

# **Eine wohlcharakterisierte, organische Schwefelverbindung, erhalten aus Proteinstoffen bei Behandlung derselben mit Salpetersäure.**

Von  
**Carl Th. Mörner.**

(Der Redaktion zugegangen am 11. Oktober 1914.)

## **Inhalt.**

### **Einleitung.**

1. Das Untersuchungsmaterial und seine event. Vorbehandlung.
  2. Salpetersäurebehandlung.
  3. Isolierung der organischen Schwefelverbindung (in Form von Baryumsalz).
  4. Die Umkristallisierung usw. des Baryumsalzes.
  5. Die Eigenschaften des Baryumsalzes.
  6. Analysen des Baryumsalzes usw.
  7. Die Identifizierung der organischen Schwefelverbindung.
  8. Zur Frage nach dem Ursprunge der Methylsulfosäure bzw. den Bindungsformen des Proteinstoffschwefels.
- Anhang. Untersuchung über den Krystallwassergehalt im Baryummethylsulfonat (synthetischem Material).

## **Einleitung.**

Es ist eine seit alters vorliegende Erfahrung, daß bei Behandlung von Proteinstoffen (z. B. Casein) mit Salpetersäure eine vollständige Überführung des Proteinstoffschwefels in Schwefelsäure nicht stattfindet. Auch wenn man sich konzentrierter Säure, in reichlichem Überschuß, bedient und überdies Erwärmung anwendet, wird stets ein Teil des Proteinstoffschwefels sich der Umwandlung in Schwefelsäure entziehen, mit anderen Worten in organischer Bindung verbleiben. Erst durch Schmelzen z. B. mit Salpeter und Soda läßt sich auch dieser Rest des Schwefels in Schwefelsäure überführen, weshalb auch eine energische Salpetersäurebehandlung an und für sich nicht an die Stelle der Salpeter-Alkalischmelzung treten kann, wenn es eine quantitative Schwefelbestimmung

in Proteinstoffen gilt.<sup>1)</sup> Einer Kenntnis der Art der ange-deuteten, resistenten, organischen Schwefelverbindung hat man bisher ermangelt. Zwar sind gewisse, bei Salpetersäureein-wirkung auf Proteinstoffe entstehende, organische Produkte isoliert und identifiziert worden, ein schwefelhaltiger Stoff aber befindet sich nicht unter ihnen.<sup>2)</sup> Die Ausfüllung dieser Lücke schien mir von Interesse, nicht nur um der Sache selbst willen, son- dern auch im Hinblick darauf, daß dadurch möglicherweise ein wei- terer Beitrag bezüglich der Frage der Bindungsformen des Schwef- els innerhalb des Proteinstoffmoleküls erhalten werden könnte.

Die Untersuchungen, über die im nachstehenden be- richtet werden soll, wurden bereits im Jahre 1896 begonnen; eine vorläufige Mitteilung, bezüglich eines besonderen Protein- stoffs, Glutin, ist auch in einer Arbeit vom Jahre 1899<sup>3)</sup> ge- liefert worden. Mehr systematisch sind sie indessen erst in letzterer Zeit durchgeführt worden.

## 1. Das Untersuchungsmaterial und seine eventuelle Vorbehandlung.

Die Untersuchung hat umfaßt:

*Eigentliche Eiweißstoffe.*

Serumeiweiß	(I).
Hühnereiweiß	(II).
Casein	(III).

<sup>1)</sup> Demgemäß bildet, wie bekannt, die von Hammarsten (diese Zeitschr., Bd. 9 (1885), S. 273—309) beschriebene Salpetersäurebehandlung bei quantitativer Bestimmung von Proteinstoffschwefel lediglich eine in ge- wissen Fällen zweckmäßige Vorbereitung für die nachfolgende Schmelzung.

<sup>2)</sup> Nach Untersuchungen von Mühlhäuser (1854), Nencki und Sieber (1885), v. Fürth (1899), Habermann und Ehrenfeld (1902).

<sup>3)</sup> «Beitrag zur Kenntnis einiger Eigenschaften des Glutins» (diese Zeitschr., Bd. 28, S. 471—521). Es wird dort (S. 483—484) gesagt: «Ob- gleich meine daraufhin unternommenen Versuche wegen der technischen Schwierigkeiten bei der Isolierung des schwefelhaltigen Endproduktes noch keinen Abschluß gefunden, und man demnach nicht behaupten darf, daß das Resultat endgültig festgestellt sei, will ich indes auf meine bisherigen Beobachtungen gestützt, als höchst wahrscheinlich erklären, daß der Glutinschwefel nach einem Oxydationsverfahren obiger Art [energische Salpetersäure- resp. Königswasserbehandlung] hauptsächlich als Methyl- sulfonsäure,  $\text{CH}_3 \cdot \text{HSO}_3$ , wiederzufinden ist.»

*Proteide.*

Ovomucoid	(IV).
Hämoglobin	(V).

*Albumoide.*

Keratin	(VI).
Glutin	(VII).

In jedem Falle ist dafür gesorgt worden, daß das zur Salpetersäurebehandlung kommende Material möglichst frei von Alkalisalzen war (deren Gegenwart in größerer Menge, in einem späteren Stadium der Behandlung, störend einwirken konnte).

I. Serumeiweiß. «Albumin aus Blut» (von Kahlbaum) wurde in kochendes, schwach mit Essigsäure angesäuertes Wasser gebracht; die koagulierten Lamellen wurden gewaschen, mit oft gewechseltem Wasser extrahiert, getrocknet und pulverisiert. S-Gehalt:<sup>1)</sup> 1,3<sup>0</sup>/o.

II. Hühnereiweiß. «Albumen ovi siccum» (von Kahlbaum) wurde in Wasser (1 + 20) gelöst. Die geseigte Lösung wurde in Wärme unter Zusatz von Essigsäure koaguliert.<sup>2)</sup> Die Koageln wurden reichlich mit Wasser extrahiert, ausgepreßt und nach Trocknen pulverisiert. S-Gehalt: 1,8<sup>0</sup>/o.

III. Casein. «Caseinum (Hammarsten)», von Kahlbaum. S-Gehalt: 0,75<sup>0</sup>/o.

IV. Ovomukoid. Das bei der Koagulierung von Hühnereiweiß (s. oben unter II) erhaltene, klare Filtrat wurde konzentriert und unter Kochen mit Ammoniumsulfat gefällt. Die hierdurch unlöslich gemachte Ovomukoidmasse wurde mit Wasser extrahiert, bis das Wasser mit Nessler's Reagens

<sup>1)</sup> Hier und im folgenden ist der S-Gehalt für wasserfreie Substanz angegeben. Für I, II, VI und VII stützen sich die Ziffern auf vom Verf. ausgeführte Analysen, für die übrigen auf in der Literatur zugängliche Angaben.

<sup>2)</sup> Dank dem Entgegenkommen des Inhabers der Kgl. Akademischen Apotheke «Kronan» in Upsala, Herrn Apotheker T. Delphin, der mir die Hilfsmittel seines Apothekenlaboratoriums gütigst zur Verfügung stellte, konnte die große Menge solcher Eiweißlösung (100 Liter) auf nur 2 Portionen verteilt verarbeitet werden.

keine Ammoniumreaktion mehr gab. Schließlich Auspressung, Trocknung und Pulverisierung. S-Gehalt: 2,2%.

V. Hämoglobin. Ein wohlbereitetes, pulverförmiges schwedisches Fabrikat<sup>1)</sup> wurde in kochendem, schwach mit Essigsäure angesäuertem Wasser zum Koagulieren gebracht. Protrahiertes Extrahieren mit Wasser, Auspressen und Trocknen. S-Gehalt: 0,6%.

VI. Keratin. Weiße, langhaarige, gewaschene australische Schafwolle. S-Gehalt: 3,3%.

VII. Glutin. «Gelatine, extra, Golddruck» (von Kahlbaum), wurde mehrmals mit Wasser in reichlichen Mengen extrahiert. Die hierbei geschwellte Gelatine<sup>2)</sup> wurde mit konzentrierter Chlorwasserstoffsäure (3 l pro 1 kg Trockensubstanz) übergossen. Die Mischung wurde auf etwa + 100° C. 60 Stunden lang gehalten, während welcher Zeit die Biuretreaktion immer schwächer und schließlich unmerkbar wurde. Behufs Austreibens eines Überschusses von Chlorwasserstoffsäure wurde die Mischung eine Woche lang (jeden Tag ca. 12 Stunden lang) auf Wasserbad gehalten.

Der Anlaß dafür, daß das Glutinmaterial, im Gegensatz zu dem übrigen, mittelst Hydrolisierung vorbereitet wurde, lag in von Hammarsten<sup>3)</sup> und Verf. früher gemachten Beobachten betreffs des von dem der Eiweißstoffe gänzlich abweichenden Verhaltens des genuinen Glutins gegen Salpetersäure. Einige meiner diesbezüglichen Versuche seien hier angeführt.

