstandsfähig, werden aber von Pankreassaft ungefähr ebenso gut verdaut wie Fibrin. In Kalk- und Barytwasser lösen sie sich langsam. Die Lösung wird auf Zusatz von Essigsäure opalescent, gibt aber keinen Niederschlag, auch nicht auf Zusatz von Ferrocyankalium; sie wird durch Alkohol flockig gefällt, gibt deutliche Xanthoproteinreaktion, aber keine Millonsche Reaktion. Bei vierstündigem Kochen mit 2%iger Schwefelsäure löst sich das Nest zu einer tiefbraunroten Flüssigkeit, welche beim vorsichtigen Neutralisieren mit festem Natriumcarbonat einen feinen Niederschlag von Acidalbumin ausfallen läßt. Das Filtrat reduziert Fehlingsche Lösung. Verdunstet man es zur Trockene, löst den Rückstand in Alkohol, filtriert die alkoholische Lösung und verdunstet wieder, so scheiden sich nach einiger Zeit «Krystalle von Zucker» aus.

Kruckenberg²⁾ beobachtete in Übereinstimmung mit Hoppe-Seyler und Green, daß die Nests substanz (von Collocal. spodiopyg., welche er vorher mit Wasser und Alkohol längere Zeit ausgekocht und der Einwirkung von Pepsinsalzsäure ausgesetzt hatte) sich innerhalb von 2—3 Tagen in gesättigtem Barytwasser löste. Die durch Schwefelsäure von Baryt befreite Lösung wurde durch Alkohol gefällt. Der Niederschlag löste sich in Wasser in jedem Verhältnis zu einer gummösen, aber nie fadenziehenden oder gelatinösen Flüssigkeit auf. Diese Flüssigkeit wurde nicht gefällt durch Essigsäure, Essigsäure und Ferrocyankalium, Alaun, Silbernitrat, Sublimat, Bleiacetat, Salpetersäure, dagegen vollständig durch neutrales Eisenchlorid und basisches Bleiacetat, weniger reichlich durch Salzsäure + Phosphormolybdänsäure und Quecksilbernitrat. Sie reduzierte alkalische Kupferlösung beim Kochen. Diese Reaktion wird durch geringe Beimengungen des zuckerartigen Spaltungsprodukts bedingt, welches in reichlicher Menge

¹⁾ Journ. of Physiol., Bd. 6, S. 40 (1885).

²⁾ Zeitschr. Biol., NF. Bd. 4, S. 261 (1886).

erst durch Kochen mit etwas konz. Schwefelsäure gewonnen wird. Die Substanz dieses Nestes gab eine deutliche Xanthoprotein- und Millonsche Reaktion, während die Substanz eines Nestes von *Colloc. nidif.* auch eine deutliche Xanthoprotein-, aber nur eine sehr schwache Millonsche Reaktion zeigte.

Aus den kurz referierten Angaben ergibt sich, daß die Substanz des Vogelnestes zu den Glukoproteiden gehört. Von den bekannten Gliedern dieser Klasse, speziell von den Produkten der Speicheldrüsen der Säugetiere weicht sie aber in vielen Punkten ab.

Eine weitere Untersuchung erschien wünschenswert. Ich bin deswegen gerne der Aufforderung von Herrn Prof. Thierfelder, das Studium der Vogelnester weiter zu führen, gefolgt. Meine Untersuchungen galten im wesentlichen, um das gleich anzuführen, dem Kohlenhydratkomplex und den basischen Bestandteilen, welche bei der Hydrolyse auftreten.

Untersuchungen über den Kohlenhydratkomplex.

1. Das Material. Außer den aus Shanghai stammenden Nestern standen mir noch einige aus dem botanischen Garten in Buitenzorg und einige aus Siau und Mongodow¹⁾ zur Verfügung. Die Nester aus China waren von rein weißer Farbe, die aus Siau und Mongodow rostbraun, die aus Buitenzorg hellgelb bis dunkelbraun. In Form und Größe stimmten sie alle überein: sie stellten den vierten Teil eines Ellipsoides dar, 8 cm lang, 4 cm breit und 4 cm hoch. Alle zeigten deutliche Schlierenbildung, Speichelfaden war auf Speichelfaden gelegt. Den dunkel gefärbten Nestern haften ziemlich viele Gesteinsteilchen an, allen, auch den ganz weißen Nestern Federchen, die aber nur mikroskopisch zu erkennen waren. Für die Untersuchung wurden die Nester zerrieben und auf einem Haarsieb geschüttelt; dabei blieben die Federn zum größten Teil zurück. Beim Zusammenbringen mit Wasser quollen die einzelnen Teilchen auf und erschienen nun unter dem Mikroskop als durchsichtige Plättchen mit aufgelagerten Verun-

¹⁾ Für die Besorgung bzw. unentgeltliche Überlassung dieser Nester bin ich Herrn Missionar Schoch in Tomahon und Herrn Prof. Koningsberger in Buitenzorg zu Dank verpflichtet.

reinigungen. Alaunkarmin bewirkte eine gleichmäßige Färbung: Kerne waren also nicht vorhanden.

2. Allgemeines. Um festzustellen, wie viel von der Nests substanz bei der Behandlung mit Wasser, Alkohol und Äther in Lösung geht, habe ich das gepulverte Material je dreimal hintereinander mit Wasser und Alkohol und zweimal mit Äther geschüttelt. Nach jeder Extraktion wurde zentrifugiert, die überstehende Flüssigkeit filtriert, das klare Filtrat zur Trockene gebracht, der Rückstand gewogen, darauf verascht und der Ascherückstand ebenfalls gewogen. Das für den Versuch benützte Pulver wog 5,310 g, die Menge des Lösungsmittels betrug jedesmal 80 ccm. Aus den erhaltenen Zahlen, welche in der Tabelle zusammengestellt sind, geht hervor, daß ungefähr 10% vom Wasser gelöst worden sind. Die Menge der anorganischen Substanz nimmt mit jeder Extraktion ab, die Menge der organischen ist annähernd gleich. Das spricht dafür, daß die Nests substanz selbst zum Teil in Wasser löslich ist. Zu demselben Ergebnis ist auch schon Mulder gelangt. Alle drei Wasserauszüge geben die Biuretprobe, reduzieren aber Fehlingsche Lösung nicht; der erste Auszug reagiert sehr schwach sauer, der zweite und dritte neutral. Ein Teil der Asche löst sich mit alkalischer Reaktion in Wasser und enthält Schwefelsäure, Salzsäure, Natrium, aber keine Phosphorsäure, kein Kalium und kein Magnesium. Der in Wasser unlösliche Teil der Asche löst sich unter Aufbrausen in Salzsäure und die salzsaure Lösung enthält Calcium und Magnesium, aber keine Phosphorsäure. In dem ätherischen Auszug läßt sich eine geringe Menge organisch gebundenen Phosphors nachweisen.

