Über die Bindung von Kohlensäure durch amphotere Aminokörper.

IV. Mitteilung.

Von

M. Siegfried und H. Liebermann.

(Aus der chemischen Abteilung des physiologischen Instituts der Universität Leipzig.)

(Der Redaktion zugegangen am 10. Januar 1908.)

Nachdem durch die III. Mitteilung das Verhalten einer Reihe von letzten Spaltungsprodukten der Eiweißkörper gegenüber der Carbaminoreaktion festgestellt war und für verschiedene stickstoffhaltige Gruppen Gesetzmäßigkeiten erkannt waren, konnte ein Schritt weiter gegangen werden und der Quotient an synthetischen Peptiden festgestellt werden. Die aus Monoaminosäuren gebildeten Peptide enthalten eine Aminogruppe und eine oder mehrere Peptidbindungen. Es fragt sich, sind auch die N-Atome dieser Peptidbindungen

imstande, Kohlensäure zu addieren? Die Beantwortung dieser Frage war besonders deshalb von Interesse, weil man, wenn die Peptidgruppen gegen Kohlensäure bei Gegenwart von Kalkhydrat indifferent sind, eine pro Peptidbindung um 1 größere Zahl für x des Quotienten erhalten würde und man somit bei reinen Peptiden, sofern sie aus einfachen Monoaminosäuren aufgebaut sind, aus der Zahl x die Anzahl der Peptidbindungen erkennen würde. Der Vergleich der Quotienten, welche Peptide bekannter Konstitution geben, mit denen, welche Peptone, deren Konstitution unbekannt ist, geben, wird dann ein exakter Weg für die Beurteilung der Konstitution dieser Körper sein; und wenn dieser Weg auch noch nicht zur bestimmten Antwort führt, wird

er doch engere, scharf vorgezeichnete Fragestellungen ergeben und so die Klärung der Konstitution der Peptone befördern.

Die Bestimmung des Quotienten $\frac{\text{CO}_2}{\text{N}}$ bei Polypeptiden.

Alle Peptide, mit Ausnahme des Leucylasparagins, das über Schwefelsäure getrocknet wurde, waren vor der Ausführung der Bestimmungen bei 110° bis zum konstanten Gewicht getrocknet.

$$\frac{\text{CO}_2}{\text{N}} = \frac{1}{x}$$

1. Glycylglycin.

Aus Glykokollesterchlorhydrat Kahlbaum nach E. Fischer und E. Fourneau¹⁾ dargestellt. Fp. 235° korr.

- I. 0,2 g angew. S. gaben 0,1324 g CaCO₃ 23,7 ccm n/10-S. $x = 1,79$
 II. 0,3 „ „ „ „ 0,2072 „ „ 37,1 „ „ $x = 1,79$

Die Bestimmungen zeigen, daß auf 1 Atom etwas weniger als 2 Atome N kommen. Die nächstliegende Erklärung, welche durch die folgenden Versuche gestützt wird, ist die, daß die NH₂-Gruppe des Glycylglycins quantitativ, die Laktamgruppe bis zu einem gewissen Grade unter den gegebenen Umständen reagiert.

Das Baryumsalz dieser unbeständigen Glycylglycincarbon-säure war schon früher von dem einen²⁾ von uns und später von Leuchs³⁾ dargestellt worden. Es war damals gezeigt worden, daß es sich beim Erhitzen der wässerigen Lösung unter Bildung von Baryumcarbonat und Glycylglycin, das durch N-Gehalt und Fp. identifiziert wurde, zersetzt. Wir haben den Versuch unter genau den Bedingungen, unter denen die Bestimmung des Quotienten ausgeführt wurde, wiederholt und haben hierbei das gewonnene Produkt nicht, wie dies früher geschehen war, vor der Analyse und Bestimmung des Fp. umkrystallisiert, sondern den Eindampfungsrückstand unmittelbar verwendet. Während also früher nicht ausgeschlossen war, daß aus dem Baryumsalz der Glycylglycincarbon-säure neben Glycylglycin etwas Glycylglycincarbon-säure entsteht, zeigt dieser

¹⁾ E. Fischer und E. Fourneau, Berl. Ber., Bd. XXXIV, S. 2871.

²⁾ M. Siegfried, Berl. Ber., Bd. XXXIX, S. 399.

³⁾ H. Leuchs, Berl. Ber., Bd. XXXIX, S. 861.

