

## Beiträge zur Muskelchemie.

### III. Mitteilung.

Der freie, durch Formol titrierbare Aminostickstoff in der glatten, der quergestreiften und der Herzmuskulatur der Säugetiere.

Von

G. Buglia und A. Costantino.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Neapel.)

(Der Redaktion zugegangen am 22. August 1912.)

#### I.

Durch die Untersuchungen von Zunz,<sup>1)</sup> Micko<sup>2)</sup> und Soave<sup>3)</sup> ist die Gegenwart von freien Mono- und Diaminosäuren im wässrigen Extrakt des Fleisches der höheren Tiere festgestellt worden.

Nach Zunz finden sich 1,5% des «extrahierbaren Stickstoffs» des Fleisches in Form von Hexonbasen und Monoaminosäuren; nach Micko enthält der Fleischextrakt (Liebig) in Prozenten ausgedrückt an: Alanin 0,23 g, an Glutaminsäure 0,08 g, an Taurin 0,20 g, oder an freien Monoamidosäuren insgesamt 0,51 g.

Auch im wässrigen Extrakt der Fischmuskeln ist eine beträchtliche Quantität von Hexonbasen und Monoamidosäuren festgestellt worden; Suzuki und Joskimura<sup>4)</sup> fanden Histidin, Arginin, Lysin, Leucin, Alanin usw. Chittenden<sup>5)</sup> fand im Adductor von Pecten eine beträchtliche Menge Glykokoll, und

<sup>1)</sup> E. Zunz, Ann. soc. med. Bruxelles, Bd. 13, fasc. 3, 1904.

<sup>2)</sup> K. Micko, Diese Zeitschrift, Bd. 56, S. 80, 1908.

<sup>3)</sup> M. Soave, Atti della R. Accad. di Torino, Bd. 40, S. 831, 1905.

<sup>4)</sup> W. Suzuki und K. Joskimura, Diese Zeitschrift, Bd. 62, S. 1, 1909.

<sup>5)</sup> R. H. Chittenden, Lieb. Ann., Bd. 178, S. 266, 1875.

Valenciennes, Frémy, Frédéricq, Kruckenberg, Henze<sup>1)</sup> konstatierten bei Cephalopoden die Gegenwart von Taurin.

Außerdem erwähnen andere Autoren<sup>2)</sup> die Gegenwart von Leucin und Tyrosin in den Muskeln der Krebse, Spinnen und Insekten.

Jedoch fanden die in diesen Untersuchungen angewandten quantitativen analytischen Methoden keine ausgedehntere Anwendung und zwar wegen der Menge des nötigen Materials.

Die bereits vielfach angewandte Formolmethode zur Bestimmung der freien Aminosäuren in den Flüssigkeiten des Organismus vermeidet fast ganz die oben erwähnte Schwierigkeit und ermöglicht neue und ausgedehnte Versuche über den Gehalt der Organe und Muskeln an freien Aminosäuren.

Es ist zu hoffen, daß es auf diese Weise gelingt, die physiologische Bedeutung dieser Substanzen aufzuklären und die Wichtigkeit, die sie nach Verschiedener Ansicht im Metabolismus spielen, zu zeigen.

Delaunay<sup>3)</sup> hat neuerdings zahlreiche Bestimmungen von freiem Aminostickstoff in den Organen und Muskeln verschiedener Tiere (Vertebraten und Evertebraten) nach der Formolmethode ausgeführt, und v. Fürth und Schwarz<sup>4)</sup> haben genannte Methode zur Bestimmung des freien Aminostickstoffs nach der Fällung mit Phosphorwolframsäure, also zur Bestimmung des Monoaminostickstoffs angewandt und zwar in den Wasserextrakten der quergestreiften Muskulatur des Pferdes.

Es muß jedoch darauf hingewiesen werden, daß die Formolmethode, wenn es sich um Organe oder Muskeln handelt, nicht so leicht und sicher anzuwenden ist, als wenn es sich um Körperflüssigkeiten handelt. Es liegt dies daran, daß man die freien Aminosäuren zunächst aus den Organen und Muskeln

<sup>1)</sup> O. v. Fürth, Chemie des Muskelgewebes. In C. Oppenheim, Handb. d. Biochem., Bd. II., S. 278, 1909.

<sup>2)</sup> S. P. L. Sørensen, Biochem. Zeitschr., Bd. 7, S. 45, 1908.

<sup>3)</sup> H. Delaunay, Travail du Laboratoire de Physiol. de la Faculté de Médecine de Bordeaux et de la Station Biol. d'Arcachon. Bordeaux A. Destout, 1910.

