

3. *m*-Nitrojodosobenzol, das Sommer und Winter über gelegen hatte, wurde mit Chloroform ausgezogen, getrocknet und titirt; hierbei wurden 11.27 pCt. Sauerstoff gefunden. *m*-Nitrojodobenzol enthält 11.3 pCt. an Jod gebundenen Sauerstoff. Es ist also auch für dieses Beispiel zweifellos, dass vorstehendes Jodosobenzol vollständig in die entsprechende Jodoverbindung übergegangen war.

4. Wurde dieselbe Masse vor dem Titriren nicht mit Chloroform ausgezogen, so wurden nur 8.6 statt 11.3 pCt. Sauerstoff gefunden, ein Zeichen dafür, dass sie viel *m*-Nitrojodobenzol, das sich nicht verflüchtigt hatte, enthielt.

5. *o*-Chlorjodosobenzol, während des Sommers 1893 und des Winters 1893/94 unter einem Uhrglase ausgebreitet aufbewahrt, ergab nach dem Reinigen mit Chloroform 12.8 statt 11.8 pCt. Sauerstoff: die Umsetzung war also eine vollständige.

6. Ein anderes Resultat wurde mit dem *p*-Chlorjodacetat erzielt. Auf Grund der nachfolgenden Analyse ist man gezwungen anzunehmen, dass sich dasselbe während eines Jahres nur in die entsprechende Jodosoverbindung umgesetzt hatte. Die mit Chloroform gereinigte Substanz lieferte 6.5 pCt. Sauerstoff; das *p*-Chlorjodacetat enthält 6.28 pCt. dieses Elements.

7. Das *p*-Bromjodosobenzol, das während der gleichen Zeit und unter denselben Bedingungen gestanden hatte, lieferte nach dem Reinigen und Titriren 5.7 pCt. Sauerstoff, während das *p*-Bromjodosobenzol 5.3 pCt. davon enthält.

Freiburg i. B., den 29. Juni 1894.

347. C. Paal: Ueber die Peptonsalze des Eieralbumins.

[Mittheilung aus dem chemischen Institut der Universität Erlangen.]

(Eingegangen am 6. Juli.)

Vor etwas mehr als zwei Jahren habe ich über die gemässigte Einwirkung verdünnter Salzsäure ¹⁾ auf Glutin (Leim, Gelatine) berichtet und gezeigt, dass hierbei Peptonchlorhydrate entstehen, welche die bemerkenswerthe Eigenschaft besitzen, sich je nach ihrem Gehalt an gebundener Salzsäure in abs. Methyl- bzw. Aethylalkohol leicht und fast in jedem Verhältnisse zu lösen. Bei dieser Gelegenheit wurde auch kurz erwähnt, dass nicht nur Glutin, sondern auch die eigentlichen Eiweisskörper, wie Albumin, Fibrin, Casein etc., einer Umwandlung in alkohollösliche Peptonchlorhydrate fähig seien.

¹⁾ Diese Berichte 25, 1202.

Eingehender untersucht habe ich das Verhalten des Eieralbumins gegen Salzsäure und bei der künstlichen Verdauung mit Pepsin-Salzsäure.

Entsprechend dem viel complicirteren Bau des Albuminmoleküls gegenüber demjenigen des Glutins verläuft auch die Peptonisirung durch Salzsäure bei jenem weniger glatt und viel langsamer wie bei diesem.

Während Glutin schon nach kurzem Erwärmen mit mässig concentrirter Salzsäure vollständig in alkohollösliche Peptonsalze übergeht, wird Eieralbumin selbst von concentrirter Salzsäure erst nach längerer Zeit und dann erst zur Hälfte in alkohollösliches Peptonsalz umgewandelt. Der ungelöste, allerdings schon chemisch veränderte Rest bedarf einer weiteren, noch viel länger dauernden Einwirkung der Säure, um einigermaassen vollständig in alkohollösliches Peptonsalz überzugehen.

Diese Beobachtungen stehen in Uebereinstimmung mit den Erfahrungen, welche P. Schützenberger¹⁾ und W. Kühne²⁾ bei der Peptonisation der Eiweisskörper machten. Ersterer Forscher fand, dass Albumin bei längerem Sieden mit verdünnter Schwefelsäure nur zur Hälfte lösliche Producte (Peptone), zur anderen Hälfte unlösliches Hemiprotein liefert. Aehnlich wirkt, wie sich aus den umfassenden Untersuchungen W. Kühne's ergibt, Pepsinsalzsäure auf Eiweisskörper, deren Molekül unter dem Einflusse des Ferments in einen »Hemi- und Anticomplex« gespalten wird, von welchen nur ersterer durch die hydrolytische Wirkung des Pepsins in (Hemi-) Peptone zerfällt, während letzterer als »Antialbumid« (Schützenberger's Hemiprotein) nicht weiter verändert wird und erst durch ein anderes Ferment (Trypsin) bei Gegenwart von Alkali peptonisirt wird.

In meiner Mittheilung über »die Peptonsalze des Glutins« (l. c.) habe ich dargethan, dass nicht nur durch Einwirkung von Salzsäure auf Glutin, sondern auch durch künstliche Verdauung mit Magensaft alkohollösliche Peptonsalze erhalten werden können. Auch vom Eieralbumin aus kann man mittels desselben Fermentes zu alkohollöslichen Peptonchlorhydraten gelangen.

Schliesslich wurde auch käufliches Albuminpepton in den Kreis der Untersuchung gezogen und sein Verhalten gegen Salzsäure geprüft.

Salzsaures Eieralbumin.

Zur Darstellung einiger der nachstehend beschriebenen Peptonsalze verwendete ich das käufliche, geruchfreie Eieralbumin (Ph. G. III.), welches ungefähr 4 pCt. Asche enthält. Beim Auflösen der Peptonsalze in Alkohol bleibt der grössere Theil der anorganischen Bestand-

¹⁾ Bullet. de la soc. chim. 23, 161.

²⁾ Zeitschr. f. Biologie 19, 159, 22, 423.

theile ungelöst und man gelangt so direct zu ziemlich aschearmen Präparaten. Um aber Salze mit möglichst geringem Aschegehalt darzustellen, war es nothwendig, das Ausgangsmaterial von seinen anorganischen Bestandtheilen thunlichst zu befreien, was auf folgende Weise auch erreicht wurde: Das käufliche Eiweiss wurde in viel siedendes Wasser unter Umrühren eingetragen und die coagulirte Masse mit Salzsäure angesäuert. Nach dem Erkalten wurde die wässrige Flüssigkeit vom Ungelösten abgegossen und dieses mit salzsäurehaltigem Wasser in einem Kolben sich selbst überlassen. Diese Behandlung dauerte 2—3 Wochen, wobei von Zeit zu Zeit das angesäuerte Wasser durch neues ersetzt wurde. Auf diese Weise gelingt es, dem Albumin die Aschenbestandtheile bis auf einen minimalen Rest ohne erheblichen Materialverlust zu entziehen.

Es wurden 2 Präparate A und B dargestellt, welche nach der Behandlung mit angesäuertem Wasser einige Zeit mit Alkohol, dann mit Aether digerirt und bei 115° getrocknet wurden. Beide Präparate liessen sich nach dem Trocknen, wenn auch schwierig, pulverisiren. Sie lösten sich weder in verdünnten Mineralsäuren, noch in Sodaauslösung und erwiesen sich als Chlorhydrate des coagulirten Eialbumins.

	Präp. A.	Präp. B.
Analyse: Gef. Procente: C	50.55	49.66.
H	7.25	7.34.
HCl	3.49	3.35.
Asche	0.01	0.04.

Aus diesen Daten ergeben sich für die Zusammensetzung des salzsäurefreien Albumins folgende Zahlen:

	A.	B.
Procente: C	52.39,	51.41,
H	7.42	7.50.

Darstellung der Albuminpeptonchlorhydrate.

Wie schon Eingangs erwähnt, wird bei der Einwirkung der Salzsäure auf Eialbumin nur ungefähr die Hälfte in alkohollösliches Peptonsalz umgewandelt, während die andere Hälfte, welche sich auch in Wasser kaum löst, erst bei sehr andauernder Behandlung mit Chlorwasserstoffsäure zum grösseren Theil dieselbe Umwandlung erfährt. Je nach der Einwirkungsdauer der Salzsäure auf Albumin entstehen Peptonsalze mit mehr oder minder hohem Procentgehalt an Säure. Da die Löslichkeit dieser Salze in Methyl- und Aethylalkohol mit dem Gehalt an gebundener Säure zunimmt und ausserdem die untere Löslichkeitsgrenze für Methylalkohol viel tiefer liegt wie für Aethylalkohol, so hat man es annähernd in der Hand, Peptonsalze darzustellen, welche sich leicht nur in ersterem, schwer dagegen in letzterem Alkohol lösen, oder den Process so zu leiten, dass die Salze direct von Aethylalkohol aufgenommen werden.

Behufs Darstellung der Peptonsalze werden in einem Kolben 100 Th. Albumin mit 80 Th. conc. Salzsäure und 20 Th. Wasser ungefähr 3 Stunden auf dem Wasserbade unter öfterem Umschütteln erhitzt. Mit fortschreitender Einwirkung wird die Masse dickflüssig und färbt sich zunehmend dunkler. Gegen Ende des Erhitzens prüft man zeitweilig, ob sich eine am Glasstabe herausgenommene Probe in Methyl- bezw. Aethylalkohol löst. Ist das der Fall, so verdünnt man das Reactionsproduct mit viel Wasser und trennt das darin unlösliche Antialbumid (Hemiprotein) durch Coliren von der Flüssigkeit.