*Versuch 1.* 0,5 kg Gelatine wurden mit 5 l konzentrierter Salpetersäure (spez. Gew. 1,39) in der Wärme, teils auf Wasserbad (1/2 Tag), teils, und zwar danach, über offener Flamme, behandelt; schließlich Konzentrierung auf Wasserbad auf etwa 1 l, wobei ein zäher Sirup, ohne eine krystallinische Ausscheidung, erhalten wurde. Während der ganzen Zeit war keine deutliche Reaktion wahrnehmbar; Prüfung auf Oxalsäure fiel negativ aus. Bei fortgesetzter Konzentrierung

<sup>1)</sup> Aus Rinderblut hergestellt; Eisengehalt: 0,30%.

<sup>2)</sup> Nach Trocknen hatte sie einen S-Gehalt von: 0,22%.

<sup>3)</sup> A. a. O., S. 289.

des genannten Sirups auf Wasserbad trat ganz plötzlich eine heftige Reaktion ein: eine Menge Rauch ging ab, und in dem Gefäß blieb eine kohlschwarze, schwammige Masse zurück.

*Versuch 2.* 0,25 kg Gelatine + 1 l rauchende Salpetersäure. In Zimmerwärme 1 Tag lang; danach in Wasserbadwärme 1 Tag lang. Keine nennenswerte Reaktion wahrnehmbar; keine Oxalsäurebildung. Erst bei Zusatz von konzentriertem Königswasser (1 l konz. Chlorwasserstoffsäure +  $\frac{1}{2}$  l rauchende Salpetersäure) ließ, im vorliegenden Falle, der Widerstand des Glutinemoleküls endlich nach, was in einer kräftigen, sichtbaren Reaktion und in reichlicher Bildung von Oxalsäure zum Ausdruck kam (die konzentrierte Mischung schied eine Menge großer Krystalle der genannten Säure aus).<sup>1)</sup>

Die durch Chlorwasserstoffsäurehydrolyse von Glutin erhaltene Mischung von Produkten (zu großem Teil salzartig an Chlorwasserstoff gebunden) reagierte ohne jede Schwierigkeit mit gewöhnlicher, konzentrierter Salpetersäure.

## 2. Salpetersäurebehandlung.

Hierbei kamen von dem vorbereiteten Material die (in Klammern) in der Tabelle auf S. 10 angegebenen Quantitäten zur Anwendung.<sup>2)</sup>

In jedem Falle wurden 6 l konzentrierter Säure (spez. Gew. 1,4) pro 1 kg (wasserfreies) Material angewandt, welches letzteres, vor dem Einbringen in die Säure, mit seiner halben Gewichtsmenge Wasser angefeuchtet worden war. Die Mischung wurde im Freien in geräumigen Gefäßen,<sup>3)</sup> ohne besondere Erwärmung, einen oder zwei Tage lang unter häufigem Umrühren stehen gelassen. Schon in diesem Stadium machte sich eine beginnende Reaktion deutlich, in gewissen Fällen heftig

<sup>1)</sup> Dasselbe Resultat wurde auch mit rauch. Salpetersäure allein, im Verhältnis zu der des Glutins reichlicherer Menge, als wie es im Versuche 2 der Fall war, angewandt, erreicht.

<sup>2)</sup> Die Zahlen geben die Materialmengen an, berechnet in wasserfreiem Zustande (in Wirklichkeit wurde eine dem Wassergehalt entsprechende, größere Menge des lufttrockenen Materials angewandt).

<sup>3)</sup> Zylinder aus Steingut oder Schalen aus echtem Porzellan.

geltend (spontane Erwärmung, Aufgehen und Entweichen nitröser Gase). Die Reaktion wurde durch Erwärmen (in Schale aus echtem Porzellan) auf Wasserbad zur Vollendung gebracht, wobei das Volumen des Inhalts mehr und mehr abnahm, gleichzeitig damit, daß nitröse Gase massenhaft entwichen. Entzündung, Verkohlung oder Reaktion von explosionsartiger Heftigkeit trat in keinem Falle ein.

### 3. Isolierung der organischen Schwefelverbindung (in Form von Baryumsalz).

Da es sich zeigte, daß die gesuchte Verbindung in freiem Zustande eine leichtlösliche, sirupartige Säure war, sehr leichtlösliche Salze gab und sich auch mit keinem organischen Lösungsmittel ausschütteln ließ, mußte die Isolierungstechnik darauf ausgehen, durch geeignete Maßnahmen (Auskristallisieren, Ausfällen, Ausschütteln usw.) aus der Reaktionsmischung gradweise die übrigen, zahlreich und teilweise in kopiösen Mengen vorhandenen Stoffe zu entfernen. Nachdem dies der Hauptsache nach geschehen, kann das, wenn auch leichtlösliche, so doch wohlkristallisierende Baryumsalz schließlich durch Auskristallisierung, Absaugung, Preßung und eventuell Umkristallisierung von dem letzten Rest von Fremdstoffen befreit werden. Unter solchen Verhältnissen liegt es in der Natur der Sache, daß die Isolierungsprozedur sich zeitraubend und umständlich gestalten muß; andererseits aber hat es sich gezeigt, daß sie — in der jetzt ausgearbeiteten Form — in jedem geprüften Falle zu positivem Resultat geführt hat.

Zur Veranschaulichung des angewandten Isolierungsverfahrens sei ein konkretes Beispiel angeführt (Vers. VI). Die von Wolle (entsprechend 3 kg Trockensubstanz) und konzentrierter Salpetersäure (18 l) erhaltene, auf ca. 5 l konzentrierte Reaktionsmischung wurde abkühlen gelassen. Am Tage darauf wurde eine fettartige Schicht von der Oberfläche entfernt, worauf fortgesetzte Konzentrierung auf Wasserbad stattfand.<sup>1)</sup> Nach Abkühlung wurde (mittelst Glaswolle-

<sup>1)</sup> Wenn hier von Erwärmen, Verdunsten in Wärme, Konzentrieren o. dgl. gesprochen wird, ist stets Wasserbadwärme (nie Erwärmen über offener Flamme) gemeint.

filters) abgesetzte Krystalle<sup>1)</sup> entfernt. Nach fortgesetztem Konzentrieren und Abkühlen wurde eine weitere reichliche Menge Krystalle<sup>2)</sup> entfernt, was noch einmal wiederholt wurde.<sup>3)</sup> Die Flüssigkeit (kräftig orangefarben) wurde 3 mal mit Äther ( $\frac{1}{2}$ ,  $\frac{1}{2}$  bzw.  $\frac{1}{4}$  Vol.) ausgeschüttelt.<sup>4)</sup> Luftdurchleitung (behufs Entfernung des Äthers); Konzentrierung zu Sirupkonsistenz, Verdünnung mit Wasser und erneute, langdauernde Erwärmung (behufs Austreibung flüchtiger Säure). Der Sirup wurde, nach Abkühlen, mit  $1\frac{1}{2}$  l Spiritus<sup>5)</sup> verrührt. Nach 1 Tag in kaltem Raum Filtrieren,<sup>6)</sup> Waschen von Fällung und Filter mit  $\frac{1}{2}$  l Spiritus. Die Spiritusflüssigkeit wurde, unter Umrühren, allmählich in eine, bei Wärme bereitete Lösung von  $1\frac{1}{2}$  kg Baryumhydroxyd (Kahlbaums, alkalifrei, «zur Analyse») + 4 l Wasser hineinlaufen gelassen, wobei eine stark alkalische Reaktion in der Mischung auftrat. Danach wurden, unter Umrühren, weitere 6 l Spiritus hinzugesetzt (das Volumverhältnis zwischen Spiritus und Wasser in der Mischung also ca. 2 : 1). Die kopiöse, hell braungelbe Fällung — außer Baryumoxalat und Baryumsulfat eine reichliche Menge organischer Substanz von bis auf weiteres unbekannter Art enthaltend — wurde am Tage danach durch Filtrieren entfernt. Das Filtrat nebst in reichlicher Menge angewandtem Waschspiritus (2 : 1) wurde, nach Zusatz von etwas weiterem Baryumhydroxyd, zur Trockne eingedampft.<sup>7)</sup> Der Rückstand wurde mit Wasser aufgenommen und filtriert. Das Filtrat (an-

<sup>1)</sup> Von Oxalsäure; Gewicht: 916 g.

<sup>2)</sup> Von Oxalsäure und p-Nitrobenzoesäure; Gewicht: 595 g.

<sup>3)</sup> Von Oxalsäure und p-Nitrobenzoesäure; Gewicht: 154 g.

<sup>4)</sup> Aus dem Äther wurden weitere 16 g Oxalsäurekrystalle und aromatische Nitrosäure (u. a. 16 g, in Form von wohlkrystallisiertem Kaliumsalz) erhalten.

<sup>5)</sup> Unter «Spiritus» wird hier und im Folgenden 96%iger (Vol.) verstanden.

<sup>6)</sup> Durch diese Maßnahme werden, zu wesentlichem Teil, in dem Material vorhandene Reste von Alkalisalzen (in Form von saurem Sulfat) entfernt.