<sup>4)</sup> O. v. Fürth und C. Schwarz, Biochem. Zeitschr., Bd. 30, S. 413, 1911.

extrahieren muß und daß, wenn diese Extraktion nicht richtig gemacht ist, man leicht Fehler bei der Formoltitration bekommt.

Die ebengenannten Autoren haben verschiedene Wege zur Extraktion der freien Aminosäuren aus den Organen und Muskeln eingeschlagen. Delaunay verfuhr so, daß er 1 g des Muskels oder Organs mit Sand und Wasser zerrieb; Fürth und Schwarz hingegen kochten den Muskelbrei wiederholt mit Wasser aus und brachten die Extraktionsflüssigkeiten auf ein kleines Volumen.

In unseren Bestimmungen über den Gehalt des glatten, quergestreiften und Herzmuskels an freien Aminosäuren haben wir weder den einen noch den anderen Weg befolgt. Die Arbeitsweise von Delaunay verdient schon wegen der geringen Menge des verwandten Materials wenig Vertrauen, andererseits ist der Fehler nicht in Betracht gezogen, der durch die Gegenwart von Phosphaten und Carbonaten in der Flüssigkeit, in der mit Formol titriert wird, bedingt wird.<sup>1)</sup> Die Methode von v. Fürth und Schwarz war im Spezialfall des glatten Muskels nicht anwendbar. Behandelt man nämlich die glatte Muskulatur mit heißem Wasser, so erhält man eine an Eiweißkörpern reiche Flüssigkeit, die langsam und schwierig koaguliert. Man erhält eine stark opaleszierende Flüssigkeit, deren Titration mit Formol, auch wenn man an Stelle des Baryts Soda verwendet, nur schwierig auszuführen und von zweifelhafter Genauigkeit ist. Andererseits haben wir uns auch bemüht, bei der Extraktion der freien Aminosäuren hohe Temperaturen zu vermeiden.

## II.

### Untersuchungsmethode.

Wir verfahren in folgender Weise:

Der von Fett und Bindegewebe befreite Muskel wird kleingehackt und im Trockenschrank bei 70—80° getrocknet. Hierauf zerreibt man ihn zu einem feinen Pulver und nimmt

---

<sup>1)</sup> Möglicherweise lassen sich so die hohen von diesem Autor erhaltenen Werte erklären. Sie betragen beinahe das Doppelte des in den Extraktivstoffen enthaltenen Stickstoffs.

davon eine Probe, um den Trockenrückstand bei der Temperatur von  $110^{\circ}$  zu bestimmen. Ca. 20 g des bei  $70\text{--}80^{\circ}$  getrockneten Pulvers gibt man sodann in ein Gefäß zusammen mit 225 ccm Wasser und 25 ccm 97prozentigen Alkohol und schüttelt 3 Stunden lang. Hierauf gibt man 5—10 g Baryt und Chlorbaryum in Pulverform zu und schüttelt abermals 10 Min. Nachdem man 15 Min. hat absitzen lassen, wird filtriert. Man erhält ein gelblich gefärbtes Filtrat (das weniger gefärbt ist beim glatten Muskel), was völlig klar ist und nur geringe Mengen von Eiweißsubstanzen enthält.

Etwa 150 ccm dieser Flüssigkeit neutralisiert man bei Gegenwart von Azolithmin, nachdem man 1 ccm Phenolphthalein pro 50 ccm Flüssigkeit zugefügt hat (1 g Phenolphthalein in 100 ccm Wasser und 100 ccm Alkohol) und füllt auf 200 ccm auf. 50 ccm dieser Flüssigkeit dienen zur Bestimmung des Formolstickstoffs gemäß der Methode von Sörensen<sup>1)</sup> und 50 ccm zur Bestimmung des Ammoniakstickstoffs nach der Methode von Krüger, Reich, Schittenhelm.<sup>2)</sup>

Da man den Gewichtsverlust des Trockenpulvers bei  $110^{\circ}$  kennt, so läßt sich leicht die Menge des durch Formol titrierbaren Stickstoffs in 100 g Trockensubstanz berechnen; desgleichen auch für den Gesamtstickstoff. Der Trockenrückstand einer gewissen Gewichtsmenge frischen Muskels erlaubt weiter, den Gehalt an Formolstickstoff und Ammoniakstickstoff in Prozenten der frischen Substanz auszudrücken.