	Wässriger Auszug			Alkohol. Auszug			Äther. Auszug	
	1	2	3	1	2	3	1	2
Trockenrückstand	0,2362	0,1992	0,1334	0,0608	0,0084	0,0	0,0079	0,0
Organisch . . .	0,0952	0,1500	0,1083	0,0597	0,0077	0,0	0,0068	0,0
Anorganisch . .	0,1410	0,0492	0,0251	0,0011	0,0007	0,0	0,0011	0,0

Um die Substanz möglichst von anorganischen und organischen Beimengungen zu befreien, wurde sie zunächst mit 0,1%iger Salzsäure und dann nacheinander je zweimal

mit Wasser, Alkohol und Äther extrahiert. Eine weitere Reinigung mußte aus Mangel an einem geeigneten Lösungsmittel unterbleiben. Das Lösen in Kalk- oder Barytwasser, wie es von Green und Kruckenberg vorgenommen worden ist, bewirkte schon eine Zersetzung der Substanz; auf keinen Fall war für die Reinigung von dieser Behandlung etwas zu erwarten, da die Substanz durch Säuren nicht wieder aus der Lösung gefällt wird. Übrigens lösten sich von meinen Nestern die aus China und Buitenzorg auch nach sechswöchigem Stehen in gesättigtem Barytwasser gar nicht und die aus Siau und Mongodow nur teilweise.

Die gereinigte Nestsubstanz enthielt (entgegen den Angaben von Mulder) Schwefel und zwar 1,1⁰/₀; sie gibt die Biuret-, Tryptophan-, Schwefelbleiprobe, ebenso die von Millon und Molisch, letztere beiden fallen stark positiv aus.

3. Kohlenhydratkomplex. Die Kupferoxyd in alkalischer Lösung reduzierende Substanz, welche nach dem Kochen mit Säuren auftritt, war von Green nach einem einfachen Verfahren krystallisiert erhalten und als «Zucker» angesprochen worden. Was für ein Zucker vorlag, gibt er aber nicht an, ja es fehlt sogar jeder Beweis für die Kohlenhydratnatur der Krystalle. Die nähere Untersuchung dieser Krystalle sollte meine nächste Aufgabe sein. Trotz genauer Einhaltung des von Green benützten Verfahrens gelang es mir aber nicht, die Krystalle zu erhalten. Der Eindampfungsrückstand des vom Neutralisationspräzipitat abfiltrierten Hydrolysats löste sich nur zum kleinsten Teil in Alkohol und aus diesem schied sich auch nach nochmaliger Aufnahme des Rückstands in Alkohol nichts Krystallinisches aus. Green hat offenbar anorganische Ausscheidungen für Zucker gehalten.

Da die nach Green hydrolysierte Flüssigkeit nicht sehr stark reduzierte und da ferner gar kein Reduktionsvermögen festzustellen war, als die Spaltung nach dem von Friedrich Müller¹⁾ bei Mucin eingehaltenen Verfahren (dreistündiges Kochen mit 2,5⁰/₀iger Salzsäure) erfolgte, so beschloß ich, zunächst die Bedingungen festzustellen, welche für die Bildung der reduzierenden Substanz die günstigsten sind.

¹⁾ Zeitschr. Biol., Bd. 42, S. 487 (1901).

a) Spaltung unter Benützung von Schwefelsäure. Die abgewogene Substanz wurde mit abgemessener Menge Säure bestimmter Konzentration am Rückflußkühler verschieden lange erhitzt, entweder auf dem Sandbad gekocht oder im Wasserbad unter beständigem Umrühren (mittels eines durch den Rückflußkühler hindurchgehenden Rührers) erwärmt. Nach dem Erkalten wurde filtriert. 20 ccm des Filtrats dienten für die Bestimmung des Reduktionsvermögens (welches auf Traubenzucker berechnet wurde) nach Bertrand.¹⁾ Die Bestimmungen ließen sich ohne jede Schwierigkeit ausführen, ebenso glatt wie in einer reinen Zuckerlösung.

Daß die Anwesenheit von Eiweißspaltungsprodukten die Genauigkeit der Methode nicht beeinträchtigt, habe ich durch besondere Versuche festgestellt. Es wurde eine etwa 0,2%ige Glukosaminlösung, welche 4% Schwefelsäure enthielt, in vier gleiche Teile geteilt und in dem ersten das Reduktionsvermögen nach Bertrand direkt bestimmt, in dem zweiten nach Neutralisation mit Natronlauge, in dem dritten nach einstündigem Kochen am Rückflußkühler und in dem vierten, nachdem nach Zusatz von etwa 3% Serumeiweiß drei Stunden am Rückflußkühler gekocht worden war. Für jede Bestimmung dienten 20 ccm; die verbrauchten Kubikzentimeter Kaliumpermanganatlösung waren 3,8, 3,8, 3,9 und 3,85. Ich erwähne diese Versuche besonders mit Rücksicht auf eine Arbeit von Bernardi,²⁾ welcher feststellte, daß die Bestimmung von Zucker mit Fehlingscher Lösung (Wägung des gebildeten Kupferoxyduls) bei Gegenwart von Pepton zu hohe Werte ergab.

