

Über das Vorkommen des Carnosins, Methylguanidins und Carnitins im Schaffleisch.

Von

J. Smorodinzew.

(Der Redaktion zugegangen am 19. Juni 1914.)

Die Resultate der vergleichenden Untersuchungsmethode des Ochsenfleisches¹⁾ wurden durch eine analoge Untersuchung des Schaffleischextrakts geprüft.

Aus 9 kg Fleisch eines frischgetöteten Schafes wurde auf die übliche Weise ein Extrakt hergestellt (dreimal bei 80—90° zu je 20—25 Min.). Die Menge des Extrakts betrug 42 l.²⁾

Die zwei ersten Extrakte (gegen 30 l) wurden auf dem Wasserbade bis auf 3 l eingengt.

I. Die aus drei Proben von je 5 ccm erhaltene Ammoniakmenge entsprach 33,0 resp. 32,8 resp. 32,7 ccm $\frac{1}{10}$ -n-H₂SO₄, was 27,6 g N in 3 l Extrakt entspricht.

Das dritte Extrakt (gegen 12 l) wurde getrennt bis auf 1 l eingengt.

II. Die aus zwei Proben von je 5 ccm erhaltene Ammoniakmenge entsprach 7,9 resp. 7,7 ccm $\frac{1}{10}$ -n-H₂SO₄, d. h. 2,19 g N in 1 l dieses Teils des Extrakts.

Somit waren im Extrakt aus 9 kg Schaffleisch 29,79 g oder 0,33% N; in die ersten zwei Extrakte waren 27,6 g N, d. h. 93%, in das dritte bloß 2,19 g, oder nur 7% des Gesamtstickstoffs übergegangen.

¹⁾ J. Smorodinzew, Diese Zeitschrift, Bd. 92, S. 214 (1914).

²⁾ Nach der dritten Extrahierung wurde der ungelöste Rest mit der Presse ausgedrückt. Er wog 3,3 kg, d. h. 63,3% der Bestandteile des Fleisches waren (mit Einschluß des Wassers) in die Lösung übergegangen. Aus einer 17 kg wiegenden Hinterhälfte — ohne Eingeweide — eines Schafes wurden 9 kg, also etwa 50% reines Muskelfleisch erhalten.

Nach der N-Bestimmung wurde das dritte Extrakt bis auf 500 ccm eingeeengt und den zwei ersten beigemischt. Darauf wurden die 3¹/₂ l des Extrakts in zwei gleiche Portionen zu je 1750 ccm geteilt und nach verschiedenen Methoden getrennt untersucht.

Portion A.

Diese Portion wurde unmittelbar mit einer 10%igen Lösung von Quecksilbersulfat in 5%iger Schwefelsäure so lange gefällt, bis nach 24-stündigem Stehen und einem neuen Zusatz dieses Reagens kein Niederschlag mehr entstand.

Der Quecksilberniederschlag

wurde mit Schwefelwasserstoff zersetzt, das HgS-Filtrat mit Baryt und Kohlensäure neutralisiert und auf 500 ccm gebracht.

III. Die aus zwei Proben¹⁾ von je 5 ccm erhaltene Ammoniakmenge entsprach 15,2 resp. 15,3 ccm ¹/₁₀-n-H₂SO₄; folglich enthielt die Flüssigkeit 2,14 g N.

Silberniederschlag. Nach der Stickstoffbestimmung wurde die Lösung mit Salpetersäure neutralisiert, bis auf 60 bis 70 ccm eingeeengt und mit einer 20%igen Silbernitratlösung gefällt. Nach der üblichen Behandlung wurden 2,6 g freier Purine erhalten, deren Vorhandensein durch die Fällbarkeit mit ammoniakalischer Silbernitratlösung, durch die Xanthin- und Weidelsche Probe konstatiert wurde.

I. Silberbarytniederschlag lieferte 5,16 g freies Carnosin, welches sich bei 235–239° zersetzte. Ein Teil dieser Substanz wurde nach der entsprechenden Reinigung analysiert:

IV. 0,0744 g der bei 110° getrockneten Substanz gaben 16,95 ccm N bei 24° und 751 mm Bar.

Gefunden:	Berechnet für:
IV	C ₉ H ₁₄ N ₄ O ₃
N = 25,01%	24,80%.

¹⁾ Bei einigen Bestimmungen des N nach Kjeldahl hat mir Frau L. Smorodinzew geholfen, wofür ich ihr hier meinen Dank ausspreche.

Das I Silberbarytfiltrat wurde neutralisiert, mit MgO bis zur Trockne abgedampft, vom Mg und Ba befreit und auf 250 ccm gebracht.