Die Vorteile dieser Extraktionsmethode sind klar: Die Manipulationen der Extraktion sind abgekürzt und bedeutend erleichtert. Bei dem Arbeiten mit der Trockensubstanz kann man die Aminosäuren einer verhältnismäßig großen Menge Frischsubstanz extrahieren; man arbeitet nicht bei erhöhter Temperatur (das Trocknen kann auch bei noch niedrigerer Temperatur und in einer sauerstofffreien Atmosphäre vorgenommen werden) und die Flüssigkeit, in der die Formoltitration erfolgt, ist frei von Carbonaten und Phosphaten, sehr arm an Eiweißkörpern

<sup>1)</sup> S. P. L. Sörensen, l. c.

<sup>2)</sup> E. Abderhalden, Handbuch der biochem. Arbeitsmeth., 1910, Bd. 3, S. 767.

und bleibt klar bei der Titration, wenn man Soda oder Baryt benutzt.<sup>1)</sup>

Die vorliegenden Untersuchungen über den freien Aminostickstoff wurden an demselben Material ausgeführt, das wir in früheren Versuchen<sup>2)</sup> benutzten, d. h. an der glatten Muskulatur (retractor penis), der quergestreiften und der Herzmuskulatur des Stieres.

Für jede Muskelart machten wir eine Doppelbestimmung an Material von verschiedenen Tieren.

Gleichzeitig mit den Bestimmungen des durch Formol titrierbaren Gesamtstickstoffs machten wir auch Bestimmungen der freien Monoamidosäuren, indem wir den Diaminostickstoff mit Phosphorwolframsäure fällten. Bei der ersten Fällung und Trennung folgten wir den Vorschriften Donald van Slykes,<sup>3)</sup> wie schon in unserer früheren Mitteilung erwähnt ist, bei der zweiten hingegen den obengenannten Angaben von v. Fürth und Schwarz.

### III.

#### Glatte Muskulatur (Retractor penis).

Trockenrückstand	des frischen Muskels in Prozenten	= 19,14 g <sup>4)</sup>
Wasser	» » » » »	= 80,86 » <sup>4)</sup>
Gesamt-N (Kjeldahl)	» » » » »	= 2,90 » <sup>4)</sup>

#### I. Bestimmung.

##### a) Freie Aminosäuren.

Getrockneter Muskel bei 80° = 20,750 g (= 19,762 g bei 110°) + 225 ccm Wasser + 25 ccm Alkohol.

Vom Filtrat nimmt man 160 ccm, fügt 3,2 ccm Phenolphthalein zu und nachdem mit Salzsäure gegen Azolithmin neutralisiert hat, füllt man auf 200 ccm auf. (Flüssigkeit A.)

Flüssigkeit A. 50 ccm dienen zur Bestimmung des Formolstickstoffs.

$$\frac{\text{Ba(OH)}_2}{5} \text{ ccm } 8,6 - \frac{\text{HCl}}{5} \text{ ccm } 5,6 = 3 \text{ ccm}$$

$$\text{ccm } 3 \times 2,80 = \text{mmg } 8,4.$$

<sup>1)</sup> Diese Methode läßt sich mit einigen Modifikationen wahrscheinlich auch für die Gewinnung vieler Extraktionsstoffe der Organe und Muskeln benutzen. In einigen von uns angestellten Proben erhielten wir zufriedenstellende Resultate.

<sup>2)</sup> G. Buglia und A. Costantino. Diese Zeitschrift, I, II. Mitteilung.

<sup>3)</sup> Arnold van Slyke, Journ. of Biolog. Chem., Bd. 10, S. 15, 1912.

<sup>4)</sup> Mittel aus mehreren Bestimmungen.

Durch Formol titrierbarer N in Prozenten des bei 110° getrockneten Pulvers = 0,263 g.

Flüssigkeit A. 50 ccm dienen zur Bestimmung des Ammoniak-N.

Ammoniak-N in Prozenten des bei 110° getrockneten Pulvers = 0,0152 g.

Amino-N, durch Formol titrierbar, in Prozenten des bei 110° getrockneten Pulvers = 0,247 g.

Amino-N, durch Formol titrierbar, in Prozenten des frischen Muskels = 0,047 g.

#### b) Freie Monoaminosäuren.

Flüssigkeit A. 50 ccm + 2 ccm Phenolphthalein + 50 ccm Phosphorwolframsäurelösung (20 g Phosphorwolframsäure + 80 ccm Wasser + 4 ccm Schwefelsäure). Das Filtrat nach der Fällung mit Baryt wird konzentriert und auf 100 ccm gebracht (Flüssigkeit B).