Zunächst wurde je 1 g Substanz mit 100 ccm verdünnter Schwefelsäure (1,6—8%ig) vier Stunden lang gekocht. Folgendes sind die Resultate:

Konzentration der H ₂ SO ₄ in %	Zur Bestimmung benützte Menge in ccm	KMnO ₄ ³⁾ in ccm	Cu in mg	Reduzierende Sub- stanz auf Trauben- zucker bezogen	
				in mg	in %
1,6	20	1,25	11,6	0	0
2	20	2,80	26,2	12,96	6,48
3,3	20	5,30	49,6	25,0	12,50
4	20	6,38	60,1	30,6	15,30
6	20	5,35	50,2	25,3	12,65
8	20	5,25	49,2	24,8	12,40

¹⁾ Bull. de la soc. chim. de Paris, (3) Bd. 35, S. 1285 (1906).

²⁾ Biochem. Zeitschr., Bd. 41, S. 160 (1912).

³⁾ Titer 23,9.

Das Maximum ist also mit 4%iger Schwefelsäure erreicht worden.

Eine große Anzahl weiterer Versuche, bei denen stets 4%ige Schwefelsäure verwendet wurde, bei denen aber die Dauer des Erhitzens und die Temperatur wechselten, führten zu Resultaten, welche sich nur durch die Annahme erklären ließen, daß bei der Hydrolyse zwei reduzierende Substanzen auftreten, von denen die eine schon bei Wasserbadtemperatur auftritt und beim Kochen eine Zersetzung erfährt, die andere erst beim Kochen erscheint und bei dieser Temperatur widerstandsfähiger ist. Nachdem diese Erkenntnis gewonnen worden war, habe ich noch folgende beiden Versuchsreihen angestellt.

a) Es wurden je 0,5000 g mit 50 ccm 4%iger Schwefelsäure im kochenden Wasserbad am Rückflußkühler unter Umrühren erwärmt. Die Zeit des Erhitzens war in den einzelnen Versuchen verschieden. Von der abgesaugten Flüssigkeit verwendete ich 20 ccm für die Bestimmung.

	Dauer des Erhitzens in Minuten	KMnO ₄ ¹⁾ in ccm	Cu in mg	Reduzierende Substanz auf Traubenzucker bezogen	
				in mg	in %
a)	5	2,4	23,66	11,6	5,8
b)	10	3,5	34,51	17,2	8,6
c)	15	4,05	39,93	19,9	9,95
d)	20	4,0	39,43	19,7	9,85

Es wurden jetzt einerseits der abgesaugte Rückstand von c mit 50 ccm 4%iger H₂SO₄ nochmals 15 Minuten im kochenden Wasserbad erhitzt (c^a), andererseits das Filtrat von c 1½ Stunden am Rückflußkühler gekocht (c^b) und von beiden Filtraten je 20 ccm der Reduktionsbestimmung unterworfen mit dem Resultat, daß c^a kein Reduktionsvermögen zeigte, während in c^b die reduzierende Substanz auf 4,7% gesunken war (1,95 ccm KMnO₄, 19,23 mg Cu, 9,4 mg red. Subst. auf Traubenzucker bezogen).

β) Je 0,5000 g Substanz wurden mit 50 ccm 4%iger Schwefelsäure 15 Minuten in kochendem Wasserbad unter

¹⁾ Titer 22,7.

Umrühren erhitzt, abgesaugt und mit neuen 50 ccm 4%iger Schwefelsäure verschieden lange am Rückflußkühler gekocht. Von dem Filtrat dienten je 20 ccm zur Bestimmung der reduzierenden Substanz.

	Kochdauer in Minuten	KMnO ₄ ¹⁾ in ccm	Cu in mg	Reduzierende Substanz auf Traubenzucker bezogen	
				in mg	in %
a)	10	Spuren	—	—	—
b)	20	1,7	16,76	16,4	8,2
c)	30	4,1	40,43	20,2	10,1
d)	40	4,1	40,43	20,2	10,1

Es werden jetzt einerseits der abgesaugte Rückstand von c mit 50 ccm 4%iger Schwefelsäure nochmals $\frac{1}{2}$ Stunde gekocht (c^a), andererseits das Filtrat von d nochmals $1\frac{1}{2}$ Stunden gekocht (d^a) und von beiden Filtraten je 20 ccm der Bestimmung unterworfen mit dem Resultat, daß c^a kein Reduktionsvermögen zeigte, während in d^a keine Abnahme stattgefunden hatte (4,15 ccm KMnO₄, 40,91 mg Cu, 20,4 mg red. Subst. auf Traubenzucker berechnet, also 10,2 %).

Aus den Versuchen obiger Tabellen und aus vielen andern nicht veröffentlichten geht hervor, daß jede der beiden Substanzen zu etwa 10% (auf Traubenzucker bezogen) abgespalten wird, daß die Abspaltung der ersteren (red. Subst. I) nach 15 Minuten langem Erhitzen im siedenden Wasserbad beendet ist, daß die Abspaltung der zweiten (red. Subst. II) erst bei Siedetemperatur erfolgt und nach 30 Minuten vollendet ist. Weiter ergibt sich, daß die reduzierende Substanz I beim Kochen eine Zersetzung erfährt, die reduzierende Substanz II nicht.

b) Spaltung unter Benützung von Salzsäure. Während, wie oben erwähnt, nach 3stündigem Kochen der Nestsubstanz mit 2,5%iger Salzsäure kein Reduktionsvermögen beobachtet werden konnte, läßt es sich feststellen, wenn die Hydrolyse kürzere Zeit erfolgt. Trotz vieler Versuche ist es mir nicht möglich gewesen, die Bedingungen zu ermitteln, unter denen die Trennung der beiden reduzierenden Substanzen sich er-

¹⁾ Titer 22,7.

reichen läßt. Von der großen Anzahl der Spaltungsversuche, die ausgeführt sind, lasse ich hier einige folgen.

