

Zur Kenntnis der Extraktivstoffe der Muskeln.

XI. Mitteilung.

Eine vergleichende Untersuchung der stickstoffhaltigen Extraktivstoffe des Kalb- und Rindfleisches.

Von

Wladislaw Skworzow.

(Aus dem medizinisch-chemischen Laboratorium der Universität Moskau.)

(Der Redaktion zugegangen am 11. Juli 1910.)

Nachdem Gulewitsch und Amiradžibi¹⁾ die von ihnen gemachte Entdeckung des Carnosins im Liebigschen Fleischextrakt veröffentlicht, dann Kutscher²⁾ und, von ihm unabhängig, Gulewitsch³⁾ die Gegenwart von Methylguanidin in diesem Extrakt konstatiert, schließlich Gulewitsch und Krimberg⁴⁾ ihre Entdeckung des Carnitins angezeigt hatten, bot die Fortsetzung dieser Arbeiten behufs Aufklärung der Frage nach der Verbreitung und dem quantitativen Gehalt an diesen organischen Basen in den verschiedenen Muskelgeweben und Organen des tierischen Organismus ein Interesse dar.

Auf Herrn Prof. Dr. Wl. Gulewitschs Veranlassung habe ich einen Teil dieser Arbeit, den auf das junge Muskelgewebe und zwar auf die Kalbsmuskeln bezüglichen, ausgeführt, wobei ich die quantitative Stickstoffverteilung zwischen den Extraktivstoffen des Wasserextrakts von Kalb- und Rindfleisch bestimmt habe. Die auf die Frage nach den stickstoffhaltigen Extraktivstoffen des Kalbfleisches bezügliche Literatur ist ziemlich beschränkt, obgleich sie bis zum Jahre 1847 hinaufreicht, als

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXX, S. 565.

²⁾ Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genussmittel. Bd. X, S. 531.

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLVII, S. 471.

⁴⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLV, S. 326.

Liebig¹⁾ in seiner berühmten Arbeit «Über die Bestandteile der Flüssigkeiten des Fleisches» unter anderm der Gegenwart von Kreatin im Kalbfleischextrakt und von Leims substanz erwähnte. Später gab Neubauer²⁾ für das Kalbfleisch den Wert von 0,182% krystallinisches Kreatin (0,160% wasserfreies Kreatin) an. Krukenberg³⁾ und Jakobowitsch⁴⁾ fanden Kreatin in den Muskeln des Kalbsembryo.

Es gibt eine ziemlich reichhaltige Literatur in der Frage nach dem Gehalt des Kalbfleisches an Purinkörpern. In seiner Arbeit über die Purinkörper gibt Kossel⁵⁾ die quantitative Bestimmung derselben nicht nur im freien, sondern auch im gebundenen Zustande im Muskelgewebe des Kalbes und des Ochsen an, wobei seine Voraussetzung, daß im jungen, an Kernen reichen Gewebe mehr Purinkörper enthalten sein müssen als in reifen, sich vollkommen bestätigt hat: im Rindermuskel haben sich 0,070%, im Muskel des Kalbsembryo 0,094% erwiesen, wobei unter den Purinbasen das Guanin in dem jungen Muskelgewebe, das Hypoxanthin im Rindfleisch vorherrschend ist.

Burian und Hall⁶⁾ stellten viele Untersuchungen über den Stickstoffgehalt der Purinbasen in den verschiedenen Organen der Tiere an, wobei sie für das Kalbfleisch die Zahl 0,071%, für das Rindfleisch 0,063% angeben.

In bezug auf dieselben Purinbasen arbeiteten vom klinischen Standpunkte aus Offer und Rosenquist⁷⁾ und später Adler.⁸⁾ Die von ihnen gegebenen Werte sind ziemlich widersprechend: Offer und Rosenquist geben für den Gesamtextraktivstoff des Rindfleisches 0,42%, für den Stickstoff der Purinbasen 0,046%; für denjenigen des Kalbfleisches 0,4% resp. 0,027 bis 0,037%. Bei Adler ist für den Gesamtextraktivstickstoff

¹⁾ Annalen der Chem. u. Pharm., Bd. LXII, S. 282.

²⁾ Zeitschrift f. anal. Chemie, Bd. II, S. 26.

³⁾ Unters. a. d. physiol. Institut d. Univ. Heidelberg. Bd. III, S. 197.

⁴⁾ Malys Jahresber., 1893, S. 362.