Flüssigkeit B. 50 ccm werden gegen Azolithmin neutralisiert auf 100 ccm gebracht und darin der durch Formol titrierbare N bestimmt.

$$\frac{\text{Ba(OH)}_2}{5} \text{ ccm } 5,4 - \frac{\text{HCl}}{5} \text{ ccm } 4,7 = \text{ccm } 0,7$$

ccm 0,7 — ccm 0,2 (Korrektion der Probestoffigkeit) = ccm 0,5.

$$\text{ccm } 0,5 \times 2,8 = \text{mg } 1,4.$$

Durch Formol titrierbarer N in Prozenten des bei 110° getrockneten Pulvers = 0,088 g.

Flüssigkeit B. 50 ccm dienen zur Bestimmung des Ammoniak-N.

Ammoniak-N in Prozenten des bei 110° getrockneten Pulvers = 0,0 g.

Durch Formol titrierbarer Monoaminosäure-N in Prozenten des bei 110° getrockneten Pulvers = 0,088 g.

Durch Formol titrierbarer Monoaminosäure-N in Prozenten der frischen Substanz = 0,0168 g.

## II. Bestimmung.

### a) Freie Aminosäuren.

Bei 80° getrockneten Muskelsubstanz = 20,069 g (= 19,98 g bei 110°) + 225 ccm Wasser + 25 ccm Alkohol.

Man nimmt vom Filtrat 160 ccm, fügt 3,2 ccm Phenolphthalein zu und füllt nach Neutralisation gegen Azolithmin auf 200 ccm auf (Flüssigkeit A).

Flüssigkeit A. 50 ccm dienen zur Bestimmung des Formol-N.

$$\frac{\text{Ba(OH)}_2}{5} \text{ ccm } 9,7 - \frac{\text{HCl}}{5} \text{ ccm } 5,8 = \text{ccm } 3,9$$

ccm 3,9 — ccm 0,2 (Korrektion der Probe) = ccm 3,7.

Durch Formol titrierbarer N in Prozenten des bei 110° getrockneten Pulvers = 0,352 g.

Flüssigkeit A. 50 ccm dienen zur Bestimmung des Ammoniak-N.

Ammoniak-N in Prozenten des bei 110° getrockneten Pulvers = 0,124 g.

Durch Formol titrierbarer Amino-N in Prozenten des bei 110° getrockneten Pulvers = 0,228 g.

Durch Formol titrierbarer Amino-N in Prozenten der frischen Substanz = 0,043 g.

b) Freie Monoaminosäuren.

Flüssigkeit A. 50 ccm + 50 ccm Phosphorwolframsäurelösung + 2 ccm Phenolphthalein.

Das Filtrat nach der Barytfällung wird auf 100 ccm gebracht (Flüssigkeit B). Die etwas trübe Flüssigkeit B wird filtriert.

Flüssigkeit B. 40 ccm werden gegen Azolithmin neutralisiert und auf 50 ccm gebracht und darin der durch Formol titrierbare N bestimmt.

$$\frac{\text{Ba(OH)}_2}{5} \text{ ccm } 5,1 - \frac{\text{HCl}}{5} \text{ ccm } 4,6 = \text{ccm } 0,5$$

$$\text{ccm } 0,5 \times 2,8 = \text{mg } 1,4.$$

Durch Formol titrierbarer N in Prozenten des bei 110° getrockneten Pulvers = 0,115 g.

Flüssigkeit B. 50 ccm dienen zur Bestimmung des Ammoniak-N.

Ammoniak-N in Prozenten des bei 110° getrockneten Pulvers = 0,02 g.

Durch Formol titrierbarer Monoamino-N in Prozenten des bei 110° getrockneten Pulvers = 0,095 g.

Durch Formol titrierbarer Monoamino-N in Prozenten der frischen Substanz = 0,0181 g.

Quergestreifte Muskulatur.

Trockenrückstand des frischen Muskels bei 110° in Proz. = 22,23 g<sup>1)</sup>

Wasser „ „ „ „ 110° „ „ = 77,77 „<sup>1)</sup>

Gesamt-N (Kjeldahl) „ „ „ „ 110° „ „ = 3,40 „<sup>1)</sup>

I. Bestimmung.

a) Freie Aminosäuren.

Getrockneter Muskel bei 80° = 20,995 g (= 20,42 g bei 110°) + 225 ccm Wasser + 25 ccm Alkohol.

