

Beiträge zur Chemie des Embryos.

II. Mitteilung.

Der freie durch Formol titrierbare Aminostickstoff in der Muskulatur des Ochsenebryos.

Von

G. Buglia und A. Costantino.

(Aus der chemisch-physiologischen Abteilung der zoologischen Station zu Neapel.)
(Der Redaktion zugegangen am 30. August 1912.)

Die verschiedene chemische Zusammensetzung zwischen den azotierten Substanzen des fötalen Muskelgewebes und denjenigen des Muskelgewebes ausgewachsener Tiere¹⁾, im Verein mit einigen anderen von uns ausgeführten Versuchen über den Gehalt der quergestreiften Muskulatur erwachsener Tiere²⁾, haben uns dazu geführt, auch Bestimmungen des freien Aminostickstoffs in der fötalen Muskulatur zu machen.

Das gewählte Material bestand in Ochsenebryonen. Die Methodik zur Extraktion und Bestimmung des freien Aminostickstoffs der Muskulatur war die gleiche von uns schon in obengenannten Arbeiten an der ausgewachsenen Muskulatur benutzte. Die Extraktion erfolgte an dem bei 70—80° getrockneten Muskelpulver und die Bestimmungen des Aminostickstoffs nach der Formolmethode.

I. Versuch.

Ochsenebryo von 3,4 kg (2—3 Monate alt).

Trockenrückstand bei 110° des frischen Muskels = 12,28%

Wassergehalt » 110° » » » » = 87,72%

Gesamtstickstoff (Kjeldhal) bei 110° des frischen Muskels
= 1,342%.

Die feingehackten Muskeln wurden bei 70—80° getrocknet und hierauf gepulvert.

100 g dieses Pulvers entsprechen 91,93 g bei 110° getrockneter Substanz.

¹⁾ G. Buglia und A. Costantino, Diese Zeitschr., Beiträge zur Chemie des Embryos, I. Mitteilung.

²⁾ G. Buglia und A. Costantino, Diese Zeitschr., Beiträge zur Muskelchemie, III. Mitteilung.

a) Freie Aminosäuren:

25,26 g der bei 70—80° getrockneten Muskelsubstanz (entsprechend 23,22 g bei 110°) wurden mit 225 ccm Wasser und 25 ccm Alkohol versetzt. Zu 150 ccm des Filtrats gibt man 3 ccm Phenolphthaleinlösung (1 g Phenolphthalein + 100 ccm Wasser + 100 ccm Alkohol), neutralisiert gegen Azolithmin mit Salzsäure und verdünnt auf 200 ccm (Flüssigkeit A).

Flüssigkeit A: 50 ccm dienen zur Bestimmung des Formolstickstoffs (25 ccm 40%ige Formollösung).

$$\frac{\text{Ba(OH)}_2}{5} \text{ ccm } 11,6 - \frac{\text{HCl}}{5} \text{ ccm } 5,8 = \text{ccm } 5,8.$$

$$\text{ccm } 5,8 - \text{ccm } 0,1 \text{ (Korrektion der Probe)} = \text{ccm } 5,7.$$

$$\text{ccm } 5,7 \times 2,8 = 15,96 \text{ mg.}$$

Durch Formol titrierbarer N = 0,456% des bei 110° getrockneten Muskels.

Flüssigkeit A: 50 ccm dienen zur Bestimmung des Ammoniakstickstoffs:

Ammoniak-N = 0,112% des bei 110° getrockneten Muskels.

Durch Formol titrierbarer Amino-N = 0,344% des bei 110° getrockneten Muskels.

Durch Formol titrierbarer Amino-N = 0,042% des frischen Muskels.

b) Freie Monaminosäuren:

Flüssigkeit A: 50 cm werden mit 2 ccm Phenolphthalein und mit 50 ccm Phosphorwolframsäurelösung (20 g Phosphorwolframsäure + 80 ccm Wasser + 4 ccm Schwefelsäure) versetzt.