Die so erhaltene Peptonsalzlösung, welche ausserdem überschüssige Säure, anorganische Salze, geringe Mengen von Amidosäuren und färbende Producte enthält, wird in einer geräumigen Porzellanschale mit reinem, feingepulvertem Bleicarbonat bis zur Beendigung der Kohlensäureentwicklung versetzt und dabei auf dem Wasserbade unter Umrühren erhitzt. Durch diese Behandlung werden der Lösung die überschüssige, freie Säure und ein Theil der färbenden Beimengungen entzogen. Auch die durch zu weitgehende hydrolytische Wirkung gebildeten einfachen Amidosäuren etc. scheinen auf diese Weise in unlösliche Bleisalze übergeführt zu werden; wenigstens haben sich irgend erhebliche Mengen von Amidosäuren in den darauf untersuchten Peptonsalzen niemals gefunden (s. u.).

Die durch Filtration vom Bleirückstand getrennte warme Lösung scheidet beim Erkalten hellgraue, amorphe Kügelchen, je nach der Concentration in mehr oder minder reichlicher Menge ab. Diese bestehen neben Chlorblei aus einem in kaltem Wasser schwer löslichen salzsauren Albuminpeptonblei. Auch in der Lösung ist das Albuminpepton in dieser Form vorhanden. Man kann nun entweder die Lösung von dem abgeschiedenen Doppelsalz trennen und beide Theile gesondert in der nachfolgend zu beschreibenden Weise verarbeiten, oder man bringt das ausgefallene Peptonat durch Erwärmen wieder in Lösung und leitet zur Entfernung des darin enthaltenen Bleis Schwefelwasserstoff ein. Das ausfallende Schwefelblei reisst die noch in Lösung verbliebenen, färbenden Producte fast vollständig mit nieder, so dass das Filtrat farblos oder höchstens gelblich gefärbt erscheint. Die entfärbte Lösung wird auf dem Wasserbade eingeeengt. Sollte sie hierbei wieder dunkel werden, was von der Anwesenheit freier Salzsäure, vom gelösten Chlorblei stammend, herrührt, so muss sie nochmals mit etwas Bleicarbonat digerirt, filtrirt und wieder bleit werden. Das bis zur dickflüssigen Consistenz eingeengte Pepton-salz löst man hierauf in dem 5—6fachen Volumen Methyl- bezw. Aethylalkohol und filtrirt von geringen organischen und anorganischen Beimengungen ab. Die Isolirung des reinen Peptonchlorhydrats ge-

schieht in der beim salzsauren Glutinpepton beschriebenen Weise¹⁾ entweder durch wiederholtes Fällen mit Aether und Wiederauflösen in Alkohol, bis der Niederschlag in weissen, käsigen Flocken ausfällt, oder durch Abdestilliren des Lösungsmittels im Vacuum bei 100°, wobei sich das Salz schliesslich in eine schwach gelblich gefärbte, blaseige, spröde Masse umwandelt. Man erhält so das Salz in fast quantitativer Ausbeute, das heisst, die Menge entspricht etwas mehr als der Hälfte des in Arbeit genommenen Albumins.

Die Gewinnung des trockenen Salzes nach der ersten Methode (Fällung mit Aether) ist mit grossen Verlusten verbunden und auch wegen der enormen Hygroskopicität der Salze bei grösseren Mengen kaum anwendbar.

Die Peptonsalze entstehen nicht nur durch Einwirkung conc. Salzsäure auf Albumin in der Wärme, sondern, wie zu erwarten war, auch bei Zimmertemperatur, nur beschränkt sich dann die Einwirkungsdauer nicht auf wenige Stunden, sondern nimmt viele Tage (2—3 Wochen) in Anspruch.

Nachstehend folgen die analytischen Ergebnisse einer Reihe von Peptonsalzen, welche nach den eben beschriebenen Methoden dargestellt wurden. Die angeführten Procentzahlen für Chlorwasserstoff, Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff und Schwefel beziehen sich sämtlich auf aschefreie Substanz.

Salzsaures Albuminamphopepton I

wurde dargestellt durch Einwirkung conc. Salzsäure auf käufliches Albumin. Dauer der Einwirkung 3 Wochen.

Nach Verlauf dieser Zeit war die Mischung dünnflüssig und äthylalkohollöslich geworden. Es war demnach nicht nur die Hemi-, sondern auch die Antigruppe peptonisirt worden. Die Reindarstellung geschah in der angegebenen Weise mit Bleicarbonat. Das Salz wurde durch wiederholtes Auflösen in Alkohol und Fällen mit Aether als weisse, zerreibliche Masse erhalten und bei 100° in vacuo vollständig getrocknet. Leicht löslich in abs. Methyl- und Aethylalkohol in der Kälte. Ausbeute gering.

Analyse: Gef. Procente: Asche 2.47, HCl 15.06.

Salzsaures Albuminhemipepton II.

Durch 2½stündige Digestion von käuflichem Albumin mit Salzsäure dargestellt.

Es wurde wie alle nachfolgend erwähnten Salze durch Erhitzen der alkoholischen Lösung im Vacuum bei 100° in fester Form erhalten. Leicht löslich in beiden Alkoholen. Ausbeute quantitativ.

Analyse: Gef. Procente: Asche 0.82, HCl 14.13, C 43.08, H 6.77.

¹⁾ Diese Berichte 25, 1204.

Salzsaures Hemipepton III.

Wie Salz II dargestellt. Dauer des Erhitzens auf dem Wasserbade 3 Stunden.

Aus 100 g käufl. Albumin wurden 60 g Peptonsalz erhalten, löslich in beiden Alkoholen.

Analyse: Gef. Procente: Asche 0.83, HCl 16.58, C 40.99, H 6.65.

Salzsaures Hemipepton IV.

In Methyl- und Aethylalkohol löslich.

Analyse: Gef. Procente: I. Asche 1.48, HCl 19.72, C 36.73, H 6.69.

» » II. » — » 19.88, » 37.00, » 6.53.

Salzsaures Hemipepton V

wurde aus dem oben beschriebenen, fast aschefreien salzsauren Albumin A durch 3stündiges Erwärmen mit conc. Salzsäure dargestellt. Aus 100 g Albuminchlorhydrat wurden 54 g Peptonsalz erhalten, welches sich leicht in kaltem Methylalkohol, schwer und unvollständig in Aethylalkohol löste. In letzterem löst es sich vollkommen erst beim Erwärmen.

Analyse: Gef. Procente: I. Asche 0.24, HCl 11.79, C 42.53, H 6.54,

» » II. » — » — » 42.44, » 6.65.

Salzsaures Antipepton V.

Durch anhaltendes Erwärmen des bei der Darstellung des vorhergehenden Salzes erhaltenen Antialbumids mit conc. Salzsäure dargestellt. Ausbeute 20 g Salz, entsprechend 40 pCt. der Theorie. Es löst sich leicht in Methylalkohol. Von Aethylalkohol wird es bis auf einen geringen Rest ebenfalls schon in der Kälte leicht aufgenommen.

Analyse: Gef. Procente: Asche 0.43, HCl 12.93, C 42.67, H 6.77.

Salzsaures Hemipepton VI, a und b.

Aus 50 g Albuminchlorhydrat B (s. o.) durch Behandlung mit conc. Salzsäure bei Zimmertemperatur bereitet. Die Einwirkung dauerte 17 Tage. Nach der zweiten Behandlung mit Bleicarbonat wurde eine schwach gelb gefärbte, salzsaure Peptonbleilösung erhalten, welche beim Abkühlen eine reichliche Ausscheidung von hellgrauen, amorphen Kügelchen des Bleidoppelsalzes lieferte. Es wurde abfiltrirt, in heissem Wasser gelöst, entbleit und eingedampft. Das so erhaltene Salz VI, a wog 5 g und löste sich in der Kälte in beiden Alkoholen.

Analyse: Gef. Procente: Asche 0.17, HCl 11.38, C 45.20, H 6.73.

Die Hauptmenge des Peptonsalzes befand sich als leichtlösliches Bleisalz im Filtrate vom vorstehend erwähnten, schwer löslichen Doppelsalze. Die Ausbeute an Peptonsalz VI, b betrug 20 g. Auch dieses Salz erwies sich leichtlöslich in beiden Alkoholen.

Analyse: Gef. Procente: I. Asche 0.06, HCl 14.54, C 42.48, H 6.91.

» » II. » — » 14.74, » 42.32, » 6.89.

Aus den Analysen der Salze II—VI ergibt sich für die betreffenden freien Peptone, abzüglich Asche und Salzsäure, folgende procentische Zusammensetzung:

	II.	III.	IV.		V.		a.	VI.	
			1.	2.	Hemi.	Anti.		1.	2.
C	50.20,	49.25,	45.97,	46.31,	48.13,	49.08,	51.04,	49.78,	49.86 pCt.
H	7.42,	7.48,	7.69,	7.49,	7.18,	7.38,	7.25,	7.63,	7.61 »

Diese Zahlen stehen in guter Uebereinstimmung mit denjenigen, welche bei der Analyse der aus den Salzen isolirten freien Peptone gefunden wurden (s. u.).

Eigenschaften und Verhalten der Peptonsalze.

