Einige kritische Untersuchungen über die quantitativen Fällungsverhältnisse verschiedener Proteinfällungsmittel.

Von

H. Schjerning.

(Mittheilung aus dem chemischen Laboratorium Neu-Carlsberg.)

Wie es Jedermann, der sich irgendwie mit den Proteinstoffen und deren analytischem Verhalten beschäftigt, bekannt sein wird, ist die Litteratur reich an Methoden zur Ausfällung dieser Stoffe. Oft wurde das vorgeschlagene Proteinfällungsmittel nur in seinem Verhalten gegenüber einer ganz bestimmten, oder doch nur gegenüber verhältnissmässig wenigen verschiedenartigen Proteinlösungen untersucht und geprüft, und manchmal weichen die Angaben verschiedener Forscher in irgend einem Punkte wesentlich von einander ab.

Meiner Auffassung und Erfahrung nach muss man die Aufmerksamkeit ganz besonders auf 3 Punkte richten, wenn es sich um die Beurtheilung einer quantitativen Proteinfällung handelt, nämlich:

- I. dass die Fällung von einer solchen Beschaffenheit sein muss, dass schon das blossé Auge über ihre etwaige Brauchbarkeit Auskunft geben kann, oder, wie ich dies früher ausgedrückt habe, dass Filtrat und Waschflüssigkeit ganz klar sein müssen;
- II. dass in dem Niederschlag entweder alle Proteingruppen oder nur ganz bestimmte enthalten sein müssen, und zwar soll dies nicht nur an einer bestimmten, einzigen Proteinlösung geprüft sein, sondern es ist so zu verstehen, dass diese Reaction sich gegenüber einer Reihe verschiedener und verschiedenartiger Proteinlösungen wiederholt.
- III. Die Fällung darf keine anderen stickstoffhaltigen organischen Verbindungen enthalten als gerade die Proteine — also keine Amin-Amidverbindungen, Fleischbasen, Xanthinverbindungen u. s. w.

Auf den ersten Punkt werde ich nicht näher eingehen, da es sich wohl von selbst ergibt, dass das Filtrat von einer quantitativen Fällung immer klar sein muss, wenn man mit Aussicht auf ein zuverlässiges Resultat die Bestimmung weiter zu führen berechtigt sein will.

Das unter »Punkt II« Angeführte habe ich in meinen früheren Publicationen¹⁾ zu beweisen gesucht, bevor ich meine analytische Methode zur quantitativen Trennung der verschiedenen Proteingruppen²⁾, wenn diese in einer gemischten Lösung enthalten sind, veröffentlichte. Ich bin jedoch immer darüber im Klaren gewesen, dass mehrere Einwendungen gegen mein Verfahren erhoben werden können; aber einen ganz unumstösslichen Beweis für oder wider zu erbringen, dürfte, glaube ich, im Augenblicke kaum möglich sein.

Wenn Laszczynski³⁾ sich über meine Methode folgendermaassen ausspricht: »Schjerning hat eine eigenartige und neue Methode ausgearbeitet, indem er von der Beobachtung ausging, dass Zinnchlorür, Bleiacetat, Ferriacetat und Uranacetat bei parallelen Fällungen in der Würze steigende Stickstoffmengen in den Niederschlägen geben. Er nahm also an, dass Zinnchlorür: Albumin, Bleiacetat: Albumin + Denuclein, Ferriacetat: Albumin + Denuclein + Propepton, Uranacetat: Albumin + Denuclein + Propepton + Pepton ausfällt, wobei vorausgesetzt wurde, dass das nächstfolgende Reagens auch mit den vom vorhergehenden gefällten Substanzen Verbindungen eingehe, eine Behauptung, welche nach unseren Beobachtungen kaum zutreffen dürfte«, so muss ich ihm erwidern, dass er übersehen haben muss, dass in meiner ersten Abhandlung in der möglichst directen Weise nachgewiesen wurde, dass ich nicht von der progressiven Fällung der verschiedenen Proteingruppen als etwas Gegebenem ausgegangen bin, sondern gerade im Gegentheil durch meine Versuche zeigte, dass diese progressive Fällung stattfindet. In meinen späteren Publicationen, welche indess Laszczynski nicht zu Gesicht bekommen hat und deren er deshalb nicht erwähnt, komme ich erst zu dem eigentlichen Material,

1) Diese Zeitschrift **33**, 263; **34**, 135; **35**, 285; **36**, 643; **37**, 73.

2) Ibid. **37**, 413.

3) Zeitschr. f. d. gesammte Brauw. **22**, 123.

welches über die Natur und Classification der einzelnen Proteinfällungen Licht verbreiten kann. Was mich bei diesen Untersuchungen besonders angeleitet hat, ist die neuere Auffassung der wirklichen Peptone als Proteinstoffe, welche sich weder aus neutralen noch aus sauren Lösungen durch Sättigung mit neutralen, leicht löslichen Salzen ausfallen lassen — ich habe Magnesiumsulfat benutzt. Wird dagegen eine vorher mit circa 0,5 % freier Essigsäure vermischte Proteinfällung mit einem leicht löslichen Salze ($MgSO_4$) gesättigt, so werden ausschliesslich diejenigen Proteinstoffe ausgefällt, welche unter die Gruppe der Albumine und Propeptone (Albumosen) gezählt werden können. Da das Verhältniss der Magnesiumsulfatfällung zu den übrigen Fällungen ausserdem durch experimentelle Versuche vollständig beleuchtet ist,¹⁾ glaube ich auch fernerhin — jedenfalls bis ein auf Versuche gestützter Gegenbeweis vorliegt — die Richtigkeit der von mir vorgeschlagenen Proteintrennungsmethode behaupten zu dürfen. Im Uebrigen werde ich diese Sache später wieder berühren.

Die vorliegende kleine Arbeit bezweckt jedoch zunächst, was ich in dem obigen dritten Punkte (III) ausgedrückt habe, nämlich zu untersuchen, wie die von mir vorgeschlagenen 6 Proteinfällungsmittel, wie auch einige andere neuere und ältere, sich in analytischer Beziehung gegenüber organischen Stickstoffverbindungen von nicht-proteinartiger Natur — Amin-Amidsäuren, Fleischbasen u. s. w. — verhalten. Ueber diese Untersuchungen werde ich im folgenden Abschnitte Bericht erstatten.

I.

Ehe ich dazu übergehe, die bei diesen Versuchen gewonnenen Resultate mitzutheilen, muss ich nothwendigerweise mit einigen Worten die Ausführung der einzelnen Fällungen erörtern.

Mit Rücksicht auf die Fällungen mit Zinnchlorür, Quecksilberchlorid, Bleiacetat, Ferriacetat, Uranacetat und Magnesiumsulfat wird ein Hinweis auf meine früher gegebene Beschreibung der praktischen Ausführung dieser Fällungen²⁾ genügen, indem es nur noch nothwendig ist hinzuzufügen, dass alle diese Versuche natürlich so vorgenommen wurden, als ob mit aschenfreien Proteinfällungen gearbeitet würde. Da

---

¹⁾ Diese Zeitschrift **35**, 291—93.