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

Flüssigkeit B: 50 ccm werden gegen Azolithmin neutralisiert, auf 100 ccm verdünnt, und darin der durch Formol titrierbare Stickstoff bestimmt (10 ccm 40%ige Formollösung).

$$\frac{\text{Ba(OH)}_2}{5} \text{ ccm } 7,6 - \frac{\text{HCl}}{5} \text{ ccm } 5,4 = \text{ccm } 2,2.$$

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

$$\text{ccm } 2,0 \times 2,8 = 5,6 \text{ mg.}$$

Durch Formol titrierbarer N = 0,322% des bei 110° getrockneten Muskels.

Flüssigkeit B: 50 ccm dienen zur Ammoniakbestimmung:
Ammoniak-N = 0,020% des bei 110° getrockneten Muskels.

Durch Formol titrierbarer Monamino-N = 0,302% des bei 110° getrockneten Muskels.

Durch Formol titrierbarer Monamino-N = 0,037% des frischen Muskels.

II. Versuch:

Ochsenembryo von 5,300 kg (ca. 4 Monate alt).

Trockenrückstand bei 110° des frischen Muskels = 12,24%

Wassergehalt » 110° » » = 87,76%

Gesamtstickstoff (Kjeldahl) bei 110° des frischen Muskels
= 1,38%.

Die feingehackten Muskeln werden bei 70° getrocknet und fein pulverisiert.

100 g dieses Pulvers entsprechen 86,08 g bei 110° getrockneter Substanz.

a) Freie Aminosäuren:

16,673 g der bei 80° getrockneten Substanz (entsprechend 14,35 g bei 110°) werden mit 180 ccm Wasser und 20 ccm Alkohol versetzt.

110 ccm des Filtrats werden mit 3 ccm Phenolphthalein versetzt, gegen Azolithmin neutralisiert und auf 200 ccm gebracht (Flüssigkeit A).

Flüssigkeit A: 50 ccm dienen zur Bestimmung des Formolstickstoffs (25 ccm 40%ige Formollösung).

$$\frac{\text{Ba(OH)}_2}{5} \text{ ccm } 9,0 - \frac{\text{HCl}}{5} \text{ ccm } 5,1 = \text{ccm } 3,9.$$

$$\text{ccm } 3,9 - \text{ccm } 0,2 \text{ (Korrektion der Probe)} = \text{ccm } 3,7.$$

$$\text{ccm } 3,7 \times 2,8 = \text{mg } 10,3.$$

Durch Formol titrierbarer N = 0,525% des bei 110° getrockneten Muskels.

Flüssigkeit A: 50 ccm dienen zur Bestimmung des Ammoniakstickstoffs.

Ammoniak-N = 0,062% des bei 110° getrockneten Muskels.

Durch Formol titrierbarer Amino-N = 0,463% des bei 110° getrockneten Muskels.

Durch Formol titrierbarer Amino-N = 0,056% des frischen Muskels.

III. Versuch.

Ochsenembryo von 6 kg (4—5 Monat alt).

Trockenrückstand bei 110° des frischen Muskels = 12,51%

Wassergehalt „ 110° „ „ „ = 87,49%

Gesamtstickstoff (Kjeldhal) bei 110° des frischen Muskels
= 1,39%.

Die Muskeln werden fein gehackt und nach dem Trocknen bei 80° fein pulverisiert.

100 g des bei dieser Temperatur getrockneten Pulvers entsprechen 95,92 g bei 110° getrockneter Substanz.

a) Freie Aminosäuren.

19,62 g der bei 80° getrockneten Substanz (entsprechend 18,82 g bei 110°) werden mit 225 ccm Wasser und 25 ccm Alkohol versetzt.

150 ccm des Filtrats werden nach Zusatz von 3 ccm Phenolphthalein gegen Azolithmin neutralisiert mit HCl und auf 200 ccm aufgefüllt (Flüssigkeit A).