<sup>7)</sup> Dabei gingen Ammoniak und event. andere flüchtige Basen ab (an Methylamine erinnernder Geruch wurde verspürt).

dauernd von alkalischer Reaktion) + Waschwasser wurde auf  $\frac{1}{2}$  l Volumen gebracht und, unter Umrühren, mit 2 l Spiritus versetzt (d. h. das Volumverhältnis zwischen Spiritus und Wasser = 4 : 1). Nach einem Tage wurde die entstandene Fällung abfiltriert;<sup>1)</sup> letztere wurde mit Spiritus, in demselben Verhältnis (4 : 1) verdünnt, gewaschen. Die Spiritusflüssigkeit wurde bis zur Trockne eingedampft; der Rest wurde mit Wasser aufgenommen und filtriert. Das Filtrat wurde mit verdünnter Schwefelsäure in etwas Überschuß (behufs vollständigen Ausfällens von Baryum) versetzt. Nach Filtrieren wurde zu Sirupkonsistenz eingedampft. Danach wurde konzentrierte Salpetersäure (150 ccm) hinzugesetzt und zuerst gelinde einige Stunden lang erwärmt, sodann zu Sirupkonsistenz eingedampft;<sup>2)</sup> Verdünnung mit Wasser, wiederum langdauernde Erwärmung (behufs möglichst vollständiger Entfernung von flüchtiger Säure einschl. Salpetersäure). Die wässrige Lösung des Sirups (von einigen Kieselsäureflocken abfiltriert) wurde 3 mal mit Äther ausgeschüttelt,<sup>3)</sup> worauf Luft hindurchgeleitet und, nach Zusatz von Baryumhydroxyd in kräftigem Überschuß, zur Trockne eingedampft wurde.<sup>4)</sup> Nach Aufnehmen des Restes mit Wasser und Filtrieren (u. a. wurde Baryumsulfat abfiltriert) wurden Filtrat + Waschwasser auf 300 ccm Volumen gebracht. Spiritus (1200 ccm) wurde hinzugesetzt (d. h. im Volumenverhältnis 4 : 1). Nach  $\frac{1}{2}$  Stunde<sup>5)</sup> wurde die, im Gegensatz zu den vorhergehenden Fällungen, relativ spärliche Fällung ab-

<sup>1)</sup> Hierdurch wurde wieder eine Quantität organischer, in Wasser leicht, in Spiritus von der fraglichen Konzentration schwerlöslicher Substanz entfernt.

<sup>2)</sup> Der Zweck dieser wiederholten Salpetersäurebehandlung war der, möglichst vollständig eventuell zurückgebliebene Reste von oxydierbaren, organischen Stoffen zu oxydieren.

<sup>3)</sup> In dem Äther wurde etwas Oxalsäure, die bei der letzten Salpetersäurebehandlung neugebildet worden war, angetroffen.

<sup>4)</sup> Wieder entwich etwas Ammoniak.

<sup>5)</sup> Würde man in diesem Stadium mit dem Filtrieren, z. B. einen ganzen Tag lang zögern, so würde man die Gefahr laufen, daß auch das Baryumsalz der gesuchten, schwefelhaltigen Säure in nennenswertem Grade ausfallen und somit verloren gehen könnte.



filtriert. Filtrat + Waschspiritus (4:1) wurden zur Trockne eingedampft; der Rückstand mit Wasser aufgenommen und filtriert. Das Filtrat wurde wieder nahezu bis zur Trockne eingedampft (gegen das Ende hin wurde etwas Baryumhydroxyd hinzugesetzt), worauf die Masse mit 150 ccm absolutem Alkohol verrieben und die Mischung in geschlossenem Gefäß 1 Tag lang ruhig stehen gelassen wurde.<sup>1)</sup> Das ungelöste wurde abfiltriert und mit Wasser aufgenommen; Einleiten von Kohlendioxyd in Überschuß, Eindampfen zur Trockne, Aufnehmen mit Wasser und Filtrieren (wodurch Baryumcarbonat entfernt wurde). Das schließliche, klare und fast farblose Filtrat wurde konzentriert, zuletzt in einem kleinen Porzellantiegel. Wenn eine Krystallkruste an der Oberfläche aufzutreten begann, wurde dann und wann mit Glasstab umgerührt, wobei die schwere Kruste zu Boden ging, dann eine neue sich bildete usw. Als nur einige wenige Kubikzentimeter Mutterlauge übrig waren, wurde die Mischung, noch warm, auf ein Saugfilter gebracht, worauf unmittelbar kräftig zwischen Filtrierpapier gepreßt wurde. Nach Trocknen in  $H_2SO_4$ -Exsikkator wog die erhaltene, aus farblosen, kurzen, kleinen Prismen gebildete Krystallmasse 5,3 g.

Auf dieselbe Weise ist in den übrigen Fällen verfahren worden, nur mit dem Unterschiede, daß man, wenn das Ausgangsmaterial beträchtlich geringer als in dem eben wiedergegebenen Beispiel war, durchgehends mit dementsprechend geringeren Volumina, einer geringeren Menge Baryumhydroxyd usw. arbeitete. In gewisser Beziehung abweichend gestaltete sich Versuch VII (Glutin). An dem Punkte, der sonst den Abschluß bezeichnete, trat keine Auskrystallisierung des Baryumsalzes ein. Eine Wiederholung der Reinigungsprozedur von der vollständigen Ausfällung des Baryums mittelst verdünnter Schwefelsäure, Konzentrierung des Filtrats zu Sirupkonsistenz, Ausschütteln mit Äther usw. an führte indessen auch hier zum

---

<sup>1)</sup> In der Masse event. vorhandenes Natrium (oder Kalium), das nicht in früherem Stadium entfernt worden ist, geht als Hydroxyd in den Alkohol über, der dagegen das Bariumsalz der organischen, schwefelhaltigen Säure ungelöst läßt.

Ziele. Die erhaltene Ausbeute an krystallisiertem, exsikkatorgetrocknetem Baryumsalz betrug in den verschiedenen Versuchen:

I. (Serumeiweiß, 3,5 kg)	10,8 g.	entsprechend pro 1 kg:	3,1 g.
II. (Hühnereiweiß, 3,— »)	17,4 »	»	» 1 » 5,8 »
III. (Casein, 0,85 »)	4,7 »	»	» 1. » 5,5 »
IV. (Ovomucoid, 0,25 »)	3,1 »	»	» 1 » 12,4 »
V. (Hämoglobin, 1,2 »)	3,7 »	»	» 1 » 3,1 »
VI. (Keratin, 3,— »)	5,3 »	»	» 1 » 1,8 »
VII. (Glutin, 2,5 »)	3,4 »	»	» 1 » 1,4 »

Als quantitativ betrachtet, besitzen die obigen Zahlen nur einen relativen Wert. Zwar können sie, als Resultate möglichst gleichförmiger Arbeitsweise, im großen und ganzen mit einander vergleichbar sein, d. h. wenigstens größere Unterschiede in der Menge der Ausbeuten in gewissen Fällen zum Ausdruck bringen, betont sei jedoch auch, daß sie gleichzeitig Mindestwerte darstellen müssen, indem man hier mit beträchtlichen Verlusten an Substanz, teils in den größeren, voluminösen Fällungen, teils in den Mutterlaugen, zu rechnen hat.

#### 4. Die Umkrystallisierung usw. des Baryumsalzes.

Sämtliche obenerwähnten Präparate wurden einmal umkrystallisiert, indem die wässrige Lösung, unter dann und wann geschehendem Umrühren in Wärme konzentriert wurde, Absaugen usw. Sie erwiesen sich alle als ein weißes, schweres krystallinisches Pulver (unter dem Mikroskop: kurze Prismen).<sup>1)</sup>

Der größere Teil der Präparate I, 1 und II, 1 wurde je für sich von neuem in Wasser gelöst, worauf die Lösungen in einen  $H_2SO_4$ -Exsikkator (Zimmerwärme) gestellt wurden. Nach einigen Tagen wurden klar durchsichtige, große und dicke Krystalltafeln (rhombisch; einige — infolge Verstümmelung der spitzen Winkel — unregelmäßig, andere dagegen mehr regelmäßig hexagonal) herausgelesen: «Präp. I, 2» bzw. «Präp. II, 2, a).» Aus der Mutterlauge des letztgenannten Präparates wurde eine neue Krystallisation kleinerer, im übrigen aber gleichartiger Tafeln gewonnen: «Präp. II, 2, b).» Durch Ver-

<sup>1)</sup> Sie werden im folgenden mit den verschiedenen Versuchen entsprechenden Nummern bezeichnet: die bei I und II erhaltenen werden bezeichnet als: «Präp. I, 1» bzw. «Präp. II, 1».

arbeitung der vereinigten Mutterlaugen (sowohl der ursprünglichen als der bei Umkrystallisierung erhaltenen) wurde weiterhin eine ansehnliche Portion von dem Baryumsalze (14,2 g) erhalten, die nach einmaliger Umkrystallisierung, in Wärme, 11,2 g wog: «Präp. VIII» (weißes, mikrokristallinisches Pulver aus kurzen Prismen). Von diesem Präparat wurden 3 Portionen zu je 3 g zur Darstellung einiger anderen Metallsalze verwendet.

1. Wurde mit 2,287 g kryst. Kupfersulfat umgesetzt. Das stark konzentrierte Filtrat schied bei spontaner Verdunstung  $1\frac{1}{2}$ —3 cm lange, schmale Krystalltafeln von rein hellblauer Farbe (= Kupfersalz) ab.