²⁾ Diese Zeitschrift **37**, 413.

ich indess früher¹⁾ nachgewiesen habe, dass Uranacetat eine gewisse Menge Ammoniak ausfällen kann, wenn die Flüssigkeit gleichzeitig freie Phosphorsäure oder lösliche Phosphate enthält, war natürlich die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass Uranacetat unter ähnlichen Verhältnissen auch andere, ausserhalb der Gruppe der Proteinstoffe stehende stickstoffhaltige Verbindungen rein organischer Natur auszufallen vermöchte.

Mit Rücksicht auf diese Möglichkeit wurde ausser der normalen Uranfällung noch eine andere Uranfällung vorgenommen, bei welcher die zum Versuche verwendete Substanzmenge vorher mit einer circa 0,04 g Phosphorsäure entsprechenden Menge gewöhnlichen Natriumphosphats versetzt war. Die auf diese Weise hervorgebrachte Uranfällung wurde 4 bis 5 mal mit einer kalten 1—2 procentigen Uranacetatlösung ausgewaschen, darauf wurden Filter und Niederschlag in einen $\frac{1}{4}$ Liter-Kolben übertragen, mit 50 cc Magnesiamilch — 11 g gebrannte Magnesia in zwei Litern Wasser — versetzt und auf einer Asbestplatte über einer schwachen Gasflamme beinahe, aber doch nicht vollständig, zur Trockne abgedampft, und dann der Rest nach Kjeldahl's Methode behandelt.

50 cc der oben genannten Magnesiamilch werden an Sättigungsfähigkeit circa 125 cc $\frac{1}{10}$ Normalsäure entsprechen — einer Säuremenge, welche auch nicht annähernd in einer nach meiner Methode ausgeführten Uranfällung enthalten sein kann. Uebrigens kann man sich leicht davon überzeugen, dass der Eindampfungsrest mit einem Tropfen Phenolphthalein alkalische Reaction zeigt. Das Eindampfen mittelst Kalkmilch vorzunehmen, ist nicht rathsam, da diese Base unzweifelhaft so stark ist, dass sie gewisse Proteinstoffe theilweise zu zersetzen vermag, was bei Anwendung von Magnesiamilch nicht geschieht. Dass die Magnesiamilch andererseits die gesammte ausgefällte Ammoniakmenge auszutreiben im Stande ist, geht aus den nachfolgenden Versuchen hervor.

Ausser den oben angeführten 7 Fällungen wurden auch mit Brom, mit Gerbsäure, mit Stutzer's Reagens und mit Phosphorwolframsäure Fällungen vorgenommen.

Die Bromfällung wurde auf die von Allen und Searle²⁾ beschriebene Weise ausgeführt indem die Flüssigkeit mit Salzsäure an-

1) Diese Zeitschrift **33**, 287; siehe auch Arendt und Knop, Chem. Centralbl. 1856, S. 769.

2) The Analyst **22**, 258; oder Chem. Centralbl. 1897, II. S. 1163; siehe auch Wiley. Chem. News **80**, 88; oder Chem. Centralbl. 1899, II, S. 586.

gesäuert, mit Ueberschuss von Bromwasser versetzt und unter Umrühren $\frac{1}{2}$ —1 Stunde bei gewöhnlicher Zimmertemperatur stehen gelassen wurde. Der Niederschlag wurde dann auf einem Filter gesammelt und 2—3 mal mit verdünntem Bromwasser ausgewaschen. Da es sich indessen herausstellte, dass der Niederschlag sich oft gar nicht sammeln liess oder sogar gänzlich in der Waschflüssigkeit gelöst wurde, wurden sowohl die Fällungsflüssigkeit als auch die Waschflüssigkeit stetig mit einer geringen Menge Magnesiumsulfat versetzt.

Die Gerbsäurefällung wird bei gewöhnlicher Temperatur vorgenommen indem die Fällungsflüssigkeit zuerst mit ein wenig Magnesiumsulfat versetzt, mit Essigsäure angesäuert und dann mit einer genügenden Menge 10procentiger Gerbsäurelösung versetzt wird — ein grösserer Ueberschuss ist nach Möglichkeit zu vermeiden. Die Fällung wird etwa 2 Stunden lang stehen gelassen und der angesammelte Niederschlag 2 bis 3 mal mit kaltem Wasser ausgewaschen.

Die Fällung mit Stutzer's Reagens. Das Reagens wurde nach Fassbender's Methode¹⁾ dargestellt. Durch vorläufige Versuche mit Asparagin, Leucin und Tyrosin wurden die Fällungsbedingungen festgesetzt. Diese vorläufigen Versuche ergaben folgende Resultate, berechnet in Procenten der gesammten Aminsäuremenge.

Tabelle I.

	Die Fällung in 20—30 cc Flüssigkeit vorgenommen				Die Fällung vorgenommen in 100 cc Flüssigkeit bei gewöhn- licher Tempe- ratur in 10 Minuten
	bei gewöhnlicher Temperatur		bei 50° C.		
	bei Stehenlassen		bei Stehenlassen		
	25 Stunden	2 Stunden	2 Stunden	10 Minuten	
Asparagin	91,0	62,8	26,9	1,5	3,8
Leucin	37,5	35,9	34,4	—	2,8
Tyrosin	—	—	—	—	14,3

¹⁾ Berichte der deutschen chem. Gesellschaft zu Berlin **13**, 1822 und diese Zeitschrift **20**, 588.

Bereits aus diesen wenigen Versuchen konnten die Fällungsbedingungen, wenn man eine Ausfällung von Aminosäuren vermeiden will, leicht aufgestellt werden. Ich nahm daher Stutzer's Fällung stets in 100 cc Flüssigkeit vor, indem ich 10 Minuten lang im Wasserbad bei 50° C. stehen liess und recht häufig umrührte. Nach dem Verlauf der 10 Minuten wurde der Niederschlag auf einem Filter gesammelt und 4—5 mal mit kaltem Wasser ausgewaschen.

Die Phosphorwolframsäurefällung wurde in einer Flüssigkeit vorgenommen, welche circa 2 % freie Schwefelsäure nebst einem Ueberschusse von Phosphorwolframsäure enthielt. Es wurde eine Fällung bei gewöhnlicher Temperatur und eine unter Kochen vorgenommen, indem der Niederschlag bei letzterer, gleich nachdem die Flüssigkeit zu kochen angefangen hatte, auf einem Filter gesammelt wurde. Beide Fällungen wurden 2—3 mal mit kalter etwa 2 procentiger Schwefelsäure ausgewaschen.

Was die bei den Versuchen benutzten stickstoffhaltigen organischen Stoffe angeht, ist nur zu bemerken, dass stets mit E. Merck's reinen Präparaten gearbeitet wurde. Nur das Leucin und die Glutaminsäure musste ich weiter reinigen. Das benutzte Arginin wurde gemäss der von Hedin gegebenen Vorschrift¹⁾ hergestellt, indem ich jedoch zur Trennung der gebildeten Aminosäuren Kossel's Methode²⁾ anwendete. Mein Argininpräparat war rein weiss, krystallinisch und enthielt 31,9 % Stickstoff, während die Formel des Arginins ($C_6H_{14}N_4O_2$) 32,18 % verlangt.