Flüssigkeit A: 50 ccm dienen zur Bestimmung des Formolstickstoffs (25 ccm 40%ige Formollösung).

$$\frac{\text{Ba(OH)}_2}{5} \text{ ccm } 9,98 - \frac{\text{HCl}}{5} \text{ ccm } 5,39 = \text{ccm } 4,59.$$

$$\text{ccm } 4,59 - \text{ccm } 0,2 \text{ (Korrektion der Probe)} = \text{ccm } 4,39.$$

$$\text{ccm } 4,39 \times 2,8 = 12,29 \text{ mg.}$$

Durch Formol titrierbarer N = 0,435% des bei 110° getrockneten Pulvers.

Flüssigkeit A: 50 ccm dienen zur Bestimmung des Ammoniakstickstoffs.

Ammoniak-N = 0,104% des bei 110° getrockneten Muskels.

Durch Formol titrierbarer Amino-N = 0,331% des bei 110° getrockneten Muskels.

Durch Formol titrierbarer Amino-N = 0,041% des frischen Muskels.

b) Freie Monaminosäuren:

Flüssigkeit A: 50 ccm werden nach Zusatz von 2 ccm Phenolphthalein mit Phosphorwolframsäurelösung gefällt.

Das Filtrat nach Fällung mit Baryt wird konzentriert, gegen Azolithmin neutralisiert und auf 100 ccm gebracht (Flüssigkeit B).

Flüssigkeit B: 50 ccm dienen zur Bestimmung des Formolstickstoffs (10 ccm 40%ige Formollösung).

$$\frac{\text{Ba(OH)}_2}{5} \text{ ccm } 6,7 - \frac{\text{HCl}}{5} \text{ ccm } 5,3 = \text{ccm } 1,4.$$

$$\text{ccm } 1,4 - \text{ccm } 0,2 \text{ (Korrektion der Probe)} = \text{ccm } 1,2.$$

$$\text{ccm } 1,2 \times 2,8 = 3,36 \text{ mg.}$$

Durch Formol titrierbarer Stickstoff = 0,238% des bei 110° getrockneten Muskels.

Flüssigkeit B: 50 ccm dienen zur Bestimmung des Ammoniakstickstoffs.

Ammoniak-N = 0,019% des bei 110° getrockneten Muskels.

Durch Formol titrierbarer Monamino-N = 0,219% des bei 110° getrockneten Muskels.

Durch Formol titrierbarer Monamino-N = 0,027% des frischen Muskels.

IV. Versuch.¹⁾

Stiermuskulatur (erwachsenes Tier).

Trockenrückstand bei 110° des frischen Muskels = 22,23%

Wassergehalt » 110° » » » = 77,77%

Gesamtstickstoff (Kjeldahl) bei 110° des frischen Muskels
= 3,40%

Die feingehackten Muskeln werden bei 80° getrocknet und fein gepulvert.

100 g des bei dieser Temperatur getrockneten Pulvers entsprechen 97,40 g bei 110° getrockneter Substanz.

a) Freie Aminosäuren:

20,995 g der bei 80° getrockneten Substanz (entsprechend 20,42 g bei 110°) werden mit 225 ccm Wasser und 25 ccm Alkohol behandelt.

¹⁾ Vgl. Buglia und Costantino, Diese Zeitschrift, Beiträge zur Muskelchemie, III. Mitteilung.

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

Flüssigkeit A: 50 ccm dienen zur Bestimmung des Formolstickstoffs:

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

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

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

Durch Formol titrierbarer N = 0,369% des bei 110° getrockneten Muskels.

Flüssigkeit A: 50 ccm dienen zur Bestimmung des Ammoniakstickstoffs.

Ammoniak-N = 0,112% des bei 110° getrockneten Muskels.

Durch Formol titrierbarer Aminostickstoff = 0,257% des bei 110° getrockneten Muskels.

Durch Formol titrierbarer Aminostickstoff = 0,057% des frischen Muskels.

b) Freie Monoaminosäuren:

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

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

Flüssigkeit B: 40 ccm werden gegen Azolithmin neutralisiert und auf 50 ccm verdünnt und darin der durch Formol titrierbare Stickstoff 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 = 0,110% des bei 110° getrockneten Muskels.