2. Wurde zuerst mit 18,3 ccm Normal-Schwefelsäure versetzt. Das Filtrat<sup>1)</sup> wurde nach Zusatz von 3,471 g kryst. neutr. Bleiazetat auf Wasserbad bis fast zur Trockne eingedampft; Aufnahme mit Wasser; die Lösung setzte im Exsikkator farblose, rhombische Tafeln ab, welche abgesondert wurden (= Bleisalz).

3. Wurde mit 1,5975 g wasserfreiem Kaliumsulfat umgesetzt. Das Filtrat wurde bis fast zur Trockne konzentriert. Auskochen mit 350 ccm 96%igem Spiritus, Warmfiltrieren. Beim Abkühlen erstarrte das Filtrat zu einer eisähnlichen Masse von langen, äußerst feinen, miteinander verwebten, farblosen Nadeln. Absaugen und Auspressen zwischen Filtrierpapier. Seidig glänzende, weiße lockere Masse (= Kaliumsalz).

##### 5. Die Eigenschaften des Baryumsalzes.

Betreffs des Aussehens sei auf das bereits oben Gesagte verwiesen. Die in Wärme bereiteten, mikrokristallinischen Präparate haben kein Krystallwasser. Solches besitzen dagegen die bei Zimmerwärme gebildeten, tafelförmigen Krystalle (siehe unten S. 14); durch Verwitterung werden diese — nachdem sie anfangs klar durchsichtig gewesen sind — zuerst an der Oberfläche perlmutterglänzend, dann allmählich mehr und mehr opak, schließlich ganz weiß, undurchsichtig. Bei  $+110^{\circ}$  C.

<sup>1)</sup> Gab, bei direkter Prüfung, keine Reaktion für Baryum, auch nicht für Schwefelsäure.

bis zu konstantem Gewicht getrocknet, kann die Substanz auf beträchtlich höhere Temperatur (130° oder noch mehr) erhitzt werden, ohne daß eine Gewichtsverminderung oder eine andere Veränderung sich geltend macht.

Die Löslichkeit in Wasser ist hochgradig; 2 Teile Wasser sind zu vollständiger Auflösung bei gewöhnlicher Temperatur mehr als hinreichend (die Lösung von neutraler Reaktion). Die Löslichkeit in Spiritus nimmt mit steigendem Alkoholgehalt rasch ab. Unlöslich in absolutem Alkohol und in den gewöhnlichen, organischen Lösungsmitteln. Bei Erhitzen des getrockneten Salzes treten Blasenbildung und Verkohlung ein, wobei Wasser abgegeben wird. Die wässerige Lösung der alkalisch reagierenden Schmelze gibt mit Bleiazetat schwarze Fällung (Bleisulfid), mit verd. Chlorwasserstoffsäure Schwefelwasserstoff und Trübung durch freien Schwefel. Bei Verdunsten mit Chlorwasserstoffsäure keine Abscheidung von Baryumsulfat (= Ätherschwefelsäure abwesend) und auch keine Retention von Chlor. Bei Erwärmung mit konz. Jodwasserstoffsäure entweicht Schwefelwasserstoff und wird Jod freigemacht. Bei Kochen mit konz. Natronlauge und Behandlung des Verdampfungsrückstandes mit Chlorwasserstoffsäure + Zink bildet sich kein Schwefelwasserstoff, wohingegen solcher sich bei entsprechender Behandlung der wässerigen Lösung der Alkalischemelze bildet.<sup>1)</sup> Bei Schmelzen mit Salpeter und Ansäuern mit Chlorwasserstoffsäure entsteht Fällung von Baryumsulfat, nach dessen Abfiltrieren Zusatz von Baryumchlorid eine neue, reichliche Fällung von Baryumsulfat (von annähernd demselben Gewicht wie die erste Fällung) hervorruft. Wird der nach Ausfällen des Baryums mit Schwefelsäure und Eindampfen des Filtrats erhaltene Sirup (= die freie Säure) mit Phosphorpentachlorid<sup>2)</sup> und die dabei erhaltene Reaktionsmischung danach mit Zink und verd. Schwefelsäure behandelt, so macht sich ein widerlicher Geruch, an dem von faulendem Weißkohl erinnernd, bemerkbar, und das

<sup>1)</sup> Bei Zusatz von Chlorwasserstoffsäure allein entwickelt sich, im letzteren Falle Schwefeldioxyd.

<sup>2)</sup> Behufs Überführung event. Sulfosäure in entsprechendes Sulfochlorid.

Gas ruft, bei Hindurchleiten durch Isatinschwefelsäure, Grünfärbung dieser letzteren hervor (= Merkaptanreaktion). Diese letzterwähnten Reaktionsverhältnisse zeigen — unter Berücksichtigung der Art und Weise der Darstellung — mit Bestimmtheit, daß eine Sulfosäure vorliegt.

6. Analysen des Baryumsalzes usw.

A. Baryumsalz.<sup>1)</sup>

Behufs Ba- bzw. S-Bestimmung wurde die Substanz (getrocknet bei 110° C.) in Alkalisalperschmelze gebracht; das entstandene Baryumkarbonat wurde abgesondert und in Sulfat übergeführt (a). Aus dem Filtrat vom Baryumkarbonat her wurde, nach Abräuchern der Salpetersäure mittelst Chlorwasserstoffsäure und unter Beobachtung sonstiger Vorsichtsmaßregeln, vorhandene Schwefelsäure mit Baryumchlorid ausgefällt (b). In einigen Fällen wurde auch Ba-Bestimmung an einer besonderen Portion durch unmittelbare Abräucherung der Substanz mit Schwefelsäure in Überschuß ausgeführt (c).

Präp. I, 1.

a) 0,6348 g	ergaben 0,4506 g BaSO <sub>4</sub> ,	entsprechend 41,78 % Ba.
b) 0,6348 »	» 0,8654 »	» 18,72 » S.
b) 0,3165 »	» 0,4333 »	» 18,80 » »
c) 0,4414 »	» 0,3124 »	» 41,65 » Ba.

<sup>1)</sup> Schon in einem früheren Stadium dieser Untersuchung waren 2 Präparate von diesem Salz dargestellt worden:

a) aus  $\frac{1}{4}$  kg aus natürlichem Eierklar erhaltenem, koaguliertem Hühnereiweiß (bei der Ovomucooidarbeit des Verfs. im Jahre 1893 erhalten);

b) aus  $\frac{1}{2}$  kg koaguliertem Hühnereiweiß, dargestellt aus «Albumen ovi siccum» (von Merck),

welche bei Analyse die nachstehenden Werte (nach Trocknen bei + 110° C.) ergeben haben:

	S %	Ba %
Präp. a	19,01	41,18
	19,06	
	19,03	40,98
„ b	19,23	41,51
	19,07	
	19,15	41,59

## Präp. I, 2.

a)	0,5858 g	ergaben	0,4144 g	BaSO <sub>4</sub> ,	entsprechend	41,63 %	Ba.
b)	0,5858	»	0,8172	»	»	19,16	» S.
c)	0,4645	»	0,3308	»	»	41,91	» Ba.

Krystallwasserbestimmung: <sup>1)</sup>

1,4782 g	Gewichtsverminderung im Exsikkator während 4 Wochen	0,1087 g
»	bei 110° weitere	0,0031 »
	Summa . . .	0,1118 g
	entsprechend	7,56 %.

## Präp. II, 1.

a)	0,4601 g	ergaben	0,3230 g	BaSO <sub>4</sub> ,	entsprechend	41,32 %	Ba.
b)	0,2606	»	0,3526	»	»	18,58	» S.

## Präp. II, 2, a).

a)	0,5182 g	ergaben	0,3688 g	BaSO <sub>4</sub> ,	entsprechend	41,89 %	Ba.
b)	0,5182	»	0,7355	»	»	19,49	» S.

Krystallwasserbestimmung: <sup>1)</sup>

1,5127 g	Gewichtsverminderung im Exsikkator während 4 Wochen	0,1090 g
»	bei 110° weitere	0,0057 »
	Summa . . .	0,1147 g
	entsprechend	7,58 %.

## Präp. II, 2, b).

a)	0,5535 g	ergaben	0,3969 g	BaSO <sub>4</sub> ,	entsprechend	42,20 %	Ba.
b)	0,5535	»	0,7820	»	»	19,40	» S.
c)	0,3832	»	0,2727	»	»	41,88	» Ba.
d)	8,962 mg	»	2,54 mg	CO <sub>2</sub> ,	»	7,73	» C. <sup>2)</sup>
d)	8,962	»	1,555	» H <sub>2</sub> O,	»	1,94	» H.
d)	8,775	»	2,55	» CO <sub>2</sub> ,	»	7,93	» C.
d)	8,775	»	1,50	» H,	»	1,91	» H.

Krystallwasserbestimmung: <sup>1)</sup>

1,2143 g	Gewichtsverminderung im Exsikkator während 4 Wochen	0,0855 g
»	bei 110° weitere	0,0047 »
	Summa . . .	0,0902 g
	entsprechend	7,43 %.

## Präp. III.

a)	0,5371 g	ergaben	0,3862 g	BaSO <sub>4</sub> ,	entsprechend	42,32 %	Ba.
b)	0,5371	»	0,7358	»	»	18,81	» S.
c)	0,5009	»	0,3612	»	»	42,44	» Ba.