Die Albuminpeptonchlorhydrate, welche durch wiederholtes Fällen ihrer alkoholischen Lösungen mit Aether und Trocknen im luftverdünnten Raum über Schwefelsäure erhalten wurden, bilden weisse oder höchstens schwach gelb gefärbte, leicht zerreibliche Massen. Aus ihren alkoholischen Lösungen durch Erhitzen im Vacuum bei 100° erhält man sie in spröder, blasiger Form. Diese Präparate sind gelb bis schwach bräunlich gefärbt; beim Zerreiben zerfallen sie in kleine, glänzende Lamellen. Sie besitzen, gleichviel auf welche Weise dargestellt, eine dem Phosphorsäureanhydrid gleichkommende Hygroskopicität, welche diejenige der Glutinpeptonsalze (loc. cit.) noch erheblich übertrifft. Die Hygroskopicität nimmt mit steigendem Gehalt an gebundener Säure stetig zu. Um daher die Salze für die Analyse genau abzuwägen zu können, sind besondere Vorsichtsmaassregeln nothwendig. Das Salz wurde möglichst rasch in ein geräumiges Platinschiffchen eingefüllt und dieses in ein Wägegläschen gegeben, welches aus zwei ineinander verschiebbaren, möglichst dicht schliessenden Glasröhren besteht. Wägeglas und Schiffchen werden vor dem Einfüllen der Substanz miteinander gewogen. Da aber die Substanz während des Einbringens in das Schiffchen erhebliche Mengen Wasser anzieht, so muss sie vor der Wägung bei 100° im luftleeren Raum getrocknet werden. Dazu diente ein dem Liebig'schen Kühler nachgebildeter Apparat¹⁾, in welchen das innere Rohr des Wägegläschens sammt dem darin liegenden, mit Substanz gefüllten Schiffchen rasch eingeführt und nun ungefähr $\frac{3}{4}$ Stunden im luftleeren Raum bei der Temperatur des siedenden Wassers erhitzt wird. Die Wägung der getrockneten Substanz sammt Schiffchen geschah nach dem Abkühlen im verschlossenen Wägeglas. Auf diese Weise kommt

¹⁾ Ich habe die Absicht, an anderer Stelle eine nähere Beschreibung dieses einfachen, für Analysenzwecke brauchbaren Apparates zu geben, welcher die Anwendung jeder beliebigen Heizflüssigkeit bis zu Temperaturen über 200° gestattet.

die Substanz nur während ein paar Secunden beim Einschieben des Schiffchens in das Verbrennungsrohr mit der freien Luft in Berührung.

Die Peptonchlorhydrate lösen sich in jedem Verhältniss mit gelblicher Farbe in Wasser, leicht auch in Eisessig, mässig in siedendem Phenol.

Was ihre Löslichkeit in den aliphatischen Alkoholen anbelangt, so gilt der in der Mittheilung über die Glutinpeptonsalze ausgesprochene Satz ¹⁾: Die Löslichkeit eines Peptonsalzes in den homologen Alkoholen wächst mit abnehmendem Moleculargewicht der letzteren.

Die Peptonsalze zeigen ebenso wenig wie die freien Peptone einen Schmelzpunkt. In trockenem Zustande lassen sie sich ohne Veränderung auf circa 130° erhitzen.

Sie schmecken im Gegensatz zu den Leimpeptonsalzen säuerlich-käseartig und erzeugen einen intensiv bitteren Nachgeschmack.

Die wässrigen Lösungen der Albuminpeptonsalze geben keine Fällung mit Ferrocyankalium und Essigsäure, dagegen zeigen sie die Biuret-Xanthoprotein- und Millon'sche Reaction.

Phosphorwolframsäure bringt in den wässrigen Salzlösungen eine reichliche, aber unvollständige, weisse, käsige Fällung hervor.

Im Gegensatz zu den Glutinpeptonsalzen, welche mit Sublimat ausschliesslich lösliche Doppelsalze geben ²⁾, erzeugt dieses Reagens in wässrigen Albuminpeptonsalzlösungen flockige Ausscheidungen, zum mindesten starke Trübungen. Die überwiegende Menge des Salzes bleibt allerdings auch als Sublimatdoppelsalz in Lösung. Nur das Peptonsalz IV blieb auf Zusatz von Sublimat vollkommen klar. Mischt man alkoholische Lösungen der Salze mit einer ebensolchen Sublimatlösung im Ueberschuss, so wird ein Theil des Peptonsalzes ebenfalls als Doppelsalz gefällt.

Dass die vorstehend beschriebenen Salze zum grössten Theil, in einem Falle sogar ausschliesslich, aus reinen Peptonen im Sinne Kühne's bestehen, ergibt sich aus ihrem Verhalten gegen Kochsalz und Ammonsulfat und aus den Moleculargewichtsbestimmungen (s. u.).

Das Salz IV mit ungewöhnlich hohem Gehalt von gebundener Säure (fast 19 pCt.) wird aus der wässrigen Lösung weder beim Sättigen mit Kochsalz, noch mit Ammonsulfat auch nur im Geringsten getrübt.

Zusatz von Säure oder Alkali bewirkt darin keine Veränderung. In den Lösungen der übrigen Salze wurden durch obige Fällungsmittel theils flockige, theils sich zu Klümpchen ballende Niederschläge erhal-

¹⁾ Diese Berichte 25, 1216.

²⁾ Diese Berichte 25, 1217.

ten, deren Menge aber stets unbeträchtlich war. Der weitaus grösste Theil des Salzes bleibt in der gesättigten Ammonsulfatlösung.

Ansäuern der mit Kochsalz oder Ammonsulfat gesättigten Lösungen mit Essigsäure, Salz- oder Salpetersäure ergab niemals Fällung oder Vermehrung eines schon vorhandenen Niederschlages. Begreiflicher Weise, denn der Zusatz von Säure oder Alkali zu den Lösungen der freien Peptone, mit denen Kühne operirte, bewirkt die Bildung von in den betreffenden gesättigten Salzlösungen schwerer löslichen Säure- oder Alkalisalzen der Peptone; daher Eintritt oder Vermehrung einer Fällung auf Zusatz der genannten Reagentien. Da meine Präparate die Peptone in Form von Salzen enthalten, so konnte ein Zusatz von Säure keine Veränderung in den Lösungen hervorbringen.

Bemerkenswerth ist die überaus grosse Festigkeit, mit welcher die Salzsäure an die Albuminpeptone gebunden ist und welche diejenige der Glutininpeptonsalze bei weitem übertrifft. Die wässrigen Lösungen der Albuminpeptonsalze röthen Lackmus, enthalten aber keine freie Säure, denn man kann wässrige Peptonsalzlösungen von bestimmtem Säuregehalt beliebig lange kochen und eindampfen, ohne dass sich bei der nachfolgenden Analyse irgend eine Abnahme der Säuremenge bemerkbar macht. Auch konnte durch die Phloroglucin-Vanillinprobe (Günzburg's Reagens) niemals freie Säure in den Lösungen nachgewiesen werden.

Von Silbernitrat werden die wässrigen Albuminpeptonsalzlösungen gar nicht oder nur zum Theil gefällt. Manche Lösungen, wie die der Salze VI a und b bleiben fast ganz klar, bei anderen war ein Niederschlag bemerkbar, so bei Salz IV. Erst auf Zusatz von Salpetersäure tritt ein Niederschlag, bezw. eine Vermehrung desselben auf. Diese Fällungen bestehen aber keineswegs aus reinem Chlorsilber, sondern der Hauptsache nach aus einem silberhaltigen Pepton Doppelsalz, welches sehr lichtempfindlich und in viel Wasser bis auf eine geringe Trübung löslich ist.

Um eine quantitative Bestimmung der an die Peptone gebundenen Salzsäure ausführen zu können, muss das abgewogene Salz in ein paar Tropfen Wasser gelöst, conc. Silberlösung und ein reichlicher Ueberschuss von conc. Salpetersäure zugegeben und längere Zeit gekocht werden. Erst nach Oxydation des Peptonsalzes ist sämmtliches Chlor an Silber gebunden.

In der Mittheilung über Glutininpeptonsalze¹⁾ habe ich nachgewiesen, dass diese Verbindungen in wechselnder Menge Chlorhydrate von Peptonestern enthalten, welche sich während des zur Gewinnung der Salze in fester Form nothwendigen wiederholten Erhitzens mit abs. Alkohol im luftverdünnten Raume bilden. Da dieses Verfahren

¹⁾ Diese Berichte 25, 1208.

auch zur Darstellung der Albuminpeptonsalze, mit Ausnahme des Salzes I, angewendet wurde, so war zu erwarten, dass auch in ihnen das Pepton wenigstens theilweise esterificirt worden sei. In der That ergab eine qualitative Prüfung des Salzes III ein positives Resultat. Es wurde daher in 2 Präparaten, und zwar im Antisalz V und im Salz VI b, der durch Verseifung mit Natronlauge abspaltbare Alkohol nach dem in der erwähnten Abhandlung angegebenen Verfahren quantitativ bestimmt. Da ersteres Salz mit Methyl-, letzteres mit Aethylalkohol zur Trockne gebracht worden war, so mussten in jenem Methyl-, in diesem Aethylester enthalten sein.

	V, Anti.	VI b.
Analyse: Gef. Procente:	CH_3OH 1.90,	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ 4.67.
» »	CH_2 0.83,	C_2H_4 2.85.