⁵⁾ Diese Zeitschrift, Bd. V, S. 267, Bd. VI, S. 422. Bd. VII, S. 7 u. Bd. VIII, S. 404.

⁶⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXVIII, S. 392.

⁷⁾ Berl. klin. Wochenschr., 1899, Nr. 43, 44, 49.

⁸⁾ Berl. klin. Wochenschr., 1908, Nr. 8.

des Rindfleisches 0,46%, für den Stickstoff der Purinbasen 0,129%, für denjenigen des Kalbfleisches 0,37% resp. 0,014% angegeben.

In bezug auf eine systematische Untersuchung der Stickstoffverteilung im Fleischextrakt kenne ich nur Krimbergs Arbeit,¹⁾ die speziell Liebigs Fleischextrakt zum Gegenstand hat. Die von ihm gefundene Verteilung des Stickstoffs werde ich weiter unten anführen.

König und Boemer,²⁾ sowie Baur und Barschall³⁾ fanden bei der von ihnen unternommenen Untersuchung des Liebigschen Extrakts, daß durchschnittlich 85% des Stickstoffs des Ausgangsextrakts (bei den ersteren 90,0%, bei den letzteren 80,5%) durch Phosphorwolframsäure gefällt werden. Außerdem schieden Baur und Barschall aus dem Extrakt einen durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Teil als Naphthalinsulfoderivate einer Aminosäure aus, welche bis 1% des Stickstoffs des Extrakts enthielten. Micko,⁴⁾ der gleichfalls mit dem Phosphorwolframfiltrat arbeitete, konstatierte, daß es nicht gelingt, Dipeptide im Fleischextrakt zu entdecken, und hat Alanin, Glutaminsäure, Taurin, sowie Inosit, Kreatin und Kreatinin isoliert; die Monoaminosäuren waren nur in einer ganz geringen Menge (0,51% des Extraktes) enthalten.

I. Stickstoffverteilung im wässerigen Extrakt des Fleisches.

Die von mir angewandte Methode einer successiven Verarbeitung des Wasserextrakts von Muskeln ist auf Kossels⁵⁾ Arbeit gegründet und hat ihre weitere Entwicklung in Gulewitschs,⁶⁾ Amiradžibis⁷⁾ und Krimbergs⁸⁾ Untersuchungen erfahren. Vom Fett und dem interstitiellen Gewebe gereinigtes

¹⁾ Krimberg, Über die stickstoffhaltigen Extraktivstoffe der Muskeln. Inaug.-Diss., Moskau, 1907 (russisch).

²⁾ Zeitschr. f. anal. Chemie, Bd. XXXIV, S. 548.

³⁾ Arbeit. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte, 1906, Bd. XXIV, S. 552.

⁴⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LVI, S. 180.

⁵⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 179, Bd. XXXI, S. 165.

⁶⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXX, S. 565, Bd. XLVII, S. 471, Bd. L, S. 208.

⁷⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXX, S. 565.

⁸⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLV, S. 326, Bd. LVI, S. 417.

und zweimal durch eine Fleischhackmaschine durchgelassenes Kalb- resp. Rindfleisch (Filet) wurde unter Erwärmen auf dem Wasserbade (nicht über 90°)¹⁾ successiv mit 3 Portionen Wasser, zweimal zu je $1\frac{1}{2}$ Stunden, einmal 1 Stunde lang extrahiert (in jedem Falle 2—3 l Wasser auf je 1 kg Fleisch). Das Wasserextrakt wurde eingengt und vorsichtig mit einer 20%igen Lösung von neutralem Bleiacetat gefällt.

Die Erfahrung hat gezeigt, daß die trübe Flüssigkeit vor dem Abfiltrieren des Bleiacetatniederschlags am besten mit einer konzentrierten Sodalösung neutralisiert und bis zum Kochen erwärmt wird; der Niederschlag fällt dann in Gestalt von Flocken aus, das Extrakt klärt sich und weist nur noch eine leichte Opalescenz auf. Im Filtrat vom Bleiniederschlag wurde das Blei mit Schwefelwasserstoff gefällt und das neue Filtrat, welches auf ca. 3 l eingengt war, vorsichtig mit einer gesättigten Phosphorwolframsäurelösung solange behandelt, bis die Flüssigkeit mit einer sehr verdünnten Phosphorwolframsäurelösung keinen Niederschlag mehr, nur noch eine sehr geringfügige oder gar keine Trübung gab. Nach der Fällung mit Phosphorwolframsäure wurde das Extrakt ungefähr eine Woche lang stehen gelassen.