In der nachfolgenden Tabelle sind meine Versuchsergebnisse zusammengestellt, indem die Zahlen stets angeben, wie viele Procente der gesammten Stickstoffmenge von dem betreffenden Fällungsmittel ausgefällt werden. Die Titrirung wurde jodometrisch vorgenommen, und der zulässige Fehler auf dieselbe Weise wie in meinen früheren Arbeiten berechnet.

---

1) Zeitschrift f. physiol. Chemie **21**, 160.

2) Ibid. **25**, 165.

Tabelle II.

	Angewandte Substanz enthält Stickstoff, ent- sprechend Cubik- centimetern 1/10 Säure	Zinnchlorür	Quecksilberchlorid	Bleiacetat	Ferriacetat	Uran- acetat		Magnesiumsulfat	Bromwasser	Gerbsäure	Stutzer's Reagens	Phos- phor- wolfram- säure		Zulässiger Fehler
						ohne P ₂ O ₅	mit P ₂ O ₅					kalt	kochend	
Ammonium- acetat . .	24,4	—	12,3	—	—	—	—	—	—	—	—	×	×	0,4
Neurin . .	3,9	—	.	.	.	—	—	—	—	15,4	.	69,2	71,8	2,6
Betaïn .HCl	6,8	—	—	.	.	—	—	—	—	—	—	38,2	27,9	1,5
Guanin . .	4,0	—	—	.	.	—	.	—	—	—	47,5	45,0	—	2,5
Alloxan . .	9,1	26,4	—	3,3	24,2	—	—	—	—	—	31,9	.	—	1,1
Allantoin .	13,8	—	—	.	.	—	—	.	—	—	2,9	—	—	0,7
Kreatin . .	8,0	.	—	2,5	—	—	—	—	—	—	2,5	5,0	—	1,3
Asparagin .	15,3	—	—	—	.	—	4,5	—	—	—	.	2,5	—	0,7
Leucin . .	6,1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	.	—	—	1,6
Arginin . .	12,5	—	—	—	—	—	18,4	—	—	—	4,0	79,2	.	0,8
Harnsäure .	1,6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	31,3	—	—	6,3
Hippursäure	3,2	—	—	—	.	—	—	25,0	—	—	—	—	—	3,1
Tyrosin . .	2,6	—	—	—	—	—	—	—	×	—	.	—	—	3,8
Piperazin .	3,8	—	94,7	.	.	44,7	71,0	—	68,4	.	.	89,5	36,8	2,6
Coffein . .	15,9	—	4,4	—	1,3	.	—	94,3	×	×	—	91,2	93,7	0,6
Theobromin	8,8	—	—	—	—	—	—	5,7	—	—	—	×	—	1,1
Chinin . .	5,7	—	×	3,5	3,5	—	—	52,6	61,4	×	3,5	96,5	98,2	1,8
Morphin . .	3,8	—	—	—	.	—	—	—	5,3	—	—	100,0	84,2	2,7
Brucin . .	9,6	—	—	—	—	—	2,1	25,0	11,4	×	—	101,0	?	1,0
Amygdalin .	8,1	—	—	.	.	—	—	19,8	—	—	—	—	—	1,2
Solanin . .	1,5	—	—	—	—	—	—	66,7	×	×	—	—	—	6,7

× bedeutet, dass wohl eine Ausscheidung entstand, dass dieselbe aber so fein vertheilt war, dass sie sich nicht auf einem Filter sammeln liess. Wo es sich darum handelt, Proteinstoffe auszufällen, wird eine solche Ausscheidung doch zugleich mit der Proteinfällung offenbar ein gesammtes Ganze bilden, welches sich leicht auf einem Filter sammeln lässt.

. bedeutet, dass eine dem zulässigen Fehler entsprechende Stoffmenge ausgefällt ist, siehe die letzte Colonne. Da dieser Werth ja einen Titrationsfehler vertreten kann, ist er nicht zu berücksichtigen.

? reichliche Ausscheidung, aber die Bestimmung ging verloren.

Anmerkung: In allen leeren Rubriken war das Versuchsergebnis = 0.

Ausser mit den in der Tabelle angeführten Stoffen wurden auch mit Kaliumnitrat ¹⁾, Harnstoff, Glutaminsäure und Senföl Versuche angestellt; aber bei keinem dieser Stoffe wurde mit den benutzten Fällungsmitteln Fällung bewirkt.

Indem ich nun aus den in der Tabelle angeführten Zahlengrössen die Resultate ableite, werde ich mich möglichst kurz fassen. Man wird gleich auf den ersten Blick sehen, dass von keinem der hier geprüften Proteinfällungsmittel mit unbedingter Berechtigung behauptet werden darf, dass es mit absoluter Sicherheit keine anderen stickstoffhaltigen organischen Stoffe fälle als gerade die Proteine — ein Resultat, das an und für sich wohl kaum Jemanden in Erstaunen setzen dürfte.

Sehen wir zuerst auf meine 6 Fällungsmittel — Zinnchlorür, Quecksilberchlorid, Bleiacetat, Ferriacetat, Uranacetat und Magnesiumsulfat —, so zeigen mehrere von ihnen ein äusserst geringes Vermögen, organische Stickstoffverbindungen nicht-proteinartiger Natur auszufällen. Von den untersuchten Stoffen fällt nämlich Zinnchlorür nur Alloxan; Quecksilberchlorid Ammoniumacetat, Piperazin und ein wenig Coffein; Bleiacetat eine geringe Menge Alloxan nebst einer äusserst geringen Menge Kreatin und Chinin; Ferriacetat Alloxan und äusserst kleine Mengen Coffein und Chinin; Uranacetat bloss Piperazin; und endlich Magnesiumsulfat Hippursäure, Coffein, ein wenig Theobromin, Chinin, Brucin, Amygdalin und Solanin. Da nun Alloxan und Piperazin zwei Stoffe sind, welche wahrscheinlich nur äusserst selten zusammen mit den Proteinstoffen vorkommen, erscheint es als einigermassen unwahrscheinlich, dass die vier Reagentien Zinnchlorür, Bleiacetat, Ferriacetat und Uranacetat der Regel nach andere Stoffe als die Proteine ausfällen sollten; oder, mit anderen Worten, diese vier Reagentien sind als die zuverlässigsten Proteinfällungsmittel zu betrachten, wenn es sich darum handelt, gegen Ausfällung stickstoffhaltiger organischer Stoffe nicht-proteinartiger Natur gesichert zu sein. Etwas anders verhält es sich in Bezug auf die Reagentien Quecksilberchlorid und Magnesiumsulfat.

Wie aus der Tabelle II ersichtlich ist, fällt Quecksilberchlorid eine recht bedeutende Menge Ammoniak aus Ammoniumacetat, was

---

¹⁾ Die Salpetersäurebestimmungen wurden stets nach Ulsch's Methode ausgeführt.

natürlich eine Fehlerquelle bildet, vor welcher man sich hüten muss, und zwar um so mehr, als man nicht erwarten darf, die ausgefällten Ammoniakmengen durch Eindampfung mit Magnesiamilch austreiben zu können, wie dies mit der von Uranacetat bei Anwesenheit löslicher Phosphate ausgefällten Ammoniakmenge der Fall ist. Vieles spricht indessen dafür, dass diese Ausfällung von Ammoniak durch Quecksilberchlorid bei Weitem nicht so leicht und reichlich von statten gehen wird, wie der angestellte Versuch zeigt; die Fällung tritt nämlich nur dann ein, wenn das Ammoniak an organische Säuren gebunden ist, und nicht zugleich äquivalente Mengen von Chloriden zugegen sind. Besonders wirksam ist Ammoniumchlorid.