V. Zwei Proben von je 5 ccm gaben eine Ammoniakmenge, zu deren Neutralisierung 0,0 resp. 0,2 ccm $\frac{1}{10}$ -n- H_2SO_4 nötig waren, was 0,007 g N in der Gesamtlösung entspricht; demzufolge wurde von einer weiteren Untersuchung dieser Fraktion abgesehen.

Quecksilberfiltrat.

Nach der Entfernung des Quecksilbersulfids wurde das Filtrat mit Baryt und Kohlensäure neutralisiert und auf 1 Liter gebracht.

VI. Bei der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl wurden für 5 ccm Lösung 31,5 resp. 31,4 ccm $\frac{1}{10}$ -n- H_2SO_4 verbraucht, was einem Gehalt an 8,83 g in der Gesamtlösung entspricht.

Eine Probe des vom Quecksilber befreiten Quecksilberfiltrates gab mit Quecksilbersulfat schon keinen Niederschlag, sondern bloß eine leichte Trübung.

Nach der Stickstoffbestimmung wurde das Filtrat bis auf 300 ccm eingengt; dann wurden 100 ccm Schwefelsäure (1 : 1) und 425 g Phosphorwolframsäure (50%) zugegeben, bis 1%ige Phosphorwolframsäure keinen Niederschlag bewirkte.

Das Phosphorwolframsäurefiltrat wurde von der Phosphorwolframsäure befreit, mit Kohlensäure neutralisiert und auf 500 ccm gebracht.

VII. Zwei Proben von 5 ccm gaben eine Ammoniakmenge, zu deren Neutralisierung 18,9 resp. 19,0 ccm $\frac{1}{10}$ -n- H_2SO_4 nötig waren, was 2,66 g im gesamten Phosphorwolframfiltrat entspricht.

Der Phosphorwolframniederschlag wurde mit Baryt zersetzt, das Filtrat mit Kohlensäure neutralisiert und die Flüssigkeit auf 500 ccm gebracht.

VIII. Bei der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl wurden für 5 ccm Lösung 30,45 resp. 30,55 ccm $\frac{1}{10}$ -n- H_2SO_4 verbraucht, was einem Gehalt an 4,27 g N im Phosphorwolframniederschlag aus dem Quecksilbersulfatfiltrat entspricht.

Aus dem I. Silberbarytniederschlag wurde eine geringe Menge von Kreatin und Kreatinin erhalten.

II. Silberniederschlag. (1,02 g Trockensubstanz) gibt eine schwache Xanthinprobe und fällt durch Behandlung mit ammoniakalischem Silbernitrat aus und besteht somit wahrscheinlich aus den Purinkörpern.

II. Silberbarytniederschlag. In dieser Fraktion erwiesen sich anfänglich 1,5 g und nach dem Umkrystallisieren 0,7 g salpetersaures Methylguanidin. Aus dem Waschwasser wurden noch 1,26 g des Pikrats derselben Base mit dem Schmelzpunkt 194—195° dargestellt. Nach dem mehrmaligen Umkrystallisieren wurde eine Fraktion erhalten, deren Pikrat bei 201,5° schmolz.¹⁾

IX. 0,0666 g der bei 105° getrockneten Substanz gaben 16,5 ccm N bei 19° und 747 mm Bar.

Gefunden:

IX

N = 27,74%.

Berechnet für:

$C_2H_7N_3 \cdot C_6H_3N_3O_7$

27,82%.

Wismutjodidniederschlag lieferte 9,24 g einer Sublimatverbindung des Carnitins, welche nach der Reinigung bei 204—205° schmolz.²⁾

X. 3,4478 g der umkrystallisierten Substanz verloren beim Trocknen 0,0021 g, d. h. daß die Substanz kein Krystallwasser enthält.

XI. 0,3126 g derselben Substanz gaben 0,2067 g HgS, welches bei 95—100° getrocknet wurde.

XII. Aus dem mit $CaCO_3$ abgedampften Quecksilbersulfidfiltrat wurden 0,2574 g AgCl erhalten.

Gefunden:

XI

XII

$C_7H_{15}NO_3 \cdot 2 HgCl_2$

Hg 57,00%

—

56,90%

Cl —

20,37%

20,17%

Aus dem Wismutjodidfiltrat gelang es, nach der Behandlung mit Phosphorwolframsäure ca. 6,0 g Kreatin auszuscheiden, welches durch entsprechende Reaktionen identifiziert wurde. Aus der Mutterlauge des Kreatins wurde ein Aurat mit dem Schmelzpunkt 180—185° erhalten.

¹⁾ Wl. Gulewitsch, Diese Zeitschrift, Bd. 47, S. 471 (1906).