Versuch, daß das Baryumsalz der durch Aufnahme von Kohlensäure gebildeten Glycylglycincarbonensäure vollständig in Baryumcarbonat und Glycylglycin zerfällt.

Versuch: 0,38 g Glycylglycin in 50 ccm Wasser mit Kalkmilch, Phenolphthalein, Eiskühlung, Einleiten von CO_2 , Kalkmilch, Einleiten von CO_2 , Kalkmilch, Einleiten von CO_2 , Kalkmilch, abgesaugt. Das mit 100 ccm Wasser verdünnte Filtrat wurde aufgekocht, nach Zusatz von Ammoniumcarbonat bei $70-80^\circ$ digeriert, Filtrat eingedampft und der Rückstand bis zur Gewichtskonstanz bei 110° getrocknet. Fp. korr. 234° . Substanz aschefrei.

0,1274 g S. verbr. 19,0 ccm n_{10} -S. = 20,88% N

Berechnet für Glycylglycin = 21,21% N

Es unterlag somit keinem Zweifel, daß zwei völlig verschiedene isomere Glycylglycincarbonensäuren existieren.

Die für x erhaltenen Werte ließen, wie oben gesagt, annehmen, daß bei der Carbaminoreaktion die NH_2 -Gruppe des Glycylglycins vollständig, die NH-Gruppe bis zu einem gewissen Grade reagiert. Wir erwarteten, daß diese Annahme sich mit Hilfe der beständigen Glycylglycincarbonensäure bestätigen ließe, denn, da hier lediglich die NH-Gruppe noch für CO_2 frei war, mußten die Werte für x zeigen, wie weit diese NH-Gruppe reagiert.

2. Glycylglycincarbonensäure.

Die Darstellung der Glycylglycincarbonensäure geschah nach E. Fischer und E. Fourneau¹⁾ und E. Fischer.²⁾ 10,2 g Glycinanhydrid gaben 12,4 g Glycylglycinesterchlorhydrat und 8,2 g Carbäthoxylglycylglycinester. Fp. 87° . 3 g dieses Esters lieferten 0,9 g Glycylglycincarbonensäure. Zers. Fp. 209° uncorr., nach E. Fischer 208° korr.

Zur Bestimmung des Quotienten wurden 2 Versuche ausgeführt, beim ersten wurden 0,2 g Substanz angewendet und 0,0010 g CaCO_3 erhalten. Beim zweiten, bei dem 0,4 g Substanz genommen wurden, schied sich durch Kochen überhaupt kein Niederschlag ab.

¹⁾ E. Fischer und E. Fourneau, Berl. Ber., Bd. XXXIV, S. 2875.

²⁾ E. Fischer, Ebenda, Bd. XXXV, S. 1097.

Somit reagiert Glycylglycincarbonsäure überhaupt nicht. Es konnte noch eingewendet werden, daß die Glycylglycincarbonsäure während der Ausführung der Methode eine Umwandlung erleidet. Deshalb wurde wie oben mit dem Glycylglycin ein Versuch angestellt, bei dem die Substanz aus dem Filtrate isoliert wurde.

Die erhaltene Substanz gab entsprechend der Glycylglycincarbonsäure als Fp. 206° mit heftiger Gasentwicklung. Zu unserer Überraschung lieferte jedoch die N-Bestimmung der bei $105-108^{\circ}$ bis zum konstanten Gewicht getrockneten Substanz einen viel zu hohen Wert:

0,1382 g S. verbr. 21,65 ccm n_{10} -S. = 21,93% N

Berechnet für Glycylglycincarbonsäure = 15,91% »

Der gefundene Wert stimmte aber gut für das saure Ammoniumsalz der Säure, für welche N = 21,76% ist.

Daß hier wirklich dieses Ammonsalz vorlag, zeigt die Ammoniakbestimmung:

0,1520 g Substanz wurden mit 16 ccm n_{10} -Barytwasser destilliert. Das Destillat hatte 7,65 ccm n_{10} -S. neutralisiert.

Gefunden: NH_3 -N = 7,05%

Berechnet für glycylglycincarbonsaures Ammonium: 7,25%

Aus dem Destillationsrückstand wurde der Baryt durch 16 ccm n_{10} - H_2SO_4 ausgefällt, das Filtrat vom Baryumsulfat eingengt. Es krystallisierte die Glycylglycincarbonsäure. Zersetzungspunkt 204° .

0,0950 g der bei 105° getrockneten Substanz erf. 10,6 ccm n_{10} -S.