Löst man zum Beispiel äquivalente Mengen von Ammoniumacetat und Ammoniumchlorid in Wasser auf und fügt einen Ueberschuss von Quecksilberchlorid hinzu, dann zeigt sich beim Stehenlassen gar keine Ausscheidung. Auch die Chloride der leichten Metalle wirken auf dieselbe Weise, doch weniger energisch als das Ammoniaksalz.

Wird nach meiner Methode mit einer Proteïnlösung gearbeitet, von welcher 10 cc etwa eine 5 cc $\frac{1}{10}$ Normalsäure entsprechende gesammte Stickstoffmenge enthalten, und werden für die Quecksilberfällung 25 cc abpipettirt, so wird, unter der Voraussetzung, dass die gesammte Stickstoffmenge als Ammoniak vorhanden ist, eine Zugabe von 0,067 g Ammoniumchlorid der Ausfällung von Ammoniak ganz vorbeugen. Dieses ist ein sehr drastisches Beispiel.

Bei meinen praktischen Versuchen habe ich noch nie einem Falle gegenüber gestanden, wo ich hätte vermuthen müssen, dass die hier erwähnte Fehlerquelle von Einfluss sein würde. Will man jedoch in Zweifelsfällen darauf bedacht sein, Fehlern vorzubeugen, so kann dies dadurch geschehen, dass man zu der abpipettirten Proteïnlösung 1—3 Tropfen 10 procentiger Ammoniumchloridlösung, entsprechend etwa 0,01 g NH_4Cl , fügt, bevor Quecksilberchlorid zugesetzt wird. In dem oben angeführten Beispiele wird dies darauf hinauslaufen, dass man der Ausfällung von circa 16 % der gesammten Stickstoffmenge vorbeugt, wenn diese als Ammoniaksalze vorhanden sind. Dass hierbei die Proteïnfällung nicht in besonderem Maasse verändert wird, geht aus den beigefügten Analysenresultaten hervor. Die Zahlen geben an, wie viele Procente von der gesammten Stickstoffmenge ausgefällt wurden.

Tabelle III.

	10 cc Lösung enthalten Stickstoff, entsprechend Cubikcentimetern $\frac{1}{10}$ Normal-Säure	25 cc Lösung mit Hg Cl ₂ gefällt		Zulässiger Fehler in Procenten
		ohne NH ₄ Cl	mit 3 Tropfen NH ₄ Cl (10 procentig)	
Bier	2,9	19,3	17,9	1,4
Trubsackwürze	6,2	19,4	18,1	0,6
Witte's Pepton	9,1	25,5	25,5	0,4
Liebig's Fleischextract	5,8	25,5	24,8	0,7
Blutserum	6,3	81,3	81,3	0,6
Hefeabsud	3,9	42,0	40,0	1,0

Eine grössere Menge Ammoniumchlorid zuzusetzen, geht nicht an, da die Fällung dann reciprok werden oder sogar gänzlich misslingen würde.

Wie früher gezeigt wurde, sind die Blei- und Quecksilberfällungen identisch; man braucht daher nur eine dieser Fällungen vorzunehmen. Bei der Bleifällung ist es nothwendig, einen zu grossen Ueberschuss des Fällungsmittels zu vermeiden, und, wie aus dem Vorhergehenden hervorgeht, muss man bei der Quecksilberfällung auf seiner Hut sein, wenn die vorliegende Proteinlösung verhältnissmässig grössere Mengen Ammoniumsalze enthält. Jedoch wird es, wie ich glauben möchte, mit Hülfe der hier gegebenen Aufschlüsse und Anweisungen immer möglich sein, mit einem der Fällungsmittel ein zuverlässiges Resultat zu erhalten. In der Regel wird jedoch die Quecksilberfällung der Bleifällung vorzuziehen sein.

Was die Sättigungsfällung mit Magnesiumsulfat anlangt, so wird aus Tabelle II erhellen, dass nicht wenige stickstoffhaltige organische Stoffe sich aussalzen lassen; so von den von mir geprüften Hippursäure, Coffein, ein wenig Theobromin, Chinin, Brucin, Amygdalin und Solanin. Diese sind sämmtlich als ziemlich schwer lösliche Stoffe anzusehen, von welchen behauptet werden darf, dass sie in der Regel nicht zugegen sein werden, wo es sich um eine vollständige quantitative Bestimmung der verschiedenen Proteingruppen handelt. Dessenungeachtet muss jedoch bestimmt betont werden, dass man bei der Benutzung dieser Sättigungsfällung sehr behutsam sein muss, wenn zur Untersuchung eine Proteinlösung vorliegt, welche zugleich einen von diesen und wohl

mehrere ähnliche Stoffe enthält. In dem Falle ist es nothwendig, sich ausschliesslich an die Fällungen mit Zinnchlorür, Quecksilberchlorid oder Bleiacetat, Ferriacetat und Uranacetat zu halten, wonach es also nur möglich wird, die Mengen von Albumin I, Albumin II + Denuclein, Propepton und Pepton, aber nicht Albumin II und Denuclein einzeln zu bestimmen. Oder man muss versuchen, die Denucleinbestimmung durch Fällung mit Barytwasser, wie dies früher beschrieben wurde¹⁾, vorzunehmen.

Was meine Fällungen angeht, werde ich nur noch die Uranfällung bei Anwesenheit von Phosphorsäure erwähnen.

Aus den in Tabelle II verzeichneten Resultaten wird für diese Fällung hervorgehen, dass die gesammte ausgefällte Ammoniakmenge — bei mehreren Versuchen betrug diese circa 11 % — durch Eindampfen mit Magnesiamilch quantitativ fortgeschafft wird. Dieses hat sich bei mehreren später angestellten Versuchen bestätigt. Im Uebrigen zeigen die Resultate, dass Uranacetat bei Gegenwart von Phosphorsäure etwas Asparagin, Arginin, bedeutende Mengen Piperazin und eine ganz geringe Menge Brucin ausfällen kann. Bei Anwesenheit grösserer Mengen Phosphorsäure wird es daher nothwendig sein, bei der Benutzung der directen Uranacetatfällung etwas behutsam zu Werke zu gehen. Eine so grosse Menge Phosphorsäure, wie die hier benutzte, wird jedoch gewiss nur ausnahmsweise vorhanden sein, und in solchen Fällen, wo es sich zugleich darum handelt, eine quantitative Bestimmung der gesammten Proteinmenge zu erhalten, kann ein völlig zuverlässiges Resultat auf einem kleinen Umwege erreicht werden, indem zuerst eine Fällung bei 50° C. mit einer nicht ganz ausreichenden Menge von Bleiacetat vorgenommen wird, wodurch natürlich die Phosphorsäure, zusammen mit einigen Proteinen, fast vollständig ausgefällt wird. Das Filtrat von der Bleifällung wird dann auf die gewöhnliche Weise mit Uranacetat gefällt. Die gesammte Stickstoffmenge in den ausgewaschenen Blei- und Uranfällungen ist dann gleich der gesammten Proteinstickstoffmenge. Nachfolgende Tabelle wird die Richtigkeit dieses Verfahrens zeigen. Die Zahlen geben wie gewöhnlich an, wie viele Procente der gesammten Stickstoffmenge ausgefällt wurden.