<sup>1)</sup> Die Subst., vor der Wägung, im Exsikkator 1 Tag lang aufbewahrt.

<sup>2)</sup> Die C- und H-Bestimmungen (d) sind bereitwilligst und sorgfältigst von Herrn Dr. H. Lieb, Graz, ausgeführt worden.

Präp. IV.

a)	0,4554 g	ergaben	0,3254 g	BaSO <sub>4</sub> ,	entsprechend	42,05 %	Ba.
b)	0,4554	»	0,6412	»	»	19,34	» S.
d)	9,980 mg	»	2,81 mg	CO <sub>2</sub>	»	7,68	» C.
d)	9,980	»	1,65	» H <sub>2</sub> O	»	1,85	» H.
d)	8,420	»	2,405	» CO <sub>2</sub>	»	7,79	» C.
d)	8,420	»	1,36	» H <sub>2</sub> O	»	1,81	» H.

Präp. V.

a)	0,6078 g	ergaben	0,4347 g	BaSO <sub>4</sub> ,	entsprechend	42,09 %	Ba.
b)	0,6078	»	0,8596	»	»	19,42	» S.
c)	0,5200	»	0,3677 g	»	»	41,62	» Ba.
d)	9,315 mg	»	2,56 mg	CO <sub>2</sub> ,	»	7,50	» C.
d)	9,315	»	1,50	» H <sub>2</sub> O,	»	1,80	» H.
d)	8,992	»	2,525	» CO <sub>2</sub> ,	»	7,66	» C.
d)	8,992	»	1,43	» H <sub>2</sub> O,	»	1,78	» H.

Präp. VI.

a)	0,7184 g	ergaben	0,5135 g	BaSO <sub>4</sub> ,	entsprechend	42,07 %	Ba.
b)	0,7184	»	1,0083	»	»	19,27	» S.
d)	8,328 mg	»	2,31 mg	CO <sub>2</sub> ,	»	7,57	» C.
d)	8,328	»	1,37	» H <sub>2</sub> O,	»	1,84	» H.
d)	8,735	»	2,485	» CO <sub>2</sub> ,	»	7,76	» C.
d)	8,735	»	1,45	» H <sub>2</sub> O,	»	1,86	» H.

Präp. VII.

a)	0,5554 g	ergaben	0,3911 g	BaSO <sub>4</sub> ,	entsprechend	41,44 %	Ba.
b)	0,5554	»	0,7876	»	»	19,47	» S.

Präp. VIII.

a)	0,8443 g	ergaben	0,6014 g	BaSO <sub>4</sub> ,	entsprechend	41,92 %	Ba.
b)	0,8443	»	1,1934	»	»	19,41	» S.

Berechnet für (CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> · Ba:

C	7,33 %
H	1,85 »
S	19,57 »
Ba	41,94 »

Berechnet für (CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> · Ba + 1 1/2 H<sub>2</sub>O:

H <sub>2</sub> O	7,62 %.
------------------	---------

**B. Andere Salze.**

**1. Kupfersalz (getrocknet bei 110°).<sup>1)</sup>**

<sup>1)</sup> Hierbei entwich Krystallwasser 22,60 %, nahezu entsprechend 4 Mol. Die getrocknete Substanz fast weiß (nur mit schwachem Stich ins Grünblaue).

0,5443 g ergaben 0,1701 g CuO, entsprechend **21,97%** Cu  
(berechnet für  $(\text{CH}_3 \cdot \text{SO}_3)_2 \cdot \text{Cu}$ : 25,06% Cu).

2. *Bleisalz* (im Exsikkator 3 Stunden lang aufbewahrt).

2,8509 g Gewichtsverminderung bei 110° 0,1296 g, entsprechend  
Krystallwasser **4,55%**

(berechnet für  $(\text{CH}_3 \cdot \text{SO}_3)_2 \cdot \text{Pb} + \text{H}_2\text{O}$ : 4,34%).

0,5912 g getrocknete Substanz ergaben 0,4520 g  $\text{PbSO}_4$ ,  
entsprechend **52,22%** Pb

(berechnet für  $(\text{CH}_3 \cdot \text{SO}_3)_2 \cdot \text{Pb}$ : 52,11% Pb).

3. *Kaliumsalz* (getrocknet bei 110°).

a) 0,3687 g ergaben 0,2372 g  $\text{K}_2\text{SO}_4$ , entsprechend **28,89%** K.

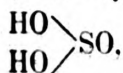
b) 0,8845 g „ 0,5604 g „ „ **28,91%** K.

(berechnet für  $(\text{CH}_3\text{SO}_3) \cdot \text{K}$ : 29,16% K).

7. Die Identifizierung der organischen Schwefel-  
verbindung.

Daß dieselbe eine Repräsentantin der Gruppe der Sulfo-  
säuren ist, ist bereits oben ausgesprochen worden. Auch kann,  
im Hinblick auf die analytischen Daten und die sonstigen Eigen-  
schaften der dargestellten Salze, nicht der geringste Zweifel  
darüber herrschen, welche Sulfosäure hier vorliegt. Die aus  
sämtlichen untersuchten Proteinstoffen, bei Behandlung mit Sal-  
petersäure, erhaltene Säure ist Methylsulfosäure:  $\begin{matrix} \text{HO} \\ \diagdown \\ \text{C} \\ \diagup \\ \text{CH}_3 \end{matrix} \text{SO}_2^1$ .  
Durch dieses Untersuchungsergebnis, das übrigens des Verf.'s  
oben (S. 2) wiedergegebene, frühere Annahme betreffs des

<sup>1)</sup> Zuvor bekannt von der organischen Synthese her und als  
Derivat der asymmetrischen schwefligen Säure:  $\begin{matrix} \text{HO} \\ \diagdown \\ \text{H} \end{matrix} \text{SO}_2$  betrachtet.  
Methylsulfosäure ist isomer mit der aus symmetrischer schwefliger Säure,



derivierten Verbindung Methylsulfit:  $\begin{matrix} \text{HO} \\ \diagdown \\ \text{C} \\ \diagup \\ \text{CH}_3\text{O} \end{matrix} \text{SO}_2$ .

Was Literatur betrifft, so ist vor allem zu vergleichen: Kolbe,  
Ann. d. Chemie u. Pharmacie, Bd. 54 (1845), S. 145–188; Muspratt,  
ebenda, Bd. 65 (1848), S. 251–263; Carius, ebenda, Bd. 114 (1860),  
S. 140–147; Collmann, ebenda, Bd. 148 (1868), S. 101–110 und  
Berthelot, Compt. rend., Bd. 69 (1869), S. 563–566.



Schwefels eines der nun näher untersuchten Proteinstoffe (des Glutins) bestätigt, ist demnach Aufschluß über die Art des bei Salpetersäurebehandlung von Proteinstoffen seit lange beobachteten, zu Schwefelsäure nicht oxydierbaren Schwefelrestes erhalten worden. Jedenfalls besteht dieser letztere zum Teil<sup>1)</sup> aus der ebengenannten, wohlcharakterisierten Säure.

#### 8. Zur Frage nach dem Ursprunge der Methylsulfosäure bzw. den Bindungsformen des Proteinschwefels.

Das einzige bisher mit Sicherheit konstatierte, primäre, schwefelhaltige Spaltungsprodukt aus Proteinstoffen ist bekanntlich Cystin. Unter solchen Umständen erhebt sich hier zunächst die Frage: stammt die bei Salpetersäurebehandlung von Proteinstoffen erhaltene Methylsulfosäure von dem Cystin her oder nicht?

Die Beantwortung dieser Frage scheint nicht schwer zu sein, auch wenn wir uns auf die bereits oben angeführten und einige sonst bisher bekannte Tatsachen beschränken. Eine Zusammenstellung einerseits der Menge isolierter Methylsulfosäure (in Form von Baryumsalz), andererseits aus entsprechendem Proteinstoffmaterial isolierten Cystins — soweit Angaben hierüber vorliegen — ist hierbei sehr lehrreich (siehe S. 18!).

Klar ist, daß die Menge der Methylsulfosäure nicht im mindesten in Verhältnis steht zu der des Cystins; eher findet man, daß betreffs gewisser Fälle (z. B. Casein, Keratin) eine ausgesprochene inverse Proportionalität herrscht. Insbesondere verdient Beachtung, daß die Methylsulfosäuremenge aus dem unerhört cystinreichen Keratin kaum größer ist als die aus dem des Cystins ermangelnden Glutin.

Zu weiterer Bestätigung sind direkte Versuche mit isoliertem, reinem Cystin<sup>2)</sup> behufs Feststellung des Verhaltens

---

<sup>1)</sup> Ein anderer Teil davon kann, zumal wenn es sich um cystinreiche Proteinstoffe handelt, von anderer Art sein (siehe S. 18 u. ff.).