Im Vergleich zu den Glutinpeptonsalzen, von denen einzelne 10—11 pCt. Alkohol bei der Verseifung lieferten, ist der Gehalt an Estern in obigen Salzen unbedeutend. Ob sich durch wiederholte Behandlung der Salze mit Alkohol bei Gegenwart von Salzsäure eine vollständige Esterificirung erreichen lässt, ist noch nicht versucht worden.

Dass in den Estern Peptonderivate vorliegen und sie nicht etwa aus dem Peptonsalz beigemengten einfachen Amidosäuren entstanden sind, konnte dadurch nachgewiesen werden, dass verschiedene Präparate nach der Methode von Curtius¹⁾ diazotirt wurden. Dabei wurden nie mehr als höchstens Spuren von Diazoestern isolirt. Nennenswerthe Quantitäten von aus dem Albumin durch zu weit gehende Spaltung entstandenen Amidosäuren waren demnach in den untersuchten Peptonsalzen nicht vorhanden.

Dialyse des Peptonsalzes II.

Bei der grossen Aehnlichkeit zwischen den Albumin- und Glutinpeptonsalzen war zu erwarten, dass sich auch erstere durch Dialyse in Salze von verschiedenem Säuregehalt zerlegen lassen würden. 8 g des Salzes II wurden in 60 g Wasser gelöst und in einem kleinen Dialysator der Diffusion gegen ungefähr $\frac{3}{4}$ Liter Wasser unterworfen. Das Aussenwasser wurde am 2. und 3. Tage erneuert.

Am Morgen des 4. Tages wurden die Dialysate in einer geräumigen Platinschale eingedampft. Das diffundirte Salz bildete eine in Aethylalkohol leicht lösliche, dicke Flüssigkeit, welche in vacuo bei 100^0 zur Trockne gebracht wurde. Das so in Gestalt einer gelben, porösen Masse erhaltene Salz wog annähernd 7 g

Das im Dialysator verbliebene, nicht diffundirte Salz erwies sich nach dem Eindampfen in absolutem Aethylalkohol unlöslich. Es

¹⁾ Journ. für prakt. Chem. 38, 401.

wurde aus concentrirter, wässriger Lösung durch ätherhaltigen Alkohol gefällt und ebenfalls im Vacuum bei 100° getrocknet. Ausbeute etwas weniger als 1 g.

Das Peptonsalz II enthielt:	Procente:	Asche	0.82,	HCl	14.13 (s. o.).
Das nicht diffundirte Salz gab:	»	»	1.04,	»	10.52.
Das diffundirte Salz lieferte:	»	»	0.87,	»	14.87.

Es war somit, wie bei den Glutinpeptonsalzen¹⁾, durch die Dialyse eine Trennung des Salzes II in zwei Salze von verschiedenem Säuregehalt und verschiedener Löslichkeit in Alkohol bewirkt worden. Wie schon für die Glutinpeptonsalze nachgewiesen und wie für die Albuminpeptonsalze weiter unten gezeigt werden soll (s. Moleculargewichtsbestimmungen), steht der Säuregehalt der Peptonsalze im umgekehrten Verhältniss zur Grösse ihrer Moleculargewichte.

Durch die Dialyse wird demnach eine Trennung der hochmolecularen und schwerer diffundirbaren Propeptonsalze von den eigentlichen Peptonsalzen mit niedrigem Moleculargewicht erzielt.

Darstellung der freien Albuminpeptone aus ihren Chlorhydraten.

Die freien Peptone lassen sich aus den mit etwas Schwefelsäure versetzten, verdünnten, wässrigen Peptonsalzlösungen durch Phosphorwolframsäure abscheiden. Der aus dem Salz II erhaltene Niederschlag von phosphorwolframsaurem Pepton wurde filtrirt, mit stark verdünnter Schwefelsäure gut ausgewaschen und mit reinem Barythydrat bei gelinder Wärme zerlegt. Aus dem schwach gelblich gefärbten Filtrat vom phosphorwolframsauren Baryt entfernt man zuerst den Barythydratüberschuss durch Einleiten von Kohlensäure. Die Lösung enthält jetzt nur das Barytsalz des Albuminpeptons, aus welchem das Baryum mit verdünnter Schwefelsäure genau ausgefällt wird. Die eingeeengte Peptonlösung wird unter Schütteln in einen grossen Ueberschuss von ätherhaltigem Alkohol eingetröpfelt und so die Base in Gestalt eines weissen Pulvers erhalten. Die Ausbeute war gering, da durch Phosphorwolframsäure nur ein Theil des Peptons gefällt wird und der Niederschlag nicht ganz unlöslich ist.

Pepton II.

Analyse: Gef. Procente: C 49.96, H 7.94.

Weit bessere Ausbeuten an freiem Pepton erhält man bei Benutzung der zuerst von mir bei den Glutinpeptonsalzen²⁾ angewendeten Methode der Umsetzung der Salze mit Silbersulfat. Es wurden die Salze III (Hemi) und V (Hemi) auf diese Weise in die freien Basen übergeführt.

¹⁾ Diese Berichte 25, 1214.

²⁾ Diese Berichte 25, 1230.

Das Salz wurde in der 10fachen Menge heissen Wassers gelöst und feingepulvertes Silbersulfat in kleinen Antheilen unter Schütteln und Erwärmen so lange eingetragen, bis Silber in der Lösung nachweisbar ist. Das Silbersulfat setzt sich mit dem Chlorhydrat in Chlorsilber und Peptonsulfat um. Man filtrirt vom Niederschlage und entfernt aus dem Filtrat geringe Mengen gelösten Silbers durch Schwefelwasserstoff.

Da sich die ursprünglich schwach gelb gefärbten Lösungen der Salze während der Umsetzung mit Silbersulfat dunkel gefärbt hatten, so wurde zur Entfernung der färbenden Producte derselbe Weg eingeschlagen, welchen ich bei der Darstellung der Chlorhydrate benutzte.

Die eine Lösung (III) wurde nach dem Ausfällen des gelösten Silbers durch Schwefelwasserstoff und Verjagen des letzteren mit reinem Bleicarbonat auf dem Wasserbade digerirt, wobei eine beträchtliche Menge Blei in Lösung ging.

Leitet man nun in das Filtrat Schwefelwasserstoff ein, so reisst das ausfallende Schwefelblei die färbenden Beimengungen mit sich nieder, so dass das Filtrat meist nur mehr schwach gelb gefärbt erscheint. Da durch die Behandlung mit Bleicarbonat auffallender Weise die an das Pepton gebundene Schwefelsäure nicht entfernt wird, so muss sie aus dem entbleiten Filtrat durch vorsichtigen Zusatz von Barytwasser gefällt werden. Das Filtrat davon, in welchem weder Chlor, noch Schwefelsäure, noch Baryt enthalten sein darf, engt man ein und fällt das Pepton mit Alkohol und wenig Aether. Das reine Pepton wird so in weissen Flocken oder gelblichen Gerinnseln abgeschieden, welche abfiltrirt, mit Aether gewaschen und bei 100° in vacuo getrocknet werden.

Die andere Peptonsalzlösung (V) wurde direct nach der Behandlung mit Silbersulfat, ohne dass das in Lösung gegangene Silber vorher ausgefällt wurde, mit Bleicarbonat behandelt, filtrirt und das gelöste Blei mit dem Silber zugleich durch Schwefelwasserstoff niedergeschlagen. Die weitere Verarbeitung geschah in der vorstehend angegebenen Art. Die Ausbeuten sind nicht wie bei den Glutinpeptonen quantitativ, sondern betragen 70—80 pCt. der theoretischen Menge.

	Hemipepton III.	Hemipepton V.
Analyse: Gef. Procente:	Asche 1.39	0.85.
» »	C 48.91	49.27.
» »	H 7.37	7.29.
» »	N 15.32	14.72.

(Die Procentzahlen von C, H und N beziehen sich, wie in allen Analysen, auf aschefreie Substanz.)

Sowohl das mit Phosphorwolframsäure, wie auch die durch Wechselersetzung mit Silbersulfat dargestellten Präparate zeigen die bekannten Peptonreactionen:

Fällung durch Phosphorwolframsäure, Sublimat und Gerbsäure, ferner die Biuret-Xanthoprotein- und Millon'sche Reaction.

Werden die wässrigen Lösungen der 3 Peptone (II, III und V) mit Kochsalz gesättigt, so tritt keine Trübung ein. Eine solche oder eine geringe, flockige Ausscheidung macht sich erst auf Zusatz von etwas Essig- oder Salpetersäure bemerkbar. Ebenso verhält sich die Peptonlösung beim Sättigen mit Ammonsulfat. Es werden dadurch geringe Mengen kleiner Klümpchen abgeschieden, die Hauptmenge des Peptons bleibt in Lösung. Die freien Peptone erwiesen sich etwas weniger hygroskopisch wie ihre Salze. Sie sind schwer in Methyl-, fast unlöslich in Aethylalkohol.

Darstellung von Baryumsalzen der Albuminpeptone.

