

Untersuchungen über die Oxydation des Eiweisses mit Kaliumpermanganat

(II. Abhandlung)

von

Prof. **Richard Maly**,
c. M. k. Akad.

Aus dem chemischen Institute der k. k. deutschen Universität in Prag.

(Vorgelegt in der Sitzung am 15. März 1888.)

In meiner ersten Arbeit über diesen Gegenstand¹ ist als Oxydationsproduct des Eiweisses mit Kaliumpermanganat die Oxyprotsulfonsäure beschrieben worden. Sie ist ein Körper, der noch den ganzen ungespaltenen Eiweisscomplex enthält, und sich vom Eiweiss in der Zusammensetzung nur dadurch unterscheidet, dass der Schwefel darin im oxydirten Zustande enthalten ist.

Es sind damals auch einige vorläufige Versuche noch weiterer Oxydation mit demselben Reagens mitgetheilt worden, wobei sehr leicht lösliche und unkrystallisirbare Säuren erhalten wurden, welche baryumreiche Salze gaben. Dies schien einer Verfolgung in dem Sinne werth, dass man das, was sonst in der Eiweisschemie lebhaft vermisst wird, in der gesteigerten Einwirkung des Kaliumpermanganats gefunden habe, nämlich einen stufenweisen Abbau des Eiweissmoleküls: denn die hohen Baryumgehalte der erwähnten Salze entsprachen voraussichtlich einer oder mehreren Säuren, die nur noch ein kleineres Molekül besitzen mussten. Während nämlich das Baryumsalz der Oxyprotsulfonsäure im Mittel 11·73⁰/₀ Ba enthält, ergab die bei weiterer Oxydation aus ihr erhaltenen Säure Barytsalze von 27·8 und 28·7⁰/₀ Baryum.

¹ Diese Berichte, Band 91; II Abth., Febr. 1885.

Einige dieser Zahlen sind schon früher mitgetheilt, ihr Studium ist aber bereits damals als ein vorläufiges und un abgeschlossenes bezeichnet worden. Seitdem ist der Gegenstand weiter verfolgt, und die Arbeit von fast zwei Jahren darauf verwendet worden, denn die Substanzen, um die es sich dabei handelt, sind durch den Mangel von Krystallisirfähigkeit ziemlich undankbarer Art und schwierig zu charakterisiren. So musste durch das Analysiren vieler Präparate ersetzt werden, was an chemischer Reinheit dem einzelnen Präparate nicht zu entnehmen war. Und wenn es trotzdem mir nicht gestattet ist, für die zunächst zu beschreibenden Oxydationsproducte die Definition chemischer Reinheit zu liefern, so sind die erhaltenen Resultate doch trefflich dazu geeignet, mit Bestimmtheit anzugeben, welches das Schicksal des Eiweisses, respective der Oxyprotsulfonsäure bei der weiteren Oxydation mit Kaliumpermanganat und bei Ausschluss von Wärme ¹ ist, und sie geben auch den Schlüssel für die Spaltungsproducte, die in dieser Abhandlung später werden beschrieben werden.

Oxydation der Oxyprotsulfonsäure; Peroxyprotsäure.

Es erscheint mir zweckmässig vor Abwicklung der zahlreichen und sich ermüdend darstellenden Einzelversuche, zur leichteren Übersicht ein Hauptresultat schon hier anzuführen. Was beim ersten Anlaufe sich darzubieten schien, war ein Irrthum; die Säure mit den baryumreichen Salzen, welche man bei der Oxydation der Oxyprotsulfonsäure bald erhält, ist kein einfacherer Körper, oder solcher von kleinerem Molekül, vor allem kein Spaltungsproduct, sondern diese baryumreichen Salze enthalten noch eine Säure von sehr hohem Molekül, die

¹ Seit dem Erscheinen meiner ersten Abhandlung hat Oscar Loew mit dem gleichen Gegenstand in seiner Arbeit: „Über Eiweiss und die Oxydation desselben“ (Journ. f. prakt. Chemie, N. F. 31, 1885) sich beschäftigt, indem er ebenfalls Kaliumpermanganat auf Eiweiss einwirken liess. Er that dies aber bei höherer Temperatur, und erhielt dabei sofort einfachere Oxydationsproducte. Von grösstem Interesse sind in Loew's Abhandlung die einleitenden Bemerkungen über die Constitution des Eiweisses und über die mit gewissen Atomgruppen zusammenhängenden Reactionen, woraus viel Anlegung zu schöpfen ist.

nichts anderes darstellt, als weiter oxydirte Oxyprotsulfonsäure oder was dasselbe ist, als intensiv oxydirtes ganzes Eiweiss und der hohe Baryumgehalt der Salze ist dadurch bedingt, dass die Säure vielbasisch ist: vermuthlich die vielbasischeste Säure, die jemals erhalten worden ist. Es ist ohne Frage unerwartet, dass das Eiweiss, dieser schon für sich riesenhafte Molekülcomplex wenigstens unter gewissen Umständen fähig ist, eine über die Bildung der Oxyprotsulfonsäure noch weit hinausgehende Menge von Sauerstoff aufzunehmen, ohne zu zerfallen. Ich nenne diese vielbasische und sauerstoffreiche Säure Peroxyprotsäure.

Die folgenden Zahlen geben den procentualen Sauerstoffgehalt an:

Eiweiss enthält	22·41%
Oxyprotsulfonsäure	25·54 „
Peroxyprotsäure	34·09 „

Während bei dem ersten Stadium der Eiweissoxydation, der Bildung der Oxyprotsulfonsäure, wobei nur der Schwefel oxydirt wird, etwa 3 Procent Sauerstoff in das Eiweiss eintreten, werden im zweiten Stadium noch circa $8\frac{1}{2}$ Procent Sauerstoff gebunden, und indem dieser Sauerstoff seinen Angriffspunkt an Kohlenwasserstoffgruppen findet, die zu Carboxylgruppen oxydirt, noch am Eiweiss hängen bleiben, kommt die ungewohnte Erscheinung von Salzen mit mehr als 30 Procent Baryumgehalt zu Stande, bei einer Säure, die von höchst complicirter Zusammensetzung ist. Statt der zu erwartenden einfacheren Körper, erhält man im Gegentheile bei der intensiven Eiweissoxydation (wenigstens in der Kälte) ein noch höheres Molekül als das Eiweiss selbst, nämlich höher um den Sauerstoffgehalt der Seitenketten, die in ihrer grossen (näher nicht bestimmbar) Zahl das seinem chemischen Charakter nach mehr indifferente Eiweiss zu einer so starken Säure machen, wie es die Peroxyprotsäure ist.

Für die Berechtigung, die Peroxyprotsäure als oxydirtes nur ungespaltenes Eiweiss anzusehen, sei hier nur das Folgende, das später noch weiter ausgeführt werden wird, bemerkt:

1. Die Peroxyprotsäure gibt wie alle Eiweisskörper und die zwischen stehende Oxyprotsulfonsäure noch intensive Biuretreaction;

2. sie enthält noch Schwefel;
3. sie enthält noch die aromatische Gruppe;
4. sie enthält Kohlenstoff und Stickstoff in einem ähnlichen Verhältnisse wie Eiweiss selbst;
5. sie gibt mit kochenden Basen gespalten zum Theil noch die Zersetzungsproducte des Eiweisses zum Theile deren höhere Oxyde.

Hingegen treten im Verhalten der Peroxyprotsäure zu den sogenannten Alkaloid- oder Eiweissreagentien bereits grössere Unterschiede gegenüber intactem Eiweiss auf, denn es findet nur noch Fällung statt:

1. Mit Quecksilberoxydsalzen (Nitrat und Acetat), und
2. mit Millon's Reagens;

aber keine Fällung mehr:

1. Mit Phosphorwolframsäure;
2. mit Jodkaliumquecksilber und Salzsäure;
3. mit Gerbsäure;
4. mit Ferrocyankalium und Essigsäure;
5. mit Jodjodkalium und Essigsäure.

Da auch die Coagulirbarkeit fehlt, so ist von den typischen Reactionen der löslichen Eiweisskörper nur noch die Biuretreaction und die Fällbarkeit durch einige Quecksilberoxydsalze erhalten.

