

Über die Zusammensetzung der Gelatine

von

Zd. H. Skraup und A. v. Biehler.

Aus dem II. chemischen Laboratorium der Wiener Universität.

(Vorgelegt in der Sitzung am 21. Mai 1909.)

Seit Emil Fischer seine Estermethode veröffentlicht hat, sind zahlreiche Proteine durch Hydrolyse quantitativ auf ihren Gehalt an einfachsten Spaltungsstücken untersucht worden. Dabei hat sich herausgestellt, daß, vereinzelt Ausnahmen abgerechnet, das Gesamtgewicht der isolierten Spaltungsstücke sehr erheblich kleiner ist als das Gewicht des Ausgangsmaterials. Infolgedessen ergibt sich die Frage, ob diese Differenz lediglich der Unvollkommenheit der Methoden oder dem Umstande zuzuschreiben ist, daß Spaltungsstücke unbekannter Art bisher übersehen worden sind. Die Lösung dieser Frage in einem einzigen Falle wäre von allgemeinerer Bedeutung.

Wir haben deshalb ihre Beantwortung versucht und als Objekt das Glutin gewählt, weil bei diesem relativ einfachere Verhältnisse bestehen. Es enthält kein Tyrosin und nach den Farbenreaktionen auch keine Kohlenhydratgruppe, für deren Bestimmung praktikable Methoden überhaupt nicht zur Verfügung stehen.

Die Untersuchung war naturgemäß eine Art Geduldspiel. Es handelte sich im wesentlichen darum, die Verfahren, mit welchen bisher aus der Gelatine Spaltungsstücke abgeschieden wurden, immer wieder auf jenen Anteil anzuwenden, der in jenen nicht übergegangen ist, und festzustellen, ob die bekannten einfachen Bestandteile immer wieder entstehen oder ob schließlich ein Rest auftritt, bei welchem die bisher mit Erfolg angewendeten Methoden versagen.

Die Arbeit ist deshalb vorzugsweise quantitativer Art und haben wir dementsprechend das Verfahren eingerichtet.

Einen untergeordneten Fall abgerechnet, hatten wir das Glück, bei den sehr zahlreichen Operationen einen Unfall nicht zu erleiden. Einen bisher übersehenen Bestandteil haben wir nicht auffinden können und aus unseren Bestimmungen ergibt sich nach einer ziemlich strengen Berechnung,¹ daß die bisher schon bekannten Bestandteile 66% der Gelatine ausmachen. Nach einer allerdings weniger sicheren, aber doch sehr annähernden Rechnung¹ kann man annehmen, daß 86% der Gelatine gekannt sind, während nach den bisherigen Bestimmungen² nur 48% der Gelatinebestandteile bekannt waren. Es sei ausdrücklich hervorgehoben, daß bei dieser Rechnung auf die bei der Hydrolyse erfolgende Bindung von Wasser keine Rücksicht genommen ist.

Man kann deshalb behaupten, daß die Existenz einer bisher übersehenen Substanz in der Gelatine wenig wahrscheinlich und die Gelatine quantitativ jetzt ungefähr ebenso genau bekannt ist wie die meisten Fette und Öle.

Die Zahlen, die im experimentellen Teil angegeben werden, sind in einer Richtung einigermaßen auffallend.

Wir haben gefunden, daß bei Wiederholung der Hydrolyse und des Trennungsverfahrens Glutaminsäure und Glykokoll in erheblichen Mengen nur ganz anfänglich auftreten, die Aminoverbindungen aber, die als flüchtige Ester isoliert werden, immer wieder in zwar abnehmendem, aber doch noch ganz erheblichem Gewicht.

Die Menge der Ester der zweiten, dritten und vierten Esterifikation, 131, 88 und 22 g, sind zusammengenommen größer wie die der ersten, 213 g.