---

¹⁾ Diese Zeitschrift 33, 271; 34, 137—139.

Tabelle IV.

	10 cc Lösung enthalten Stickstoff, entsprechend Cubikcentimetern $\frac{1}{10}$ Normal-Säure	25 cc Lösung gefällt mit Uran auf gewöhnliche Weise	25 cc Lösung + 0.04 g P_2O_5 gefällt mit 3 cc 10procent ger Bleiacetat-lösung. Das Filtrat gefällt mit Uran.	Zulässiger Fehler in Procenten
Witte's Pepton . . .	9,1	51,4	51,6 ¹⁾	0,4
Liebig's Fleischextract	5,8	38,6	38,6	0,7
Hefeabsud	3,9	60,5	59,5	1,0
Trubsackwürze	6,2	34,2	32,9	0,6

Die hier erwähnte Bleifällung unter Kochen vorzunehmen, ist nicht räthlich, da man dabei leicht die Peptone und etwa auch die Propeptone einer theilweisen Spaltung aussetzt. Aus dem nämlichen Grunde möchte ich nicht vorschlagen, die Uranfällung in dem Filtrate von der normalen Bleiacetatfällung vorzunehmen, was allerdings weitaus am einfachsten wäre. Wie aus dem ersten Versuche — Witte's Pepton —, wo die Bleifällung sich nicht auf einem Filter sammeln lässt, erhellt, wird es kaum nothwendig sein, die Bleifällung für sich zu sammeln, sondern man kann unmittelbar, nachdem man Bleiacetat zugesetzt hat, auf die gewöhnliche Weise direct mit Uranacetat fällen. Dieses Verfahren habe ich jedoch nicht näher geprüft, da die Mühe, welche damit verbunden ist, den Bleiniederschlag für sich zu sammeln, mit Wasser auszuwaschen und danach im Filtrate mit Uranacetat zu fällen, so gering ist, dass man in den seltenen Fällen, wo mit verhältnissmässig phosphorsäurereichen Proteínlösungen gearbeitet wird, kaum Anstand zu nehmen braucht, sich ihr zu unterziehen.

Was das Verhalten der übrigen Proteínfällungsmittel gegenüber nicht-proteíntartigen organischen Stickstoffverbindungen anlangt, erwähne ich zuerst:

Die Fällung mit Bromwasser in schwach salzsaurer Flüssigkeit.

¹⁾ Die Bleifällung liess sich nicht abfiltriren, weshalb die Uranfällung gleich nach Zugabe der Bleiacetatlösung vorgenommen wurde. Das Ergebnis zeigt, dass die Phosphorsäure trotzdem unwirksam gemacht ist (vergleiche Tabelle V).

Aus der Tabelle II geht hervor, dass diese Fällung ungefähr meiner Sättigungsfällung mit Magnesiumsulfat in saurer Flüssigkeit gleichkommt, indem Brom fast ganz dieselben Stoffe fällt wie Magnesiumsulfat. Kommt nun noch hinzu, dass die Bromfällung sich sehr oft schwer auf einem Filter sammeln lässt, — die Niederschläge sind oft so fein vertheilt, dass sie leicht durch die Poren des Filters gehen, selbst wenn ein wenig Magnesiumsulfat zugesetzt wird —, so zeigen also schon diese Versuche, dass man bei Benutzung dieser Fällung auf keine besonders grosse Genauigkeit rechnen darf. Wie Brom sich gegenüber den wirklichen Proteinstoffen verhält, wird später erwähnt werden.

Gerbsäure als Proteinfällungsmittel zu benutzen, wenn es sich darum handelt, nicht zugleich nicht-proteinartige stickstoffhaltige Stoffe ausgefällt zu bekommen, scheint nach Tabelle II gerechtfertigt, indem bloss Neurin damit eine wirkliche Fällung gibt. Andererseits wird es doch wohl keinem Zweifel unterliegen, dass auch Coffein, Chinin, Brucin und Solanin durch die Gerbsäure ausgefällt werden, wenn diese Stoffe zusammen mit Proteinstoffen vorkommen, indem dann die mit den genannten Stoffen gebildeten, fein vertheilten Ausscheidungen mit niedrigerissen und zusammen mit der Proteinausscheidung auf dem Filter gesammelt werden.

In seinem Verhalten gegenüber nicht-proteinartigen Stoffen gleicht Stutzer's Reagens sehr dem Ferriacetat.

Wie die Tabelle II zeigt, ist die Kupferfällung jedoch viel weniger zuverlässig als meine Ferriacetatfällung. Wenn die Fällung auf die früher erwähnte Weise ausgeführt wird, zeigt das Reagens jedoch nur sehr geringe Neigung, die am häufigsten vorkommenden Aminsäuren auszufällen, wogegen recht bedeutende Mengen Guanin, Alloxan, Harnsäure nebst ein wenig Arginin, ganz wenig Allantoin, Kreatin und Chinin ausgefällt werden. Will man dagegen bei gewöhnlicher Temperatur die Fällung vornehmen, oder sie über einen längeren Zeitraum ausdehnen, so zeigt Tabelle I, dass man bei der Kupferfällung nicht so günstige Resultate erwarten darf wie die in Tabelle II verzeichneten.

Die Anwendbarkeit der Phosphorwolframsäure als Proteinfällungsmittel scheint schon in der vorliegenden Litteratur recht zweifel-

haft.¹⁾ Nichtsdestoweniger wird sie neuerdings von Mallet²⁾ als quantitatives Fällungsmittel für Proteinstoffe verwendet. Eine Sonderstellung nimmt Laszczynski in seiner oben citirten Abhandlung ein, indem er darüber im Klaren ist, dass dieses Reagens auch andere organische stickstoffhaltige Stoffe ausfällt als die Proteine, während er doch, bei seinen Untersuchungen über Peptase, trotzdem eben dasselbe Reagens gerade als Proteinfällungsmittel benutzt.

Aus den Versuchen, welche ich über Phosphorwolframsäure angestellt habe — Tabelle II —, geht hervor, dass dieses Reagens nicht als quantitatives Fällungsmittel für Proteinstoffe — wenn zugleich andere Stickstoffverbindungen vorhanden sind — benutzt werden soll, da gleichzeitig eine sehr bedeutende Anzahl nicht-proteinartiger organischer Stickstoffverbindungen ausgefällt werden, und zwar zumeist in recht erheblichen Mengen. Selbst wenn diese Fällung unter Kochen vorgenommen wird, fällt sie doch für die nicht-proteinartigen Stoffe bei weitem nicht zufriedenstellend aus, und, wie ich später zeigen werde, wird in Folge dessen die Proteinfällung selbst theilweise verfehlt.

II.

Soll indessen eine kritische Beurtheilung der verschiedenen Proteinfällungsmittel vorgenommen werden, so ist es nothwendig, eine ähnliche Reihe von Versuchen mit verschiedenen Proteinlösungen anzustellen, wie sie im Vorhergehenden mit nicht-proteinartigen Stoffen ausgeführt wurde.