Darstellung und Isolirung der Peroxyprotsäure.

Für die Gewinnung dieser Säure hat sich kein anderer Weg ergeben, als ein Blei- oder Quecksilbersalz zu machen, dieses zu zerlegen, in Barytsalz überzuführen und letzteres, welches immer amorph und pflasterartig war, durch Alkohol fractionirt zu fällen. Ausgangspunkt war entweder Eiweiss direct, oder vorher dargestellte Oxyprotsulfonsäure.

Letztere wurde zu diesem Zwecke in grösserer Menge erzeugt, in kalihältigem Wasser gelöst und bei gewöhnlicher Temperatur mit wiederholt zugesetzter Menge von Kaliumpermanganat während 2—3—4 Wochen oxydirt. Als Endreaction diente die einerseits immer träger werdende oder völlig versagende Entfärbung, andererseits die Prüfung einer Probe des Filtrates mit verdünnter Schwefelsäure, wobei ein weisser

flockiger Niederschlag fällt, wenn noch unoxydirte Oxyprotsulfonsäure vorhanden ist. Beide Erkennungsmittel fielen ziemlich zusammen; fand keine deutliche Entfärbung mehr statt, so war auch keine Fällung mehr zu erhalten, oder es zeigten sich erst nach längerem Stehen einige Flocken. Es wurde dann in der ganzen Portion der Rest des Permanganates mit etwas Alkohol beseitigt, der Braunsteinschamm auf grossen Leinwandbeuteln zurückgehalten, die durchgegangene Flüssigkeit durch Papier filtrirt, der Braunstein wiederholt mit warmem Wasser ausgezogen und die Auszüge zum Hauptfiltrate gegeben, das immer eine völlig klare, wenig gelbliche Flüssigkeit darstellte. Es wurde dann mit Essigsäure neutralisirt und die Peroxyprotsäure als Metallsalz gefällt. Zuerst wurde mit Bleizucker versetzt, so lange ein Niederschlag entstand, dann meist mit Bleiessig und endlich bei einigen Darstellungen noch mit Quecksilberacetat. Mehrmals betrug die zu fällende Flüssigkeit eine solche Quantität, dass Fällung und Decantation in einem schmalen und hohen, etwa 40 Liter fassenden Bottich vorgenommen wurden. Bei der Fällung mit den Bleiacetaten war ein Überschuss zu vermeiden, da die Fällungen im Überschuss löslich waren. Sowohl die Blei- als Quecksilberniederschläge waren flockig, rein weiss und setzten sich gut ab. Im Filtrat von der Quecksilberfällung trat keine deutliche Biuretreaction mehr ein. Die Filtrate davon wurden entfernt. Die einzelnen Fällungen wurden auf Spitzbeuteln aus Filz oder Leinwand gesammelt, mit wenig Wasser gewaschen, zwischen oft gewechseltem Fliesspapier in einer Schraubenpresse so oft und schliesslich so stark ausgepresst, dass sie staubtrocken waren, darauf mit dem gleichen Gewichte Wasser in einer Reibschale zum Brei zerrieben und wie vorher nochmals trocken gepresst. Die Bleiniederschläge wurden dann mit Schwefelsäure, der Quecksilberniederschlag mit Schwefelwasserstoff zerlegt, die sauren Filtrate mit Kohlensäure und Ätzbaryt in Barytsalze verwandelt und die concentrirte Lösung derselben mit Alkohol einfach oder fractionirt gefällt, mitunter auch die Fractionirung bei fortlaufenden Analysen (Baryumbestimmungen) wiederholt. Aus mehreren der Barytsalze ist die freie Säure dargestellt und analysirt worden, und wenn auch die Baryumgehalte von Präparaten verschiedener Darstellung verschieden waren, so war

doch die daraus erhaltene Säure fast gleich zusammengesetzt. Die wechselnden Baryumgehalte können darin ihre Ursache haben, dass bei der Vielbasicität bald ein paar Carboxylgruppen mehr, bald ein paar weniger Baryt binden, oder vielleicht auch darin, dass bei der Oxydation mit Permanganat nur in einigen Präparaten (jenen mit den baryumreichen Salzen) das Maximum der möglichen Carboxylgruppen (höchste Oxydation) völlig, in anderen Präparaten aber nicht völlig erreicht worden ist. Thatsächlich waren die Barytsalze aus der Bleizuckerfällung etwas reicher an Baryt als die aus der Bleiessig- oder Quecksilberfällung. Immer aber waren die Barytsalze und die daraus gewonnenen Säuren durch nichts von einander zu unterscheiden, vielmehr zum Verwecheln ähnlich.

Lässt sich also nach dem Gesagten die Möglichkeit auch nicht ausschliessen, dass in den Barytverbindungen der als Peroxyprotsäure bezeichneten Säure zwei oder mehrere nahe stehende Säuren enthalten sind, so kann es sich doch nur um einander äusserlich und constitutionell sehr ähnliche Körper handeln, die vorläufig nicht zu unterscheiden sind und an deren erste Untersuchung bei ihrer Molekülgrösse ein anderer Massstab als bei einfachen Körpern zu legen sein wird. Nennen wir doch höhere Fett- oder Wachssäuren mit einem Namen, welche wahrscheinlich oder sicher Isomere enthalten aber ihr allgemeiner chemischer Charakter ist im Allgemeinen klar. In ähnlichem Falle befindet sich die Peroxyprotsäure, deren Verhältniss zum Eiweiss aus dem Folgenden immerhin erkennbarer werden wird, als das Verhältniss der einzelnen Glieder der „Albuminsynopsis“ zu einander je geworden ist.

Analytische Belege.

I. Versuch.

200 g käuflichen trockenen Eiweisses mit 400 g. KMnO_4 durch acht Tage oxydirt. Das neutralisirte Filtrat vom Braunstein mit ein wenig Bleiacetat versetzt, dieser Niederschlag entfernt, dann mit Bleiacetat ausgefällt (I) und hierauf mit Bleiacetat und Ammoniak (II). Daraus die Barytsalze I und II gemacht, welche schneeweisse zusammenbackende Massen darstellen.

Ihre wässrige Lösung reagirt neutral auf Lakmus und wird von Phenolphthaleïn röthlich gefärbt. Das mit Silbersalpeter gefällte Silbersalz ist in Salpetersäure und Ammoniak aber auch in viel Wasser löslich.

Zur Analyse sind Präparate, wie auch alle folgenden bei 105° getrocknet worden. Ihre Reinheit von jeder Spur Aschebestandtheilen ergibt sich aus der Übereinstimmung der auf nassem Wege und der durch Abrauchen mit Schwefelsäure erhaltenen Baryumprocente.

	I	II
Beim Abrauchen	27·37% Ba	28·81% Ba
Durch Fällung	27·35 „	28·91 „

II. Versuch.

130 g trockener Oxyprotosulfonsäure in 3 l Wasser mit 220 g Permanganat oxydirt. Dauer zwei Wochen. Fällung mit Bleiessig (I), dann mit Ammoniak (II). Aus beiden Barytsalzen gemacht, das von I wird in zwei Portionen α und β mit Alkohol gefällt.

I		II
Fract. α	Fract. β	
28·77% Ba	27·75% Ba	28·40% Ba.
	27·80 „	

III. Versuch.

300 g trockenes Eiereiweiss mit 600 g KMnO_4 bei gewöhnlicher Temperatur oxydirt. Das etwa 12 l betragende Filtrat vom Manganschlamme wird erst mit Baryumacetat gefällt, der Niederschlag entfernt, darauf mit Bleizucker (I) dann mit Bleiessig (II) ausgefällt. Beide Niederschläge wurden hier noch besonders gereinigt, indem man sie mit verdünnter Schwefelsäure zerlegte, die freien Säuren mit Bleicarbonat und etwas Bleiessig wieder in Bleisalz überführte. Trockenpressen in der Schraubenpresse, und Barytsalze daraus. Sowohl das Ba-Salz I (aus dem Bleizuckerniederschlage) als das Ba-Salz II aus der Bleiessigfällung

werden mit Alkohol in je drei Portionen gefällt. Also I α , β , γ und II α , β , γ . Dabei erscheinen die Fractionen α und β mehr zähepflasterartig, die Fractionen γ , die schon aus einer alkoholreichen Flüssigkeit ausfallen, flockig.