Bei der Umsetzung zwischen Peptonchlorhydrat und Silbersulfat entstehen, wie schon erwähnt, Chlorsilber und Peptonsulfat. Wird dieses mit einem Ueberschuss von Barythydrat behandelt, so wird sämtliche Schwefelsäure gefällt, in Lösung bleibt Peptonbaryum neben freiem Barythydrat, welches letzteres durch Kohlensäure entfernt wird. Zur Darstellung der Baryumpeptonate wurden die Chlorhydrate V (Hemi) und VI b gewählt. Nach vollzogener Umsetzung mit schwefelsaurem Silber wird die geringe in Lösung gegangene Menge Silber durch Schwefelwasserstoff entfernt und das Filtrat nach dem Verflüchtigen des letzteren mit reinem Aetzbaryt im Ueberschuss digerirt. In das Filtrat vom Baryumsulfat wurde zur Entfernung des überschüssigen Barythydrats Kohlensäure eingeleitet, wieder filtrirt und auf dem Wasserbade zur Trockne eingedampft. Der Rückstand erwies sich zum grössten Theil in Wasser leicht löslich. Der unlösliche Theil bestand aus kohlensaurem Baryum, welches sich erst während des Eindampfens abgeschieden hatte. Die von diesem getrennte und eingeengte Peptonbaryumlösung wurde durch viel Alkohol in weissen Flocken gefällt, welche, mit Aether ausgewaschen und bei 100° in vacuo getrocknet, eine weisse, feinpulverige, in Wasser leicht und vollkommen lösliche Masse darstellten. Die Salze sind etwas hygroskopisch und geben, wie zu erwarten war, die bekannten Peptonreactionen.

Die Ausbeuten sind sehr befriedigend. Aus je 10 g der beiden Chlorhydrate wurden 8.5, bezw. 9 g Barytsalz gewonnen.

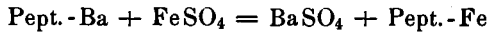
Peptonbaryum V. Peptonbaryum VI, b.

Analyse: Gef. Procente: Ba 16.05 16.43.

Auffallend ist die nahe Uebereinstimmung im Barytgehalt der beiden von verschiedenem Ausgangsmaterial stammenden Salze. Ich habe Grund, anzunehmen, dass diese Uebereinstimmung eine zufällige ist; doch werden weitere Versuche darüber hoffentlich sicheren Aufschluss geben.

Baryumpeptonat in wässriger Lösung wird durch Zink-, Kupfer- und Ferrosalze nicht gefällt.

Versetzt man nach der Gleichung:



eine Barytpeptonlösung mit einer genau äquimolecularen Menge Eisenvitriol, so erhält man eine reine Lösung von Ferropepton. Dieselbe ist bei Luftabschluss beständig; der Luft ausgesetzt, scheidet sich in ziemlich kurzer Zeit alles Eisen als Hydroxyd ab und es restirt eine Lösung von freiem Pepton.

Auf Zusatz von Silbernitrat zu einer wässrigen Baryumpeptonatlösung fällt Silberpeptonat als hellgelber, ziemlich lichtbeständiger, flockiger Niederschlag aus. Aehnliche Eigenschaften zeigt das durch Umsetzung mit Bleiacetat erhaltene Bleipeptonat.

Das Quecksilberpeptonat, aus dem Barytsalz und Sublimat dargestellt, fällt in fast weissen, amorphen Flocken aus. Es unterscheidet sich von dem durch Fällung von Peptonlösungen mit Sublimat erhaltenen Quecksilberchloriddoppelsalz, welches häufig fälschlich auch »Quecksilberpeptonat« genannt wird, durch seine chemische Zusammensetzung.

Schwefelsaures Albuminpeptonblei.

Bei Beschreibung der Darstellung freier Peptone aus ihren Salzen wurde erwähnt, dass der nach der Einwirkung des Silbersulfats dunkel gefärbten Lösung die färbenden Beimengungen durch Behandlung mit Bleicarbonat entzogen wurden. Bei dieser Behandlung nimmt das als Sulfat in der Lösung vorhandene Pepton nicht unbeträchtliche Mengen Blei auf, ohne dass jedoch hierbei, wie man erwarten durfte, die an das Pepton gebundene Schwefelsäure als unlösliches Bleisulfat abgeschieden wurde.

Es zeigte sich vielmehr, dass nach der behufs Entfernung des Farbstoffs vollzogenen Ausfällung des gelösten Bleis die Peptonlösung noch immer gebundene Schwefelsäure enthielt. Dem Pepton musste demnach die Fähigkeit zukommen, sich gleichzeitig mit Schwefelsäure und Blei zu einem wasserlöslichen Salze zu verbinden.

Zur Darstellung dieses eigenartigen Salzes wurden 15 g salzsaures Hemi-pepton V in heisser, wässriger Lösung mit Silbersulfat umgesetzt, vom Chlorsilber abfiltrirt, durch Schwefelwasserstoff das in Lösung gegangene Silber gefällt und das Filtrat nach Verflüchtigung des Schwefelwasserstoffs mit Bleicarbonat digerirt. Da sich das bleihaltige Filtrat auf dem Wasserbade dunkel färbte, wurde das Blei wieder gefällt und die vom Niederschlage getrennte, jetzt hell gefärbte Lösung abermals mit kohlen-saurem Blei erwärmt. Das Filtrat liess sich nun ohne merkliche Veränderung in der Farbe auf dem Wasserbade einengen. Die concentrirte Lösung wurde mit viel Alko-

hol gefällt, wobei sich die neue Verbindung in feinen weissen Flocken abschied, welche nach dem Waschen mit Alkohol und Aether bei 100° in vacuo getrocknet wurden. Ich erhielt so 5 g des Salzes (Fract. I). Das alkoholische Filtrat davon wurde eingedampft, der Rückstand in wenig Wasser gelöst und mit ätherhaltigem Alkohol gefällt. Die Fällung bestand aus weissen Flocken (Fract. II). Ausbeute 2.5 g. In beiden Fractionen wurden der Blei- und Schwefelsäuregehalt ermittelt.

	Fr. I	Fr. II
Analyse: Gef. Procente: Pb	10.53,	1.27.
» » H ₂ SO ₄	7.46,	2.81.

Im ersten Salze sind der Analyse zufolge auf 3 Moleküle Schwefelsäure 2 Atome Blei, im zweiten auf 5 Moleküle Schwefelsäure 1 Atom Blei enthalten.

Die Verbindungen sind etwas hygroskopisch und lösen sich sehr leicht schon in ganz wenig Wasser. Die Lösungen sind hell gelbbraun gefärbt; sie können gekocht werden, ohne dass eine Zersetzung eintritt.

Natronlauge bewirkt keine Fällung. Ammoniak, Soda und Natriumphosphat erzeugen schwache, flockige Niederschläge, die sich im Ueberschuss des Fällungsmittels fast vollständig wieder lösen.

Mit Salzsäure und Salpetersäure entsteht ein im Säureüberschuss löslicher, feinpulveriger Niederschlag. Schwefelsäure verhält sich ebenso, nur ist der entstandene Niederschlag in einem Ueberschuss der Säure nicht mehr löslich.

Darstellung von Peptonchlorhydraten durch künstliche Verdauung des Albumins mit Magensaft.

In der Mittheilung über die Peptonsalze des Glutins wurde gezeigt¹⁾, dass sich dieselben auch durch künstliche Verdauung mit Pepsin-Salzsäure aus Gelatine darstellen lassen. Die so erhaltenen Producte zeigten sich in heissem, absoluten Methylalkohol löslich, beim Erkalten schied sich der schwerer lösliche, säurearme Theil des Peptonsalzes ab, während die Hauptmenge auch in der Kälte gelöst blieb.

Ein ganz ähnliches Verhalten fand ich auch bei den Producten der künstlichen Verdauung des Eieralbumins. Bekanntlich wird durch Pepsinsalzsäure nur der Hemicomplex des Eiweissmoleküls relativ rasch peptonisirt, während die Antigruppe einer weitergehenden Hydrolyse widersteht. Es war daher zu erwarten, dass, wie bei Einwirkung concentrirter Salzsäure, auch durch Magensaft das Albumin zur Hälfte in alkohollösliche Hemi-Peptonsalze, zur anderen Hälfte in den Anti-

¹⁾ loc. cit. S. 1223.

complex enthaltende, unlösliche Producte gespalten würde. Diese Erwartung habe ich auch bestätigt gefunden.

Als Ausgangsproduct diente käufliches Eieralbumin (Ph. g. III), auf welches gereinigter, wirksamer Schweinemagensaft 5—6 Tage einwirkte.

Hr. Prof. Dr. Fleischer hatte die Güte, die Verdauungsversuche im Laboratorium des hiesigen Universitäts-Krankenhauses für mich ausführen zu lassen, wofür ich auch an dieser Stelle herzlich danke.

Versuch a. 20 g Albumin wurden während 5 Tagen der künstlichen Verdauung unterworfen. Wenn sich in einer Probe durch das Günzburg'sche Reagens keine freie Salzsäure mehr nachweisen liess, wurde die Mischung mit verdünnter Salzsäure jedesmal wieder sauer gemacht.

Gegen Ende des 5. Tages erhielt ich die Lösung zur weiteren Verarbeitung. Sie wurde von geringen Mengen nucleinhaltiger Flocken abfiltrirt, eingeengt und wiederholt mit etwas Methylalkohol im Vacuum bei 100° erhitzt. Auf diese Weise konnten die letzten Mengen Wasser entfernt und das Präparat als spröde, gelbliche, poröse Masse erhalten werden. Die Menge desselben war, wie zu erwarten, etwas grösser als die des angewandten Albumins. In Aethylalkohol erwies sich die Substanz fast unlöslich. Sie wurde daher mit absol. Methylalkohol digerirt, vom Ungelösten abfiltrirt und die Lösung bei 100° im luftverdünnten Raum zur Trockne gebracht. Das so erhaltene

Hemipeptonsalz VII

unterschied sich im Aussehen nicht von dem vorstehend erwähnten Präparat aus welchem es durch Methylalkohol extrahirt worden war. Es ist in diesem Lösungsmittel schon in der Kälte leicht und vollständig löslich. Die Ausbeute betrug 12 g, demnach genau die der Theorie entsprechende Menge unter der Voraussetzung, dass nur die Hälfte des Albumins peptonisirt wurde.