Man kann das in verschiedener Weise erklären: einmal derart, daß die Hydrolyse nach dem ersten Kochen schon vollständig ist, die Aminosäuren, deren Ester flüchtig sind, aber deshalb nur nach oftmaliger Wiederholung aller Operationen zu fassen sind, weil sie immer nur partiell in Ester übergehen und diese bei der Zufügung von Baryt zum erheblichen Teil

¹ Siehe die Rechnung am Schlusse dieser Mitteilung.

² Siehe Cohnheim's Eiweißstoffe.

wieder verseift werden. Für das Glykokoll, welches schon nach der ersten Esterifikation zum weitaus größten Teil auskristallisiert, müßte man dann annehmen, daß es viel vollständiger esterifiziert wird als z. B. Leucin und Alanin, und das steht mit der allgemeinen Annahme im Widerspruch, nach welcher der Glykokollester besonders leicht verseift wird.

Eine andere Erklärung wäre, daß die Hydrolyse anfänglich nur teilweise stattfindet, daß aus der Gelatine, beziehlich den Gelatosen, die intermediär entstehen, die Glutaminsäure und das Glykokoll aber fast vollständig austreten und polypeptidartige Verbindungen noch erhalten bleiben, welche vorzugsweise aus anderen Aminosäuren bestehen, welche Peptide erst bei weiterer Hydrolyse vollständig zerfallen.

Es kommen so viele komplizierte und teilweise sich widersprechende Momente in Betracht, daß es kaum möglich ist, eine Entscheidung zu treffen. Daß das Glykokoll bei der Hydrolyse mit wässerigen Säuren früher aus der peptidartigen Bindung gelöst wird wie andere Säuren, ist auch schon deshalb unwahrscheinlich, weil R. Przibram gefunden hat, daß in Alkohol gelöste Säuren im Gegenteil Glykokoll schwieriger auflösen als die anderen Aminosäuren. Hierüber wird demnächst berichtet werden.

Wir haben käufliche Gelatine (Goldmarke), und zwar vor-sichtshalber in zwei nahezu gleichen, gewogenen Partien ver-arbeitet (I 472 g, II 478 g). Die Gelatine enthielt 15·46% Feuch-tigkeit und 2·19% Asche. Die Hydrolyse erfolgte, wie üblich, mit dem dreifachen Gewicht Salzsäure. Nach sechsständigem Kochen wurde auf die Hälfte gedampft, mit Salzsäure gesättigt und nach dem Impfen 5 Tage im Eisschrank aufbewahrt. Von Zeit zu Zeit wurde gut umgerührt.

	<u>Partie I</u>	<u>Partie II</u>
Salzsaure Glutaminsäure roh gewogen	40 g	74 g

Durch ein Versehen beim Waschen des Chlorhydrates mit Alkohol ging ein beträchtlicher Teil von I in Lösung. Daß dieser bei der nachfolgenden Esterifikation in Ester überging, geht daraus hervor, daß die Estermenge aus der Partie I weit größer war als aus II.

Beim Umkristallisieren wurden aus I im ganzen 26 g reine Krystalle und eine Mutterlauge erhalten, die beim längeren Stehen wieder größtenteils erstarrte.

II gab 43·3 g Krystalle. Die Mutterlauge verhielt sich wie bei I. Ob in der rohen Glutaminsäure wesentliche Beimischungen vorhanden sind, ist vorläufig nicht zu entscheiden.

Die Mutterlauge und die Waschflüssigkeiten der Rohkrystallisationen wurden nach dem Eindampfen im Vakuum mit dem dreifachen Gewicht Alkohol und Salzsäure verestert, abermals abdestilliert, wieder verestert, sodann der Glykokollester auskrystallisieren gelassen. Eisschrank 8 Tage.

	I	II
Salzsaurer Glykokollester bei 100°	84 g	93 g

Zur Abscheidung der freien Ester sind wir im wesentlichen dem Vorschlag von Levenne gefolgt¹ und haben Baryt verwendet, da dieser aus dem nicht in Äther löslichen Teil am leichtesten zu entfernen ist. Das Filtrat vom Glykokollesterchlorhydrat wurde im Vakuum auf einen gerade noch beweglichen Sirup gedampft, etwas Wasser zugesetzt, mit Äther überschichtet, fein gepulvertes Bariumhydroxyd bis zur alkalischen Reaktion zugefügt und bei den weiteren Ätherextraktionen Bariumoxyd eingetragen, bis die untere Schicht steifbreiig war. Dabei wurde mit Eis-Kochsalz gut gekühlt.