I. Die Barytsalze der Bleizuckerfällung.

α	β	γ
$\overbrace{26 \cdot 36^0/0 \text{ Ba}}$	$\overbrace{25 \cdot 51^0/0 \text{ Ba}}$	$\overbrace{24 \cdot 34^0/0 \text{ Ba}}$
	25 · 39	„ .

Nach Vereinigung der restirenden drei Fractionen wird mit wenig Bleiacetat versetzt, dieser Niederschlag entfernt, das Filtrat mit Bleiessig ausgefällt, trocken gepresst, in Barytsalz übergeführt und wieder mit Alkohol in drei Portionen fractionirt gefällt:

$I \alpha\alpha$	$I \beta\beta$	$I \gamma\gamma$
$\overbrace{25 \cdot 14^0/0 \text{ Ba}}$	$\overbrace{24 \cdot 53^0/0 \text{ Ba}}$	$\overbrace{23 \cdot 47^0/0 \text{ Ba}}$

Diese drei Portionen neuerdings gelöst, so wie vorher behandelt und in Barytsalz zurückgeführt, gaben nun die folgenden zwei Fractionen:

$I \alpha\alpha\alpha$	$I \beta\beta\beta$
$\overbrace{24 \cdot 94^0/0 \text{ Ba}}$	$\overbrace{24 \cdot 77^0/0 \text{ Ba}}$

II. Die Barytsalze der Bleiessigfällung.

Die drei Alkoholfractionen dieses Barytsalzes waren viel gleichförmiger zusammengesetzt und wurden vollständiger analysirt.

	Fract. α	Fract. β	Fract. γ
Baryum	$\overbrace{23 \cdot 76^0/0}$	$\overbrace{23 \cdot 84^0/0}$	$\overbrace{23 \cdot 14^0/0}$
Kohlenstoff	34 · 60	34 · 80	35 · 02
Wasserstoff	4 · 98	4 · 85	5 · 05
Stickstoff	9 · 24	9 · 34	9 · 35

Daraus im Mittel für das ganze Barytsalz der Bleiessigfällung:

Baryum	23·58%	
Kohlenstoff	34·80	
Wasserstoff	4·96	
Stickstoff	9·31	
S und O	27·35	(aus der Differenz).

IV. Versuch.

Die aus 1·5 *kg* trockenem Eiweiss gewonnene Oxyprotsulfonsäure wird bei gewöhnlicher Temperatur mit Permanganat oxydirt. Dauer circa vier Wochen. Das neutralisirte Filtrat wird mit Bleiacetat, darauf mit essigsauerm Quecksilberoxyd ausgefällt und beide Fällungen nach vorgängiger Reinigung wie bei III in Barytsalze übergeführt, aber mit Alkohol nicht fractionirt, sondern in je einer Portion ausgefällt.

A. Barytsalz und Säure aus der Bleiacetatfällung.

Dieses Barytsalz wurde theils direct analysirt (*a*), theils nachdem es nochmals aus seiner wässrigen Lösung durch Alkohol ausgefällt worden ist (*b*).

	<i>a</i>	<i>b</i>
Baryum	26·78%	26·22%
Stickstoff	—	8·49
Schwefel	0·97	0·98

Von diesen Schwefelbestimmungen ist die (sub *a*) so ausgeführt worden, dass das Barytsalz mit concentrirter Säure und chlorsaurem Kali mehrmals abgeraucht, dann mit einem Gemisch von Soda und chlorsaurem Kali in der Platinschale geschmolzen, mit Salzsäure ausgelaugt und der zurückbleibende schwefelsaure Baryt abfiltrirt wurde.

Die zweite Schwefelbestimmung (sub *b*) in der Art, dass die Substanz mit schwefelsäurefreiem Ätzkali und Salpeter in der Silberschale geschmolzen, die Schmelze angesäuert und der hinterbliebene schwefelsaure Baryt abfiltrirt wurde; bei dieser

Analyse wurde dann im Filtrate mit Schwefelsäure der übrige Baryt gefällt, wodurch man das Verhältniss von S : Ba erhielt. Die Detailzahlen sind folgende:

2·151 g Baryumsalz gaben beim Schmelzen 0·1535 g $\text{BaSO}_4 = 0\cdot0211\text{ g S} = 0\cdot98\%$ S. Das Filtrat lieferte noch 0·8025 g $\text{BaSO}_4 = 0\cdot4719\text{ g Ba} = 21\cdot94\%$ Ba. Da 0·1535 g $\text{BaSO}_4 = 0\cdot094\text{ g Ba} = 4\cdot20\%$, so verhält sich das Ba des ersten Baryumsulfates zu dem des zweiten wie 4·19 : 21·94 oder wie 1 : 5·2.

Aus diesem Barumsalz wurde auch die freie Säure dargestellt, zu welchem Zwecke 20 g mit der genau erforderlichen Menge Schwefelsäure zerlegt, die erhaltene Säurerlösung bei gelinder Wärme zuletzt im Vacuum verdunstet wurde. Es hinterblieb ein klarer Syrup, der keine Spur einer Krystallisation zeigte, und in zwei Fractionen, zuerst mit starkem Alkohol, dann mit einem Gemenge von Alkohol und Äther gefällt wurde. Beide Fractionen der erhaltenen freien Peroxyprotsäure wurden über Schwefelsäure in der Pumpe getrocknet und stellten weisse, lockere, zerreibliche Pulver dar. Sie waren leicht und klar in Wasser löslich, reagierten intensiv sauer, waren völlig frei von Schwefelsäure.

Analysen der freien Säure.

	Fract. 1		Fract. 2
		Mittel	
Kohlenstoff	45·88%	46·43%	46·99%
Wasserstoff	6·46	6·25	6·69
Stickstoff	13·14	—	13·19

B. Barytsalz und Säure der Quecksilberfällung.

Die ganze Quecksilberfällung mit Schwefelwasserstoff zerlegt und daraus das Barytsalz gemacht.

			Mittel
Baryum	25·08%	24·25%	25·41%
Stickstoff	9·41	(Dumas)	24·91%
Schwefel	1·07		

Aus 40 g Barytsalz, die genau mit Schwefelsäure zerlegt worden sind, ist, wie vorhin angegeben, die freie Säure dieser Fraction gemacht worden. Klares, kaum gelbliches, rissig eintrocknendes Gummi. Mit absolutem Alkohol fällbar; weisses Pulver.

Kohlenstoff . . .	45·04%
Wasserstoff . . .	6·29
Stickstoff	13·33

V. Versuch.

Circa 4 kg trockenes Eiweiss wurden auf Oxyprotosulfonsäure verarbeitet, diese in drei Partien in grossen Flaschen mittelst Kali gelöst und mit Permanganat weiter oxydirt. Dauer über drei Wochen. Das mitsammt den Waschwässern des Manganschlammes etwa 40 l betragende Filtrat in einem Holzbottich nacheinander ausgefällt

1. mit Bleizucker,
2. mit Beinessig,
3. mit essigsauerm Quecksilberoxyd.

Die Niederschläge mit Schwefelsäure eventuell mit Schwefelwasserstoff zerlegt; die Säuren in Barytsalze übergeführt und in je einer Portion mit Alkohol gefällt. Der dritte Niederschlag war der mächtigste, der zweite der kleinste.

Sämmtliche Barytsalze wurden vollständig analysirt und in allen auch der Schwefel bestimmt. Die Substanzen immer bei 105—110° getrocknet. Der Baryumgehalt ist theils durch Abrauchen, theils durch Fällung mit Schwefelsäure und theils durch Fällung mit Soda und Überführung in BaSO₄ ausgeführt worden. Die Schwefelbestimmungen mit ¹⁾ sind durch Schmelzen des Barytsalzes mit Ätzkali und Salpeter und Extraction mit Salzsäure erhalten worden, die mit ²⁾ in der Weise, dass im Barytsalz mit Soda das Baryum gefällt, das Filtrat in der Silber- schale zum Brei ein gedampft, mit Ätzkali und Salpeter geschmolzen, die Schmelze mit Salzsäure wiederholt abgeraucht und deren Lösung dann mit Chlorbaryum gefällt wurde. Die Stickstoffbestimmungen nach Dumas.