Analyse: Gef. Procente: Asche 2.28, HCl 10.35.

Der in Methylalkohol lösliche Antheil wurde nicht weiter untersucht.

Versuch b. 60 g Albumin wurden wie in Versuch a verdaut. Die Einwirkung dauerte 6 Tage. Die Verarbeitung führte ich in der vorstehend beschriebenen Weise durch. Es wurden, der Theorie entsprechend, 32 g

Hemipeptonchlorhydrat VIII

erhalten. Es war wie das Salz VII in Aethylalkohol fast unlöslich, leicht dagegen in kaltem Methylalkohol. (Ueber die Verarbeitung des in Methylalkohol unlöslichen Antheils s. u.).

Analyse: Gef. Procente: Asche 2.90, HCl 11.71, C 44.49, H 6.39.

Aus diesen Daten ergibt sich die Zusammensetzung des freien Peptons abzüglich Asche und Salzsäure zu C 50.58 pCt. und H 6.89 pCt.

Die beiden Salze VII und VIII zeigen die für die Peptone charakteristischen Reactionen. Ihre wässrigen Lösungen werden durch Sättigen mit Kochsalz und Ammonsulfat nur zum Theil gefällt, enthalten also neben dem eigentlichen Peptonsalz auch Albumosensalze. Sie sind ziemlich hygroskopisch und besitzen einen säuerlich-käseartigen Geschmack. Der intensiv bittere Nachgeschmack der mittels conc. Salzsäure dargestellten Peptonsalze macht sich bei den Salzen VII und VIII nur wenig geltend. Im Uebrigen sind sie aber von ersteren nicht zu unterscheiden. Irgend nennenswerthe Beimengungen von Amidosäuren konnten durch die Curtius'sche Diazoreaction nicht nachgewiesen werden.

Dialyse des Salzes VIII.

Um ein zur Moleculargewichtsbestimmung (s. u.) geeignetes, möglichst aschearmes Präparat zu erhalten, wurde das Salz VIII der Dialyse unterworfen. Freilich war zu gewärtigen, dass neben den anorganischen Bestandtheilen auch erhebliche Mengen des säurereichen Peptons diffundiren und im Dialysator ein säurearmes Propeptonsalz zurückbleiben würde.

12 g des Salzes VIII wurden in 50 g Wasser gelöst und während $1\frac{1}{2}$ Tagen in ungefähr $\frac{3}{4}$ Liter destillirtes Wasser diffundiren gelassen. Das Aussenwasser wurde einmal erneuert. Die im Dialysator verbliebene, eingeengte Lösung ergab nach dem Erhitzen mit Methylalkohol und Trocknen bei 100° im Vacuum das

Salz IX,

welches in kaltem Methylalkohol leicht und vollkommen löslich war. Es ist etwas weniger hygroskopisch wie das Ausgangsproduct. Die Ausbeute betrug 8 g.

Analyse: Gef. Procente: Asche 0.11, HCl 7.66, C 46.64, H 6.72.

Daraus berechnet sich der Procentgehalt an C und H im freien Pepton zu C 50.51 pCt. und H 7.05 pCt. Aus der wässrigen Lösung des Salzes schied sich beim Sättigen mit Kochsalz ein flockiger Niederschlag ab; die Hauptmenge des Salzes blieb in Lösung. Beim Sättigen mit Ammonsulfat entsteht eine reichlichere Fällung in Gestalt kleiner Klümpchen, doch zeigte das Filtrat davon noch intensive Biuretreaction.

Die in Methylalkohol unlöslichen Verdauungsproducte.

Wie aus den Versuchen a und b ersichtlich, wird nur die Hälfte des Albumins in lösliche Peptonsalze übergeführt. In der anderen unlöslichen Hälfte waren die Vorstufen der Peptone zu suchen, welche

sich aus dem gegen Pepsinsalzsäure resistenteren Anticomplex des Albumins gebildet haben mussten. Da der Aschengehalt der löslichen Peptonsalze kein sehr erheblicher war (2—3 pCt.), so mussten sich die im Albumin enthaltenen anorganischen Bestandtheile in den in Methylalkohol unlöslichen Antheilen angehäuft haben. Eine freilich mit Verlusten verbundene Reinigung durch Dialyse war daher nicht zu umgehen. 20 g des unlöslichen Rückstandes (von Versuch b stammend) wurden in 150 g Wasser gelöst und während dreier Tage dialysirt. Das Aussenwasser betrug ungefähr 1 Liter und wurde jeden folgenden Tag erneuert. Im Dialysat konnte durch Silberlösung eine reichliche Menge Chlor nachgewiesen werden.

Die im Dialysator verbliebene Lösung wurde nach Verlauf der angegebenen Zeit von geringen, flockigen Ausscheidungen durch Filtration getrennt, eingeeengt und in ätherhaltigen Aethylalkohol gegossen. Es entstand ein reichlicher, flockiger Niederschlag von

salzsaurem Anti-Albuminpropepton X,

welches im Vacuum bei 100° getrocknet wurde. Ausbeute 12 g. Es ist in Aethylalkohol unlöslich, in heissem Methylalkohol nur wenig löslich und zeigt geringe Hygroskopicität.

Analyse: Gef. Procente: Asche 0.24, HCl 2.22, C 48.23, H 6.71, N 13.94.

Für die Zusammensetzung des freien Propeptons (s. u.) ergeben sich aus den analytischen Daten folgende Procentzahlen: C 49.32, H 6.79, N 14.26 pCt. Aus der wässrigen Lösung des Salzes werden durch Sättigen mit Kochsalz weisse Flocken abgeschieden. Sättigt man die Lösung mit Ammonsulfat, so erfolgt eine reichliche Ausscheidung in Gestalt von Klümpchen, das Filtrat zeigt aber noch eine starke Biuretreaction. Sublimat bewirkt in der Lösung nur eine Trübung.

Auffallend ist der niedrige Salzsäuregehalt. Die Moleculargewichtsbestimmung (s. u.) des Salzes, wie auch die des daraus dargestellten Propeptons (s. u.) weisen darauf hin, dass in dem Präparat kein einheitliches Product, sondern ein Gemenge eines Albumosensalzes mit freien Albumosen vorliegt.

Albuminpropepton X (Anti)

wurde aus dem vorstehend beschriebenen Salz durch Umsetzung mit Silbersulfat in bekannter Weise dargestellt. Aus 6 g Salz wurden 4 g freies Propepton gewonnen. Das Präparat ist verhältnissmässig wenig hygroskopisch.

Analyse: Gef. Procente: Asche 0.35, C 49.25, H 7.04.
Aus Analyse des Salzes (s. o.) ber. » » 49.32, » 6.79.

Die wässrige Lösung des Propeptons wird durch Sublimat stark getrübt, ebenso beim Sättigen mit Chlornatrium. Versetzt man letztere

Lösung mit Essigsäure, so erfolgt eine weisse, flockige Ausscheidung. Ammonsulfat fällt einen Theil der Substanz in weissen Gerinnseln; das Filtrat davon zeigt aber noch deutliche Biuretreaction.

Untersuchung eines käuflichen Albuminpeptons.

Da die Anwesenheit alkohollöslicher Peptonchlorhydrate in den durch künstliche Verdauung dargestellten Albuminpeptonen des Handels nicht ausgeschlossen erschien, so wurde ein derartiges Präparat daraufhin untersucht. Dass lösliches Peptonsalz sich, wenn überhaupt, nur in geringer Menge darin finden würde, war vorauszusehen, denn die Peptone des Handels bestehen der Hauptsache nach nicht aus wirklichen Peptonen im Sinne Kühne's, sondern aus Vorstufen derselben, den Albumosen. Auch die übliche Darstellungsweise der Präparate schliesst die Anwesenheit grösserer Mengen von Peptonsalz aus, weil die mit Pepsinsalzsäure (bezw. Magensaft) dargestellten sauren Peptonlösungen mit Soda neutralisirt werden, wobei nicht nur die freie, sondern auch die an das Pepton gebundene Salzsäure zum grössten Theil in Chlornatrium übergeführt wird.

Dass auch das von mir verwendete Handelspepton in dieser Weise dargestellt worden war, ging aus der Bestimmung und Untersuchung seiner anorganischen Bestandtheile hervor. Es enthielt 8.11 pCt. Asche und 5.53 pCt. Chlor. Die Asche bestand fast ausschliesslich aus Kochsalz.

Zur Prüfung auf allenfalls vorhandenes alkohollösliches Peptonsalz wurden 100 g käufliches Albuminpepton mit $\frac{1}{2}$ Liter absolutem Methylalkohol ausgekocht. Beim Erkalten scheidet sich ein Theil des Gelösten in gelben, amorphen Flocken wieder ab. Vom Filtrat wurde das Lösungsmittel abdestillirt und der Rückstand bei 100° in vacuo getrocknet. Er enthält 12.18 pCt. Asche, welche aus fast reinem Chlornatrium bestand. Um letzteres wegzuschaffen, löste ich die Masse in Wasser und unterwarf sie der Dialyse. Nach vier-tägiger Diffusion, während welcher das Aussenwasser mehrmals gewechselt worden war, wurde der Dialysatorinhalt filtrirt, eingeeengt und die concentrirte Lösung in überschüssigen Methylalkohol gegossen, wodurch ein beträchtlicher Theil der Substanz in Flocken gefällt wurde. Das Filtrat davon brachte ich im Vacuum zur Trockne, behandelte den Rückstand nochmals mit Methylalkohol in der Kälte, welcher wieder einen Theil der Substanz ungelöst liess.