Vom Filtrat nimmt man 160 ccm, fügt 3,2 ccm Phenolphthalein zu und bringt nach Neutralisation gegen Azolithmin auf 200 ccm (Flüssigkeit A).

Flüssigkeit A. 50 ccm dienen zur Bestimmung des Formol-N.

$$\frac{\text{Ba(OH)}_2}{5} \text{ ccm } 9,3 - \frac{\text{HCl}}{5} \text{ ccm } 4,9 = \text{ccm } 4,4$$

$$\text{ccm } 4,4 - \text{ccm } 0,1 \text{ (Korrektion der Probe)} = \text{ccm } 4,3$$

$$\text{ccm } 4,3 \times 2,8 = 12,04 \text{ mg.}$$

Gesamt-Formol-N in Prozenten des bei 110° getrockneten Muskels = 0,369 g.

Flüssigkeit A. 50 ccm dienen zur Bestimmung des Ammoniak-N.

<sup>1)</sup> Mittel aus mehreren Bestimmungen.

Ammoniak-N in Prozenten der bei 110° getrockneten Substanz = 0,112 g.  
 Durch Formol titrierbarer Amino-N in Prozenten des bei 110° getrockneten Pulvers = 0,257 g.

Durch Formol titrierbarer Amino-N in Prozenten des frischen Muskels = 0,0571 g.

#### b) Freie Monoamidosäuren.

Flüssigkeit A. 50 ccm + 2 ccm Phenolphthalein + 50 ccm Phosphorwolframsäure.

Das Filtrat nach der Barytfällung wird konzentriert und auf 100 ccm gebracht (Flüssigkeit B).

Flüssigkeit B. 40 ccm werden gegen Azolithmin neutralisiert, auf 50 ccm gebracht und darin der durch Formol titrierbare N bestimmt.

$$\frac{\text{Ba(OH)}_2}{5} \text{ ccm } 5,2 - \frac{\text{HCl}}{5} \text{ ccm } 4,7 = \text{ccm } 0,5$$

$$\text{ccm } 0,5 \times 2,8 = 1,4 \text{ mg.}$$

Durch Formol titrierbarer N in Prozenten der bei 110° getrockneten Substanz = 0,110 g.

Flüssigkeit B. 50 ccm dienen zur Bestimmung des Ammoniak-N.

Ammoniak-N in Prozenten der bei 110° getrockneten Substanz = 0,02 g.

Freier durch Formol titrierbarer Monoamidosäuren-N in Prozenten der bei 110° getrockneten Substanz = 0,090 g.

Freier durch Formol titrierbarer Monoamidosäure-N in Prozenten des frischen Muskels = 0,020 g.

## II. Bestimmung.

#### a) Freie Aminosäuren.

Muskelsubstanz bei 80° getrocknet = 26,2599 g (= 25,1644 g bei 110°)  
 + 225 ccm Wasser + 25 ccm Alkohol.

150 ccm des Filtrats werden gegen Azolithmin neutralisiert, 3 ccm Phenolphthalein zugefügt und auf 200 ccm gebracht (Flüssigkeit A).

Flüssigkeit A. 100 ccm dienen zur Bestimmung des Formol-N.

$$\frac{\text{Ba(OH)}_2}{5} \text{ ccm } 15,6 - \frac{\text{HCl}}{5} \text{ ccm } 5,3 = \text{ccm } 10,3$$

$$\text{ccm } 10,3 - \text{ccm } 0,3 \text{ (Korrektion der Probe)} = \text{ccm } 10,0$$

$$\text{ccm } 10,0 \times 2,8 = 2,8 \text{ mg.}$$

Durch Formol titrierbarer N in Prozenten der bei 110° getrockneten Substanz = 0,371 g.

Flüssigkeit A. 50 ccm dienen zur Bestimmung des Ammoniak-N.

Ammoniak-N in Prozenten der bei 110° getrockneten Substanz = 0,104 g.

Durch Formol titrierbarer Amino-N in Prozenten der bei 110° getrockneten Substanz = 0,267 g.

Durch Formol titrierbarer Amino-N in Prozenten des frischen Muskels = 0,0593 g.



## b) Freie Monoamidosäuren.

Flüssigkeit A. 50 ccm + 2 ccm Phenolphthalein + 50 ccm Phosphorwolframsäure.

Das Filtrat nach der Barytfällung wird gegen Azolithmin neutralisiert und auf 100 ccm gebracht (Flüssigkeit B).