Gefunden: 15,62% N

Berechnet für Glycylglycincarbonsäure: 15,91% »

Dieser Versuch zeigt einmal, daß bei der Ausführung der Methode der Bestimmung des Quotienten die Glycylglycincarbonsäure nicht verändert wird; zweitens, daß die Glycylglycincarbonsäure eine starke zweibasische Säure ist, deren saures Ammonsalz bei 105° völlig beständig ist. Daß der Schmelzpunkt des Ammonsalzes mit dem der freien Säure identisch ist, erklärt sich dadurch, daß durch das Erhitzen auf die Schmelzpunkttemperatur von über 200° das Ammoniumsalz in die Säure übergegangen war. Eine konzentrierte Lösung der Glycylglycincarbonsäure bläut übrigens Kongopapier.

Anmerkung: Bei dieser Gelegenheit möchten wir darauf hinweisen, daß die Carbaminoreaktion und die Hydroxylkohlensäurereaktion (s. S. 429 dieses Heftes) die Erklärung der Bildung der Salzsäure des Magensaftes aus Natriumchlorid und Kohlensäure erleichtert. Bei Gegenwart von Amino- und eventuell auch Hydroxylkörpern wird die Kohlensäure zu einer viel stärkeren Säure, wenn die Gelegenheit zur Neutralisation der entstehenden Carbonsäuren vorhanden ist. Nach dem Massenwirkungsgesetze ist also bei Gegenwart amphoterer Aminokörper bei weitem nicht ein so großer Überschuß von Kohlensäure erforderlich, wie es die frühere Annahme, daß die Kohlensäure Salzsäure aus Natriumchlorid frei macht, erheischt. Der eine von uns hofft über Versuche in dieser Frage später berichten zu können. Es soll übrigens nicht behauptet werden, daß die unbeständigen Carbaminosäuren so starke Säuren sind, als die beständige Glycylglycincarbonsäure, nur, daß sie viel stärker als Kohlensäure sind.

Nachdem die Versuche mit der Glycylglycincarbonsäure das unerwartete Resultat gegeben hatten, daß diese Säure überhaupt nicht, auch nicht in geringem Grade, die Carbaminoreaktion liefert, mußte entweder geschlossen werden, daß die NH-Gruppe des Peptides gar nicht reagiert, oder daß der isomeren beständigen Säure eine Konstitution zukommt, bei der keine NH-Gruppe vorhanden ist.

Die erstere Schlußfolgerung erschien uns schon nach Anstellung dieser Versuche unwahrscheinlich, da wir schon mehrere Peptide untersucht hatten, bei denen sich die NH-Gruppen ebenso wie beim Glycylglycin im Werte x bemerkbar machten. Von der Notwendigkeit, die zweite Möglichkeit, daß der beständigen Glycylglycincarbonsäure die NH-Gruppe fehlte, experimentell zu prüfen, wurden wir erfreulicherweise inzwischen durch eine Mitteilung von Leuchs und Manasse¹⁾ enthoben, welche nachgewiesen haben, daß die beständige Glycylglycincarbonsäure nicht die Gruppe $-\text{C} \begin{smallmatrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{NH} \end{smallmatrix} -\text{C}-$, sondern die Gruppe $-\text{C} \begin{smallmatrix} \text{OH} \\ \parallel \\ \text{N} \end{smallmatrix} -\text{C}-$ besitzt.

Somit sind die hier mitgeteilten Tatsachen eine Bestätigung der Anschauung dieser Forscher.

¹⁾ H. Leuchs und W. Manasse, Berl. Ber., Bd. XL, S. 3235.

3. Alanylglycin.

5 g Glykokoll und 17 g Brompropionylbromid gaben 11 g über H_2SO_4 getrocknetes Brompropionylglycin. Diese gaben nach 4tägiger Einwirkung von 58 ccm 21%igen Ammoniaks bei gewöhnlicher Temperatur und Eindampfen auf dem Wasserbade, Umkrystallisieren aus Alkohol 5 g Alanylglycin. Zersetzungspunkt 229° statt 228° .