Das Gelöste wurde durch Erhitzen im luftverdünnten Raum in fester Form als gelbliche, poröse, zerreibliche und etwas hygroskopische Masse erhalten. Die Ausbeute betrug 4 g.

Analyse: Gef. Procente: Asche 3.63, Cl 1.80.

Die Asche bestand wesentlich aus Kochsalz. Der gefundene Chlorgehalt entspricht der Menge des vorhandenen Chlornatriums.

Das Präparat ist daher kein Peptonsalz, obwohl es sich in absolutem Methylalkohol schon in der Kälte vollkommen auflöst.

Die wässrige Lösung der Substanz wird durch Kochsalz in käsigen Flocken reichlich gefällt. Zusatz von Essigsäure bewirkt eine Vermehrung des Niederschlages. Ammonsulfat fällt nahezu vollständig. Die Substanz dürfte wohl in naher Beziehung stehen zu jener alkohollöslichen Albumose, welche in neuester Zeit durch die interessante Untersuchung Hugo Schrötter's¹⁾ bekannt wurde.

Ein alkohollösliches Peptonsalz wurde also in dem untersuchten Handelspepton nicht aufgefunden. Das negative Resultat schliesst übrigens das Vorhandensein derartiger Salze keineswegs aus, denn, da zur Trennung der in reichlicher Quantität beigemengten anorganischen Salze von den Peptonsalzen kein anderes Mittel als die Dialyse zur Verfügung steht, so konnten diese mit den anorganischen Substanzen zugleich vollständig diffundirt und damit der Beobachtung entgangen sein.

Der durch Auskochen mit Methylalkohol von darin löslichen Bestandtheilen befreite Rückstand des Handelsalbumins erwies sich, wie vorauszusehen, noch stark aschehaltig. Er wurde daher ebenfalls dialysirt.

Nach viertägiger Diffusion gelang es, die Lösung im Dialysator vollkommen chlorfrei zu bekommen. Da sie ziemlich dunkel gefärbt war, wurde sie in der schon beschriebenen Weise mit Bleicarbonat behandelt und das in nicht unerheblicher Menge gelöste Blei mit Schwefelwasserstoff gefällt. Das nunmehr gelb gefärbte und eingeeengte Filtrat schied beim Eingiessen in Alkohol das

Propepton XI

in käsigen, schwach bräunlichen Flocken ab, welche durch Waschen mit Alkohol und Aether und nachfolgendes Trocknen in vacuo bei 100° vollkommen wasserfrei erhalten wurden.

Analyse: Gef. Procente: Asche 1.03, C 50.73, H 7.12, N 15.43, 15.21.

Die wässrige Lösung des Propeptons giebt beim Sättigen mit Kochsalz einen geringen Niederschlag, welcher durch Zusatz von Säuren reichlich vermehrt wird. Ammonsulfat bewirkt ebenfalls fast vollständige Fällung. Das Filtrat zeigt nur mehr schwache Biuret-reaction. Das Präparat besteht demnach fast ausschliesslich aus Albumosen.

Propeptonchlorhydrat XI.

5 g des vorstehend beschriebenen Propeptons wurden mit so viel conc. Salzsäure versetzt, dass eben Lösung eintrat, wobei sich die Mischung beträchtlich erwärmte. Trägt man nun die dickflüssige Lösung in viel Aethylalkohol unter Schütteln ein, so wird das Salz

¹⁾ Wiener Monatsh. f. Chem. 14, 612.

in weissen, käsigen Flocken gefällt, welche abfiltrirt, mit Aether gewaschen und in vacuo getrocknet wurden. Ich erhielt so 4.8 g festes Chlorhydrat, das sich schwer in kaltem, leicht in heissem absoluten Methylalkohol löst und dann auch beim Erkalten gelöst bleibt. Durch Aether wird es daraus quantitativ wieder abgeschieden.

Analyse: Gef. Procente: Asche 0.73, HCl 5.85.

Der Gehalt an Salzsäure entspricht fast genau demjenigen, welchen R. Herth¹⁾ für das Hemialbumose-Chlorhydrat aus Fibrin fand.

Die wässrige Lösung des Salzes wird durch Sättigen mit Kochsalz oder Ammonsulfat stark gefällt.

Moleculargewichts-Bestimmungen der Peptonsalze und Peptone.

Bald nach meinen ersten Versuchen, die Moleculargewichte der Glutipeptone und ihrer Salze mit Hilfe der Gefrier- und Siedemethode zu ermitteln²⁾, sind auch von anderer Seite diese Methoden zur Moleculargewichtsbestimmung der Peptone in Anwendung gebracht worden. So fanden Ciamician und Zanetti³⁾ bei käuflichen Albuminpeptonen, welche durch Lösen in Wasser und Fällen mit Alkohol gereinigt wurden, Moleculargewichte von 317—344 und von 529—555. A. Sabanejew⁴⁾ ermittelte das Moleculargewicht des durch künstliche Verdauung von Eieralbumin dargestellten und nach der Methode Kühne's gereinigten Peptons und fand es unter 400 liegend. Für die Protalbumose ergab sich durchschnittlich die Zahl 2500 und für die Deuteroalbumose die Zahl 3200. In neuester Zeit hat auch H. Schrötter die kryoskopische Methode zur Bestimmung des Moleculargewichts seiner im Witte'schen Pepton entdeckten krystallinischen, alkohollöslichen Albumose benutzt und zwischen 600—700 liegende Zahlen gefunden (loc. cit.).

Meine Moleculargewichtsbestimmungen der Glutipeptonsalze nach der Gefriermethode in Wasser, nach der Siedemethode in Wasser, Methyl- und Aethylalkohol haben ergeben, dass das Moleculargewicht mit steigendem Säuregehalt der Salze abnimmt. Ferner fand ich, dass bei Anwendung von Wasser oder Methylalkohol als Lösungsmittel eine Dissociation der Peptonsalze eintritt, ein Verhalten, welches sie mit den Salzen anderer organischer Basen theilen. Aethylalkohol bewirkt dagegen keine Dissociation. Da nun die bei Gebrauch von Wasser oder Methylalkohol gefundenen Zahlen gerade halb so gross sind wie die, welche bei Bestimmungen in äthylalkoholischer Lösung resultiren, so folgt daraus, dass in den Glutipeptonsalzen je ein

¹⁾ Wiener Monatsh. f. Chem. 5, 285.

²⁾ loc. cit. pag. 1232.

³⁾ Atti d. R. Acc. d. Lincei Rndct. 1892, I. Sem. 229—331.

⁴⁾ Journ. d. russ. phys.-chem. Gesellsch. 1893 [1], 11—23.

Molekül Pepton mit einem Molekül Salzsäure verbunden ist. Diese Folgerung wird gestützt durch die Resultate der Moleculargewichtsbestimmungen der aus ihren Salzen isolirten freien Peptone, bei denen natürlich nur Wasser als Lösungsmittel dienen konnte. Es wurden so Zahlen erhalten, welche sich nahezu mit den nach der Siedemethode in Aethylalkohol für die correspondirenden Peptonsalze ermittelten decken.

Ganz dieselben Verhältnisse fanden sich auch, wie nachstehend gezeigt wird, bei den Peptonen und Peptonsalzen des Eialbumins.

Moleculargewichte der mit conc. Salzsäure aus Albumin dargestellten Salze.

	Gewicht des Lösungsmittels	Substanz	Depression	$\frac{1}{2}$ Mol.-Gew.	Ganzes Mol.-Gew.
Hemipeptonsalz IV. } 19.8 pCt. HCl. a) Gefriermethode in H ₂ O. Const. 19. }	20.0 g	I. 0.2538 g	0.19 ⁰	127	254
		II. 0.8956 g	0.585 ⁰	146	292
			Sdp.-Erhöh.		
b) Siedemethode in C ₂ H ₅ OH. Const. 12.2. }	21.5 g	I. 0.2008 g	0.04 ⁰	—	262
		II. 0.7764 g	0.155 ⁰	—	261
Hemipeptonsalz V. } 11.79 pCt. HCl. Gefriermethode in H ₂ O. Const. 19. }	20.3 g	I. 0.6896 g	0.49 ⁰	132	264
		II. 1.4664 g	1.00 ⁰	137	274
			Depression		
Antipeptonsalz V. } Gefriermethode in H ₂ O. }	20.5 g	I. 0.4906 g	0.36 ⁰	126	252
		II. 0.955 g	0.70 ⁰	126	252

Molecular-Gewichte der aus den Salzen dargestellten freien Peptone:

(Gefriermethode in Wasser. Const. 19.)

	Gewicht des Lösungsmittels	Substanz	Depression	Mol.-Gew.
Hemipepton III.	20.5	I. 0.3946 g	0.18 ⁰	203
		II. 1.4158 »	0.59 ⁰	223
Hemipepton V.	20.6	I. 0.7328 »	0.285 ⁰	237
		II. 1.4354 »	0.545 ⁰	243.