Erster Ester.			
	I.		II.
Druck 15 mm, 40°— 65°	14·4 g	15 mm, 40°— 65°	10·1 g
> 20 mm, —100°	53·3 g	12 mm, —100°	50·5 g
> 20 mm, —120°	14·9 g	12 mm, —140°	22·0 g
> 20 mm, —175°	28·1 g	12 mm, —180°	20·0 g
	110·7 g		102·6 g
Kolbenrückstand	30 g	Rückstand	10 g
	140·7 g		112·6 g

Die Fraktion 4 wurde mit Petroläther auf Phenylalanin verarbeitet.

Beim Eintrocknen der salzsauren Auszüge wurden sowohl bei I wie II 9 g Rückstand erhalten.

Der überschüssigen Baryt enthaltende, mit Äther erschöpfte Brei wurde in einer Kältemischung gut gekühlt, vorsichtig mit Wasser verdünnt, mit konzentrierter Salzsäure angesäuert und

¹ Biochem. Zeitschr., 13, 442 (1908).

mit salzsäurehaltigem Alkohol vermischt, wie er bei der Esterifikation abfällt. Dadurch fiel die Hauptmenge des Chlorbariums aus. Dieses, abgesaugt und mit salzsäurehaltigem Alkohol gewaschen, war so gut wie frei von organischer Substanz. Andererseits enthielt das Filtrat relativ wenig Chlorbarium gelöst (7 g), wie eine mit Schwefelsäure ausgefällte Probe zeigte.

Da es nicht unmöglich erschien, daß noch erhebliche Mengen peptidartiger Verbindungen unzersetzt vorhanden sind, wurde der Alkohol vollständig verjagt und nochmals mit Salzsäure hydrolysiert, und zwar diesmal mit der fünffachen Menge und durch elfstündiges Kochen.

Es wurde sodann im Vakuum zum Sirup gedampft, dieser in der achtfachen Menge kochenden Wassers gelöst, Zinnchlorür zugefügt, einige Zeit erwärmt und dann mit Schwefelwasserstoff gefällt. Dadurch wurden die braunen Verunreinigungen größtenteils entfernt. Es empfiehlt sich, mit dem Zinnsalz auch Blei zuzufügen, da das Gemisch beider Sulfide viel besser filtrierbar ist.

Nach dem Konzentrieren der Filtrate und Waschwässer wurde genau so verfahren, wie vorher beschrieben.

Glutaminsäure schied sich (3 Wochen Eisschrank) so gut wie nicht ab. Die geringe Abscheidung war Chlorbarium mit wenig organischer Substanz.

Auch Glykoll esterchlorhydrat entstand nicht. Die geringe Trübung (3 Tage Eisschrank), kaum 1 g, enthielt auch Anorganisches.

Zweiter Ester.

	I.	II.
Druck 20 bis 15 mm, 40°—50° ...	14·5 g	20 mm, 40°—50° ... 12 g
> 13 mm, —110° ...	32 g	13 mm, —116° ... 32 g
> 13 mm, —140° ...	18·5 g	13 mm, —130° ... 14·5 g
	<u>65·0 g</u>	<u>65·5 g</u>
Kolbenrückstand	8 g	10 g
	<u>73 g</u>	<u>75·5 g</u>
Salzsaures Phenylalanin aus Fraktion 3	5·4 g	6 g

Die vereinigten Kolbenrückstände, mit SnCl_2 und SH_2 entfärbt, gaben, eingedampft, Krystalle (Glutaminsäure?).

Die Partie II, beziehlich der in Äther nicht lösliche Teil der Veresterung wurde in der beschriebenen Art wieder verarbeitet. Keine Glutaminsäure, kein Glykokoll.