Ausser den früher benutzten und beschriebenen Fällungen wurden bei dieser Reihe auch mit der von Laszczynski³⁾ angegebenen Methode Versuche gemacht. Diese besteht ganz einfach darin, dass die Proteinlösung 1 Stunde lang bei $1\frac{1}{2}$ Atmosphären Druck erhitzt wird, wonach das gebildete Coagulum sogleich auf einem Filter gesammelt und 2—3 mal mit warmem Wasser ausgewaschen wird. Die Resultate dieser Versuche sind in der nachstehenden Tabelle V angegeben. Die Zahlen bezeichnen wie gewöhnlich Procente der gesammten Stickstoffmenge.

---

¹⁾ E. Bosshard, diese Zeitschrift **22**, 329; Hedin, Zeitschr. f. physiol. Chemie **21**, 160.

²⁾ The Analyst 1898, S. 328.

³⁾ Zeitschrift für das gesammte Brauwesen **22**, 124 und 141.

Tabelle V.

	Die angew. Substanz enthält Stickstoff, Cubikcentimetern entsprechend 1/10 Normal-Säure	meine Fällungen						Lascezyński	Bromwasser	Gerbsäure	Stützler's Reagens	Phosphor- wolfram- säure		% Zulässige Fehler in	Berechnung nach meinen Fällungen					Amin-Amid- Verbindungen	
		Zinnchlorür	Quecksilberchlorid	Bleiacetat	Ferriacetat	Uran- acetat						Magnesiumsulfat									
						ohne P ₂ O ₅	mit P ₂ O ₅														
													kalt		kochend						
Abgerahmte Milch	11,6	81,9	90,5	89,6	90,5	91,4	91,4	90,5	×	76,7	91,4	?	90,5	91,4	0,9	81,9	8,6	0	0	0,9	8,6
Blutserum . . .	10,8	?	97,2	×	98,2	99,1	99,1	98,2	0	88,0	100,0	97,2	98,2	100,0	0,9	97,2	0	1,0	0,9	0,9	0,9
Liebig's Fleisch- extract . . .	7,6	6,6	15,8	14,5	23,7	32,9	42,1	13,2	0	×	21,1	32,9	56,6	26,3	1,3	6,6	0	10,5	7,9	9,2	67,1
Witte's Pepton .	17,2	2,9	30,2	×	57,0	53,5	82,0	49,4	1,7	32,0	70,3	59,3	88,9	83,7	0,6	2,9	19,7	7,6	26,8	0	43,0
Hefeabsud . . .	12,0	34,2	41,7	39,2	52,5	60,8	65,0	×	1,8	11,8	33,3	46,7	?	13,3	0,9	34,2	7,5	10,8	8,3	39,2	
Trubsackwürze . .	11,75	5,1	19,6	16,2	28,9	36,6	44,3	21,3	2,6	11,1	28,1	26,4	37,4	29,8	0,9	5,1	6,9	7,6	9,3	7,7	63,4
Bier	7,25	5,5	17,3	16,6	33,1	42,8	44,1	20,7	2,8	8,3	29,0	38,6	44,1	27,6	1,4	5,5	0	12,4	15,8	9,7	57,2

× Die Bestimmung liess sich nicht ausführen, da die Ausscheidung mit durch die Poren des Filters ging.

? Die Bestimmung ging verloren.

Um aus diesen Versuchen die Resultate abzuleiten, wird es nicht nothwendig sein auf meine Fällungen näher einzugehen, da ähnliche Versuche mit eben denselben Proteïnlösungen früher ausgeführt und besprochen wurden — siehe meine diesbezüglichen Publicationen. Der Schluss der Tabelle V (die letzten 6 Colonnen) zeigt die Mengen der verschiedenen Proteïngruppen, nach meiner Methode berechnet — aus den Fällungen mit Zinnchlorür, Quecksilberchlorid, Ferriacetat, Uranacetat ohne Phosphorsäure und Magnesiumsulfat. Es sei nur noch bemerkt, dass die Fällung mit Uranacetat nach Zusatz von Phosphorsäure zur Evidenz zeigt, dass die Gegenwart grösserer Mengen Phosphorsäure in den meisten Fällen, wo die Proteïnlösung ausser wirklichen Proteïnen zugleich merkbare Mengen nicht-proteïntartiger organischer Stickstoffverbindungen enthält, bewirkt, dass ausser den wirklichen Proteïnen auch noch nicht unerhebliche Mengen von den nicht-proteïntartigen Stoffen ausgefällt werden. Dass dieser Fehler jedoch im gegebenen Falle vermieden werden kann, und auf welche Weise, ist in Tabelle IV gezeigt.

Von den übrigen Fällungen kommen wir zuerst zu der Laszczyński'schen. Von vorn herein liess es sich allerdings denken, dass eine so starke Temperatureinwirkung — 1 Stunde langes Erhitzen bei $1\frac{1}{2}$ Atmosphären — eine Spaltung der verschiedenen Proteïnmolecüle zur Folge haben müsste; persönlich war ich zu der Annahme geneigt, dass man auf diese Weise das Auscoaguliren aller wirklichen Albumine erzielen würde. Die in Tabelle V angegebenen Resultate zeigen jedoch, dass dem keineswegs so ist. Schon die mit Milch und Blutserum erhaltenen Resultate zeigen deutlich genug, dass dieser Methode keine allgemeine Gültigkeit zukommt, und betrachten wir die übrigen Versuchsobjecte etwas näher, so stellt sich heraus, dass nur äusserst geringe Mengen oder gar keine Albumine auscoaguliren, während doch thatsächlich grössere oder geringere Mengen wirklicher Albumine vorhanden sein müssen.

Ein näheres Eingehen auf die Sache bestätigte die Richtigkeit der Annahme, dass in Folge dieser ziemlich starken Wärmeeinwirkung eine tiefer gehende Spaltung der Albuminmolecüle stattfinden würde, indem wie Tabelle VI zeigt, eine Quecksilberfällung ausgeführt in dem Filtrat von Laszczyński's Fällung stets ein niedrigeres Resultat gab, als nach der Natur der Sache zu erwarten war.

Tabelle VI.

	Blut- serum		Liebig's Fleisch- extract		Hefe- absud		Trubsack- würze		Bier	
Laszczynski's Fällung	0	—	0	—	1,8	—	2,6	—	2,8	—
Filtrat von Laszczynski's Fällung mit HgCl ₂ gefällt	88,9	—	10,5	—	31,8	—	14,5	—	12,4	—
Direct mit HgCl ₂ gefällt .	—	97,2	—	15,8	—	39,2	—	19,6	—	17,3
Summe . .	88,9	97,2	10,5	15,8	33,6	39,2	17,1	19,6	15,2	17,3
Differenz: . .	8,3		5,3		5,6		2,5		2,1	
Zulässiger Fehler in Procenten	0,9		1,3		0,9		0,9		1,4	

Nach diesen Ergebnissen zu urtheilen, ist es das Eiweissmolecül selbst, das eine Veränderung — etwa eine Peptonisirung — erleidet. Bei den drei Versuchen mit Fleischextract, Trubsackwürze und Bier, bei welchen nur eine verhältnissmässig geringe Menge wirklicher Albumine vorhanden ist, ist es bemerkenswerth, dass die oben angegebene Differenz, zu Laszczynski's Fällung addirt, ungefähr dieselbe Zahl gibt wie meine Fällung mit Zinnchlorür (siehe Tabelle V), was darauf hindeutet, dass auf Albumin I eine besonders starke Einwirkung ausgeübt wird.