<sup>2)</sup> Dargestellt teils aus Horn, teils aus Schafwolle, nach Folin's vortrefflicher Methode (Journ. of biological Chemistry, Band 8 (1910), S. 9—10).

	g pro kg Material	
	Isolierte Menge Baryummethylsulfonat	Enthaltene Menge Cystin
Serumeiweiß . . . . .	3,1	12 <sup>1)</sup>
Hühnereiweiß . . . . .	5,8	3 <sup>2)</sup>
Casein . . . . .	5,5	0,2 <sup>3)</sup>
Ovomucoid . . . . .	12,4	—
Hämoglobin . . . . .	3,1	3,1 <sup>4)</sup>
Keratin (Schafwolle) . . .	1,8	73—125 <sup>5)</sup>
Glutin . . . . .	1,4	0

dieses Stoffes bei Behandlung mit Salpetersäure angestellt worden.<sup>6)</sup>

*Vers. 1.* Cystinportionen von 0,2 g, genau abgewogen, wurden mit reiner Salpetersäure<sup>7)</sup> von verschiedener Stärke und in wechselnder Menge (siehe die Tabelle unten!) behandelt, zuerst 1 Tag lang in Zimmerwärme, dann auf Wasserbad. Aus dem beim Eindampfen erhaltenen Sirup, verdünnt mit 1%iger Chlorwasserstoffsäure, wurde die entstandene Schwefelsäure vollständig mit Baryumchlorid ausgefällt, wonach das Baryumsulfat auf gewöhnliche Weise abgeschieden und gewogen wurde (= Schwefelsäure-S). Der beim Eindampfen der Filtrate zur Trockne erhaltene Rest wurde mit Salpeter

<sup>1)</sup> K. A. H. Mörner; «Käufliches Bluteiweiß».

<sup>2)</sup> K. A. H. Mörner; «Eieralbumin, nicht krystallisiert».

<sup>3)</sup> Winterstein und Strickler; «Casein nach Hammarsten».

<sup>4)</sup> Abderhalden; «Oxymämoglobin des Pferdes».

<sup>5)</sup> Abderhalden und Voitinovici; «Schafwolle».

<sup>6)</sup> Versuche hierüber scheinen zuvor nicht angestellt worden zu sein. Zwar wird allgemein (siehe z. B. Abderhaldens Biochem. Lexikon, Bd. 4 (Berlin 1911), S. 658, Röhmanns Biochemie (Berlin 1908), S. 367) angegeben, daß Neuberg (Ber. d. d. Chem. Gesellsch., Bd. 35 (1902), S. 3161—3164) Isäthionsäure als Produkt der Einwirkung in sparsam bemessener Menge angewandter verd. Salpetersäure in Wasserbadwärme auf Cystin nachgewiesen hätte. Geht man indessen auf das Original zurück, so zeigt es sich, daß die Angabe sich auf Cystein bezieht.

<sup>7)</sup> Vom Verf. umdestilliert, vollkommen schwefelsäurefrei.

und Natriumhydroxyd geschmolzen. Bei der weiteren Behandlung der Schmelze lege artis erhaltenes Baryumsulfat wurde gewogen (= Rest-S). Die Resultate, umgerechnet in Prozent Schwefel auf das Cystin, finden sich nachstehend angegeben.

Ver- such Nr.	Stärke der Salpeter- säure %	Ange- wandte Menge der Säure g	Wasser- freie Salpeter- säure in der Probe g	Schwefel- säure-S %	Rest-S %	Summa S <sup>1)</sup> %
1	10	10	1	24,03	2,28	26,31
2	10	10 <sup>2)</sup>	1 (× 3)	24,25	1,41	25,66
3	10	60	6	24,11	2,37	26,48
4	20	10	2	22,73	3,48	26,21
5	30	10	3	22,24	3,79	26,53
6	60	1 <sup>3/4</sup>	1	21,29	4,76	26,05
7	60	10	6	21,68	4,54	26,22
8	60	10 <sup>2)</sup>	6 (× 3)	22,17	3,65	25,82

Die Reaktion des Cystinschwefels mit Salpetersäure verläuft demnach nicht glatt, d. h. zu vollständiger Schwefelsäurebildung.<sup>3)</sup> Abgesehen von einer geringeren Tendenz zu Schwefelverlust durch Verflüchtigung, am merkbarsten in den Proben, bei denen wiederholte Salpetersäurebehandlung und nachfolgende Eindampfung auf Sirupkonsistenz stattgefunden hat, entzieht sich ein beträchtlicher Teil der Schwefelsäurebildung und zwar, der Regel nach, in zunehmendem Grade, je größer die Konzentration der angewandten Säure ist. Man könnte geneigt sein sich vorzustellen, daß der fragliche Restschwefel möglicherweise aus Methylsulfosäure bestände, und daß also dennoch die genannte Erscheinung etwas mit der Entstehung der aus Proteinstoffen isolierten Methylsulfosäure zu tun hätte.

<sup>1)</sup> Eigener Schwefelgehalt des angewandten Cystinpräparats: 26,52 %.

<sup>2)</sup> Der Zusatz von Säure 2 mal wiederholt, jedesmal nach vorhergehender Eindampfung auf Syrupkonsistenz.

<sup>3)</sup> Im Gegensatz zu dem, was nach Breinl und Baudisch (diese Zeitschr., Bd. 59 (1907), S. 158—169) bei Wasserstoffsperoxydbehandlung der Fall sein soll.

Fortgesetzte Versuche waren daher von nöten. Die Menge Salpetersäure, im Verhältnis zu der Menge des behandelten Materials, war in dem einen Versuche (3) dieselbe, die bei den Proteinstoffversuchen angewandt worden war, in dem anderen Versuche (2) wurde eine reichlichere Menge Säure verwendet.

*Vers. 2.* 5 g Cystin wurden mit konzentrierter Salpetersäure (300 ccm) behandelt, zuerst in Zimmerwärme 1 Tag lang, dann auf Wasserbad; schließlich Eindampfen zu Sirup. Dieser wurde mit Wasser aufgenommen, 3 mal mit Äther<sup>1)</sup> ausgeschüttelt und, nach Luftdurchleitung und Eindampfen zu Sirup, mit Baryumhydroxyd alkalisiert. Nach Filtrieren, Kohlendioxyd-einleitung und Eindampfen zur Trockne wurde der Rückstand mit Wasser aufgenommen und filtriert. Filtrat + Waschwasser gaben, nach Eindampfen, einen hellgelben, firnißartigen Rückstand, der 0,052 g wog. Wiederauflösen und langsames Verdunsten; im Exsikkator keine Krystallbildung. Die in Wasser wieder aufgelöste Masse wurde mit 4 Vol. Spiritus versetzt; die entstandene flockige Fällung wurde nach  $\frac{1}{2}$  Stunde abfiltriert. Filtrat + Waschspiritus (4 : 1) ergaben bei langsamer Verdunstung einen firnißartigen Rückstand, der nur 0,018 g wog.

*Vers. 3.* 50 g Cystin wurde dem Vorhergehenden gemäß mit Salpetersäure (300 ccm) behandelt.<sup>2)</sup> Nach abgeschlossener Reaktion wurde weiter konzentriert. Oxalsäurekrystalle wurden entfernt.<sup>3)</sup> Dreimal Schütteln mit Äther,<sup>4)</sup> Luftdurchleitung, Eindampfen zu Sirup, Aufnehmen mit Spiritus (250 ccm). Nach 1 Tag später vorgenommenem Filtrieren wurde die Flüssigkeit in warm zubereitete Lösung von Baryumhydroxyd (250 g) in Wasser (625 ccm) eingebracht. Weiterer Spiritus (1000 ccm) wurde zugesetzt. Nach 1 Tag wurde die voluminöse weiße Fällung abgeschieden, wieder in Spiritus (2 : 1) aufgeschwemmt

<sup>1)</sup> Nahm Oxalsäure auf.

<sup>2)</sup> Unmittelbar bildete sich ein «Kuchen» von Cystinnitrat (dieses Salz ist in konz. Salpetersäure sehr schwerlöslich, siehe den nächstfolgenden Aufsatz!). Nach 1 Tag Stehen in Zimmerwärme wieder klare Lösung (die Flüssigkeit gab bereits in diesem Stadium intensive Reaktion auf Schwefelsäure und Oxalsäure).

<sup>3)</sup> Gewicht derselben 14,8 g.

<sup>4)</sup> Aus dem Äther wurden weitere 1,3 g Oxalsäure erhalten.

und abfiltriert, worauf mit ebensolchem Spiritus gewaschen wurde. Die vereinigten Spiritusfiltrate (+ Waschspiritus) wurden zur Trockne eingedampft. Aufnehmen mit Wasser, Filtrieren; Filtrat + Waschwasser (75 ccm) wurden mit Spiritus (300 ccm) versetzt, wobei nicht einmal binnen 24 Stunden eine Fällung eintrat. Es wurde daher zur Trockne eingedampft, schließlich ganz langsam in Platinschale. Keine Krystallbildung. Der firnißartige Rückstand wog 0,21 g.<sup>1)</sup> Wiederholte Versuche, Krystallierung hervorzurufen, waren resultatlos.