	A. Barytsalz der Bleizuckerfällung	B. Barytsalz der Bleiessigfällung	C. Barytsalz der Quecksilber- fällung
Baryum %	33·51 abgeraucht 33·00 gefällt 32·77 } mit 32·96 } Soda	33·06 abgeraucht 32·97 gefällt 32·91 } mit 32·22 } Soda	29·67 abgeraucht 29·51 gefällt 29·48 } mit 29·39 } Soda
Kohlenstoff %	29·56 29·56	29·73 29·56	30·34 30·26
Wasserstoff %	3·71 4·10	3·86 3·82	3·90 4·00
Stickstoff %	7·18 7·71 6·70 6·81	7·27 7·42 7·30	8·54 8·34
Schwefel %	0·62 ¹⁾ 0·85 ²⁾ 0·71 0·74 ¹⁾ 0·60 ²⁾	0·76 ¹⁾ 0·96 ²⁾ 0·90 0·83 ²⁾ 0·72 ²⁾	0·88 ¹⁾ 0·77 0·79 ²⁾

Mittelzahlen daraus:

	Ba-Salz A	B	C
Baryum	$\overbrace{33\cdot06\%}$	32·79%	29·51%
Kohlenstoff	29·56	29·65	30·30
Wasserstoff	3·90	3·84	3·95
Stickstoff	7·10	7·33	8·43
Schwefel	0·70	0·80	0·81

Aus diesen Zahlen ergibt sich das wichtige Resultat, dass die bei der intensiven Eiweissoxydation entstandene, in mehreren Fractionen gefällte Säure, entweder eine einheitliche Säure ist, oder doch ein Gemenge von einander höchst ähnlichen Körpern, die dermalen nicht zu trennen sind, und die man bei ihrem übereinstimmenden Verhalten mit dem Namen Peroxyprotsäure zu bezeichnen wohl berechtigt ist. Die Fractionen *A* und *B*

sind fast gleich zusammengesetzt. Was bei der Fraction *C* verschieden ist, das ist nur der Baryumgehalt, während C, H und N auch bei dieser Fraction in einem ähnlichen Verhältnisse zu einander stehen wie bei den zwei ersten Fractionen; der organische Complex ist also auch hier wenig verschieden. Wie man den geänderten Baryumgehalt hier erklären muss, ist schon früher erwähnt worden. Was am deutlichsten die Übereinstimmung der organischen Complexe in den einzelnen Fractionen, so wie den nahen, eine tiefere Spaltung ausschliessenden Zusammenhang mit dem ursprünglichen Eiweiss darthut, ist der noch vorhandene, durch alle Fractionen constant bleibende Schwefelgehalt.

Die freien Säuren der drei Baryumsalze.

Aus grösseren Partien aller drei Barytsalze wurden die freien Säuren dargestellt. Da es sich in ihnen namentlich auch um die Bestimmung des Schwefels handelte, wurden sie nicht, wie es einfacher gewesen wäre, mit Schwefelsäure zerlegt, sondern es wurden *A* und *B* durch Fällung mit Bleizucker in die Bleisalze, *C* durch Fällung mit Quecksilberacetat in ein Quecksilbersalz übergeführt, alle drei mit Schwefelwasserstoff zerlegt, und die Säurelösungen bei gelinder Wärme und im Vacuum eingeengt. Es hinterblieben wieder, wie bei den früheren Darstellungen, klare, fast farblose, völlig amorph und gummiartig eintrocknende Syrupe. Davon waren *A* und *B* in mässig starkem Alkohol löslich, *C* gibt damit einige Flocken, die entfernt werden, worauf man die alkoholischen Lösungen wieder verdunstet. Äther fällt die alkoholischen Lösungen.

Die erhaltenen Säurepräparate reagirten intensiv sauer und zerlegten Carbonate unter Aufbrausen. Sie enthielten nur Spuren von Asche, die bei den im Schiffchen gemachten Verbrennungen zurückgewogen und in Abzug gebracht wurden. Sie waren etwas hygroskopisch. Wie schon erwähnt, versagen an ihnen die Eiweissreagentien mit Ausnahme von Quecksilberoxydsalzen (Millon's Reagens) und nur die Biuretreaction tritt noch mit schöner Intensität ein; diese Reaction bleibt also am längsten erhalten.

Analysen der freien Säuren.

	<i>A</i> aus Bleizucker- fällung	<i>B</i> Bleiessigfällung	<i>C</i> Quecksilber- fällung
C	46·81	46·69	45·69
H	6·64	6·20	6·44
N ¹	10·65	10·68	12·49
S ¹	0·92	1·00	0·96
O	35·28	35·73	34·40.

An den freien Säuren ist in mehreren Versuchen die Sättigungscapacität durch Titiren mit Lauge festzustellen versucht worden. Es wird viel Natron gebunden, aber die Endreaction ist namentlich bei Anwendung von Lakmus sehr undeutlich, etwas besser bei Phenolphthaleïn. Einmal beobachtet, ist dies wohl begreiflich bei der Vielbasicität dieser Säuren; kann man ja doch die dreibasische Phosphorsäure nicht mehr direct titiren und um wie viel weniger wird dies hier möglich sein können, es ist vielmehr als selbstverständlich zu erwarten, dass allmählig und bevor in alle Carboxylgruppen Alkalimetall eingetreten ist, alkalische Reaction auftreten wird. Daher ist eine Äquivalenz des verbrauchten Natrons mit dem Baryt der Baryumsalze nicht zu erwarten.

Aus den eben mitgetheilten Procentzahlen und aus den früher bei Versuchsreihe IV ausgeführten, welche untereinander mindestens so gut übereinstimmen als die besten Zahlen der eigentlichen Eiweisskörper untereinander, kommt man zu folgenden Mittelzahlen für die Peroxyprotsäure:

C	46·22 ⁰ / ₁₀₀
H	6·43
N	12·30
S	0·96
O	34·09 .

¹ N nach Dumas; S durch Schmelzen mit Kali und Salpeter.

Diese Zahlen des höchsten Oxydationsproductes des Eiweisses mit denen des intermediären Körpers, der Oxyprotosulfonsäure und denen des Eiweisses selbst zusammengestellt, geben folgende Reihe:

	Eiweiss	Oxyprotosulfonsäure	Peroxyprotosäure
C	52·98 ⁰ / ₀	51·21 ⁰ / ₀	46·22 ⁰ / ₀
H	7·09	6·89	6·43
N	15·70	14·59	12·30
S	1·82	1·77	0·96
O	22·41	25·54	34·09

Dabei fällt vor Allem der hohe Sauerstoffgehalt der neuen Säure auf, während die anderen Elemente in einem sehr ähnlichen Verhältnisse in allen drei Körpern sich befinden, so dass daraus allein die Natur der neuen Säure als höchst oxydirtes ungespaltenes Eiweiss wahrscheinlich wird. Eine Ausnahme macht nur der Schwefel; während in der Oxyprotosulfonsäure um ein paar Hundertelprocente weniger S als im Eiweiss enthalten sind, oder so viel als sein Gehalt durch den Eintritt von drei Procent Sauerstoff herabgedrückt werden muss, ist in der Peroxyprotosäure nur mehr etwa halb so viel Schwefel enthalten. Eine Erklärung für diesen halb so grossen, durch alle Fractionen aber gleich bleibenden Schwefelgehalt kann man nur darin finden, dass im Eiweiss zwei Atome Schwefel enthalten sind, und dass das eine davon bei der intensiven Oxydation herausgelöst worden ist. Damit stimmen neuere Erfahrungen überein. Während man früher gerne 1 Atom S im Eiweisscomplex angenommen hat, als den überhaupt denkbar einfachsten Fall, haben die unter Bunge's Leitung ausgeführten Analysen des Hämoglobins von Zinoffsky¹ gezeigt, dass darin auf ein Atom Eisen genau zwei Atome Schwefel enthalten sind. Diese Bestimmungen müssen nach der Sorgfalt, mit der sie ausgeführt worden sind, uns heute als die genauesten erscheinen, die vom Hämoglobin gemacht worden sind, und weil das Hämoglobin krystallisirt, während andere Eiweisskörper dies nicht

¹ Inaug. Dissert. Dorpat, W. Just, 1885 und Jahresbericht für Thierchemie 15. 131.

thun, so ist für den im Hämoglobin enthaltenen Eiweisskörper ein Gehalt von zwei Atomen Schwefel nachgewiesen.