Noch eine andere Betrachtung möge bei dieser Fällung ihren Platz finden, nämlich die, dass es für das quantitative Resultat unmöglich gleichgültig sein kann, ob die vorliegende Proteïnlösung neutral, sauer oder alkalisch reagirt, oder ob sie grössere oder geringere Mengen verschiedener mineralischer Stoffe enthält. Wie ältere Versuche und Erfahrungen zeigen¹⁾, sind diese Factoren von sehr wesentlicher Bedeutung, wenn es sich um das Auscoaguliren von Eiweissstoffen handelt. Auf Grund des hier Gesagten kann der Laszczynski'schen Methode keine allgemeine analytische Bedeutung beigelegt werden.

Nicht besser ist es um die Bromfällung bestellt. Selbst wenn ein wenig Magnesiumsulfat zugesetzt und der sich bildende Niederschlag mit verdünntem Bromwasser ausgewaschen wird, genügt diese

¹⁾ E. Varenne, Berichte der deutschen chem. Gesellschaft **19**, Ref. 356, nach Bull. soc. chim. **45**, 427; E. Harnack, Berichte der deutschen chem. Gesellschaft **22**, 3046.

Fällung oft nicht einmal der bescheidenen Forderung ein klares Filtrat zu geben. Betrachtet man ferner die Milch und Blutserum betreffenden Resultate, von welchen beiden Proteïnlösungen wir mit Sicherheit wissen, dass sie beinahe die ganze Stickstoffmenge als Proteïne enthalten, so kann es keinem Zweifel unterliegen, dass die Bromfällung sich bei der quantitativen Trennung von Proteïnstoffen (Albuminen, Albumosen, Peptonen) von anderen stickstoffhaltigen, organischen Stoffen — Nicht-Proteïnen — gar nicht anwenden lässt, wie das von Allen und Searle behauptet wurde.

Wie bekannt bilden Chlor, Brom und Jod durchgängig schwer lösliche Verbindungen mit den Albuminen und möglicherweise auch mit anderen Proteïnstoffen; etwas ganz Aehnliches ist aber auch mit nicht-proteïnartigen Stickstoffverbindungen (Chinin) der Fall.¹⁾ Von diesen Thatsachen zur Anwendung der Bromfällung bei der quantitativen Proteïnanalyse scheint — jedenfalls für die von Allen und Searle gegebene Form — nach meinen Versuchszahlen ein weiter Sprung zu sein.

In Beziehung auf die Gerbsäurefällung gelange ich der Hauptsache nach zu demselben Resultat wie Sebelien.²⁾ Albumosen (Pro-peptone) und wirkliche Peptone werden entweder gar nicht oder jedenfalls nur theilweise gefällt, und wenn hierzu noch kommt, dass wenigstens einige nicht-proteïnartige, organische Stickstoffverbindungen auch von Gerbsäure ausgefällt werden können, scheint diesem Fällungsmittel in der gewöhnlichen quantitativen Proteïnanalyse keine sehr grosse Bedeutung zuzukommen. Nur wirklichen Albuminen gegenüber ist die Gerbsäurefällung absolut quantitativ; sobald aber andere Proteïngruppen vorhanden sind, wird die Fällung zweifelhaft.

Stutzer's Kupferfällung. Im Laufe der Jahre hat diese Fällung eine weite und wohlberechtigte Verbreitung und Anwendung gewonnen, und wenige Fällungsmittel sind wie dieses nach und nach gegenüber so vielen verschiedenartigen Stoffen geprüft worden. Die natürliche Folge hiervon ist die gewesen, dass von verschiedenen Seiten auf die die Methode begleitenden Fehlerquellen aufmerksam gemacht wurde. Diese gipfeln in zwei Punkten, nämlich dass das Reagens Amin-Amidverbindungen — als schwerlösliche Kupfersalze — ausfallen

---

¹⁾ Christensen, D. kgl. danske Vidensk. Selsk: 6 Riecke IX, 5, pag. 253.

²⁾ Diese Zeitschrift 28, 383.

kann, und dass es die wirklichen Peptone nicht mit quantitativer Genauigkeit fällt.

Wenn berücksichtigt wird, wie schwer löslich die Kupfersalze mehrerer Aminosäuren sind, liegt es nahe, vor der Methode zu warnen, jedenfalls wenn es sich darum handelt, die Proteinstoffe in einer Lösung, welche zugleich beträchtliche Mengen Aminosäuren enthält, zu bestimmen. Meine Versuche — Tabelle II — führen mich indess zu dem gleichen Resultat wie das von E. Schulze erlangte,¹⁾ dass diese Fehlerquelle in der Regel eine ganz untergeordnete Rolle spielen wird, wenn die Fällung nur in der möglichst kürzesten Zeit, bei passender Temperatur und in einem reichlichen Volumen Flüssigkeit vorgenommen wird. Werden diese Regeln überschritten, so nimmt nach der Natur der Sache auch die quantitative Zuverlässigkeit der Fällung ab.

Nein, der besondere Haupteinwand gegen die Stutzer'sche Fällung ist der, dass sie nicht mit quantitativer Sicherheit die wirklichen Peptone ausfällt, welche doch, wenn es sich um die gesammte Proteïnmenge handelt, eine recht wesentliche Rolle als stickstoffhaltige Nahrungsstoffe spielen. Eine Betrachtung der Tabelle V zeigt, dass die Kupferfällung an Quantität zumeist der Ferriacetatfällung sehr nahe, aber nur ausnahmsweise der Uranfällung gleich kommt, jedenfalls immer dann, wenn die betreffende Proteïnlösung wirkliche Peptone enthält. Da es nun aus Tabelle II recht deutlich hervorgeht, dass weder Ferriacetat noch Uranacetat unter normalen Verhältnissen sehr geneigt sind, Amin-Amidverbindungen auszufällen, und da das Verhältniss zwischen den Ferriacetat- und Uranfällungen früher erläutert wurde, muss auch der Schluss berechtigt sein, dass Stutzer's Reagens wirkliche Peptone nicht oder doch nur theilweise ausfällt.

Um dieses noch klarer zu beweisen, bemerke ich, dass in Bezug auf das Verhältniss der Kupferfällung zu meinen Fällungen nur zwei Möglichkeiten denkbar sind — vorausgesetzt, dass die Fällung überhaupt Punkt II Seite 545 erfüllt, nämlich:

- I. dass sie entweder Albumine sammt Denucleïnen und Propeptonen enthält, also mit meiner Ferriacetatfällung vollkommen identisch sein muss,

---

¹⁾ Landw. Versuchs-St. **26**, 213; **27**, 449; **33**, 124.

II. oder dass sie Albumine sammt Propeptonen und wirklichen Peptonen enthält, mit anderen Worten den Fällungen Magnesia-sulfat + (Uranacetat ÷ Ferriacetat), nach meiner Arbeitsweise, entsprechen muss.