Flüssigkeit B. 50 ccm dienen zur Bestimmung des Formol-N.

$$\frac{\text{Ba(OH)}_2}{5} \text{ ccm } 6,34 - \frac{\text{HCl}}{5} \text{ ccm } 5,4 = \text{ccm } 0,94$$

$$\text{ccm } 0,94 - \text{ccm } 0,3 \text{ (Korrektion der Probe)} = \text{ccm } 0,64$$

$$\text{ccm } 0,64 \times 2,8 = 1,79 \text{ mg.}$$

Freier durch Formol titrierbarer N in Prozenten der bei 110° getrockneten Substanz = 0,094 g.

Flüssigkeit B. 50 ccm dienen zur Bestimmung des Ammoniak-N.

Ammoniak-N in Prozenten der bei 110° getrockneten Substanz = 0,02 g.

Freier durch Formol titrierbarer Monoamidosäure-N in Prozenten der bei 110° getrockneten Substanz = 0,074 g.

Freier durch Formol titrierbarer Monoamidosäure-N in Prozenten des frischen Muskels = 0,016 g.

**Herzmuskel.**

Trockenrückstand des bei 110° getrockneten Muskels in Proz. = 19,26 g<sup>1)</sup>

Wasser „ „ 110° „ „ „ = 80,74 „<sup>1)</sup>

Gesamt-N (Kjeldahl) „ „ 110° „ „ „ = 2,77 „<sup>1)</sup>

## I. Bestimmung.

## a) Freie Aminosäuren.

Bei 80° getrocknete Muskelsubstanz = 20,435 g (= 18,924 g bei 110°)

+ 225 ccm Wasser + 25 ccm Alkohol.

160 ccm des Filtrats neutralisiert man gegen Azolithmin, fügt 3,2 ccm Phenolphthalein zu und bringt auf 200 ccm (Flüssigkeit A).

Flüssigkeit A. 50 ccm dienen zur Bestimmung des Formol-N.

$$\frac{\text{Ba(OH)}_2}{5} \text{ ccm } 8,4 - \frac{\text{HCl}}{5} \text{ ccm } 4,9 = \text{ccm } 3,5 \text{ (— ccm } 0,2 \text{ Korrektion)} = \text{ccm } 3,3$$

$$\text{ccm } 3,3 \times 2,8 = 9,24 \text{ mg.}$$

Durch Formol titrierbarer N in Prozenten der bei 110° getrockneten Substanz = 0,304 g.

Flüssigkeit A. 50 ccm dienen zur Bestimmung des Ammoniak-N.

Ammoniak-N in Prozenten der bei 110° getrockneten Substanz = 0,134 g.

Durch Formol titrierbarer Amino-N in Prozenten des Trockenpulvers = 0,170 g.

Durch Formol titrierbarer Amino-N in Prozenten des frischen Muskels = 0,0327 g.

<sup>1)</sup> Mittel aus mehreren Bestimmungen.

## b) Freie Monoamidosäuren.

Flüssigkeit A. 50 ccm + 2 ccm Phenolphthalein + 50 ccm Phosphorwolframsäure.

Das Filtrat nach der Barytfällung wird gegen Azolithmin neutralisiert und auf 100 ccm gebracht (Flüssigkeit B).

Flüssigkeit B. Man filtriert, 80 ccm davon dienen zur Bestimmung des Formol-N.

$$\frac{\text{Ba(OH)}_2}{5} \text{ ccm } 6,3 - \frac{\text{HCl}}{5} \text{ ccm } 5,1 = \text{ccm } 1,2$$

$$\text{ccm } 1,2 - \text{ccm } 0,3 \text{ (Korrektur der Probe)} = \text{ccm } 0,9$$

$$\text{ccm } 0,9 \times 2,8 = 2,52 \text{ mg.}$$

Durch Formol titrierbarer N in Prozenten der bei 110° getrockneten Substanz = 0,103 g.

Ammoniak-N in Prozenten der bei 110° getrockneten Substanz = 0,02 g (Mittel der vorhergehenden Bestimmungen).

Durch Formol titrierbarer Monoamidosäure-N in Prozenten der bei 110° getrockneten Substanz = 0,083 g.

Durch Formol titrierbarer Monoamidosäure-N in Prozenten des frischen Muskels = 0,0159 g.

## II. Bestimmung.

## a) Freie Aminosäuren.

Bei 80° getrocknete Substanz = 27,1884 g (= 25,953 g bei 110°) + 225 ccm Wasser + 25 ccm Alkohol.

160 ccm des Filtrats werden gegen Azolithmin neutralisiert, 3,2 ccm Phenolphthalein zugefügt und auf 200 ccm aufgefüllt (Flüssigkeit A).