Der I. Phosphorwolframniederschlag wurde abgesaugt und mehrere Male mit Wasser ausgewaschen. Das Filtrat wurde auf dem Wasserbade bis auf $\frac{3}{4}$ l eingedampft, der ausgeschiedene Niederschlag (II. Phosphorwolframniederschlag) abgesaugt, ausgewaschen und gleich dem Niederschlag I weiter behandelt. Die beiden Niederschläge wurden getrennt mit Wasser und Barythydrat im Überschuß verrieben, sodann abgesaugt, wieder mit Wasser sorgfältig im Mörser verrieben und mehrere Male mit Wasser ausgewaschen. Das Filtrat mit-samt den Waschwässern wurde sogleich durch Kohlensäure

¹⁾ Die angegebene Temperatur bei der Extraktion des Muskelgewebes wurde deshalb angewandt, weil das Extrahieren bei niedrigeren oder höheren Temperaturen (Siedehitze) trübere, schwer filtrierbare, zur Bildung kolloidaler Schwefelbleilösungen neigende Extrakte lieferte. Beim Extrahieren von Kalbfleisch mußte Siedehitze auch deshalb vermieden werden, weil man sonst große Mengen Glutin erhalten hätte.

vom Baryt befreit. Das Filtrat vom II. Phosphorwolframniederschlag wurde auf dieselbe Weise wie die beiden Niederschläge behandelt, nur mit dem Unterschied, daß anstatt des krystallinischen Barythydrates eine warme konzentrierte Lösung desselben angewandt wurde.

Die weitere Behandlung der beiden durch Barythydrat zersetzten Phosphorwolframniederschläge bestand in der Fällung der mit Schwefelsäure neutralisierten Flüssigkeiten mit einer heißen konzentrierten Silbersulfatlösung, solange sich noch ein Niederschlag bildete. Um eine große Flüssigkeitsmenge zu vermeiden, löste ich das Silbersulfat unter Kochen in kleinen Portionen der zu fällenden Flüssigkeit selbst auf. Dabei ist es zweckmäßig, die Flüssigkeit nach der Fällung mit Silbersulfat und nach dem Erkalten etwa 24 Stunden stehen zu lassen, da, wie ich es erst bei der Bearbeitung der zweiten Portion Kalbfleisch bemerkt habe, im Filtrat von dem ausgefallenen Niederschlag bei längerem Stehen und ohne einen neuen Silbersulfatzusatz aufs neue ein galertartig flockiger Niederschlag ausfallen kann und zwar in einer weit größeren Menge als vorher.

Nach der Entfernung des Niederschlags wurde das Silberfiltrat¹⁾ mit der heißen konzentrierten Silbersulfatlösung solange weiter behandelt, bis eine Probe auf einem Uhrglase mit Barytwasser einen braunen, sich rasch schwärzenden Niederschlag gab. Alsdann wurde in kleinen Portionen unter sorgfältigem Umrühren eine heiße konzentrierte Barythydratlösung solange zu der Flüssigkeit zugegeben, als sich noch ein Niederschlag bildete. Diesen ersten Silberbarytniederschlag saugte ich ab, wusch ihn mit Wasser, verrieb ihn im Mörser mit verdünnter Schwefelsäure, saugte den Barytsulfatniederschlag ab und sättigte das Filtrat mit Schwefelwasserstoff; das Silbersulfid wurde nun abgenutscht, die in der Flüssigkeit vorhandene geringe Schwefelsäuremenge durch Baryt entfernt und nach dem Eindampfen der Flüssigkeit der Stickstoff bestimmt.

¹⁾ Ich bediene mich einer konventionellen Nomenklatur der Niederschläge und Filtrate auf Grund der im gegebenen Stadium angewandten Reagenzien.