Die in Vers. 2 und 3 schließlich erhaltenen Rückstände erwiesen sich zwar als relativ reich an organisch gebundenem Schwefel,<sup>2)</sup> aber sowohl ihre im Verhältnis zu dem angewandten Cystin unansehnliche Menge als auch ihr Verhalten im übrigen zeigte völlig klar, daß sie nicht aus dem Baryumsalz der Methylsulfosäure bestanden, und daß also Cystin, schon allein aus diesem Grunde — abgesehen von dem oben Angeführten — keine Rolle als Muttersubstanz für die Methylsulfosäure aus Proteinstoffen spielen kann.<sup>3)</sup>

Die bereits von Liebig gehegte Auffassung, daß die Proteinstoffe zwei verschiedene Schwefelbindungsformen enthalten, hat zwar nach K. A. H. Mörner's umfassenden, sorgfältigen Untersuchungen eine Einschränkung erleiden müssen,

<sup>1)</sup> Während des Trocknens, bei + 110° C., wurde ein knoblauchartiger Geruch verspürt.

<sup>2)</sup> Das meiste des «Restschwefels» scheint bei der Baryumhydroxyd- bzw. Spiritusbehandlung, als schwerlösliches Ba-Salz ergebend, entfernt worden zu sein.

<sup>3)</sup> 50 g Cystin entsprechen, rücksichtlich des Cystingehalts, z. B.:

Berechnete Ausbeute von Baryummethylsulfonat:	
4 kg. Serumeiweiß	12 g
16 kg Hühnereiweiß	93 g
250 kg Casein	1375 g

Sogar von der cystinreichen Schafwolle wird jedoch, um 50 g Cystin zu entsprechen, eine so große Quantität wie ca. 1/2 kg erforderlich, von welcher Menge man eine Ausbeute von ca. 1 g isoliertem Baryummethylsulfonat erwarten kann.

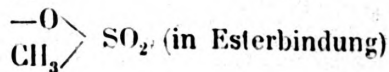
indem was früher als «oxydierter» oder «fest gebundener» Schwefel aufgefaßt worden ist, teilweise dem Conto des «nicht oxydierten» oder «locker gebundenen» Schwefels, d. h. der neueren Nomenklatur gemäß dem des Cystinschwefels überwiesen werden muß, und man in Übereinstimmung hiermit hat meinen können, daß gewisse Proteinstoffe aus dem genannten Grunde wahrscheinlich ihre ganze Schwefelmenge in Form von Cystinschwefel besitzen, obwohl man bei einfacherer experimenteller Anordnung in ihnen die beiden Bindungsformen repräsentiert zu sehen geglaubt hat. Weiter hat der genannte Forscher, mit seinen reichen Erfahrungen auf dem Gebiete, nicht einer unitarischen Auffassung — die Cystinbindung die einzige Schwefelbindung in Proteinstoffen<sup>1)</sup> — für welche Auffassung Cohnheim als Anwalt aufgetreten ist,<sup>2)</sup> entgegenkommen zu können geglaubt. K. A. H. Mörner gibt mit Bestimmtheit gewisse Proteinstoffe an, auf die die fragliche, einheitliche Theorie sich nicht anwenden läßt, in denen man also das Vorhandensein auch einer andersartigen Bindung annehmen muß, nämlich in der Schalenhaut (des Hühnereies), Fibrinogen, Ovalbumin und Casein. Zu diesen Beispielen möchte ich noch  $\alpha$ -Krystallin und Glutin hinzufügen, welche beide, obwohl offenbar schwefelhaltig, sich bei Anstellen einer Sulphydrylreaktion negativ verhalten. Eine neu hinzugekommene, positive Stütze für die Existenz auch einer andersartigen, d. h. nicht cystinartigen Schwefelbindung scheint mir in dem hier nachgewiesenen Auftreten von Methylsulfosäure bei der Behandlung von Proteinstoffen mit Salpetersäure, in Zusammenhang mit dem Nachweis davon, daß Cystin als Muttersubstanz derselben ausgeschlossen ist, zu liegen.

Eine zweite Frage ist dann die nach der Art des Atomenkomplexes in dem Proteinstoffmolekül, dessen Vorhandensein durch das Auftreten von Methylsulfosäure unter den fraglichen Umständen indiziert wird. Im wesentlichen lassen sich dies-

<sup>1)</sup> Abgesehen von Chondroitinschwefelsäure in den Chondroproteiden.

<sup>2)</sup> Chemie der Eiweißkörper, 3. Aufl., Braunschweig 1911, S. 38 u. 82.

bezüglich zwei Möglichkeiten denken: die eine, daß die Methylsulfosäure, bis zu einem gewissen Grade präformiert, z. B. in der Form der Gruppe:



(eventuell in Form einer anderen, nahverwandten Gruppe), vorhanden ist, die andere, daß die Methylsulfosäure als Oxydationsprodukt aus einem anderen, schwefelhaltigen Stoff, auf die eine oder andere Weise an das Proteinstoffmolekül gebunden, z. B. Methylsulhydrat (Methylmerkaptan),<sup>1)</sup> Methylrhodanid oder Methyldisulfid,<sup>2)</sup> hervorgeht. Halten wir uns an die allereinfachste Annahme — Methylsulfosäure in Esterbindung — so scheint es, theoretisch gesehen, keine Schwierigkeit darzubieten, eine Entscheidung zwischen derselben und sonstigen, denkbaren Möglichkeiten zu treffen: man untersucht, ob die bei vollständiger Hydrolyse eines geeigneten Proteinstoffs, z. B. Ovomuroid, erhaltene Mischung Methylsulfosäure enthält oder nicht; zeigt es sich, daß es der Fall ist, so kann die Präexistenz der Methylsulfosäuregruppe in Esterbindung als bewiesen angesehen werden, im entgegengesetzten Falle ist man auf eine der übrigen Möglichkeiten angewiesen.

Aus, wie mir scheint, sehr guten Gründen muß jedoch angenommen werden, daß der Versuch, Methylsulfosäure aus dem höchst ungünstigen Milieu, von dem oben die Rede ist, zu isolieren, auf solche Schwierigkeiten stoßen wird, daß der Plan bis auf weiteres als unausführbar anzusehen ist. Die Möglichkeit, Methylsulfosäure aus der Salpetersäurereaktionsmischung, wie hier geschehen, zu isolieren, gründet sich der Hauptsache nach — außer auf die eigene Resistenz der genannten Säure — auf die Labilität der übrigen, primären Proteinstoffspaltungsprodukte, wodurch sie teils in gasförmige

<sup>1)</sup> Für die Möglichkeit des Vorkommens von Schwefel «in merkaptanartiger Bindung» bei gewissen Proteinstoffen, z. B. Ovalbumin, hat Heffter sich ausgesprochen (Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol., Bd. 5 (1904), S. 213—233).

<sup>2)</sup> Diese sämtlichen Stoffe werden mit Leichtigkeit von konz. Salpetersäure zu Methylsulfosäure oxydiert (Beilstein: Handb. d. organ. Chemie, Bd. 1, Hamburg u. Leipzig (1893), S. 369).

oder sonst flüchtige Produkte,<sup>1)</sup> die spontan abgehen, zerfallen, teils in relativ einfachere, leichter hantierliche Stoffe (Oxalsäure, Schwefelsäure, Nitrosäuren usw.) umgesetzt werden.

Daß die in den verschiedenen Fällen schließlich, in Form von Baryumsalz, erhaltenen Quantitäten Methylsulfosäure — auf Grund technischer Verhältnisse bei der Isolierung — als Minimalwerte repräsentierend angesehen werden müssen, ist bereits oben hervorgehoben worden. Zu beachten ist auch die Möglichkeit, daß der Schwefelgehalt in der methylsulfosäuregebenden Gruppe des Proteinstoffmoleküls, welcher Art er nun auch sein mag, bei der Salpetersäurebehandlung nicht vollständig in Form von Methylsulfosäure herausgelöst wird, sondern teilweise auf andere Weise umgebildet, z. B. zu Schwefelsäure oxydiert werden kann; daß m. a. W. die Reaktion in Analogie mit dem, was sich als für die Umwandlung des Cystins bei Salpetersäurebehandlung gültig erwiesen hat, nicht glatt verläuft. Dagegen kann mit Sicherheit, auf Grund ausgeführter Kontrollversuche, behauptet werden, daß Methylsulfosäure, soweit sie einmal gebildet ist, gegen weitere Umwandlung durch konzentrierte Salpetersäure resistent ist, ja, sich nicht einmal durch rauchende Salpetersäure oder durch stärkstes Königswasser (1 Vol. rauch. Salpetersäure + 3 Vol. konz. Chlorwasserstoffsäure) beeinflussen läßt.

---

Bei einer späteren Gelegenheit hoffe ich die Resultate der Untersuchungen vorlegen zu dürfen, die einigen anderen, bei der Behandlung von Proteinstoffen mit konzentrierter Salpetersäure entstehenden Produkten gewidmet worden sind.