	Substanz in g	3,3%ige HCl in ccm	Er- hitzungs- dauer in Min.	Tem- peratur	Zur Bestim- mung benützt ccm	KMnO ₄ ¹⁾ in ccm	Cu in mg	Reduz. Substanz auf Trauben- zucker bezogen	
								in mg	in %
1	2,0000	110	25	Siede- temp.	20	12,0	114,0	333,8	16,69
2	2,0655	120	35	,	10	7,10	67,5	415,2	20,1
3	3,0400	200	180	,	—	Spuren	—	—	—
4	3,6000	200	180	,	—	,	—	—	—
5	2,0450	100	15	80°	10	2,82	26,9	131,9	6,45
	Rückstand davon	100	60	80°	20	3,75	35,6	88,5	4,3
	Rückstand davon	100	60	Siede- temp.	10	3,55	33,8	167,8	8,2
6	2,0000	80	120	40—50°	20	5,12	48,7	98,0	4,9
	Rückstand davon	80	150	40—50°	20	4,5	42,9	85,6	4,28
	Rückstand davon	80	30	Siede- temp.	20	14,0	133,3	288,8	14,44

Man sieht, daß das Reduktionsvermögen in einem Fall sogar 23,6% erreicht hat. So viel ist bei der Hydrolyse mit Schwefelsäure nie erhalten worden, allerdings auch in keinem anderen der mit Salzsäure angestellten Spaltungsversuche.

c) Spaltung unter Benützung von Essigsäure. Wie ich erst vor kurzem fand, wirkt auch Essigsäure spaltend. $\frac{5}{4}$ stündiges Erwärmen auf dem Wasserbad mit 20%iger Essigsäure bewirkte ein Reduktionsvermögen, welches fast 10% «Traubenzucker» entsprach. Diese Beobachtung soll weiter verfolgt werden.

Trotzdem also mit Salzsäure eine reichlichere Menge reduzierender Substanz erhalten wurde als mit Schwefelsäure, habe ich doch für die weitere Untersuchung der Spaltung mit Schwefelsäure den Vorzug gegeben, und dies aus folgenden Gründen: 1. bietet sie die Möglichkeit, beide reduzierende Substanzen getrennt voneinander zu bekommen und 2. findet beim

¹⁾ Titer 23,4.

Einengen des salzsauren Hydrolysats auch im Vakuum bei 40° eine Zersetzung statt, die sich in einer bald auftretenden Dunkel-färbung und Kohlebildung kund gibt und zu einem gänzlichen Verschwinden des Reduktionsvermögens führt. Eine vorherige Entfernung der Salzsäure mit Silber verbot sich mit Rücksicht auf die reduzierende Substanz, eine Neutralisation würde Salze in die Flüssigkeit gebracht haben, während Schwefelsäure sich gut als Baryumsulfat herausschaffen ließ.

4. Versuche zur Charakterisierung der reduzierenden Substanzen. Zur Gewinnung größerer Mengen der reduzierenden Substanzen verfuhr ich in folgender Weise: Portionen von einigen Grammen der Nests substanz wurden mit der etwa 20fachen Menge 4%iger Schwefelsäure $\frac{1}{4}$ Stunde im Wasserbad unter Rühren am Rückflußkühler erhitzt. Dann wurde abgesaugt und der Rückstand wieder mit der gleichen Menge derselben Schwefelsäure $\frac{1}{2}$ Stunde auf dem Sandbad am Rückflußkühler gekocht. Beide Flüssigkeiten (die letztere ohne vorherige Filtration, welche nur langsam vonstatten ging) wurden vorsichtig mit Barytmilch bis zur schwachsauren Reaktion versetzt, von dem Niederschlag abfiltriert und im Vakuum bei 40° eingeeengt. Dabei wurde die Reaktion durch Zusatz von etwas Barytmilch schwach sauer erhalten, zuletzt durch Zufügung von etwas Baryumchlorid oder Baryumacetat, die schwach schwefelsaure durch eine schwach salzsaure oder essigsäure Reaktion ersetzt und das gebildete Baryumsulfat durch Filtration entfernt. Nach völligem Trocknen im Vakuum stellte der Rückstand eine spröde, gelblich bräunliche Masse dar. Trotz Vermeidung einer höheren Temperatur und trotzdem die größte Sorgfalt auf Erhaltung einer schwach sauren Reaktion verwendet wurde, gelang es nicht, eine Abnahme des Reduktionsvermögens zu verhindern. Die reduzierende Substanz I erwies sich als viel empfindlicher als die Substanz II; während das Reduktionsvermögen bei dieser nur bis etwa auf die Hälfte sank, nahm es bei jener bis auf $\frac{1}{3}$ oder $\frac{1}{10}$ ab.

Beide Rückstände gaben die Trommersche, Nylander-sche und Indigoprobe, Furfurolreaktion (Rotfärbung von Anilinacetatpapier beim Erhitzen mit Salzsäure) und starke Molisch-

reaktion. Der Rückstand der reduzierenden Substanz II entwickelte beim Erwärmen einen deutlichen Karamelgeruch, welcher bei der reduzierenden Substanz I nicht mit Sicherheit festgestellt werden konnte. Auffallend war, daß bei Anstellung der Trommerschen Probe mit der reduzierenden Substanz I die Abscheidung von Kupferoxydul sehr langsam erfolgte. Vor dem Einengen hatte die Flüssigkeit dieses Verhalten nicht gezeigt; die reduzierende Substanz II reduzierte auch nach dem Einengen in der gewöhnlichen schnellen Weise. Gärungsversuche, welche wiederholt mit Lösungen, welche 1 bis 2% reduzierender Substanz enthielten und deren Reaktion schwach weinsauer war, angestellt wurden, verliefen ganz negativ. Mit Phenylhydrazin gelang es nicht, krystallisierte Verbindungen zu isolieren, wenn auch das Auftreten von Krystallen beobachtet wurde. Die Biuretreaktion fiel bei der reduzierenden Substanz II positiv aus, bei der reduzierenden Substanz I negativ, manchmal schwach positiv.