Auch in Kupfereiweissverbindungen, welche E. Harnak¹ analysirt hat, kommen auf ein Atom Kupfer zwei Atome Schwefel. Endlich ist es eine ältere Erfahrung, dass das Eiweiss bei der Einwirkung heisser Alkalien nur einen Theil des Schwefels als Sulfid abspaltet, einen anderen als Sulfat.

Damit ist die Zusammensetzung der Peroxyprotsäure, hinsichtlich ihres kleineren (halb so grossen) Schwefelgehaltes gut in Einklang zu bringen und sie kann als weiterer Beweis dafür gelten, dass im Eiweiss mindestens zwei Atome Schwefel stecken. In welcher Gestalt der noch vorhandene Schwefel in der Peroxyprotsäure enthalten ist, ergibt sich aus den später zu beschreibenden Spaltungsversuchen mit überschüssigem Baryt, wobei er als schwefligsaurer Baryt auftritt.

Wie sich der Sauerstoffgehalt zum Schwefel vermehrt hat, zeigt folgendes atomistische Verhältniss:

Im Eiweiss kommen	auf 1 Atom S	24·6	Atome O
in der Oxyprot-sulfonsäure	„ 1 „ „	28·8	„ „
„ „ Peroxyprot-säure	„ 1 „ „	71·0	„ „

Der neue eingetretene Sauerstoff kann entweder in Form von Hydroxyl- oder von Carboxylgruppen enthalten sein. Zwei Argumente sprechen für letzteres; nach später mitzutheilenden Versuchen ist nämlich die Peroxyprotsäure höchst empfindlich gegen stärkere Basen, unter deren Einflusse in der Wärme sie enorme Mengen Oxalsäure abspaltet. Zweitens ist die Peroxyprotsäure eine sehr starke, viel Basis bindende Säure. Die saure Reaction eines Körpers, der voraussichtlich ein paar hundert Atome Kohlenstoff enthält, kann aber nur durch eine ebenfalls sehr grosse Anzahl säurebildender Gruppen erklärt werden, ein Fall, der, wie ich wiederholt betonen möchte, auch den schwankenden Baryumgehalt bei Präparaten verschiedener Darstellung bei ziemlich gleicher Zusammensetzung des organischen Restes dadurch erklärt, dass bald etliche Carboxylgruppen mehr, bald etliche weniger zu Salzbildung verwendet werden.

¹ Jahresber. f. Tierchemie 11. 20.

Eine beiläufige Vorstellung über die relative Zahl der Carboxylgruppen in der Peroxyprotsäure lässt sich gewinnen, wenn man an den vorhin analysirten barytreichsten Salzen das Verhältniss von Baryum zu Schwefel in Betracht zieht. Es kommen in dem Barytsalz aus der Bleizuckerfällung (mit 33·06% Baryum) auf 1 Atom Schwefel 11 Atome Baryum, in dem Barytsalz aus der Bleiessigfällung (mit 32·79% Baryum) auf 1 Atom Schwefel 10 Atome Baryum. Folglich treffen auf 1 Atom Schwefel 22, respective 20 Carboxylgruppen.

Von den Eigenschaften der Peroxyprotsäure ist nur noch zu erwähnen, dass sie in Wasser in jedem Verhältniss löslich ist, in schwächerem Alkohol ebenfalls, und dass sie aus der alkoholischen Lösung durch Äther flockig weiss gefällt wird. Beim Erhitzen schmilzt sie unter gleichzeitiger Braunfärbung und weiterer Zersetzung und Bildung von stechendsauren und nach verbranntem Eiweiss riechenden Dämpfen.

Spaltung der Peroxyprotsäure mit Ätzbaryt.

Es ist schon kurz angedeutet worden, dass die Peroxyprotsäure sehr empfindlich gegen stärkere Basen ist; wird ihr Barytsalz mit überschüssigem Ätzbaryt am Wasserbade oder auch nur in ganz gelinder Wärme digerirt, so entwickelt sich viel Ammoniak und es scheidet sich in grosser Menge Baryumoxalat als Krystallmehl ab. Nach etwa achtstündigem mässigen Erhitzen ist die Einwirkung sogut wie zu Ende, denn filtrirt man jetzt vom Oxalat ab und digerirt mit neuen Mengen Ätzbaryt, so scheidet sich nichts, oder nur eine unbedeutende Menge weiteren Oxalates ab.

Die Quantität der Oxalsäure ist höchst auffallend, so wie auch die Leichtigkeit mit der die Abspaltung sich vollzieht. Ein paar Mal wurde das Oxalat gewogen. So erhielt man aus 235 g peroxyprotsaurem Baryt nach eintägigem Digeriren am Wasserbade mit dem gleichen Gewichte Ätzbaryts 121·5 g Baryumoxalat oder circa 51 Procent des ursprünglichen Salzes. Daraus rechnen sich für 100 g freie Peroxyprotsäure 24 Procent freier Oxalsäure. In ihr sind die vielen Carboxylgruppen zu finden, die die Peroxyprotsäure so vielbasisch machen. Es ist

bekannt, dass auch die Oxyprotosulfonsäure ¹ so wie das Eiweiss selbst bei Basenwirkung Oxalsäure liefern, aber dies geschieht erst bei stärkerer Basenwirkung, was ich für die Oxyprotosulfonsäure speciell angegeben habe. Schützenberger erhielt aus Hühner-eiweiss mit Barythydrat bei einfachem Kochen nur eine Spur Oxalsäure, beim Erhitzen auf 100° durch 12 Stunden 1.4 Procent Oxalsäure. Die so leicht und massenhaft aus der Peroxyprotosäure sich abtrennende Oxalsäure hat also jedenfalls als Spaltungsproduct eine andere Bedeutung und entspricht den durch die vorgängige Oxydation gebildeten Carboxylgruppen.

Zugleich mit der Oxalsäure spaltet sich auch der Schwefel ab, der als Baryumsulfit dem Oxalat beigemischt ist.

Mit diesen beiden Körpern und dem entweichenden Ammoniak sind die Spaltungsproducte bei gelinder Barytwirkung erschöpft.

Die vom Baryumoxalat- und Sulfit getrennte Flüssigkeit enthält das Baryumsalz einer leicht löslichen Säure, die den Hauptcomplex des Eiweisses darstellt, keinen Schwefel mehr, aber noch die aromatische Gruppe enthält.

Dieses Barytsalz zeigt jedoch eine Eigenschaft nicht mehr, die der Oxyprotosulfon- und der Peroxyprotosäure noch zukommen: es gibt keine eigentliche Biuretreaction mehr. Dafür ist es ausgezeichnet durch eine andere intensive und schöne Reaction. Es färbt sich mit etwas Kupferacetat, versetzt dunkelblau wie Indigolösung, und ebenso löst die daraus abgetrennte freie Säure Kupferoxyd mit der gleichen Farbe.

Man kann das mit einem winzigen Quantum Peroxyprotosäure zeigen; während das Barytsalz der letzteren Kupferacetat nicht blau färbt, sondern damit eine grünlich flockige Fällung gibt, tritt nach dem Erhitzen mit Baryt und Entfernung des überschüssigen Baryts mit demselben Reagens keine Fällung, aber dafür die blaue Färbung auf.

Die Säure mit der blauen Kupfereaction gab leider weder mit Kupfer noch einer anderen versuchten Base krystallisirbare Salze; ich habe mich deshalb mit ihr nicht weiter beschäftigt, sondern die Barytwirkung bei höherer Temperatur

¹ Meine erste Abhandlung, l. c. S. 189.

weiter geführt, wobei dann völlige Spaltung in zum Theil bekannte, zum Theil neue krystallisirbare Zersetzungsproducte eintritt, unter denen die typischen Eiweissbruchstücke wieder zu finden sind.