#### **Anhang. Untersuchung über den Krystallwassergehalt in Baryum-methylsulfonat (synthetischem Material).**

In Anbetracht der nicht geringen Unzuträglichkeiten, die mit dem in größerem Maßstabe betriebenen Hantieren so intensiv stinkender Stoffe (Methylmerkaptan usw.), wie sie zur

---

<sup>1)</sup> Bei der Konzentrierung der sauren Reaktionsmischung ist bisweilen ein Geruch von Valeriansäure oder einer nahestehenden, flüchtigen Fettsäure verspürt worden.



synthetischen Darstellung von Methylsulfosäure verwendet werden, innerhalb eines wissenschaftlichen Instituts, zumal wenn das Institutsgebäude auch Privatwohnungen enthält, verbunden sind, habe ich es mir angelegen sein lassen, Versuche anzustellen, durch Bestellung von einer chemisch-technischen Fabrik Präparate dieser Säure oder eines geeigneten Salzes davon zu verschaffen; als Handelsware wären solche bis dahin nicht erhältlich. Meine erste Erfahrung<sup>1)</sup> in dieser Beziehung (sie galt einer deutschen Firma) war wenig ermutigend. Das zuerst gesandte Präparat bestand lediglich aus dem Baryumsalz der Methylschwefelsäure. Eine später gesandte Partie bestand ihrer Hauptmasse nach aus Baryumnitrat, enthielt aber auch Baryumsalz der gewünschten Säure, das, nach verschiedenen Reinigungsprozeduren, in analysierbarer Gestalt und in hinreichenden Mengen erhalten wurde. Durch Krystallisierung im Exsikkator (Zimmerwärme) wurden 4 einzelne Präparate (A-D) dargestellt.

Im vorigen Jahre wandte ich mich an eine andere, gleichfalls deutsche Firma (Kahlbaum) mit der Bitte um Lieferung von Baryummethylsulfonat; gerade dieses Salz glaubte man nicht liefern zu können, versprach aber das Kaliumsalz. Eine reichliche Portion dieses Salzes,<sup>2)</sup> von guter Qualität, wurde auch erhalten. Aus demselben wurde, nach von Collmann<sup>3)</sup> angegebenen Verfahren, die freie Säure dargestellt, worauf in Baryumsalz übergeführt wurde. Hieraus wurden auf verschiedene Weisen umkrystallisierte Präparate dargestellt, teils 1 St. auf dieselbe Weise wie die obenerwähnten 4 (E), teils 2 St. durch Ausfällung, in Zimmerwärme, mit absolutem Alkohol, das eine aus konz. (25%iger) wässriger Lösung mittelst 2 Vol. Alkohol (F), das andere durch Versetzen des Filtrats von F mit weiteren 2 Vol. Alkohol (G), teils endlich 1 St. durch Konzentrieren in Wärme (auf Wasserbad) unter Umrühren (H).

---

<sup>1)</sup> Ende der 1890er Jahre.

<sup>2)</sup> Findet sich seit Oktober 1913 in der Preisliste der Firma aufgeführt.

<sup>3)</sup> A. a. O., S. 103.

Aussehen der Präparate:

A-E: Große, dicke, glasklare Tafeln (rhombisch oder hexagonal).<sup>1)</sup>

F: Weißes, feinkristallinisches Pulver (mit schwacher Andeutung von Seidenglanz), bestehend aus dünnen, rhombischen oder hexagonalen Tafeln — in mikroskopischem Präparat an Cholesterin bezw. Cystin erinnernd.

G: Wie das vorige Präparat, jedoch — schon in frischdargestellter Form — schön seidenglänzend und aus äußerst dünnen Tafeln gebildet.

H: Weißes, feinkristallinisches, fast glanzloses Pulver aus mikroskopisch kleinen, kurzen Prismen.

Vor der Untersuchung auf den Krystallwassergehalt wurden die Präparate im Exsikkator aufbewahrt, A-E 1 Tag lang (währenddessen keine andere Veränderung im Aussehen als das Auftreten eines noch ganz schwach markierten Perlmutterglanzes), F-G (wegen ihrer relativ größeren Krystalloberfläche) kürzere Zeit (3 Stunden) und H 1 Tag lang.

#### Krystallwasserbestimmung.

- |             |   |  |                          |
|-------------|---|--|--------------------------|
| 1. Präp. A. | 1,2235 g <sup>2)</sup> ,  | Gewichtsverminderung bei 100° C.: 0,0925 g | = 7,56 % Krystallwasser. |
| 2. „ B.     | 1,490 „   | bei 100° C.: 0,1135 g                      | = 7,62 % Krystallwasser. |
| 3. „ C.     | 1,3735 „  | bei 100° C.: 0,105 g                       | = 7,64 % Krystallwasser. |
| 4. „ D.     | 1,4045 „  | bei 100° C.: 0,108 g                       | = 7,69 % Krystallwasser. |
| 5. a) „ E.  | 0,6702 „ (bestehend aus 10 St. wohlausgebildeten Solitärkrystallen) Aufbewahrung, ohne vorhergehende Zertrümmerung, in H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> -Exsikkator 6 Wochen lang <sup>3)</sup> ; |  |                          |

<sup>1)</sup> Frischdargestellt besitzen sie eine glasglänzende Oberfläche; den Perlmutterglanz, den Collmann beschreibt (a. a. O., S. 104), erhalten sie erst nach einiger, wenn auch minimaler Verwitterung an der Oberfläche, z. B. nach einem oder einigen Tagen Aufbewahrung an der offenen Luft oder im Exsikkator.

<sup>2)</sup> Bei den vor längerer Zeit ausgeführten Versuchen an A-D war die Wägung nur auf 0,5 mg genau.

<sup>3)</sup> Erst nach dieser Zeit war approximativ Gewichtskonstanz erreicht; die Krystalle undurchsichtig weiß, mit perlmutterschimmernder Oberfläche.

Gewichtsverminderung währenddessen: 0,0496 g,  
 weitere „ bei 110° : 0,0019 „  
 Summa: 0,0515 g  
 = 7,68 % Krystallwasser.

b) 0,7240 g, unmittelbar vor der Wägung feinpulverisiert; im Exsikkator  
 2 Wochen lang (danach approximativ Gewichtskonstanz erreicht);  
 Gewichtsverminderung währenddessen: 0,0532 g,  
 weitere „ bei 110°: 0,0018 „  
 Summa: 0,0550 g  
 = 7,59 % Krystallwasser.

c) 0,7704 g, direktes Trocknen bei 110°;  
 Gewichtsverminderung währenddessen: 0,590 g  
 = 7,66 % Krystallwasser.<sup>1)</sup>

6. Präp. F. 1,4067 g; im Exsikkator 1 Woche lang;  
 Gewichtsverminderung währenddessen: 0,1041 g,  
 weitere „ bei 110°: 0,0024 „  
 Summa: 0,1065 g  
 = 7,57 % Krystallwasser.

7. Präp. G. 0,7338 g; im Exsikkator 1 Woche lang;  
 Gewichtsverminderung währenddessen: 0,538 g,  
 weitere „ bei 110°: 0,0012 g.  
 Summa: 0,0550 g  
 = 7,54 % Krystallwasser.

8. Präp. H. 1,7816 g; im Exsikkator 1 Woche lang;  
 Gewichtsverminderung währenddessen: 0,0006 g,  
 weitere „ bei 110°: 0,0001<sup>2)</sup> g.  
 Summa: 0,0007 g  
 = kein Krystallwasser enthaltend.

Als Resultat der vorliegenden Untersuchungsreihe ergibt sich mit wünschenswertester Deutlichkeit:

daß Bariummethylsulfonat, bei gewöhnlicher Temperatur, sei es daß die Abscheidung durch die spontane Konzentrierung der wässerigen Lösung oder durch Zusatz von Alkohol geschieht, mit 1½ Mol. Wasser krystallisiert (berechneter Wert: 7,62 %), das (von Spuren abgesehen) bei hinreichend

<sup>1)</sup> Hiernach wurde die Substanz mehrere Stunden lang zuerst bei 150°, schließlich bei 195° gehalten. Kein fortgesetzter Gewichtsverlust, keine Farbenveränderung; andauernd klar löslich in Wasser und, bei spontanem Abdunsten der Lösung, Krystalltafeln von gewöhnlicher Form bildend.

<sup>2)</sup> Bei 120° keine weitere Gewichtsverminderung.

lange dauernder Aufbewahrung im  $H_2SO_4$ -Exsikkator vollständig abgegeben wird, daß in Wärme auskrystalliertes Salz des Krystallwassers entbehrt, sowie daß das Salz hohe Temperatur (gegen  $200^\circ$ ) verträgt, ohne sich zu verändern.

Veranlaßt wurde die vorstehende Untersuchung durch die Divergenz der beiden einzigen, bisher vorhandenen Angaben über den Krystallwassergehalt, herrührend von Muspratt<sup>1)</sup> und Collmann.<sup>2)</sup> Ersterer gibt an, daß das über Schwefelsäure getrocknete Salz bei  $100^\circ$  5,25% Wasser (entsprechend 1 Mol., wofür berechnet: 5,08%) abgibt. Collmann dagegen erhielt bei  $110^\circ$  7,57% Wasser (entsprechend  $1\frac{1}{2}$  Mol.), und er gibt an: «Beim Trocknen über Schwefelsäure verlor es fast seinen ganzen Wassergehalt». Wie man sieht, sind Collmanns Angaben die richtigen. Über das Vorkommen auch einer wasserfreien Krystallform ist zuvor nichts erwähnt worden.

---

<sup>1)</sup> A. a. O., S. 260.

<sup>2)</sup> A. a. O., S. 104.