Flüssigkeit A. 50 ccm dienen zur Bestimmung des Formol-N.

$$\frac{\text{Ba(OH)}_2}{5} \text{ ccm } 11,5 - \frac{\text{HCl}}{5} \text{ ccm } 5,9 = \text{ccm } 5,6$$

$$(- 0,3 \text{ ccm Korrektur der Probe}) = \text{ccm } 5,3$$

$$\text{ccm } 5,3 \times 2,8 = 14,84 \text{ mg.}$$

Durch Formol titrierbarer N in Prozenten der bei 110° getrockneten Substanz = 0,357 g.

Flüssigkeit A. 50 ccm dienen zur Bestimmung des Ammoniak-N.

Ammoniak-N in Prozenten der bei 110° getrockneten Substanz = 0,148 g.

Durch Formol titrierbarer Amino-N in Prozenten der bei 110° getrockneten Substanz = 0,209 g.

Durch Formol titrierbarer Amino-N in Prozenten des frischen Muskels = 0,042 g.

## b) Freie Monoamidosäuren.

Flüssigkeit A. 50 ccm + 2 ccm Phenolphthalein + 50 ccm Phosphorwolframsäure.

Das Filtrat nach der Barytfällung wird gegen Azolithmin neutralisiert und auf 100 ccm gebracht (Flüssigkeit B).

Flüssigkeit B. 50 ccm der filtrierten Flüssigkeit dienen zur Bestimmung des Formol-N.

$$\frac{\text{Ba(OH)}_2}{5} \text{ ccm } 6,2 - \frac{\text{HCl}}{5} \text{ ccm } 5 = \text{ccm } 1,2$$

$$\text{ccm } 1,2 - \text{ccm } 0,3 \text{ (Korrektion der Probe)} = \text{ccm } 0,9$$

$$\text{ccm } 0,9 \times 2,8 = 2,52 \text{ mg.}$$

Formol-N in Prozenten der bei 110° getrockneten Substanz = 0,121 g.  
Flüssigkeit B. 40 ccm dienen zur Bestimmung des Ammoniak-N.

Ammoniak-N in Prozenten der bei 110° getrockneten Substanz = 0,017 g.  
Durch Formol titrierbarer Amino-N in Prozenten der bei 110° getrockneten Substanz = 0,104 g.

Durch Formol titrierbarer Amino-N in Prozenten des frischen Muskels = 0,020 g.

In der folgenden Tabelle sind sämtliche gefundenen Werte zusammengestellt und zwar bezogen sowohl auf den bei 110° getrockneten als auch auf den frischen Muskel.

Muskel	Be- stim- mung	Freier durch Formol titrierbarer Aminostickstoff in g					
		Prozent der Trockensubstanz (110°)			Prozent des frischen Muskels		
		Gesamt- Amino-N	Monamino- N	Diamino-N (aus Differenz)	Gesamt- Amino-N	Monamino- N	Diamino-N (aus Differenz)
glatt (retractor penis)	I	0,247	0,088	0,146	0,047	0,016	0,028
	II	0,228 } 0,237	0,095 } 0,091		0,043 } 0,045	0,018 } 0,017	
quer- gestreift	I	0,257	0,090	0,180	0,057	0,020	0,040
	II	0,267 } 0,262	0,074 } 0,082		0,059 } 0,058	0,016 } 0,018	
Herz	I	0,170	0,083	0,096	0,032	0,016	0,018
	II	0,209 } 0,189	0,104 } 0,093		0,040 } 0,036	0,020 } 0,018	

Diese Tabelle enthält die Werte der einzelnen Bestimmungen bezogen auf 100 g Gesamtstickstoff:

Muskel	Be- stimmung	Gesamt-N in % des frischen Muskels (Kjeldahl)	Freier durch Formol titrierbarer Gesamt-N in %		
			Gesamt- Amino-N	Monamino- N	Diamino-N (Differenz)
glatt (retractor penis)	I und II (Mittel)	2,90	1,55	0,58	0,97
quergestreift	do.	3,40	1,70	0,53	1,17
Herz	,	2,77	1,48	0,65	0,83

## IV.

Die mitgeteilten Ergebnisse über den durch Formol titrierbaren Aminostickstoff erlauben folgende Schlüsse zu ziehen:

1. Die von uns befolgte Methodik der Extraktion der in den Geweben des Organismus enthaltenen freien Aminosäuren ist leicht ausführbar und verdient Zutrauen hinsichtlich der Übereinstimmung der Resultate.