Die weiter geführte Spaltung schliesst sich an die gleichartige von mir früher an der Oxyprotsulfonsäure studirte Zersetzung.

Es sind zwei Spaltungsversuche mit peroxyprotsaurem Baryum angestellt worden, und obwohl beide etwas verschieden von einander ausgeführt worden sind, so wurden bei beiden doch dieselben Producte erhalten. Sie sollen hier nacheinander, der erste ausführlicher besprochen werden.

1. Spaltungsversuch.

Ausgangsmaterial waren 235 g der vereinigten Barytsalze von Versuch V, welche mit dem gleichen Gewicht an Barythydrat und Wasser einen Tag lang am Wasserbade erwärmt und nach Entfernung des oxalsauren Baryums durch zwei weitere Tage unter Ersatz des verdampfenden Wassers in einer Platinschale im Kochen erhalten wurden.

Nachdem mittelst Kohlensäure der überschüssige Baryt entfernt worden war, wurde das Filtrat eingeeengt und zur Krystallisation hingestellt. Nach ein paar Tagen erscheint die Flüssigkeit trübe und man sieht unter dem Mikroskop kleine Kugeln oder Tröpfchen, die sich noch eine Zeit lang vermehren, worauf mikroskopisch feine Nadelchen und Nadelaggregate auftreten, die sich sichtlich aus den Tröpfchen bilden und nach circa einer Woche sind alle Tröpfchen verschwunden und das Ganze ist in einen dünnen, noch flüssigen Brei von feinen Nadeln und Sternen verwandelt, ohne eine andere mikroskopisch sichtbare Beimengung.

Diese Ausscheidung, welche ein Barytsalz ist, wird auf einem Filter aus feiner Leinwand abgesaugt. Ihre Untersuchung folgt später unter „Barytsalz A“; es wog im rohen Zustande 7.5 g.

Nachdem sich gezeigt hat, dass aus der Mutterlauge von A auch in der Kälte nichts mehr sich ausscheidet, wurde die ganze Flüssigkeit mit Schwefelsäure genau vom Baryt befreit, die stark saure Lösung während mehrerer Tage abwechselnd unter der

Luftpumpe und bei Temperaturen von 30—50° eingengt und zur Krystallisation über Schwefelsäure in die Winterkälte gestellt. Nach acht Tagen war eine reichliche Menge einer organischen Säure abgeschieden, die mit der Wasserpumpe abgesaugt im rohen, etwas bräunlichen Zustande 18 g wog. Ihre Untersuchung folgt später unter: „*B*, Hauptkrystallisation.“

Die dicke, von *B* abgesaugte nichts krystallinischer mehr abscheidende Mutterlauge wird neuerdings nun in eisernen Röhren mit überschüssigem Ätzbaryt durch 10—12 Stunden auf circa 130—140° erhitzt.

Die lehmartige aus den Röhren genommene Flüssigkeit riecht stark nach Ammoniak und wird destillirt; im Destillat findet sich ausser Ammoniak nur eine Spur durch die Fichtenholzreaction nachweisbaren Pyrrols.

Der Destillationsrückstand, trübe durch etwas Baryumcarbonat und Baryumsulfid, wird mit Kohlensäure behandelt und eingengt, worauf sich eine warzigkrystallinische im abgesaugten und trockenen Zustande 7 g wiegende Substanz abscheidet, die sub *C* näher betrachtet werden wird.

Die von *C* abgesaugte Mutterlauge endlich wird wieder mit Schwefelsäure von Baryt befreit; in ihr bildet sich beim Einengen langsam ein krystallinisches Magma (*D*), worauf noch ein bräunlicher saurer Syrup (*E*) hinterbleibt, der mit dem Extracte der Presspapiere von *D* vereinigt wird.

Barytsalz A.

(Isoglycerinsaures Baryum.)

Es ist in kaltem Wasser langsam, in heissem viel leichter löslich und gibt nach zwei- oder dreimaligem Umkrystallisiren blendend weisse, grosse, aus feinen seidenglänzenden Nadeln bestehende Kugelaggregate oder Wawellitformen. Niemals bilden sich isolirte Nadeln. Die Krystallisationsfähigkeit ist so gross, dass schon aus wenig Flüssigkeit beim Verdunsten erbsengrosse, lockergefügte Nadelaggregate herauswachen. Abgepresst zwischen Papier erscheint das Salz seidenglänzend, caffèähnlich.

In Alkohol ist es unlöslich und wird dadurch aus der wässerigen Lösung erst milchigweiss, dann unter Bildung von

Nadelgruppen gefällt. An der Luft bleibt es unverändert, über Schwefelsäure im Vacuum verliert es sein Krystallwasser, beim Erhitzen auf 100° , dann nichts mehr. Bei 200° C. geht neuerdings Wasser weg, wobei aber die Substanz völlig weissglänzend und scheinbar unverändert bleibt.

Trotz der einfachen Zusammensetzung und der verlässlichen Reinheit der Substanz ist dieselbe mit keinem bekannten Körper identisch. Ich werde deshalb die Analysen im Detail hier anführen.

1. 0.2969 g lufttrocken verloren im Vacuum 0.0403 g , dann bei 100° — 150° nichts mehr; bei 200° C aber nochmals 0.0212 g . Kein Glühen und Abrauchen mit Schwefelsäure hinterblieben $0.1733\text{ g Ba SO}_4 = 0.1020\text{ g Ba}$.
2. 0.2787 g der vorigen nochmals umkrystallisirten Substanz verloren im Vacuum 0.0364 g , welche sich bei 100° nur um 0.0008 g vermehrten; bei 200 — 210° gingen neuerdings 0.0251 g im Ganzen bei 210° also 0.0623 g Wasser weg.
3. 0.3045 g im Vacuum und bei 100° getrockneten Salzes geben mit einem Gemenge von Blei und Kaliumchromat verbrannt 0.2340 g CO_2 und $0.089\text{ g H}_2\text{O}$.
4. Eine bei 100° getrocknete Probe lieferte nach dem Abrauchen mit Schwefelsäure Barytsulfat, aus dem sich 39.44% Ba rechnen.
5. 0.2570 g bei 100° getrocknet und wie bei 3. verbrannt, lieferten 0.1985 g CO_2 und $0.0700\text{ g H}_2\text{O}$.

Daraus folgt, dass das Barytsalz lufttrocken die Zusammensetzung $\text{C}_3\text{H}_5\text{baO}_4 + 1\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$, bei 100° oder im Vacuum getrocknet, die Zusammensetzung $\text{C}_3\text{H}_5\text{baO}_4$ und bei 200° getrocknet, die Zusammensetzung $\text{C}_3\text{H}_3\text{baO}_3$ hat, wie folgende Vergleichung mit der Theorie zeigt:

Zusammensetzung lufttrocken.

$\text{C}_3\text{H}_5\text{baO}_4 \cdot 1\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$	Berechnet	Gefunden	
		1	2
Wasser	13.34%	13.57%	13.34%
Baryum	34.13	34.35	34.08 .

Zusammensetzung der bei 100° getrockneter Substanz.

a, Berechnet	
C ₃	36
H ₅	5
ba.....	68·4
O ₄	64
173·4	20·76 ⁰ / ₀
	2·89
	39·44
	36·91
	100·00 ⁰ / ₀ .

b, Gefunden					
	1	2	3	4	5
C.....	—	—	20·95	—	20·93
H.....	—	—	3·24	—	3·02
ba....	39·75	39·34	—	39·44	—

Wasserverlust bei 200°.

	Berechnet	Gefunden	
		1	2
C ₃ H ₅ baO ₃ ·2 ¹ / ₂ H ₂ O.....	22·45 ⁰ / ₀	20·71 ⁰ / ₀	22·35 ⁰ / ₀ .

Die Menge des Barytsalzes reichte nicht aus, um auch die freie Säure darzustellen und zu studieren, daher die Vergleichung sich auf die Barytsalze beschränkt.