I.	0,3 g angew. S.	0,1906 g CaCO_3	32,65 ccm $n_{10}^{\text{D}}\text{-S.}$	$x = 1,71$
II.	0,33 » » »	0,2245 » »	36,8 » »	$x = 1,64$

4. Alanylalanin.

6 g i-Alanin wurden in 70 ccm N-NaOH gelöst in 4 Portionen unter Kühlung mit insgesamt 100 ccm N-NaOH und 17 g Bromacetyl bromid geschüttelt. Dann wurde konzentrierte Salzsäure (13,5 ccm) bis zur schwachen Congoreaktion zugegeben. Nach 2tägigem Stehen war ein Teil des Bromkörpers in feinen Nadeln ausgefallen, diese wurden abfiltriert, gut mit Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen über Schwefelsäure betrug seine Menge 1,8 g. Das Filtrat wurde im Vacuum bei $30\text{--}37^\circ$ eingedampft, mit Äther ausgezogen. Der Äther hinterließ beim Verdunsten 11,2 g prachtvolle weiße Nadeln des Bromkörpers.

12 g des so dargestellten Brompropionylalanins wurden mit 60 ccm konzentrierten Ammoniaks 4 Tage bei gewöhnlicher Temperatur gelassen. Es wurden so an Rohprodukt 2,3 g erhalten, die nach Umkrystallisieren aus 8 ccm Wasser und ca. 160 ccm heißen absoluten Alkohol 1,9 g Alanylalanin geben. Fp. uncorr. 268° . E. Fischer gibt für das aus Anhydrid dargestellte Alanylalanin den uncorr. Fp. 270° an.

0,1020 g S. (bei 120° getrocknet, wobei keine Gewichtsabnahme stattfand), verbr. 12,9 ccm $n_{10}^{\text{D}}\text{-S.}$

N gefunden: 17,71%

» berechnet: 17,50%

¹⁾ E. Fischer, Unters. über Aminosäuren usw., 1906, S. 467, und Liebigs Ann., Bd. CCCXL, S. 123.

²⁾ Derselbe, Ebenda, S. 528.

Bestimmung von x:

I. 0,26 g angew. S.	0,1554 g CaCO ₃ und 26,7 ccm n/10-S.	x = 1,72
II. 0,20 „ „ „	0,1137 „ „ „ 18,9 „ „	x = 1,66

5. Leucylglycin.

23 g Bromisocaprönsäure¹⁾ gaben 21,8 g Bromisocaprönychlorid. Sdp. 65—80° unter 22—25 mm Druck. 21,8 g Bromisocaprönychlorid²⁾ gaben 20,8 g Bromisocaprönylglycin und 11,7 g Leucylglycin. Nach Umkrystallisieren Zers. Fp. 234°.

I. 0,32 g angew. S.	0,1858 g CaCO ₃	29,7 ccm n/10-S.	x = 1,60
II. 0,20 „ „ „	0,0857 „ „	13,65 „ „	x = 1,59
III. 0,40 „ „ „	0,1937 „ „	33,0 „ „	x = 1,70

In Nr. I und III waren anstatt wie gewöhnlich 50 ccm 100 ccm Wasser zur Lösung verwendet.

6. Leucylasparagin.

10 g Asparagin und 19 g Bromisocaprönylbromid lieferten 14 g Bromisocaprönylasparagin und 1,7 g Leucylasparagin; dieses verlor gegen 175° (unkorr.) sein Krystallwasser unter Aufschäumen, erstarrte dann wieder und schmolz bei 220° uncorr.

I. 0,32 g angew. S.	0,1158 g CaCO ₃	31,05 ccm n/10-S.	x = 2,68
II. 0,21 „ „ „	0,0902 „ „	23,80 „ „	x = 2,56

7. Diglycylglycin.

7 g Chloracetyl-glycylglycin gaben 2,3 g des Tripeptides Zers. Fp. 245° uncorr.

I. 0,3 g angew. S.	0,1142 g CaCO ₃	30,2 ccm n/10-S.	x = 2,65
II. 0,3 „ „ „	0,1062 „ „	27,2 „ „	x = 2,56

Es waren in beiden Versuchen 60 ccm Wasser zur Lösung verwendet worden.

¹⁾ E. Fischer, Berl. Ber., Bd. XXXVII, S. 2492.

²⁾ E. Fischer und A. Brunner, E. Fischer, Untersuchungen über Aminosäuren usw., S. 478, und Liebigs Ann., Bd. CCCXL, S. 123.

³⁾ E. Fischer und E. Koenigs, Berl. Ber., Bd. XXXVII, S. 4590.

⁴⁾ E. Fischer, Berl. Ber., Bd. XXXVI, S. 2983, und ebenda, Bd. XXXVII, S. 2500.