2. In den verschiedenen von uns untersuchten Muskelarten findet sich eine Menge freien durch Formol titrierbaren Aminostickstoffs, der im Verhältnis zur Menge des Stickstoffs der übrigen Extraktivstoffe von nicht geringer Bedeutung ist.

3. Der freie durch Formol titrierbare Aminostickstoff variiert in den verschiedenen Muskelsorten. In bezug auf die frische Muskelsubstanz findet sich die größte Menge im quergestreiften Muskel, hierauf folgt der glatte und dann der Herzmuskel.

4. Die Menge des freien durch Formol titrierbaren Aminostickstoffs, der nicht durch Phosphorwolframsäure fällbar ist, also den Stickstoff der freien Monoamidosäuren repräsentiert, zeigt fast keinen Unterschied in den verschiedenen Muskeln.

5. Der Stickstoff der freien Diaminosäuren, der die Differenz zwischen dem Gesamtstickstoff der freien durch Formol titrierbaren Aminosäuren und demjenigen der Monoamidosäuren darstellt, überwiegt in der glatten und quergestreiften Muskulatur denjenigen der Monoamidosäuren, während in der Herzmuskulatur beide ungefähr in gleicher Menge vorkommen.

6. Die erhaltenen Resultate zeigen somit, welche Bedeutung ein eingehenderes Studium des freien Aminostickstoffs haben kann, welches heute infolge der nicht geringen Untersuchungsschwierigkeiten so zu sagen erst begonnen ist. Wir haben daher systematische Studien begonnen, um die Unterschiede zwischen den Organen und Geweben der verschiedensten Tierarten festzustellen, und zwar nicht nur unter normalen und unter pathologischen Verhältnissen, sondern auch während deren funktioneller Tätigkeit und zwar parallel zu den eventuellen Variationen des Gehaltes der freien Aminosäuren in den Körperflüssigkeiten.

### Stickstoff der hauptsächlichsten Muskelextraktivstoffe in Prozenten des frischen Muskels.

Extraktivstoff	Buglia-Costantino <sup>1)</sup>	Andere Autoren
Freie Aminosäuren	0,045 (glatter Muskel) 0,058 (gestreifter » ) 0,036 (Herz- » )	Delaunay <sup>2)</sup> (gestreifter Muskel) 0,153(!) v. Fürth u. Schwarz <sup>3)</sup> (gestr. Muskel, Monaminosäuren) 0,022—0,0007
Kreatinin	0,036 (glatter Muskel)	Saiki <sup>4)</sup> (Magen, Schwein) 0,032 (Mittel) » (Blase, » ) 0,029
(nach Inversion)	0,117 (gestreifter » ) 0,079 (Herz- » )	Mouari <sup>5)</sup> } gestreifter Muskel 0,12 —0,16 Mellanby <sup>6)</sup> } 0,11 —0,16 Pekelharing <sup>7)</sup> } 0,11 —0,18 v. Fürth und Schwarz <sup>8)</sup> } 0,10 —0,12 » (Herzmuskel) 0,073—0,079
Carnosin (Carnosinfraktion)	0,036 (glatter Muskel) 0,105 (gestreifter » ) 0,044 (Herz- » )	Skworzow <sup>9)</sup> } gestreifter Muskel 0,069—0,12 v. Fürth und Schwarz <sup>10)</sup> } 0,105—0,117 » (Herzmuskel) 0,086—0,109

<sup>1)</sup> G. Buglia und A. Costantino, Diese Zeitschrift, II. Mitteilung.

<sup>2)</sup> H. Delaunay, l. c.

<sup>3)</sup> O. v. Fürth und C. Schwarz, l. c.

<sup>4)</sup> T. Saiki, Journ. of Biol. Chem., Bd. 4, S. 483, 1908.

<sup>5)</sup> A. Mouari, Atti R. Accad. delle scienze Torino, Bd. 22, S. 846, 1887.

<sup>6)</sup> E. Mellanby, Journ. of Physiol., Bd. 36, S. 447, 1907—08.

<sup>7)</sup> C. A. Pekelharing und C. J. C. van Hoogenhuyze, Diese Zeitschrift, Bd. 64, S. 262, 1910.

<sup>8)</sup> O. v. Fürth und C. Schwarz, l. c.

<sup>9)</sup> Wl. Skworzow, Diese Zeitschrift, Bd. 68, S. 26, 1910.

<sup>10)</sup> O. v. Fürth und C. Schwarz, l. c.