Flüssigkeit B: 50 ccm dienen zur Bestimmung des Ammoniakstickstoffs:

Ammoniak-N = 0,02% des bei 110° getrockneten Muskels.

Durch Formol titrierbarer Monamino-N = 0,090% des bei 110° getrockneten Muskels.

Durch Formol titrierbarer Monamino-N = 0,020% des frischen Muskels.

V. Versuch.

Stiermuskulatur (erwachsenes Tier).

Dieser Versuch wurde zu gleicher Zeit mit dem voranstehenden gemacht und von uns schon früher zusammen mit diesem publiziert.¹⁾

Die erhaltenen Resultate waren die folgenden:

Durch Formol titrierbarer Amino-N = 0,267% des bei 110° getrockneten Muskels.

Durch Formol titrierbarer Amino-N = 0,059% des frischen Muskels.

Durch Formol titrierbarer Monamino-N = 0,074% des bei 110° getrockneten Muskels.

Durch Formol titrierbarer Monamino-N = 0,016% des frischen Muskels.

Die in den mitgeteilten Versuchen erhaltenen Werte sind in folgenden Tabellen zusammengestellt:

In der ersten Tabelle finden sich Werte für den freien durch Formol titrierbaren Aminostickstoff bezogen sowohl auf 100 g der bei 110° getrockneten Substanz als auch auf 100 g des frischen Muskels. In der zweiten Tabelle sind die Werte des freien durch Formol titrierbaren Aminostickstoffs in Prozenten des Gesamtstickstoffs des frischen Muskels vereinigt.

Freier durch Formol titrierbarer Aminostickstoff in Grammen.

Ver- such	Alter des Tieres	Prozente der bei 110° getrocknet. Muskelsubstanz			Prozente des frischen Muskels		
		Gesamt- Amino-N	Mon- amino	Diamino (aus Differenz)	Gesamt- Amino-N	Mon- amino	Diamino (aus Differenz)
I	2—3 Monate	0,344	0,302	0,042	0,042	0,037	0,005
II	4 Monate ca.	0,463	—	—	0,056	—	—
III	4—5 Monate	0,331	0,219	0,112	0,041	0,027	0,014
IV	} Aus- gewachsen	0,257	0,090	0,167	0,057	0,020	0,037
V		0,267	0,074	0,193	0,059	0,016	0,043

¹⁾ Buglia und Costantino, l. c.

Freier durch Formol titrierbarer Aminostickstoff in Grammen.

Ver- such	Alter des Tieres	Gesamt-N in % des frischen Muskels	Prozente des Gesamt-N		
			Gesamt- Amino-N	Monamino	Diamino (aus Differenz)
I	2—3 Monate	1,34	3,1	2,8	0,3
II	4 Monate ca.	1,38	4,0	—	—
III	4—5 Monate	1,39	2,9	1,9	1,0
IV	Ausgewachsen	3,40	1,6	0,5	1,1
V	„	3,40	1,7	0,4	1,3

Schlußfolgerungen:

Aus der ersten Tabelle resultiert, daß der freie, gesamte Aminostickstoff (durch Formol titrierbar), welcher in 100 g der bei 110° getrockneten Muskelsubstanz enthalten ist, beim Embryo bedeutend höher ist, als beim ausgewachsenen Tiere.

Auch scheint, daß die Monoaminosäuren in der embryonalen Muskulatur vorherrschen, während umgekehrt in der ausgewachsenen Muskulatur die Diaminosäuren überwiegen. Diese Tatsache braucht jedoch noch weiterer Bestätigung.

Betrachtet man hingegen die auf den frischen Muskel bezogenen Werte, so ergibt sich, daß der freie, gesamte Aminostickstoff (durch Formol titrierbar) im embryonalen Tiere geringer ist als im ausgewachsenen. (In Relation zu dem größeren Wassergehalt des fötalen Muskels.)

Aus der zweiten Tabelle, in der die Werte in Beziehung zum Gesamtstickstoff des frischen Muskels gesetzt sind, erhellt noch deutlicher die Differenz, auf die bei Beziehung auf die Trockensubstanz aufmerksam gemacht wurde.