Was die zweite reduzierende Substanz betrifft, so lag es nahe, an Glukosamin zu denken, schon deswegen, weil dieses Kohlenhydrat auch bei der Spaltung eines Produkts der Speicheldrüsen der Säugetiere, des Mucins, erhalten worden ist. Die beobachtete Abnahme ihrer reduzierenden Kraft beim Einengen der Lösungen spricht nicht dagegen, denn dasselbe findet beim Einengen des Mucinhydrolysats statt.

Für die Gewinnung des Glukosamins aus Ovomukoid und anderen Glykoproteiden (Mucinen) hat nun kürzlich Oswald¹⁾ ein Verfahren angegeben, das sich durch seine Einfachheit auszeichnet. Es gelang ihm, ohne weiteres salzsaures Glukosamin in reichlicher Ausbeute und schön krystallisiert zu erhalten, als er das Dialysat des salzsauren Hydrolysats dieser Substanzen oder auch das Hydrolysat selbst zum Sirup auf dem Wasserbad einengte und abkühlen ließ.

Ehe ich diese Methode auf die reduzierenden Substanzen des Vogelnestes anwendete, habe ich sie am Ovomukoid geprüft. Diese Versuche möchte ich zunächst mitteilen und zugleich einige Beobachtungen, die ich bei dieser Gelegenheit

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 68, S. 173.

über die Menge reduzierender Substanz, welche bei der Hydrolyse des Ovomukoids auftrat, gemacht habe.

Es kamen drei Ovomukoidpräparate zur Verwendung, von denen ich zwei nach dem Verfahren von Mörner¹⁾ darstellte, indem ich nach Essigsäurezusatz gekochte, filtrierte und mäßig konzentrierte Hühnereiweißlösung mit Alkohol fällte und eines nach Neumeister,²⁾ indem die Fällung statt durch Alkohol mit Ammonsulfat bewirkt wurde. Die wässrige Lösung des ausgepreßten Niederschlags wurde dialysiert und dann mit Alkohol gefällt. Nach dem ersten Verfahren erhielt ich aus je 10 Eiern 2,8 und 2,6 g. Bei der Spaltung (zweistündiges Erhitzen auf dem Wasserbad mit 3,3%iger Salzsäure am Rückflußkühler³⁾) gaben diese drei Präparate verschiedene Mengen reduzierender Substanz (auf Traubenzucker berechnet 33,7%, 12,36% und 15,2%.⁴⁾) Wovon diese wechselnde Zusammensetzung des Ovomukoids abhängt, vermag ich nicht zu sagen, jedenfalls nicht von dem Alter der Eier, denn Präparat I und III waren aus ganz frischen Eiern hergestellt (Präparat I aus frischen Frühlingseiern, Präparat III aus frischen Wintereiern), Präparat II aus älteren sogenannten Kisteneiern. Von Präparat III wurde noch eine Stickstoffbestimmung ausgeführt, sie ergab 12,36%; das ist ein Wert, der auch von Mörner für Ovomukoid gefunden wurde.

Übrigens weichen die in der Literatur schon vorliegenden Angaben über den Gehalt des Ovomukoids an reduzierender Substanz ziemlich von einander ab, wenn auch so niedrige Werte wie die von Präparat II und III sich nicht finden. Während Seemann⁵⁾ ungefähr 35% fand, erhielt Willanen⁶⁾ 19,5 bis 22,3%, Pavy⁷⁾ 18,6—26,5%.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 18, S. 525 (1894).

²⁾ Zeitschr. f. Biol., N. F., Bd. 9, S. 369 (1890).

³⁾ Einstündiges Erhitzen, wie es Oswald angibt, genügt nach meinen Feststellungen für die völlige Abspaltung nicht. Nach zweistündigem Erhitzen wurde eine ganz klare Lösung erhalten, die nicht filtriert zu werden brauchte. Oswald mußte zunächst einen dunkeln Schlamm durch Filtration entfernen.

⁴⁾ Dieselbe Menge, 15,5%, erhielt ich aus diesem Präparat bei einstündigem Kochen.

⁵⁾ Dissertation Marburg 1898.

⁶⁾ Biochem. Zeitschr., Bd. 1, S. 108 (1906).

⁷⁾ Zitiert nach Willanen.

Alle 3 Präparate wurden nun gespalten und die Lösungen dialysiert, bis das Reduktionsvermögen verschwunden war. Aus dem eingengtten Dialysat krystallisierte ohne weiteres, ganz den Angaben Oswalds entsprechend, salzsaures Glukosamin in den charakteristischen Formen.

Während also das Verfahren von Oswald bei dem Ovomukoid sehr gute Resultate lieferte, führte es bei der Vogelnests substanz nicht zum Ziele. Die Spaltung und die getrennte Gewinnung der beiden reduzierenden Substanzen geschah in der üblichen Weise. Die Lösungen wurden durch Barytmilch von der Schwefelsäure fast völlig befreit, der Rest wurde durch Baryumchlorid entfernt und auf diese Weise eine schwach salzsaure Lösung hergestellt. Nun wurde dialysiert unter mehrfacher Erneuerung des Außenwassers und das Dialysat im Vakuum bei 40° eingengt. Es schieden sich keine Krystalle aus, obgleich bis zu 10 g Nests substanz zur Verwendung kamen.

Übrigens gelang es mir auch nicht, aus Submaxillarmucin bei genauer Befolgung der Oswaldschen Angaben Glukosamin zu erhalten, obgleich Oswald mitteilt, daß ihm die Gewinnung nach seinem Verfahren auch aus anderen Mucinen geglückt sei. Ein nach Hammarsten¹⁾ dargestelltes Submaxillarmucin wurde nach einstündigem Kochen mit 3,3%iger Salzsäure (es wurden dabei ca. 20% reduzierender Substanz abgespalten, nach längerem Kochen nicht mehr) hydrolysiert und die Flüssigkeit dialysiert. Das im Vakuum bei 40° eingedampfte Dialysat färbte sich dunkel, schied Kohle ab und verlor das Reduktionsvermögen. Eine Krystallbildung erfolgte nicht.