Sogleich nach dem Abfiltrieren neutralisierte ich das I. Silberbarytfiltrat mit Schwefelsäure und digerierte es 8 Stunden lang behufs Entfernung des Ammoniaks mit Magnesia unter öfterem Umrühren auf dem Wasserbade ein, filtrierte dann die Magnesia nebst dem reduzierten Silber ab, wusch sie, sättigte das Filtrat aufs neue mit Silbersulfat und behandelte es wieder mit heißer Barytlösung. Dieser II. Silberbarytniederschlag wurde ebenso wie I behandelt. Das II. Silberbarytfiltrat wurde nach der Neutralisation mit Schwefelsäure und der Entfernung der Spuren von Silber mit Schwefelwasserstoff bis auf ca. 50 ccm eingengt¹⁾ und tropfenweise mit dem Krautschen Reagens — einer Lösung von Wismutjodid in Kaliumjodid — behandelt. Der erhaltene Niederschlag war zum Teil locker, zum Teil harzig. In einer der von mir behandelten Portionen erschien nach 24stündigem ruhigen Stehen ein schöner krystallinischer Wismutjodidniederschlag, welcher aus den in Drusen vereinigten glänzenden roten Nadeln bestand.

Wenn das Reagens keine Fällung mehr gab, wurde der Niederschlag abgenutscht, möglichst sorgfältig mit Wasser gewaschen und mit einem Bleihydratüberschuß im Mörser verrieben, der Niederschlag abgesaugt, mit Wasser unter Verreiben gewaschen und das Filtrat mit Schwefelwasserstoff gesättigt. Das Bleisulfid wurde abgesaugt und gewaschen und die Flüssigkeit eingengt.²⁾ Man erhielt dabei einen Sirup nebst einigen wenigen aus Nadeln bestehenden Drusen, die an der Luft zerflossen. Bei der Behandlung mit siedendem Alkohol ging fast die ganze Substanz in Lösung über. Die weingeistige Lösung derselben wurde mit einer weingeistigen Sublimatlösung vermischt, wobei ein ziemlich reichlicher, deut-

¹⁾ Das Volumen der Flüssigkeit muß ein möglichst geringes sein, da das Krautsche Reagens durch Wasser zersetzt wird.

²⁾ Die Bestimmung des Stickstoffs in dieser Flüssigkeit hat nur eine relative Bedeutung, da es kaum möglich ist, die mit dem Krautschen Reagens eingeführte Salpetersäure aus dem harzigen Niederschlag vollständig auszuwaschen. Andererseits zersetzt sich bei dem zur Darstellung der Sublimatverbindung nötigen Abdampfen der Lösungen von freiem Carnitin ein zwar ganz unbedeutender Teil des Carnitins, wovon der sich entwickelnde Geruch des Trimethylamins zeugt.

lich krystallinischer, weißer Niederschlag ausfiel. Dieser wurde abgesaugt, wiederholt mit Alkohol gewaschen und im Exsikkator getrocknet.

Nach diesem Verfahren bearbeitete ich 2 Portionen Kalbfleisch (1. Portion wog 2149 g, 2. = 2054 g) und 1 Portion Rindfleisch (980 g). Die Verteilung des Stickstoffs in den einzelnen Stadien der Bearbeitung ist aus Tafel S. 33 ersichtlich. Die Stickstoffbestimmung geschah nach Kjeldahl. Trotz sorgfältigsten Waschens der Niederschläge ist stets ein Verlust an Stickstoff beobachtet worden, wobei derselbe einmal 24% des in der Ausgangsflüssigkeit im gegebenen Moment der Bearbeitung enthaltenen Stickstoffs betrug.¹⁾ Es ist klar, daß diese so bedeutenden Verluste an Stickstoff nicht von einem ungenügend sorgfältigen Auswaschen der voluminösen Niederschläge abhängen, sondern auf Rechnung einer Bildung unlöslicher Barytverbindungen stickstoffhaltiger Substanzen, auf Rechnung von Adsorptionserscheinungen der stickstoffhaltigen Bestandteile des Muskelgewebes von hohem Molekulargewicht u. dgl. gesetzt werden müssen.

Bei der Berechnung des Stickstoffgehalts und dessen Verhältnis zu den vorhergehenden Zahlen in Prozenten wurden auch die Mengen der früheren zur Bestimmung des Stickstoffs genommenen Flüssigkeiten in Betracht gezogen.

Aus den angeführten Zahlen ersieht man, daß die Verteilung des Stickstoffs in beiden Kalbfleischportionen sich als eine annähernd gleiche erwies, namentlich im Hinblick auf den komplizierten Charakter und die Unzulänglichkeit der Untersuchungsmethode. Einen deutlicheren Unterschied in der Verteilung des Stickstoffs beobachtet man nur bei den Niederschlägen der Sublimatverbindungen und bei den II. Silberbarytfiltraten. Vergleicht man nun den Prozentgehalt des Stickstoffs im Extrakt zum Gewicht des Kalbfleisches einerseits und des Rindfleisches andererseits, so gewahrt man die interessante Tat-

¹⁾ Kossel und Kutscher (diese Zeitschrift, Bd. XXXI) beobachteten bei der Untersuchung der Verteilung des Stickstoffs in den Eiwweißkörpern nach einer der von mir angewandten sehr nahestehenden Methode ebenfalls jedesmal einen bedeutenden Stickstoffverlust.