Dritter Ester.

II.

Druck 20 bis 13 <i>mm</i> , 40°— 50°	4·5 <i>g</i>
> 13 <i>mm</i> , —110°	30 <i>g</i>
> 13 <i>mm</i> , —160°	20 <i>g</i>
	<u>54·5 <i>g</i></u>
Kolbenrückstand	4 <i>g</i>
	58 <i>g</i>
HCl-Phenylalanin, roh	3·4 <i>g</i>

Das durch Umkrystallisieren gereinigte Salz wurde analysiert.

0·3564 *g* gaben 0·2941 *g* AgCl.

In 100 Teilen:

	Gefunden	Berechnet
Cl.....	20·4	17·5

Es liegt demnach ein Gemisch vor; daß in demselben Phenylalanin vorhanden ist, geht daraus hervor, daß eine mit Silberoxyd entchlorte Probe, mit Chromsäure erhitzt, den charakteristischen Aldehydgeruch gab.

Die Partie II wurde nun auf Hexonbasen verarbeitet.

Das Barium wurde in der Art, wie schon erwähnt, größtenteils entfernt; durch längeres Kochen wurden eventuell vorhandene Ester verseift und die 2 *l* betragende Lösung dann mit 50prozentiger Phosphorwolframsäure gefällt. Es waren 1800 *cm*³ nötig. Der Niederschlag wurde unter häufigem Verreiben mit 5prozentiger H₂SO₄ chlorfrei gewaschen. Das Waschwasser betrug 2·5 *l*. Der Niederschlag, der die quantitativ schon bestimmten Hexonbasen enthält, wurde auf die freien Basen verarbeitet, aber nicht weiter untersucht.

Filtrate und Waschwässer vom Phosphorwolframat wurden von überschüssiger Phosphorwolframsäure durch Baryt, dann durch Schwefelsäure von Baryt befreit, dann eingedampft.

In ganz derselben Weise wurde Partie I verarbeitet, die bloß zweimal esterifiziert worden war. Zur Ausfällung waren 1000 g Phosphorwolframsäure nötig. Die freien Hexonbasen, als dicker Sirup mit jenen von der Partie II vereinigt, wogen 90 g.

Das Filtrat der Phosphorwolframsäurefällung wurde nach der Trennung von Phosphorwolframsäure, später von Baryt, neuerdings verestert.

Dritter Ester.

I.

Druck 20 bis 15 mm, 40°— 50°	4 g
» 12 bis 9 mm, —100°	17·5 g
» 9 mm, —150°	12 g
	<hr/>
	33·5 g
Kolbenrückstand	4 g
	<hr/>
	37·5 g

Bei der Destillation zeigte sich bei der zweiten Fraktion vorübergehend Grünfärbung.

Salzsaures Phenylalanin 1·4 g, Asparaginsäure 0·8 g.

Der barythaltige Brei vom Ausschütteln mit Äther wurde, wie schon oft erwähnt, weiter behandelt. Aus der zum Sirup gedampften Flüssigkeit schieden sich nach langem Stehen organische Krystalle in sehr geringer Menge ab. Da alle Versuche (so eine kombinierte fraktionelle Fällung mit Äther und Alkohol), sie zu vermehren, resultatlos waren, wurden diese abgebrochen und nun Partie I und II vereinigt.

Es wurde wieder verestert.

Vierter Ester.

I. und II.

a) Druck 20 bis 17 mm, 40°— 50°	1·5 g
b) » 17 bis 15 mm, —110°	17·0 g
c) » 15 mm, —140°	3·5 g
	<hr/>
	22·0 g
Kolbenrückstand	6 g
	<hr/>
	28 g

Diese Esterfraktionen haben wir näher untersucht.

Fraktion a, mit Wasser verseift, gab beim Eindampfen Krystalle, die nochmals umkrystallisiert wurden.

0·1675 g gaben 0·2197 g CO₂ und 0·0993 g H₂O.