Erwähnen möchte ich noch, daß ich auch das Phenylisocyanatverfahren von Steudel²⁾ und das Verfahren mit Benzoylchlorid und Natronlauge, mit Hilfe dessen Fr. Müller die Gewinnung von Glukosamin aus Mucin gelang, auf die Nests substanz angewendet habe, aber ohne Erfolg.

5. Polarisationsversuche. Die Flüssigkeiten, welche die reduzierenden Substanzen enthielten, waren stets mehr

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 12, S. 163 (1888).

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 34, S. 353.

oder weniger dunkel gefärbt und für die Untersuchung des optischen Verhaltens nicht geeignet. Um sie polarisationsfähig zu machen und gleichzeitig die Eiweißspaltungsprodukte wenigstens zum Teil zu entfernen, habe ich mich mit Vorteil des kürzlich von Neuberg¹⁾ empfohlenen Mercuriacetats bedient. Nach Zusatz des halben Volumens der 50%igen Lösung dieses Reagens zu der stark eingeeengten Flüssigkeit wurde filtriert, das wasserhelle oder gelblich gefärbte Filtrat durch Schwefelwasserstoff vom Quecksilber befreit und nach Entfernung des Schwefelwasserstoffs polarisiert. Von der gleichzeitigen Verwendung der Phosphorwolframsäure, durch die nach Neubergs Feststellung der Rest der Produkte der Eiweißhydrolyse beseitigt wird, nahm ich Abstand, da das Filtrat außer zur Polarisation auch noch zur Bestimmung des Trockenrückstands und des Reduktionsvermögens benützt werden sollte.

a) Das Volumen der Lösungen der beiden reduzierenden Substanzen, welche aus 10 g Substanz hergestellt worden waren, betrug 200 ccm. Die Lösung der reduzierenden Substanz I enthielt 0,9966 g reduzierende Substanz, die Lösung der reduzierenden Substanz II 0,9450 g reduzierende Substanz.

10 ccm der Lösung I erforderten bei der Bestimmung 7,7 ccm KMnO_4 ²⁾
= 94,24 mg Cu = 49,33 mg Z.

20 ccm der Lösung II erforderten bei der Bestimmung 13,9 ccm KMnO_4 ²⁾
= 169,1 mg Cu = 94,50 mg Z.

Nach Einengen der von Schwefelsäure befreiten, schwach essigsäuren Lösung im Vakuum, Fällung mit Quecksilberacetat und Entfernung des Quecksilbers betrug das Volumen der beiden Lösungen 25 ccm. Lösung I enthielt noch 0,2405 g reduzierende Substanz, Lösung II 0,4710 g reduzierende Substanz.

5 ccm der Lösung I erforderten bei der Bestimmung 7,5 ccm KMnO_4 ²⁾
= 92,00 mg Cu = 48,1 mg Z.

5 ccm der Lösung II erforderten bei der Bestimmung 13,85 ccm KMnO_4 ²⁾
= 168,6 mg Cu = 94,2 mg Z.

Bei der gleichzeitig vorgenommenen Polarisation im 2 dm-Rohr drehte Lösung I um $0,67^\circ$ nach links, Lösung II

¹⁾ Neuberg und Ishida, Biochem. Zeitschr., Bd. 37, S. 142 (1911).

²⁾ Titer 18,3.

um $2,02^\circ$ nach rechts. Daraus berechnet sich für Lösung I $[\alpha]_D = -34,9^\circ$, für Lösung II $[\alpha]_D = +53,1^\circ$.

Die 25 ccm der Lösung I enthielten 0,4235 g feste Substanz (davon 0,4170 g organisch und 0,0065 g anorganisch) und 17,85 mg Stickstoff.

Die 25 ccm der Lösung II enthielten 1,0150 g feste Substanz (davon 1,0035 g organisch und 0,0115 g anorganisch) und 44,45 mg Stickstoff.

5 ccm der Lösung I hinterließen 0,0847 g Trockenrückstand und 0,0013 g Asche.

10 ccm erforderten bei der Bestimmung nach Kjeldahl 5,1 ccm $n_{10}\text{-H}_2\text{SO}_4$
= 7,14 mg N.

5 ccm der Lösung II hinterließen 0,2030 g Trockenrückstand und 0,0023 g Asche.

10 ccm erforderten bei der Kjeldahl-Bestimmung 12,7 ccm $n_{10}\text{-H}_2\text{SO}_4$
= 17,78 mg N.

Lösung I zeigte keine Biuretreaktion, sie wurde beim Stehen mehr und mehr dunkel und verlor bis zum nächsten Tag das Reduktionsvermögen.

Lösung II zeigte Biuretreaktion, behielt ihre helle Farbe und ihr Reduktionsvermögen.

b) Das Volumen der Lösungen aus 10 g Substanz betrug 200 ccm.

Lösung I enthielt 1,015 g reduzierte Substanz, Lösung II 0,958 g.

10 ccm der Lösung I erforderten bei der Bestimmung 7,9 ccm KMnO_4 ¹⁾
= 96,72 mg Cu = 50,75 mg Z.

20 ccm der Lösung II erforderten bei der Bestimmung 14,0 ccm KMnO_4 ¹⁾
= 170,5 mg Cu = 95,85 mg Z.

Nach Einengen der von der Schwefelsäure befreiten schwach essigsäuren Lösung im Vakuum, Fällung mit Quecksilberacetat und Entfernung des Quecksilbers betrug das Volumen der Lösungen 25 ccm.

Lösung I enthielt noch 0,2388 g reduzierende Substanz, Lösung II 0,5250 g.

¹⁾ Titer 18,3.

5 ccm der Lösung I erforderten bei der Bestimmung 7,45 ccm KMnO_4 ¹⁾
= 91,38 mg Cu = 47,75 mg Z.

5 ccm der Lösung II erforderten bei der Bestimmung 15,0 ccm KMnO_4 ¹⁾
= 186,0 mg Cu = 105,2 mg Z.

Bei der gleichzeitig vorgenommenen Polarisation im 2 dm-Rohr drehte Lösung I um $0,645^\circ$ nach links, Lösung II um $2,24^\circ$ nach rechts. Daraus berechnet sich für Lösung I $[\alpha]_D = -33,8^\circ$, für Lösung II $[\alpha]_D = +53,2^\circ$.