C₃H₅baO₄ wäre glycerinsaures Baryum; aber die davon gemachte Beschreibung stimmt nicht zu dem vorliegenden Salze. Um allen Zweifel auszuschliessen, wurde aus einem von Prof. Linnemann in der hiesigen Sammlung herrührenden, als rein bezeichneten glycerinsaurem Calcium das Baryumsalz zur Vergleichung hergestellt, aber dabei nichts den beschriebenen wawellitartigen Krystallisationen Ähnliches erhalten. Beide Körper unterscheiden sich sehr wesentlich auch dadurch, dass eine alkalische Lösung von Glycerinsäure Kupferoxyd mit blauer Farbe löst, die vorliegende Substanz aber nicht. Endlich krystallisirt das glycerinsaure Baryum ohne Krystallwasser.

Glycerinsaures Baryum ist der analysirte Körper also nicht.

Wenn man die, übrigens unwahrscheinliche Annahme machen will, dass jenes erst bei 200° entweichende Wasser-

molekül auch noch Krystallwasser und nicht aus der Säure selbst abgespaltenes Wasser ist, so wäre das Barytsalz $C_3H_3baO_3$ und die ihm zu Grunde liegende Säure $C_3H_4O_3$.

Säuren von dieser Zusammensetzung werden drei in der Literatur angeführt, die Akrylmilchsäure von Pinner und Bischoff,¹ die Oxyakrylsäure von Melikoff² und von Erlenmeyer³ und endlich die Brenztraubensäure.

Davon ist die letztere leicht auszuschliessen, denn sie gibt gummiartige Salze und diese zerlegen sich beim Kochen mit Ätzbaryt, während die vorliegende Säure gerade unter diesem Einflusse gebildet worden ist. Dann versagen auch die für die Brenztraubensäure angegebenen Reactionen; so gibt meine Säure keine Eisenreaction, wird von salzsaurem Phenylhydrazin weder für sich, noch nach Zusatz von etwas Salzsäure gefällt, erzeugt auch aus ammoniakalischer Silberlösung keinen Silber Spiegel und reducirt überhaupt nicht. Brenztraubensäure ist also ausgeschlossen.

Mit der Akrylmilchsäure, von der man fast nichts weiss und kein Salz kennt, ist eine Vergleichung schwerer möglich; doch da sie unter dem Einflusse von kochendem Baryt sich bilden soll, hätte das so beständige und gut krystallisirende Barytsalz unmöglich übersehen werden können.

Auch die dritte Säure, die Oxyakrylsäure (Glycidsäure) von der ich übrigens ein Barytsalz ebenfalls nicht beschrieben finde, kann mit meiner Säure nicht identisch sein; denn von ihr wird angegeben, dass sie beim Erwärmen stechend und erstickend riechenden Dampf entwickle, während mein Barytsalz mit verdünnter Schwefelsäure nichts Riechendes entwickelte und ferner, dass ihr Silbersalz in Wasser lösliche durchsichtige Tafeln gebe, während mein Barytsalz mit Silbersalpeter einen schwer löslichen weissen Niederschlag gab ohne krystallinisches Ansehen. Alle Säuren $C_3H_4O_3$ sind also wohl ausgeschlossen.

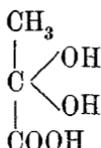
Ganz abgesehen von diesen Differenzen, spricht das Verhalten des vorliegenden Barytsalzes überhaupt nicht für die

¹ Annalen 179. 91.

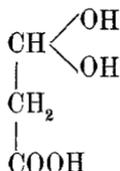
² Berich. der berlin. chem. Gesellsch. 13. 273.

³ Dasselbst 13. 458.

wasserärmere Verbindung $C_3H_4O_3$, sondern für die wasserreichere $C_3H_6O_4$, denn es ist, nachdem schon im Vacuum Krystallwasser entwichen ist, viel wahrscheinlicher, dass das dann später erst bei 200° (und nicht darunter) nochmals weggehende Wasser aus der Säure selbst abgespalten wird. Dann muss die Säure $C_3H_6O_4$ und ein Isomeres mit der Glycerinsäure sein. Davon kennt man nur ein Substitutionsproduct, die Isotrichlorglycerinsäure. Nimmt man für die vorliegende Säure die Constitution dieser noch unbekanntes Isoglycerinsäure:



oder die einer Homologen der Glyoxylsäure:



an, so würde sich die Abspaltung eines Moleküls Wasser in hoher Temperatur gut erklären.

Indem ich also die Constitution der Säure wegen Mangel genügenden Materials offen lassen muss und sie mit Vorbehalt als Isoglycerinsäure bezeichne, bemerke ich, dass Anlass genommen worden ist, die synthetische Bildung einer solchen Säure zu bewirken, und dass zu diesem Zwecke eine kleine Menge Barytsalz des Vergleiches halber zurückbehalten wurde.

B. Hauptkrystallisation.

(Glutaminsäure.)

Der braune Krystallbrei wird in warmem Wasser gelöst und im Vacuum eingeengt. Die jetzt in Krusten und Körnern erhaltene Krystallisation wird mit Alkohol ausgekocht, wodurch sie völlig weiss wird. Bei wiederholtem Umkrystallisiren erhält man weisse Krusten und Massen, wenn man die heisse Lösung erkalten

lässt, aber grössere, klare, fast demantglänzende Tetraëder, wenn die Verdunstung ganz langsam über Schwefelsäure stattfindet. Durch die unten folgenden Analysen und die Krystallbestimmung ist der Körper als Glutaminsäure erkannt worden.

Herr Friedrich Kohn, Assistent am mineralogischen Institut der deutschen Universität war so freundlich mir folgende Mittheilung über die Krystalle zu machen.

„Die der sphenoidisch-hemiedrischen Abtheilung des rhombischen Systems angehörenden Krystalle haben sämmtlich den tetraëdrischen Habitus der von Ritthausen (Jour. f. prakt. Chemie 107, 232) dargestellten Formen, denen sie vollkommen entsprechen. Beobachtet wurden vorwaltend $o = x \{111\} + \frac{P}{2}$, untergeordnet $\omega = x \{1\bar{1}1\} - \frac{P}{2}$, $c = \{001\} o P$, und $b = \{010\} \infty P \infty$ und die mit Öbbeke's Angaben (Zeitsch. f. Kryst 10. 265) übereinstimmenden Kantenwinkel:

	Kohn	Öbbeke
$o (111) : c (001) =$	$56^\circ 22'$	$56^\circ 25'$
$o (111) : \omega (\bar{1}\bar{1}1) =$	$56 \quad 29$	$56 \quad 26$
$o (111) : \omega (11\bar{1}) =$	$67 \quad 13$	$67 \quad 2$
$o (111) : \omega (\bar{1}\bar{1}\bar{1}) =$	$112 \quad 49$	$112 \quad 56$
$o (\bar{1}\bar{1}\bar{1}) : \omega (111) =$	$86 \quad 40$	$86 \quad 38''$

Analysen:

1. 0·2975 g gaben 26 cm^3 N bei 21° und 747 mm.
2. 0·2785 g gaben 0·4135 g CO_2 und 0·154 g H_2O .
3. 0·2785 g gaben 24·3 cm^3 N bei $19\cdot5^\circ$ und 734mm.

Glutaminsäure	Gefunden		
	1	2	3
$C_5 \dots\dots 40\cdot81$	—	40·64	—
$H_9 \dots\dots 6\cdot12$	—	6·14	—
$N \dots\dots 9\cdot53$	9·74	—	9·64
$O_4 \dots\dots 43\cdot54$	—	—	—

Die Glutaminsäure ist namentlich als Zersetzungsproduct von pflanzlichem Eiweiss und dann aus Casein erhalten

worden. Es ist besonders bemerkenswerth, dass Hlasiwetz die Säure aus dem Casein beim Kochen mit Salzsäure und Zinnchlorür (aber nicht mit Schwefelsäure) erhalten hat. Während also das Eiweiss nach vorgängiger intensiver Oxydation Glutaminsäure liefert, entsteht sie aus Casein unter dem Einflusse eines starken Reductionsmittels.