In 100 Teilen:

	Gefunden	Glykokoll	Alanin
C	35·69	32·1	40·0
H	6·62	6·7	7·8

Es liegt also ein Gemisch von Glykokoll und Alanin vor.

Die Fraktionen *b* und *c* wurden einzeln mit Petroläther geschüttelt. Dieser, dann mit Salzsäure geschüttelt, lieferte schließlich Phenylalaninchlorhydrat, auf Ton getrocknet 0·05 g.

Beim Ausschütteln mit Petroläther gab Fraktion *b* auffallenderweise eine flockige Fällung (getrocknet 0·3 g), die der geringen Menge halber nicht weiter untersucht wurde.

Die wässrige Lösung von *b* wurde wieder mit Wasser verseift. Aminosäure 9 g. Durch Behandlung mit Alkohol wurde aus *b* 3·4 g rohes Prolin erhalten. Kochen mit Kupferoxyd gab 0·7 g in Alkohol unlösliches, 4 g lösliches Kupfersalz. Das erste wurde aus Wasser umkrystallisiert.

0·2015 g gaben 0·0556 g CuO:

In 100 Teilen:

	Gefunden	Berechnet für Prolin-Cu
Cu	22·06	21·8

Die alkoholunlöslichen Aminosäuren wurden aus Wasser fraktionell krystallisiert und drei hintereinander folgende Anschüsse analysiert. Der erste schmolz bei 282°.

1. 0·1388 g gaben 0·2045 g CO₂ und 0·0982 g H₂O.
2. 0·2086 g gaben 0·2837 g CO₂ und 0·1359 g H₂O.
3. 0·1732 g gaben 0·2234 g CO₂ und 0·1188 g H₂O.

In 100 Teilen:

	1	2	3
C	40·19	36·93	35·18
H	7·92	7·33	7·69

Es liegt also vorwiegend Alanin und Glykokoll vermischt vor.

Der Rest wurde in das Kupfersalz verwandelt (getrocknet im Vakuum bei 104°).

0·2354 g gaben 0·0776 g CuO.

In 100 Teilen:

	Gefunden	Berechnet für Alanin-Cu
Cu	26·35	26·5

Die Esterfraktion *c* verunglückte bei der Verseifung mit Baryt. Aus dem Kolbenrückstand der Esterdestillation wurde eine geringe Menge (0·05 g) salzsaure Glutaminsäure erhalten.

Wenn man vom Leucin absieht, für dessen Auftreten ein Anhaltspunkt nicht vorliegt, so wurden alle Aminosäuren, die nach der Fischer'schen Estermethode bei der allerersten Veresterung auftreten, aufgefunden und sehr annähernd auch im selben Gewichtsverhältnis.

Der Barytbrei, aus dem mit Äther die Ester extrahiert worden waren, wurde abermals vom Baryt befreit und nun mit Phosphorwolframsäure das zweite Mal ausgefällt. Es wurden 600 *cm*³ der 50prozentigen Lösung verbraucht. Der Niederschlag wurde wieder chlorfrei gewaschen, dann in ammoniakalischer Lösung mit Ätzbaryt zersetzt. Die Kossler-Kutscher'sche Methode ergab, daß alle drei Hexonbasen vorhanden sind.

Es wurde erhalten: 0·16 g salzsaures Histidin = 0·11 Histidin,
 0·49 g Arginin (durch Titration),
 0·48 g Lysinpikrat (roh gewogen) = 0·11 Lysin.
 (Nach dem Umkrystallisieren richtiger Zersetzungspunkt.)

Auch das Mengenverhältnis der drei Hexonbasen ist sehr annähernd; wie es bisher für das Glutin gefunden wurde.

Das Filtrat von der eben erwähnten letzten Fällung mit Phosphorwolframsäure wurde hintereinander von Phosphorwolframsäure und von Baryt (hier mit Schwefelsäure) genau befreit.

Die eingedampfte Flüssigkeit begann nach kurzer Zeit zu krystallisieren und nach einer Woche hatten sich reichlich Krystalle (lufttrocken 28 g) abgeschieden, deren Mutterlauge noch weitere Mengen ergab.