Die 25 ccm der Lösung I enthielten 0,4065 g feste Substanz (davon 0,3960 g organisch und 0,0105 g anorganisch) und 19,4 mg N.

Die 25 ccm der Lösung II enthielten 1,1635 g feste Substanz (davon 1,1500 g organisch und 0,0135 g anorganisch) und 44,98 mg N.

5 ccm der Lösung I hinterließen 0,0813 g Trockenrückstand und 0,0021 g Asche.

10 ccm erforderten bei der Kjeldahl-Bestimmung 5,4 ccm $n_{10}\text{-H}_2\text{SO}_4$
= 7,56 mg N.

5 ccm der Lösung II hinterließen 0,2327 g Trockenrückstand und 0,0027 g Asche.

10 ccm erforderten bei der Kjeldahl-Bestimmung 12,85 ccm $n_{10}\text{-H}_2\text{SO}_4$
= 17,99 mg N.

Lösung I gab keine Biuretreaktion, wurde beim Stehen dunkler und verlor das Reduktionsvermögen, während Lösung II Biuretreaktion zeigte und helle Farbe und Reduktionsvermögen bewahrte.

Bei weiteren Polarisationsversuchen ging ich ebenfalls von Lösungen aus, welche vor dem Einengen je 1 g reduzierende Substanz (auf Traubenzucker berechnet) enthielten. Das Einengen, die Behandlung mit Quecksilberacetat und Schwefelwasserstoff war dieselbe, nur waren die Lösungen nicht essigsauer, sondern ganz schwach salzsauer.

Es wurde folgendes festgestellt:

c) Reduzierende Substanz I. Volumen der Lösung 17 ccm; Länge des Rohrs 2 dm; abgelesene Drehung $+0^\circ$.

Reduzierende Substanz 0,106 g, organischer Trockenrückstand 0,4553.

Reduzierende Substanz II. Volumen der Lösung 17 ccm; Länge des Rohrs 2 dm; abgelesene Drehung $+4,04^\circ$.

¹⁾ Titer 18,3.

Reduzierende Substanz 0,5456 g, organischer Trockenrückstand 1,0563, $[\alpha]_D = + 63^\circ$.

d) Reduzierende Substanz I. Volumen der Lösung 17 ccm; Länge des Rohrs 2 dm; abgelesene Drehung $+ 0^\circ$.

Reduzierende Substanz 0,2815 g, organischer Trockenrückstand 0,7656 g.

Reduzierende Substanz II. Volumen der Lösung 17 ccm; Länge des Rohrs 2 dm; abgelesene Drehung $+ 3,60^\circ$.

Reduzierende Substanz 0,4955 g, organischer Trockenrückstand 1,1781 g, $[\alpha]_D = + 62^\circ$.

Auch hier zeigten die Lösungen der reduzierenden Substanz I im Gegensatz zu denen der reduzierenden Substanz II eine allmähliche Dunkelfärbung und Abnahme des Reduktionsvermögens. Biuretreaktion wurde in allen Lösungen beobachtet, wenn auch in den Lösungen der reduzierenden Substanz I nur ganz schwach.

Diese Versuche bestätigen wieder, daß die reduzierende Substanz I sehr viel zersetzlicher ist als die Substanz II. Sie weisen aber noch weitere Unterschiede auf. Die Substanz II wurde stets rechtsdrehend gefunden, die Substanz I zweimal linksdrehend und zweimal optisch inaktiv. Eine Erklärung für dieses verschiedene Verhalten der Substanz I vermag ich nicht zu geben. Auf die Anwesenheit von Eiweißstoffen dürfte die Linksdrehung nicht zurückzuführen sein. Denn gerade die Lösungen, welche links drehten, gaben die Biuretreaktion nicht. Daß linksdrehende Eiweißspaltprodukte vorhanden waren, ist bei der kurzen Dauer der Einwirkung der Schwefelsäure nicht anzunehmen; auch hätten sie dann in allen Versuchen auftreten und sich bemerkbar machen müssen.

Die Experimente haben leider nicht zu einer Aufklärung der Natur der beiden reduzierenden Substanzen geführt. Über die reduzierende Substanz I kann gar keine Vermutung ausgesprochen werden; vielleicht liegt hier gar kein Kohlenhydrat vor. Über die Kohlenhydratnatur der Substanz II kann wohl kein Zweifel bestehen. Glukosamin, an das zunächst gedacht werden mußte, liegt offenbar nicht vor. Zwar läßt sich das Verhältnis zwischen den in den einzelnen Polarisationsversuchen

festgestellten Mengen organischer Substanz und dem ursprünglichen Reduktionsvermögen der Lösungen mit der Annahme, daß es sich um Glukosamin handelt, vereinigen. Auch die gefundene spezifische Drehung, welche niedriger ist als bei Glukosamin, würde nicht dagegen sprechen, da etwa anwesende linksdrehende Eiweißspaltprodukte die Rechtsdrehung zu gering erscheinen lassen können. Was aber gegen Glukosamin spricht, ist der Stickstoffgehalt der Lösungen, welcher zu 40—50 mg gefunden wurde. Ein Gramm Glukosamin (und so viel muß dem Reduktionsvermögen nach ursprünglich vorhanden gewesen sein) enthält aber fast 80 mg, und ein Verlust an Stickstoff während des Einengens der Lösungen kann ausgeschlossen werden, da stets saure Reaktion herrschte.

Hexonbasenbestimmung.

Sie geschah nach dem Verfahren von Kossel und Kutscher unter Berücksichtigung einiger von Kossel und Steudel eingeführter Verbesserungen. Eine genaue Beschreibung ist von Weiss¹⁾ gegeben. Indem ich wegen der Ausführung auf diese verweise, gebe ich hier nur die analytischen Werte und in den Tabellen eine Übersicht über die Resultate.