	Ausgangs-extrakt	I. Phosphorwolframniederschlag	II. Phosphorwolframniederschlag	Phosphorwolframatfiltrat	I. Silberbarytniederschlag	I. Silberbarytfiltrat	II. Silberbarytniederschlag	II. Silberbarytfiltrat	Zwei Silberbarytniederschläge	Wismutjodniederschlag	Sublimatniederschlag
1. Portion Kalbfleisch 2149 g	N in g	4,10	—	—	1,48	2,03	1,34	0,37	2,82	0,16	0,078
	Zum Gewicht des Kalbfleisches	0,19	—	—	0,069	0,094	0,062	0,012	0,13	0,007	0,004
	Zum N des Ausgangsextrakts } Zum N des I. Phosphorwolframniederschlages }	45,8	—	—	16,5	22,6	14,9	4,1	31,4	1,7	0,87
2. Portion Kalbfleisch 2054 g	N in g	3,88	0,66	2,14	1,33	1,77	0,91	0,76	2,24	0,16	0,040
	Zum Gewicht des Kalbfleisches	0,19	0,032	0,10	0,065	0,086	0,044	0,037	0,11	0,007	0,002
	Zum N des Ausgangsextrakts } Zum N des I. Phosphorwolframniederschlages }	49,2	8,4	27,1	16,9	22,4	11,5	9,6	28,4	2,0	0,51
Portion Rindfleisch 980 g	N in g	2,28	0,28	0,61	1,17	0,91	0,49	0,31	1,66	0,031	—
	Zum Gewicht des Rindfleisches	0,23	0,029	0,062	0,12	0,09	0,05	0,03	0,17	0,003	—
	Zum N des Ausgangsextrakts } Zum N des I. Phosphorwolframniederschlages }	54,0	6,6	14,4	27,7	21,4	11,6	7,3	39,3	0,7	—
		—	12,3	27,0	51,3	39,9	21,5	13,6	72,8	1,4	—

sache, daß darin eine große Ähnlichkeit besteht, wobei der Unterschied (im Mittel 0,03%) so unbedeutend ist, daß er vollständig den Versuchsfehlern zugeschrieben werden kann. Ein Vergleich der von mir erhaltenen Werte mit den Resultaten der Bestimmungen anderer Autoren zeigt, daß der Prozentgehalt des Stickstoffs im wässrigen Extrakt verschiedener Rindfleisch- und Kalbfleischmuster ein ziemlich beständiger ist: für Rindfleisch fanden Offer und Rosenquist¹⁾ 0,42%, Adler²⁾ 0,48%, ich 0,43% des Fleischgewichtes; für Kalbfleisch resp. 0,40%, 0,37%, 0,40%. Die Verteilung des Stickstoffs bietet jedoch bei der ferneren Bearbeitung des Extrakts gewisse Unterschiede: das Rindfleischextrakt scheidet im Vergleich zum Kalbfleischextrakt eine größere Stickstoffmenge im I. Phosphorwolframniederschlag (im Verhältnis zur Ausgangsflüssigkeit um 6,5% mehr) aus, während das Phosphorwolframfiltrat niedrigere Werte gibt (für das Rindfleischfiltrat 14% N der Ausgangsflüssigkeit, gegen 27% im Kalbfleischfiltrat). Im I. Silberbarytniederschlag, wo die Hauptmenge des Stickstoffs auf das Carnosin fällt, gab das Kalbfleischextrakt im Mittel 35% im Verhältnis zur Stickstoffmenge des Phosphorwolframniederschlags, während das Rindfleischextrakt 51%, das Liebigsche Extrakt nach Krimbergs (l. c.) Daten ca. 29% gab. Bei der Betrachtung der N-Mengen im I. Silberbarytfiltrat sehen wir die entgegengesetzte Erscheinung: den meisten Stickstoff gibt hier das Liebigsche Extrakt, am wenigsten das Rindfleisch; die mittlere Menge gaben beide Portionen des Kalbfleisches.