Die Krystalle enthielten zu etwa einem Drittel Kochsalz. Da die vermutete Aminosäure aus ihnen nicht auszufallen war, mußte das organische Chlorhydrat vom Kochsalz getrennt werden, was wegen der sehr ähnlichen Löslichkeitsverhältnisse

Schwierigkeiten machte. Am zweckmäßigsten war es, das Gemenge wiederholt mit 96prozentigem Alkohol auszukochen, der vorwiegend die organische Substanz löste. Der ungelöste Rückstand, der hartnäckig organische Substanz zurückhielt, gab diese wieder ab, wenn die möglichst konzentrierte wässrige Lösung mit einem mäßigen Überschuß von Alkohol vermischt wurde, wobei im wesentlichen nur Kochsalz ausfiel.

Die Rückstände der ersten Auskochungen mit Alkohol wurden nochmals mit Alkohol fraktionell ausgekocht und das in Lösung Gegangene in wässriger Lösung bis zur Krystallisation gedampft. Die mit Alkohol gedeckten Krystalle sind dann ganz rein.¹

Sie sind farblose lange Prismen, in der Regel tafelförmig zusammengewachsen, in Wasser sehr leicht, in starkem Alkohol recht schwer löslich. Sie schmelzen bei 192 bis 194° (unkorr.). Die lufttrockene Substanz verlor im Vakuum bei 104° 5·34% Wasser, welches nicht Krystallwasser sein dürfte.

0·1843 g gaben 0·2433 g CO₂ und 0·0982 g H₂O.

0·1959 g gaben 0·1659 g AgCl.

In 100 Teilen:

	Gefunden	Berechnet für C ₅ H ₁₀ O ₃ NCl
C	36·01	35·80
H	5·96	5·95
Cl	20·93	21·10

Danach könnte die Substanz das Chlorhydrat der Oxyprolidoncarbonsäure sein, welche schon E. Fischer aus der Gelatine dargestellt hat.

Nach dem Entchloren mit Silberoxyd wurden farblose Krystalle erhalten, die in Wasser recht leicht, viel schwieriger in Alkohol löslich sind und sich bei 266° unter Zersetzung verflüssigen.

¹ In einem ähnlichen Falle überzeugt man sich am einfachsten und sichersten von der Abwesenheit von Kochsalz, wenn man auf Platin gelinde verkohlt, dann zweimal mit einem Gemisch von konzentrierter Schwefelsäure und Salpetersäure abraucht und dann mit Chlorbarium prüft.

0·1998 g gaben 0·3364 g CO₂ und 0·1223 g H₂O.

In 100 Teilen:	Gefunden	Berechnet für C ₅ H ₉ O ₃ N
C	45·92	45·80
H	6·85	6·87

0·2387 g, in 9·8206 g H₂O gelöst, zeigten im 50 mm-Rohr eine Ablenkung von $-1·87^\circ$, $t = 20^\circ$, $d = 1·08$, somit $(\alpha)_D = -68·4^\circ$.

Bis auf das Drehungsvermögen, welches von E. Fischer mit $(\alpha)_D = 81·04^\circ$ ermittelt wurde, zeigte sich völlige Übereinstimmung der Eigenschaften und ist nicht zu zweifeln, daß wir Oxypropylidincarbonsäure erhalten haben.

Die von uns isolierte Menge ist nur um weniges geringer, als E. Fischer angibt.

Wir haben auch noch das Kupfersalz dargestellt, welches nach E. Fischer schwierig krystallisiert. Das konnten wir nicht beobachten. Die mit Kupferoxyd gekochte Lösung der Säure dunstete zu einem Brei kleiner Krystalle ein, die in Form hübscher Nadelchen entstanden, als die konzentrierte heiße wässrige Lösung mit etwas mehr als dem gleichen Volumen heißen Alkohols vermischt wurde.

0·2293 g gaben 0·0565 g CuO.