C. Die warzige Substanz.

(Leucin, Amidovaleriansäure.)

Wird dreimal aus warmem Wasser umkrystallisirt und abgesetzt. Stellt dann dünne, weiche, fettglänzende und sich fettig anfühlende, weisse Blättchen dar, zum Theil unter dem Mikroskop von rhombischem Umrisse, zum Theile ohne bestimmte Form. Die Substanz schwimmt am Wasser, ohne sich sofort damit zu benetzen, und hat die grösste Ähnlichkeit mit Leucin. Auch das wollige Sublimat und der Geruch treten beim Sublimirversuch ein. Aber eine Stickstoffbestimmung nach Dum a s gab:

$$11 \cdot 28^0\% \text{ N}$$

statt $10 \cdot 69^0\%$ wie es Leucin verlangt. Es wird desshalb nochmals umkrystallisirt und vollständig analysirt, wobei es in seiner Zusammensetzung völlig unverändert geblieben ist. Man bekam jetzt:

$$\begin{aligned} \text{C} \dots 53 \cdot 23^0\% \\ \text{H} \dots 9 \cdot 40 \\ \text{N} \dots 11 \cdot 29 \\ \text{O} \dots 26 \cdot 08 \end{aligned}$$

Also ist wie in den Amidosäuren $\text{N} : \text{O} = 1 : 2$, aber $\text{C} : \text{H}$ wie $5 \cdot 5 : 12$, d. h. genau zwischen Leucin und Amidovaleriansäure.

Leucin berechnet	Mittel beider	Amidovaleriansäure berechnet
C 54·96	53·14	51·28
H 9·92	9·62	9·41
N 10·69	11·32	11·96
O 24·43	25·90	27·35.

Eine (die α) Amidovaleriansäure ist von Schützenberger unter den Zersetzungsproducten des Eiweisses mit Baryt und von Schulze und Barbieri in den etiolierten Lupinenkeimen gefunden worden. Eine Verbindung beider ist meines Wissens nicht beschrieben worden; da das Umkrystallisiren die vorliegende Substanz völlig unverändert liess, könnte eine solche vorliegen. Doch ist auch ein Gemenge nach molecularem Verhältnisse nicht auszuschliessen, denn die Amidovaleriansäure gibt auch atlasglänzende Blättchen und verhält sich beim Sublimiren wohl sehr ähnlich dem Leucin.

Die als Magma *D* bezeichnete Substanz gibt beim ersten Umkrystallisiren eine gelatinöse, beim zweiten eine blumenkohlartige, weiche, weissliche Ausscheidung, die sich mikroskopisch als ein Gemenge undeutlicher, sehr feiner Nadelchen und Kugeln darstellt. Sie ist N hältig, sauer, verkohlt unter Bildung übelriechender Dämpfe. Ihre Menge reichte zur Aufhellung ihrer Natur nicht aus.

Die letzte syrupöse Mutterlauge *E* endlich bestand noch aus ein wenig Glutaminsäure, Leucin und einem Rest der mit Kupferoxyd sich dunkelblau färbenden Säure, die sich der Zerspaltung durch Baryt entzogen hat.

2. Spaltungsversuch.

Dieser Versuch wurde ein wenig anders ausgeführt und dabei auch die flüchtigen Säuren gewonnen.

285 *g* Barytsalz der Peroxyprotsäure wurden mit dem halben Gewicht Ätzbaryt erhitzt, das Filtrat vom Baryumoxalat mit weiteren 100 *g*. Barythydrat am Wasserbade unter öfterem Wasserzusatz zum Syrup gebracht.

Mit etwas Wasser verdünnt, setzt der Syrup nach zweitägigem Stehen im Keller Krusten und krystallinischen Brei ab (*A*). Die von *A* abgesaugte Flüssigkeit wird mit CO_2 von noch vorhandenem Ätzbaryt befreit und mit starkem Alkohol gefällt, wobei ein zäher Niederschlag (*B*) ausfällt. Das alkoholische Filtrat gibt eingeengt, eine griesige Ausscheidung *C*, wovon

sich noch eine dicke, in Alkohol lösliche Mutterlauge *D* absaugen lässt.

Ad *A*. Nach Entfernung von etwas Baryumcarbonat- und Oxalat und des Ätzbaryts konnten durch vielfache Krystallisation und Behandlung mit Alkohol daraus zwei Körper isolirt werden. Der eine war das als isoglycerinsaures Baryum angesprochene Salz; ein Theil der vorher angeführten Analysen ist mit Substanz von dieser Darstellung ausgeführt worden. Der andere Körper, der in die alkoholischen Auszüge übergang, erwies sich als Leucin.

Ad *B*. Das durch Alkohol gefällte zähe Barytsalz wird mit Schwefelsäure genau zerlegt. Die saure Lösung gibt beim Einengen weisse, spröde Krusten grösserer Krystalle. Bei wiederholtem sorgfältigen Umkrystallisiren im Vacuum wird die Krystallisation einheitlich und erweist sich als Glutaminsäure.

$$1. 0.3005 \text{ g} = 0.4465 \text{ g CO}_2 \text{ und } 0.1695 \text{ g H}_2\text{O}.$$

$$2. 0.3379 \text{ g} = 29 \text{ cm}^3 \text{ N; } 19^\circ; 742 \text{ mm}.$$

$$3. 0.3043 \text{ g} = 0.4585 \text{ g CO}_2 \text{ und } 0.1755 \text{ g H}_2\text{O}.$$

Glutaminsäure berechnet	Gefunden		
C 40.82	40.53	—	41.08
H 6.12	6.26	—	6.42
O 9.53	—	9.63	—

Die Silberverbindung enthielt 60.12% Ag, während für glutaminsaures Silber sich 59.84% berechnen.

Ad *C*. Bestand hauptsächlich aus Leucin.

Ad *D*. Dieser letzte in Alkohol lösliche Theil wurde mit Schwefelsäure vom Baryt befreit und die Lösung destillirt. Das lange sauer übergehende Destillat mit kohlen-saurem Baryt gekocht und eingeeengt, gibt kleine Krytalldrusen und darüber einen farblosen Syrup.

Die Krytalldrusen erwiesen sich als benzoësaurer Baryt; sie gaben beim Abrauchen mit Schwefelsäure den Geruch nach Benzoylverbindungen und lieferten für das vacuumtrockene Salz 32.43% Ba (theoretisch 31.61%).

Eine andere kleine Probe des Barytsalzes mit Schwefelsäure zerlegt und destillirt, gab die flachen Nadeln der Benzoëssäure mit dem Schmelzpunkt 120°.

Die Mutterlage von benzoësaurem Baryt enthielt viel Ameisensäure und nach dem Geruch zu urtheilen, etwas buttersaures Salz.

Im Destillationsrückstand von den flüchtigen Säuren fand sich ein Rest Leucin und etwas der mit Kupferoxyd sich blau färbenden Säure, die sich der Barytzersetzung entzogen hatte.

Demnach sind folgende Spaltungsproducte bei der Einwirkung von Barythydrat auf Peroxyprotsäure aufgefunden worden:

Ammoniak,
Oxalsäure,
Schweflige Säure,
Isoglycerinsäure,
Pyrrol (Spar),
Glutaminsäure,
Leucin,
Amidovaleriansäure,
Benzoëssäure ¹
Ameisensäure.

Bei der Ausführung der in dieser Arbeit vorgekommenen Analysen bin ich schon früher in Graz durch die Herren R. Andreasch und J. Freydl und später hier besonders durch Herrn Carl von Kutschig eifrig unterstützt worden.

¹ In meiner ersten Abhandlung habe ich die aromatische Gruppe der Oxyprotsulfonsäure nicht als Benzoëssäure austretend gefunden, sondern als Benzol. Dies erklärt sich dadurch, dass, weil die Oxyprotsulfonsäure sich schwerer als wie die Peroxyprotsäure zerlegt, damals fünftägiges Erhitzen im eisernen Rohr und bei viel höherer Temperatur angewandt wurde. Dabei ist die primärgebildete Benzoëssäure zerfallen. Die damals gemachten theoretischen Annahmen über die aromatische Eiweissgruppe werden dadurch nicht alterirt.