8. Alanylleucylglycin.

6,1 g Leucylglycin und 14 g Brompropionylbromid gaben ohne Berücksichtigung der Mutterlaugen und Waschwässer 6 g Brompropionylleucylglycin, Fp. 160°, und 4 g des Tripeptides, Zers. Fp. des umkrystallisierten Alanylleucylglycins uncorr. 232°.

I. 0,3 g angew. S.	0,0624 g CaCO ₃	15,1 ccm n/10-S.	x = 2,42
II. 0,38 „ „ „	0,1386 „ „	32,8 „ „	x = 2,37
III. 0,35 „ „ „	0,1002 „ „	26,05 „ „	x = 2,60

Bei der dritten Bestimmung waren 60 anstatt 50 ccm Wasser zur Lösung verwendet worden.

9. Triglycylglycin.

4,5 g Diglycylglycin gaben 3,7 g Chloracetyldiglycylglycin und 1,5 g Triglycylglycin. Färbt sich im Schmelzröhrchen von 210° uncorr. an dunkel, ohne zu schmelzen.

I. 0,2 g angew. S.	0,0600 g CaCO ₃	21,5 ccm n/10-S.	x = 3,58
II. 0,2 „ „ „	0,0706 „ „	23,1 „ „	x = 3,27
III. 0,2 „ „ „	0,0835 „ „	25,55 „ „	x = 3,06
IV. 0,2 „ „ „	0,0730 „ „	23,6 „ „	x = 3,23

Bei II und IV waren 70 ccm, bei III 75 ccm Wasser zur Lösung angewendet.

Folgende Tabelle gibt die Übersicht über die erhaltenen Werte (S. 445).

Diskussion der erhaltenen Werte.

Die Mittel der bei den Dipeptiden gewonnenen Werte für x liegen zwischen 1,63 und 1,79, Zahlen, welche beweisen, daß, wenn die NH₂-Gruppe der Peptide quantitativ reagiert, was nach den bei den Aminosäuren erhaltenen Werten zweifellos ist, die Peptidgruppe bis zu einem gewissen Grade reagiert. Würde letztere sich indifferent gegen Kohlensäure verhalten, so würde x nahe an 2 gefunden werden, würde auch sie 1 Molekül CO₂ aufnehmen, so wäre x=1. Leucylasparagin gibt

¹⁾ E. Fischer und A. Brunner, E. Fischer, Untersuch. über Aminosäuren usw., S. 484, und Liebigs Ann., Bd. CCCXL, S. 123.

²⁾ E. Fischer, Berl. Ber., Bd. XXXVII, S. 2501.

$$\frac{\text{CO}_2}{\text{N}} = \frac{1}{x}$$

Körperklasse	Verbindung	x	Mittel x
Dipeptide	Glycylglycin	1,79 1,79	1,79
	Glycylglycincarbonsäure	∞	∞
	Alanylglycin	1,71 1,64	1,675
	Alanylalanin	1,72 1,66	1,69
	Leucylglycin	1,60 1,59 1,70	1,63
	Leucylasparagin	2,68 2,56	2,62
Tripeptide	Diglycylglycin	2,65 2,56	2,605
	Alanylleucylglycin	2,42 2,37 2,60	2,53
Tetrapeptid	Triglycylglycin	3,58 3,27 3,06 3,23	3,285

den Wert 2,62 für x, weil die Säureamidgruppe auch hier nicht reagiert.¹⁾ Bei den Tripeptiden ist x im Mittel = 2,57. Auch hier reagieren die beiden NH-Gruppen bis zu einem gewissen Grade, denn reagierten sie nicht, wäre x nahe 3. Dementsprechend wurde bei dem Tetrapeptid x = 3,29 gefunden. Voraussichtlich werden Pentapeptide x = 4 geben.

Wir sind der Meinung, daß schon jetzt diese Zahlen geeignet sind, um auf Grund derselben Peptide mit Peptonen vergleichen zu können.

¹⁾ Vgl. Diese Zeitschrift, dieses Heft, S. 433.

Die Konstitution der Peptone ist zur Zeit unbekannt; wir wissen nicht, ob es Peptide sind. Wir sind allerdings überzeugt, daß sie ebenso wie die Eiweißkörper Peptidbindungen enthalten. Als Peptide dürften wir sie wohl nur dann ansprechen, wenn alle bei der Hydrolyse durch Säuren aufgespaltenen Bindungen außer Säureamidgruppen Peptidbindungen wären.