In 100 Teilen:	Gefunden	Berechnet
Cu	19·69	19·70

Wir haben die Hauptmengen der Ester nicht untersucht. Da sich aber gezeigt hat, daß die letzte Esterifikation Ester gegeben hat, die qualitativ und auch quantitativ dieselben Bestandteile enthalten wie die von Fischer untersuchten Ester der ersten Esterifikation, ist eine Berechnung möglich.

Da E. Fischer aus 888 g Trockensubstanz im ganzen 233 g, wir aus 803 g Trockensubstanz im ganzen 453·3 g Ester erhielten, ist unsere Esterausbeute mehr wie doppelt so groß. Man ist also berechtigt, die von E. Fischer gefundenen Zahlen zu verdoppeln.

Rechnet man die Rohkrystallisationen von salzsaurer Glutaminsäure und von Glykokollesterchlorhydrat auf die Amino-

säuren um¹ und rechnet man schließlich den bekannten Gehalt an Hexonbasen zu, so ergibt sich:

Glykokoll ²	12·4%
Alanin ³	0·6
Pyrolin ³	10·4
Leucin ³	9·2
Asparaginsäure ³	1·2
Glutaminsäure ³	1·8
Phenylalanin	1·0
Oxyprolin	3·0
Glutaminsäure ²	15·0
Lysin	6·0
Histidin	0·4
Arginin	9·3
	66·3%

daß aus Gelatine rund 66% ihres Trockengewichtes an gut bestimmten Bestandteilen sichergestellt sind.

Man kann aber mit der größten Wahrscheinlichkeit noch behaupten, daß dieses in höherem Grade gilt. Nach unseren Bestimmungen liefert die Gelatine rund 57% destillierende Ester. Die in ihnen vorhandenen Aminosäuren machen mindestens 70% vom Estergewicht, d. i. also, auf Gelatine gerechnet, 40% aus.

Es ist nun mehr als wahrscheinlich, daß diese Ester andere Aminosäuren, als sie Fischer isolierte, nicht enthalten, daß ferner die von Fischer (in unserer Zusammenstellung mit 3 bezeichneten) angegebenen Prozentzahlen viel zu niedrig sind, weil bloß die durch Krystallisationsprozesse rein erhaltenen Substanzen in Rechnung kamen.

Man kann also die Summe der mit 3 bezeichneten Zahlen, d. i. 19·2, ohne weiteres um 20% erhöhen und dann erhöht sich die eben angegebene Zahl 66 auf 86%. Aber auch diese

¹ Wir glauben die besseren Ausbeuten berücksichtigen zu dürfen; ob die beiden Krystallisationen ganz einheitlich sind, ist allerdings nicht sicher.

² Unsere Bestimmungen.

³ Zahlen von E. Fischer, verdoppelt.

Ziffer kann als zu niedrig angesehen werden, da auf alle unvermeidlichen Verluste bei den außerordentlich zahlreichen Operationen gar nicht Rücksicht genommen ist, ebenso nicht auf den Aschegehalt der Gelatine, der bei unserem Präparat 2.2% ausgemacht hat, und einige Bestandteile, wie Phenylalanin, Oxypyrolin, sicher in noch größerer Menge anzunehmen sind. Um es kurz zusammenzufassen: man ist zu der Meinung berechtigt, daß in der Gelatine andere als die bisher aufgefundenen Bestandteile nicht vorhanden sind. Auszunehmen wäre wohl nur der Träger des Schwefelgehaltes.

Die bei den Gelatinen gemachten Erfahrungen lassen sich auch bei vielen anderen Proteinen anwenden, es ist mehr als wahrscheinlich, daß auch bei diesen ungefähr die doppelte Menge von Estern zu erzielen ist, wenn man ähnlich vorgeht wie wir bei der Gelatine, und daß deshalb auch bei diesen Proteinen die quantitative Charakterisierung viel weiter gediehen ist, als beispielsweise die tabellarische Zusammenstellung im Cohnheim'schen Buche besagt.