Wie aus diesen Zahlen ersichtlich, besitzen die säurereichen Peptonsalze und die aus ihnen dargestellten freien Peptone ein ungewöhnlich niedriges Moleculargewicht, etwas niedriger noch, wie die entsprechenden Glutinderivate. Auch stimmen die für die Salze und die freien Peptone gefundenen Zahlen gut überein. Die Moleculargewichte der Peptone vermehrt um das der Salzsäure ergeben Zahlen, welche sich mit den für die Salze gefundenen nahezu decken.

Da ferner nach der Siedemethode in Alkohol gerade doppelt so hohe Zahlen wie nach der Gefriermethode gefunden wurden und erstere mit denen der freien Peptone + Salzsäure zusammenfallen, so muss

auch in den Albuminpeptonsalzen je ein Molekül Pepton mit einem Molekül Salzsäure verbunden sein.

Im Anschlusse hieran sei auch noch die Moleculargewichtsbestimmung eines Basensalzes, und zwar des Baryumpeptonats VI b angeführt:

	Gewicht des Lösungsmittels	Substanz	Depression	($\frac{1}{2}$?) Mol.-Gew.
Gefriermethode } in H ₂ O. }	23.7 g	I. 0.4706 g	0.15°	251
		II. 1.0066 »	0.29°	278.

Die gefundenen Zahlen sind voraussichtlich zu verdoppeln, da in der wässrigen Lösung jedenfalls eine Dissociation des Moleküls stattgefunden haben wird. Unter dieser Voraussetzung würde sich für das freie Pepton ein Moleculargewicht von annähernd 400 ergeben.

Von den durch künstliche Verdauung erhaltenen Präparaten wurden nur solche mit möglichst niedrigem Aschengehalt zur Moleculargewichtsbestimmung verwendet. Die ziemlich aschehaltigen (2—3 pCt.) Salze VII und VIII wurden nicht berücksichtigt. In Anwendung kamen das durch Dialyse erhaltene Salz IX und das fast aschefreie Antipropeptonsalz X.

	Gewicht des Lösungsmittels	Substanz	Depress.	$\frac{1}{2}$ Mol.-Gew.	Mol.-Gew.
Salz IX, 7.66 pCt. HCl.					
Gefriermethode } in H ₂ O. }	23.1 g	I. 0.404 g	0.12°	276	552
		II. 0.818 »	0.23°	293	586
Salz X, 2.2 pCt. HCl.					
Gefriermethode } in H ₂ O. }	22.9 »	1.0294 g	0.08°	1060	2120
		22.4 »	I. 0.361 »	0.03°	1024
			II. 0.874 »	0.07°	1058

Die Bestimmung des aus Salz X mit Silbersulfat dargestellten freien Antipropeptons X ergab folgendes Resultat:

	Gewicht des Lösungsmittels	Substanz	Depression	Mol.-Gew.
Gefriermethode } in H ₂ O. }	22.6 g	I. 0.39 g	0.04°	823
		II. 0.9236 »	0.1°	776.

In diesem Falle stehen die Resultate des Salzes X und der freien Base X untereinander in keiner Uebereinstimmung. Man darf wohl mit Recht aus obigen Ergebnissen den Schluss ziehen, dass das Salz X kein einheitliches Product in dem Sinne ist, dass es ausschliesslich aus Propeptonchlorhydrat besteht, denn sonst hätte für das freie Propepton ein Moleculargewicht von über 2000 gefunden werden müssen.

Es ist vielmehr wahrscheinlich, dass in dem Präparat eine Mischung von verhältnissmässig wenig Peptonsalz von etwas höherem Säuregehalt mit viel freien Albumosen vorliegt. Jedenfalls wird man, um das mittlere Moleculargewicht dieser Mischung zu finden, die

direct abgeleiteten Zahlen (1024—1060) nicht verdoppeln dürfen. Es ist viel wahrscheinlicher, dass diese Zahlen annähernd diesen mittleren Werth direct angeben.

Dass für das freie Propepton noch niedrigere Zahlen gefunden wurden, als diesem mittleren Werth entspricht, dürfte nicht in einem Beobachtungsfehler, sondern in einer partiellen, mit Spaltung verbundenen Hydratation des Propeptons zu suchen sein, welche bei seiner Darstellung aus dem Chlorhydrat mittels Silbersulfat nicht ganz zu vermeiden ist.

Bekanntlich werden die höhermolecularen Hydratationsproducte der Proteinstoffe nicht nur durch Säuren und Fermente, sondern auch durch Erhitzen mit Wasser und Salzlösungen, wengleich langsam, unter Wasseraufnahme in einfachere Moleküle (Peptone) zerlegt. Bei der Umsetzung eines Pepton- oder Propeptonsalzes mit Silbersulfat wird in heisser, wässriger Lösung operirt, die nach dem Ausfällen des Silbers etwas freie Schwefelsäure enthält, und schliesslich wird die verdünnte, wässrige Peptonlösung auch eingedampft. Unter diesen Bedingungen kann leicht eine mit Spaltung verbundene, theilweise Hydrolyse stattfinden, die in dem niedriger gefundenen Moleculargewicht des freien Propeptons zum Ausdruck kommt.

Aehnliche Erscheinungen, aber in umgekehrter Reihenfolge, fand ich bei dem aus käuflichem Albuminpepton isolirten Propepton XI. und dem daraus durch Lösen in concentrirter Salzsäure dargestellten Salz XI.

Die Moleculargewichtsbestimmungen, nach der Gefriermethode in Wasser ausgeführt, ergaben folgende Zahlen:

	Gew. d. Lösungsmittels	Substanz	Depress.	$\frac{1}{2}$ Mol.-Gew.	Mol.-Gew.
Propeton XI.	I. 20.8 g	0.532 g	0.04 ⁰	—	1215
	II. 22.7 »	0.86 »	0.06 ⁰	—	1201
Propeptonsalz XI. 5.85 pCt. HCl	22.8 »	I. 0.563 »	0.12 ⁰	392	784
		II. 1.111 »	0.22 ⁰	422	844

In diesem Falle ist aus dem höhermolecularen Propepton durch die hydrolysirende Wirkung der concentrirten Salzsäure (die Reaction macht sich durch Freiwerden von Wärme bemerkbar) ein Salz von niedrigerem Moleculargewicht entstanden.

Vergleicht man die Moleculargewichtszahlen der Salze XI. und X. mit denen der säurereichen Peptonsalze, so findet man, wie bei den Glutininpeptonsalzen (loc. cit.), mit zunehmendem Säuregehalt eine stetige Abnahme des Moleculargewichtes.

Der Grad der mit dem Namen der Peptonisation bezeichneten fortschreitenden hydrolytischen Spaltung der Proteinstoffe kann daher von Stufe zu Stufe gemessen werden durch das in demselben Verhältnisse zunehmende

Säurebindungsvermögen der in den einzelnen Phasen entstehenden Hydratationsproducte.

Meinem Privatassistenten, Hrn. Dr. W. Schilling, sage ich auch an dieser Stelle für die ebenso eifrige als sachkundige Unterstützung, welche er mir bei dieser Untersuchung zu Theil werden liess, meinen besten Dank.

348. W. Lossen und O. Gerlach: Ueber die Brommesaconsäure.

(Eingegangen am 3. Juli; mitgetheilt in der Sitzung von Hrn. S. Gabriel.)

Wie vor einiger Zeit mitgetheilt¹⁾ wurde, hängt die Zersetzung der zweifach gebromten Bernsteinsäuren durch Basen wesentlich von der Quantität der letzteren ab, insofern als durch Einwirkung von 4 Aequiv. Basis auf 1 Mol. der Dibrombernsteinsäure glatt Acetylen-dicarbonensäure entsteht.

Diese und ähnliche Beobachtungen wurden Veranlassung zur Untersuchung verschiedener halogenirten Säuren mit der Absicht, die Abhängigkeit der Reaction von Natur und Quantität der zur Einwirkung kommenden Substanzen genau zu verfolgen.

Ueber die erhaltenen Resultate soll ausführlich an anderer Stelle berichtet werden. Im Folgenden machen wir eine kurze Mittheilung über eine Zersetzung der Citradibrombrenzweinsäure.

Die Zersetzung der Citradibrombrenzweinsäure durch Basen ist schon von Kekulé²⁾, später von Friedrich³⁾, einem Schüler von Joh. Wislicenus, sowie von Krusemark⁴⁾, einem Schüler von Fittig, studirt worden. Kekulé fand, dass die Säure in Brommethacrylsäure, Kohlendioxyd und Bromwasserstoff zerfallen kann; Friedrich und Krusemark fanden übereinstimmend, dass neben dieser Reaction eine zweite verläuft, durch welche Propionaldehyd, Kohlendioxyd und Bromwasserstoff als Spaltungsproducte entstehen. Die Citradibrombrenzweinsäure kann aber eine noch einfachere Zersetzung erfahren, indem sie in Bromwasserstoff und in eine Säure $C_5H_5BrO_4$ zerfällt, welche wir aus den weiter unten angegebenen Gründen Brommesaconsäure nennen.

Darstellung und Eigenschaften der Brommesaconsäure.

Bei Beschreibung der Zersetzung der Citradibrombrenzweinsäure sagt Kekulé: »Es ist für diese Zersetzung völlig gleichgültig, ob auf

¹⁾ Ann. d. Chem. 272, 127.

²⁾ Ann. d. Chem. 2. Suppl., 97 ff.

³⁾ Ann. d. Chem. 203, 351.

⁴⁾ Ann. d. Chem. 206, 3 ff.