Im II. Silberbarytniederschlag, welcher Methylguanidin enthält, und im Wismutjodidniederschlag, womit Carnitin gefällt wird, war mehr in dem aus Kalbfleisch als in dem aus Rindfleisch erhaltenen Extrakt Stickstoff vorhanden, doch konnte der Unterschied im Stickstoffgehalt der Wismutjodidniederschläge zum Teil davon abhängen, daß bei der Behandlung des Rindfleischextraktes mit dem Krautschen Reagens ein lockerer Niederschlag entstand, der von dem Reagens leicht

¹⁾ loc. cit.

²⁾ loc. cit.

abgewaschen werden konnte, während bei der Behandlung des Kalbfleischextrakts der Niederschlag harzig aussah.

Die Behandlung des II. Phosphorwolframniederschlags mit Silbersulfat und Baryt ergab bei Krimberg (l. c.) und bei mir ziemlich ähnliche Werte: bei Krimberg enthielt der Niederschlag 17% des Gesamtstickstoffs des II. Phosphorwolframniederschlags, das Filtrat 69%, bei mir 19% resp. 60%.

II. Isolierung des Carnosins, Methylguanidins und Carnitins aus Kalbfleisch.

Die nach der Stickstoffbestimmung von den zwei I. Silberbarytniederschlägen beider Kalbfleischportionen zurückgebliebene Lösung gab bei der Einengung auf dem Wasserbade einen Sirup, der sich in eine feste krystallinische Masse verwandelte. Aus beiden Portionen wurden 17,75 g dieses unreinen Produkts erhalten. Durch vorsichtige Zugabe verdünnter Schwefelsäure wurden aus der wässerigen Lösung dieser Substanz Barytspuren entfernt und die scharf alkalisch reagierende Flüssigkeit mit Salpetersäure neutralisiert; beim Einengen der Lösung auf dem Wasserbade wurde die Reaktion wieder alkalisch, so daß man, um sie zu neutralisieren, wieder einige Tropfen Salpetersäure zugeben mußte. Aus der eingengten Lösung schieden sich schöne, aus Nadeln gebildete sternförmige Drusen aus. Die Krystalle wurden abgesaugt, mit einem Gemisch aus vier Teilen Alkohol und einem Teil Wasser gewaschen und im Vakuum-Exsikkator getrocknet. Die Substanz wog 3,61 g. Aus dem Filtrat und der Waschflüssigkeit wurden noch 3,04 g Substanz erhalten. Die neue Mutterlauge wurde mit absolutem Alkohol gefällt, wobei die Substanz zuerst als Sirup ausfiel, welcher beim Stehen krystallinisch wurde. Diese Fraktion wog 2,82 g.¹⁾ Somit wurden aus beiden Portionen Kalbfleisch 9,47 g eines salpetersauren Salzes erhalten. Die Substanz wurde aus Wasser unter Zusatz von Tierkohle umkrystallisiert. Die erhaltenen schneeweißen nadelförmigen federbartartig angeordneten

¹⁾ In der alkoholischen Flüssigkeit, die von diesem Niederschlag abgossen war, wurde durch Jaffés, Weyls und Salkowskis Reaktionen Kreatinin gefunden.

Krystalle enthielten kein Krystallwasser und schmolzen unter Zersetzung bei 212° . Das salpetersaure Carnosin, wie es gewöhnlich aus Fleisch erhalten wird, schmilzt bei $212,5^{\circ}$ — $213,5^{\circ}$.¹⁾

I. 0,1967 g der bei 110° getrockneten Substanz lieferten 42,2 ccm N bei 19° und 755,5 mm Bar.

Gefunden:	Berechnet
I.	für $C_9H_{14}N_4O_3 \cdot HNO_3$:
N 24,40%	24,22%

Wässrige Lösung der Substanz:

$c = 8,92\%$ gab in einem 2 dm langen Rohr bei $19,8^{\circ}$ $\alpha_D = + 3,915^{\circ}$ und $\alpha_{546} = + 4,690^{\circ}$.²⁾

Daraus wird berechnet: $[\alpha]_D = 21,9^{\circ}$ und $[\alpha]_{546} = 26,3^{\circ}$. Aus noch nicht veröffentlichten Untersuchungen von Herrn Prof. Gulewitsch, für deren Mitteilung ich ihm hierbei meinen besten Dank sage, folgt für das sorgfältig gereinigte salpetersaure Carnosin $[\alpha]_D = 22,75^{\circ}$ bei $c = 8,24\%$ und $t^{\circ} = 19^{\circ}$, während ein anderes Präparat bei $c = 8,35\%$ und $t = 19^{\circ}$ folgende Werte gab: $[\alpha]_D = 22,52^{\circ}$ und $[\alpha]_{546} = 27,01^{\circ}$.