Die Resultate einer Reihe von Versuchen mit Malz, Würze, Bier und Liebig's Fleischextract, welche nicht hier einzeln mitgetheilt werden sollen, sondern bloss unten als Durchschnittszahlen sämtlicher Bestimmungen ausgedrückt sind, zeigen, wie die früheren Versuche, dass der ersten Möglichkeit die grössere Wahrscheinlichkeit zukommt.

Albumin + Denuclein + Propepton	29,8 %	des	gesammten	Stickstoffs,
Albumin + Propepton + Pepton	28,9 %	<	<	<
Stutzer's Fällung	31,3 %	<	<	<
Zulässiger Fehler	0,9 %	<	<	<

Volle Gewissheit für die Richtigkeit erlangt man jedoch erst durch nähere Betrachtung des in Tabelle V angeführten Versuches mit Witte's Pepton — eine Proteiñlösung, welche gar keine wirklichen Peptone enthält —, indem sich hieraus berechnen lassen:

Albumin + Denuclein + Propepton	57,0 %	des	gesammten	Stickstoffs,
Albumin + Propepton + Pepton	49,4 %	<	<	<
Stutzer's Fällung	59,3 %	<	<	<

Auf Grund dieses Versuches wird die Behauptung, dass Stutzer's Reagens die wirklichen Peptone nicht fälle, erst völlig berechtigt, ein Resultat, zu welchem schon früher H. Weiske¹⁾ und A. Stutzer²⁾ gelangten.

Wo es sich daher darum handelt, die Menge der verschiedenen Proteiñgruppen quantitativ zu bestimmen, wird Stutzer's Fällung nicht genügen, wohl aber, wo es sich lediglich um Bestimmung der gesammten Proteiñmenge in einem Stoffe, welcher keine wirklichen Peptone und nicht verhältnissmässig grosse Mengen Amin-Amidverbindungen enthält, handelt.

Was die Phosphorwolframsäure als Proteiñfällungsmittel anbelangt, so muss ich bei meinem früheren Ausspruche, dass die Phosphorwolframsäure gleich wie das Uranacetat alle Proteiñstoffe fälle³⁾, stehen bleiben.

1) Landw. Versuchs-Stationen **33**, 147.

2) Diese Zeitschrift **31**, 505.

3) Diese Zeitschrift **33**, 295.

In sehr vielen Fällen kann indess die Phosphorwolframsäurefällung gar nicht benutzt werden, da auch zahlreiche nicht-proteinartige, stickstoffhaltige Stoffe gleichzeitig in grösserer oder geringerer Menge ausgefällt werden. Diesen Fehler durch Vornahme der Fällung in kochender Flüssigkeit zu vermeiden, scheint nur theilweise möglich (siehe Tabelle II), und wirft man einen Blick auf Tabelle V, so wird sich herausstellen, dass man hierbei zu einem in mehreren Fällen recht erheblichen neuen Fehler Anlass gibt. Es scheint sich nämlich so zu verhalten, dass die Phosphorwolframsäure, wenn die Fällung in kochender Flüssigkeit vorgenommen wird, nicht oder doch nur theilweise wirkliche Peptone — und möglicherweise Albumosen — ausfällt, sei es nun dass dieses Verhalten von einer tiefer gehenden Spaltung der betreffenden Moleküle oder von einer grösseren Löslichkeit der Phosphorwolframsäureverbindungen herrührt!

Aus meinen Versuchen mit Milch und Blutserum — Proteinlösungen, welche fast die ganze Stickstoffmenge in Form wirklicher Albumine enthalten — geht hervor, dass — in vollkommener Uebereinstimmung mit dem oben Gesagten — sowohl die kalte als die kochende Fällung ganz identisch mit der normalen Uranfällung sind. Die Versuche mit den übrigen Proteinlösungen — welche nur eine grössere oder geringere Menge des gesammten Stickstoffgehaltes in Form von Albuminen, aber dagegen recht bedeutende Mengen als Albumosen, wirkliche Peptone und Amin-Amidverbindungen enthalten — zeigen dagegen durchgehends, dass die kalte Phosphorwolframsäurefällung grösser (für Witte's Pepton und Fleischextract) oder eben so gross (für Würze und Bier) als die normale Uranfällung ist, während die kochende Fällung stets ein niedrigeres Resultat gibt als die kalte. Auch diese Ergebnisse stimmen mit dem oben Angeführten vollkommen überein.

Wenn also die kalte Phosphorwolframsäurefällung in Trubsackwürze und Bier dasselbe Resultat gibt wie die normale Uranfällung, so muss dies davon herrühren, dass diese beiden Proteinlösungen nicht oder doch nur in sehr geringer Menge nicht-proteinartige, stickstoffhaltige, mit Phosphorwolframsäure fällbare Stoffe enthalten. Das Gegentheil muss mit Witte's Pepton, Liebig's Fleischextract und wahrscheinlich vielen anderen Stoffen der Fall sein.

Davon, die kochende Phosphorwolframsäurefällung zu benutzen, ist entschieden abzurathen, und wenn man die Fällung bei gewöhnlicher Temperatur vornimmt, muss man sich erinnern, dass zahlreiche nicht-

proteinartige Stickstoffverbindungen gleichzeitig ganz oder theilweise ausgefällt werden können. Aus dem letzterwähnten Grunde eignet sich die Phosphorwolframsäure nicht als quantitatives Proteinfällungsmittel, wogegen sie in der präparativen Chemie vorzügliche Dienste leisten kann.

Bezüglich der Proteinfällungen überhaupt will ich nur noch bemerken, dass, wenn der zur Untersuchung vorliegende Stoff verhältnissmässig grosse Mengen mineralischer Salze leichter Metalle enthält, es nicht möglich sein wird, eine quantitative Bestimmung der verschiedenen Proteingruppen mit einiger Sicherheit vorzunehmen, weil in diesem Falle die sich bildenden Protein-Metallverbindungen sich reciprok mit den Salzen der leichten Metalle umsetzen und leicht lösliche Protein-Verbindungen der leichten Metalle bilden. Nur die Sättigungsfällung (mit MgSO_4), die Fällung mit Zinnchlorür und wahrscheinlich die Fällungen mit Stutzer's Reagens und der Gerbsäure bilden eine Ausnahme hiervon.

Kopenhagen, Juli 1900.

Mittheilungen aus dem chemischen Laboratorium Fresenius zu Wiesbaden

---

Bemerkungen zu dem Abegg-Herz'schen systematischen Gang
zur Erkennung und Trennung der Säuren.

Von

W. Fresenius.

In ihrem »chemischen Praktikum«¹⁾ sowie in der Zeitschrift für anorganische Chemie²⁾ haben R. Abegg und W. Herz eine Tabelle zur Erkennung und Trennung der häufigsten Anionen mitgetheilt, welche sie an letzterer Stelle mit der Bemerkung veröffentlichen, dass es bis-

---

1) Chemisches Praktikum, experimentelle Einführung in präparative und analytische Arbeiten auf physikalisch-chemischer Grundlage von Dr. R. Abegg und Dr. W. Herz, Göttingen, Vandenhoeck und Ruprecht 1900.

2) Zeitschrift f. anorganische Chemie, **23**, 236.