23,4346 g vakuumtrockene Substanz wurden mit einer Mischung, welche aus der dreifachen Gewichtsmenge von Schwefelsäure und der sechsfachen Menge Wasser bestand, 14 Stunden lang am Rückflußkühler auf dem Sandbad gekocht.

1. Der beim Filtrieren zurückbleibende ungelöste Teil enthält 0,1456 g N (104,23 ccm $n/_{10}$ -NH₃), das Filtrat (1000 ccm) enthält 2,0580 g N

$$10 \text{ ccm} = 14,7 \text{ ccm } n/_{10}\text{-NH}_3$$

$$10 \text{ „} = 14,7 \text{ „} \text{ „}$$

Der Gesamtstickstoff, welcher in den Versuch eingeführt wird, beträgt also 2,2036 g N.

2. Nach Entfernung der Schwefelsäure mit Baryt enthält das Filtrat (1000 ccm) 1,9663 g N.

$$10 \text{ ccm} = 14,1 \text{ ccm } n/_{10}\text{-NH}_3$$

$$10 \text{ „} = 13,99 \text{ „} \text{ „}$$

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 52, S. 107.

Der Huminstickstoff I beträgt also 0,0917 g N.

3. Die Ammoniakbestimmung ergibt 0,0258 g Ammoniakstickstoff (18,4 ccm n_{10} -NH₃).

4. Nach Entfernung des Baryums durch Schwefelsäure enthält das Filtrat (1000 ccm) 1,9110 g N.

$$10 \text{ ccm} = 13,5 \text{ ccm } n_{10}\text{-NH}_3$$

$$10 \text{ } > = 13,8 \text{ } > \text{ } >$$

Der Huminstickstoff II beträgt also 0,0295 g.

5. Der durch Silber und Baryt fällbare Stickstoff (1000 ccm) beträgt 0,3570 g.

$$10 \text{ ccm} = 2,6 \text{ ccm } n_{10}\text{-NH}_3$$

$$10 \text{ } > = 2,5 \text{ } > \text{ } >$$

6. Der Histidinstickstoff (200 ccm) beträgt 0,0857 g.

$$5 \text{ ccm} = 1,56 \text{ ccm } n_{10}\text{-NH}_3$$

$$5 \text{ } > = 1,50 \text{ } > \text{ } >$$

Das aus der Lösung gewonnene Histidinpikrolonat wiegt 0,8216 g, während die aus dem Stickstoffgehalt berechnete Menge 0,8550 g beträgt. Das Pikrolonat krystallisiert in gelben Nadeln. Die Histidinreaktionen fallen positiv aus.

7. Der Argininstickstoff (200 ccm) beträgt 0,0946 g.

$$5 \text{ ccm} = 1,69 \text{ ccm } n_{10}\text{-NH}_3$$

$$5 \text{ } > = 1,69 \text{ } > \text{ } >$$

Das aus der Lösung gewonnene Argininpikrolonat wiegt 0,6215 g, während die aus dem gefundenen Stickstoff berechnete Menge 0,7049 g beträgt. Das Pikrolonat krystallisiert in gelben Nadeln, welche bei 224° schmelzen.

8. Durch Silber und Baryt mitgefällter Stickstoff, welcher nicht dem Histidin und Arginin angehört: 0,1767, (0,3570 — (0,0857 + 0,0946)).

9. Der durch Silber und Baryt nicht fällbare Stickstoff (1000 ccm) beträgt 1,2163 g.

$$10 \text{ ccm} = 8,66 \text{ ccm } n_{10}\text{-NH}_3$$

$$10 \text{ } > = 8,7 \text{ } > \text{ } >$$

10. Der bei der Entfernung von Baryt und Silber aus 5. und 9. in Verlust gegangene Stickstoff: 0,3377 g (1,9110 — (0,3570 + 1,2163)).

11. Der durch Phosphorwolframsäure nicht fällbare Stickstoff (500 ccm) 1,0395 g.

$$\begin{aligned} 10 \text{ ccm} &= 14,9 \text{ ccm } n_{10}\text{-NH}_3 \\ 10 \text{ } &= 14,8 \text{ } \end{aligned}$$

12. Der Lysinstickstoff (200 ccm) beträgt 0,0532 g.

$$\begin{aligned} 10 \text{ ccm} &= 1,9 \text{ ccm } n_{10}\text{-NH}_3 \\ 10 \text{ } &= 1,9 \text{ } \end{aligned}$$

Das aus der Lösung gewonnene Lysinpikrat wiegt 0,5841 g, während die aus dem gefundenen Stickstoff berechnete Menge 0,6935 g beträgt.

13. Durch Phosphorwolframsäure mitgefällter Stickstoff, welcher nicht Lysinstickstoff ist: 0,1236 g (1,2163 — (1,0395 + 0,0532.))

	Stickstoff in g	Prozent des Gesamt- stickstoffs
Gesamtstickstoff	2,2036	100,0
A. Basenstickstoff	0,2593	11,76
a) in Ammoniak (3)	0,0258	1,17
b) in Histidin (6)	0,0857	5,88
c) in Arginin (7)	0,0946	4,29
d) in Lysin (12)	0,0532	2,42
B. Stickstoff in unbekannter Form . . .	1,9443	88,23
a) unlöslich abgeschieden (1)	0,1456	6,61
b) Huminstickstoff I und II (2, 4) . .	0,1212	5,50
c) im Silberbarytniederschlag neben Histidin und Arginin (8)	0,1767	8,02
d) im BaSO ₄ - und Ag ₂ S-Niederschlag ge- blieben (9)	0,3377	15,33
e) im Filtrat der Phosphorwolfram- fällung (11)	1,0395	47,16
f) in der Phosphorwolframfällung neben Lysin (13)	0,1236	5,61

	Histidinpicrolonat	Argininpicrolonat	Lysinpicrat
Berechnet aus N	0,8550	0,7049	0,6935
Gewogen	0,8216	0,6215	0,5841

100 g Nestsubstanz enthalten also:

	Aus N berechnet g	Durch Wägung gefunden g
Histidin	1,35	1,30
Arginin	1,20	1,06
Lysin	1,18	0,99