Somit war die aus dem Kalbfleisch isolierte Substanz unzweifelhaft salpetersaures Carnosin; die erhaltene Menge dieses Salzes entspricht 7,41 g des freien Carnosins, was im Verhältnis zu dem Gewicht des Kalbfleisches (2149 g + 2054 g) 0,176% betrug. Zieht man in Betracht, daß Neubauer für das wasserfreie Kreatin im Kalbfleisch die Zahl 0,160% angibt, so muß man zugestehen, daß das Carnosin quantitativ den wichtigsten Teil der stickstoffhaltigen Extraktivstoffe des Kalbfleisches bildet, wie es Krimberg³⁾ auch für das Rindfleisch fand. Ohne quantitative Bestimmungen zu bezwecken, isolierte genannter Autor dennoch aus Ochsenfleisch eine 0,13% Carnosin entsprechende Menge seines salpetersauren Salzes.

Aus den II. Silberbarytniederschlägen wurde das salpetersaure Salz auf dieselbe Weise wie das salpetersaure Carnosin aus den I. Silberbarytniederschlägen erhalten. Es gelang, aus einer wässrigen Lösung 1,75 g Substanz auszu-

¹⁾ Wl. Gulewitsch, Diese Zeitschrift, Bd. L, S. 206.

²⁾ Für die Linie $\lambda = 546 \mu\mu$ der Quecksilberbogenlampe von Siedentopf: das Licht wurde durch das Spektroskop gereinigt.

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLVIII, S. 417.

krystallisieren. Die 2. Fraktion wurde durch Fällung der Mutterlösung mit Alkohol erhalten; der ausgefallene Sirup ging nach langem Stehen in den festen Zustand über. Krystallisation wurde aber nicht beobachtet. Derselbe wog 2,51 g. Die 3. und 4. Fraktion wurden aus dem von der vorhergehenden Fraktion abgegossenen Alkohol erhalten und gaben die Kreatininreaktionen.

Die 1. Fraktion lieferte nach der Behandlung mit Tierkohle eine farblose Lösung, aus welcher eine Substanz in Gestalt von Drusen erhalten wurde. Letztere bestanden aus sehr kleinen Krystallen, die sich unter dem Mikroskop als Prismen und vierkantige, zuweilen zugespitzte Täfelchen zu erkennen gaben.

Sie enthielten kein Krystallwasser. Schmelzpunkt 150° . Das salpetersaure Methylguanidin schmilzt nach Kutscher¹⁾ bei 155° , nach Gulewitsch²⁾ bei 150° .

II. 0,0978 der bei 110° getrockneten Substanz lieferten 36,5 ccm N bei 21° und 743,5 mm Bar.

Gefunden:	Berechnet
II.	für $C_2N_3H_7 \cdot HNO_3$:
N 41,11 %	41,17 %

Folglich bestand die 1. Fraktion aus salpetersaurem Methylguanidin. Da die Menge desselben 1,75 g betrug, so hatten wir 0,94 g freien Methylguanidins ausgeschieden, was 0,022% des Gewichts des Kalbfleisches ausmacht. Gulewitsch³⁾ ist es gelungen, aus 500 g Liebigschen Extrakts 1,9 g dieser Substanz auszuscheiden. Krimberg,⁴⁾ der Methylguanidin aus Ochsenfleisch ausschied, gibt die Mengenverhältnisse nicht an.

Die 2. Fraktion als Nitrat auszukrystallisieren gelang nicht. Aus der Lösung des daraus dargestellten Pikrates schied sich nur eine unbedeutende Menge (0,3 g) von Krystallen, die bei 200 — 201° schmolzen und folglich (Gulewitsch, l. c.) aus Methylguanidinpikrat bestanden.

¹⁾ Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genussmittel, Bd. X. S. 531.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLVII, S. 473.

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLVII, S. 471.

⁴⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLVIII, S. 417.