Wir wollen jetzt nur die Resultate anführen, welche wir mit Trypsinfibrinpepton α und β erhalten haben. Der eine von uns hat gemeinschaftlich mit Herrn E. Hitschmann diese Peptone von neuem untersucht und namentlich Versuche zur Prüfung der Individualität dieser Peptone, über die demnächst berichtet werden soll, angestellt. So wurden diese Peptone mit Hilfe der Carbaminoreaktion fraktioniert;¹⁾ die aus den einzelnen Fraktionen gewonnenen Peptone gaben dieselben Barytsalze und besaßen dasselbe optische Drehungsvermögen. Hingegen lieferten unreine Trypsinfibrinpeptone bei der gleichen Fraktionierung Produkte, die im Drehungsvermögen und im Barytgehalte der Baryumsalze von einander abwichen.

Nach den früheren Untersuchungen und nach diesen neuen ist es ganz unwahrscheinlich, daß diese nach der Eisenmethode isolierten und durch Umfällungen mit Alkohol gereinigten Trypsinfibrinpeptone α und β Gemische sind.

Trypsinfibrinpepton α .

I. 0,25 g angew. S.	60 ccm Wasser	0,0437 g CaCO_3	9,7 ccm $n_{10}^{\circ}\text{-S.}$
	$x = 2,22.$		
II. 0,25 g angew. S.	120 ccm Wasser	0,0700 g CaCO_3	15,8 ccm $n_{10}^{\circ}\text{-S.}$
	$x = 2,26.$		
III. 0,32 g angew. S.	130 ccm Wasser	0,0805 g CaCO_3	19,8 ccm $n_{10}^{\circ}\text{-S.}$
	$x = 2,46.$		

Trypsinfibrinpepton β .

I. 0,225 g angew. S.	125 ccm Wasser	0,0524 g CaCO_3	11,2 ccm $n_{10}^{\circ}\text{-S.}$
	$x = 2,14.$		
II. 0,22 g angew. S.	125 ccm Wasser	0,0379 g CaCO_3	8,2 ccm $n_{10}^{\circ}\text{-S.}$
	$x = 2,16.$		

¹⁾ M. Siegfried, Berl. Ber., Bd. XXXIX, S. 397.

Die Peptone waren vor der Bestimmung im Alkoholsiedeapparat bis zum konstanten Gewicht getrocknet, also NH_3 -frei.

Diese Zahlen liegen zwischen den für Dipeptide und den für Tripeptide erhaltenen Werten. Hierbei ist zu berücksichtigen, daß die Peptone Lysin als Spaltungsprodukt liefern, welches voraussichtlich als Gruppe den Wert für x erniedrigt, daneben aber auch Arginin, das ihn erhöht, denn für Arginin ist $x = 4$.

Wenn diese Peptone, woran nicht mehr zu zweifeln ist, einheitlich sind, so ist es schon nach den Ergebnissen der von Hitschmann ausgeführten Spaltungsversuche ausgeschlossen, daß sie Tripeptide oder gar Dipeptide sind. Es liegt daher der Schluß auf der Hand, daß in diesen Peptonen noch andere Bindungen als Peptidbindungen vorhanden sind, welche bei der Hydrolyse gesprengt werden. Wir zögern aber jetzt, diesen Schluß zu ziehen, nachdem sich herausgestellt hat,¹⁾ daß auch Hydroxylgruppen Kohlensäure zu binden vermögen. Es ist dies um so notwendiger, als bei zahlreichen, im hiesigen Laboratorium angestellten Versuchen, bei denen vergleichend der Wert für x bei Gegenwart und bei Abwesenheit von einigen Tropfen Alkohol ermittelt wurde, festgestellt worden ist, daß bei manchen Verbindungen, zu denen Peptone und Peptide gehören, die Gegenwart sehr geringer Mengen Alkohol den Wert für x mehr herabsetzen, als die durch den Alkohol allein hervorgerufene Bildung von Calciumcarbonat bewirken würde. So lieferte dasselbe Trypsinfibrinpepton α , das ohne Gegenwart von Alkohol die Werte $x = 2,22$; $2,26$; $2,46$ (s. oben) gegeben hatte, bei Gegenwart einiger Tropfen alkoholischer Phenolphthaleinlösung sehr konstant $x = 1,48$ — $1,50$.

Es ist somit nicht ausgeschlossen, daß in den genannten Peptonen Hydroxylgruppen vorhanden sind, welche den Wert für x unverhältnismäßig herabdrücken.

¹⁾ Diese Zeitschrift, dieses Heft, S. 429.