Die aus beiden Kalbfleischportionen erhaltenen Quecksilberchloridverbindungen (5,93 g) wurden mit großen Mengen kochenden Wassers extrahiert. Nach der Abkühlung fiel die 1. Fraktion (0,84 g) aus; dieselbe war gelblich gefärbt und erwies sich unter dem Mikroskop als amorph. Nach der Einengung der Mutterlauge wurden eine 2. und 3. weißgefärbte krystallinische Fraktion (zusammen 2,79 g) erhalten, wovon ein Teil sich in Gestalt sehr typischer, halbkugelförmiger, aus sehr eng aneinander sitzenden Krystallen bestehender Drusen ausschied. Der Schmelzpunkt der erhaltenen 3 Fraktionen war $194-195^{\circ}$, resp. $195-196^{\circ}$, resp. $195-196^{\circ}$. Die Mutterlauge, sowie den beim Extrahieren mit kochendem Wasser nicht aufgelösten Teil der Substanz zersetzte ich mit Schwefelwasserstoff, neutralisierte mit Soda, dampfte das Filtrat bis zur Trockene ein, extrahierte den Rest mit heißem Alkohol und fällte die alkoholische Lösung wiederum mit einer alkoholischen Sublimatlösung. Beim Extrahieren mit kochendem Wasser wurden 3 neue Fraktionen einer Sublimatverbindung erhalten, wobei die 1. Fraktion (0,13 g) sich wieder als eine gelbliche amorphe Substanz zeigte, die 2 anderen (0,67 g) krystallinisch und farblos waren. Die Fraktionen schmolzen bei $193-194^{\circ}$, resp. $195-196^{\circ}$, resp. 195 bis 196° . Die vereinigten krystallinischen Fraktionen wurden nochmals aus kochendem Wasser umkrystallisiert. Krystallwasser war in der ausgeschiedenen Substanz nicht enthalten. Im bis auf $170-180^{\circ}$ vorerhitzten Bade schmolz sie unter Zersetzung bei $195-196^{\circ}$; bei allmählichem Erwärmen zersetzte sie sich, ohne zu schmelzen. Nach Krimbergs¹⁾ Angaben schmilzt die Sublimatverbindung des Carnitins $C_7H_{15}NO_3 \cdot 2HgCl_2$ unter Spaltung bei 196° .

III. 0,1690 g der Substanz im Vakuum getrocknet, in Wasser suspendiert und mit Schwefelwasserstoff zersetzt lieferten: 0,1113 g HgS.

IV. 0,6136 g Substanz gaben 12,05 ccm N bei 20° und 748 mm Bar.

Gefunden:		Berechnet
III.	IV.	für $C_7H_{15}NO_3 \cdot 2HgCl_2$:
Hg 56,76 %	—	56,90 %
N —	2,20 %	1,99 %

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. L, S. 363.

Somit bestand wenigstens der Hauptteil (4 Fraktionen) der erhaltenen Substanz aus einer Sublimatverbindung des Carnitins. Ich erhielt, wie schon erwähnt, 3,46 g Sublimatverbindung, was 0,79 g freien Carnitins, d. h. 0,019% des Gewichts des Kalbfleisches ausmacht.

Aus II. Phosphorwolframniederschlag gelang es mir, nur 0,83 g typischer Kreatinkristalle zu isolieren, welche nach dem Kochen mit Salzsäure die deutlich ausgeprägten Reaktionen auf Kreatinin von Weyl und Salkowski gaben.

Das Phosphorwolframfiltrat wurde auf gewöhnliche Weise mit Barythydrat, darauf mit Kohlensäure zersetzt, mit Tierkohle behandelt und nach Zusatz von Salzsäure bis zu schwacher Reaktion auf Kongo auf dem Wasserbade bis zur Sirupkonsistenz eingeengt. Der Rest wurde mit einem Gemisch von Alkohol und Äther (4 : 1) extrahiert. Die Lösung, in welche die Chloride der Aminosäuren übergegangen sein mußten, gab nach dem Abdampfen einen nicht krystallisierbaren Sirup. Das blaugrüne Kupfersalz krystallisierte ebenfalls nicht. Auch als Phenylisocyanatverbindung gelang es mir nicht, Monoaminosäuren auszuscheiden. Es haben sich somit die von mir angewandten Methoden zur Ausscheidung von Monoaminosäuren als erfolglos erwiesen, was im Hinblick auf die am Anfang dieser Schrift erwähnten Resultate von Baur und Barschall und Micko nicht wundernehmen muß.