²⁾ R. Krimberg, Diese Zeitschrift, Bd. 55, S. 475 (1908).

Portion B. (S. 222.)

1750 ccm dieser Portion des Extrakts wurden mit einer 20⁰/₀igen Lösung von Bleizucker gefällt. Das Filtrat von diesem Niederschlag wurde nach Abscheidung des Bleis bis auf 1 Liter eingengt.

XIII. Bei der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl wurden für 5 ccm Lösung 42,3 resp. 42,25 ccm $\frac{1}{10}$ -N-H₂SO₄ verbraucht, was einem Gehalt an 11,85 g in der Gesamtlösung entspricht.

Der Bleiniederschlag wurde mehrmals sehr sorgfältig mit Wasser ausgewaschen; alle Waschwässer werden zusammengegossen und bis auf 1 l eingengt.

XIV. Zwei Proben von 5 ccm gaben eine Ammoniakmenge, zu deren Neutralisierung 7,9 resp. 7,85 ccm $\frac{1}{10}$ -N-H₂SO₄ nötig waren, was 2,21 g N in der Gesamtlösung entspricht.

Somit waren in dem Bleifiltrat im ganzen 14,06 g N geblieben.

Das Bleifiltrat wurde nach der Stickstoffbestimmung bis auf 300 ccm eingengt und nach und nach mit 1000 ccm 50⁰/₀iger Phosphorwolframsäure (500 g anstatt 425 g vgl. S. 223) und 100 ccm Schwefelsäure (1 : 1) gefällt. Eine vorhergehende Behandlung des Extrakts mit Quecksilbersulfat erspart etwas Phosphorwolframsäure (ca. 15⁰/₀).

Das Phosphorwolframfiltrat wurde nach Abscheidung der Phosphorwolframsäure auf 500 ccm gebracht.

XV. Zwei Proben von je 5 ccm gaben eine Ammoniakmenge, zu deren Neutralisierung 21,3 resp. 21,25 ccm $\frac{1}{10}$ -N-H₂SO₄ nötig waren, was 2,98 g N in der Gesamtlösung entspricht.

Der Phosphorwolframniederschlag wurde nach der Zersetzung mit Baryt bis zu 1 l eingengt.

XVI. Zwei Proben von 5 ccm gaben eine Ammoniakmenge, zu deren Neutralisierung 23,7 resp. 23,9 ccm $\frac{1}{10}$ -N-H₂SO₄ nötig waren, was 6,67 g N in der Gesamtlösung entspricht.

I. Silberniederschlag lieferte 1,25 g freier Purine.

Aus dem I. Silberbarytniederschlag wurden 3,42 g Carnosin erhalten. Nach vielmaligem Umkrystallisieren aus verdünntem Alkohol wurde die spezifische Drehung bestimmt.

XVII. 0,2748 g der im Vakuumexsikkator getrockneten Substanz wurden bis zu 9,6493 g in Wasser gelöst; $p = 2,848\%$; $c = 2,871\%$; $d = 1,008\%$ angenommen;¹⁾ $\alpha_{546}^{17^\circ} = +0,64^\circ$ bei $l = 1$ dm, woraus $[\alpha]_{546}^{17^\circ} = +22,3^\circ$ berechnet wurde, während $[\alpha]_{546}^{20^\circ}$ für reines Carnosin $25,2^\circ$ beträgt.²⁾ Eine weitere Reinigung der Substanz konnte wegen der geringeren übriggebliebenen Menge derselben nicht vorgenommen werden.

Der Zersetzungspunkt der Substanz ist $236-239^\circ$.

II. Silberniederschlag lieferte 0,45 g Purine.

II. Silberbarytniederschlag. Aus 3,15 g eines daraus isolierten Rohprodukts wurden 0,3 g Methylguanidinnitrat mit dem Schmelzpunkt 150° auskristallisiert; die Mutterlauge wurde mit Pikrinsäure behandelt und gab 2,55 g eines Pikrats mit dem Schmelzpunkt $194-195^\circ$. Nach viermaligem Umkristallisieren schieden sich Krystalle mit dem Schmelzpunkt $201,5^\circ$ aus.

Wismutjodidniederschlag lieferte 8,12 g Carnitin-quecksilberchlorid, welches nach der Reinigung bei 204 bis 205° schmolz.

Aus dem Wismutjodidfiltrat wurden 7,8 g rohen Kreatins auskristallisiert.

Tabelle I.
Stickstoffverteilung.

Fraktionen	Portion A %	Portion B %
Anfängliches Fleischextrakt	0,331	0,331
Bleifiltrat	—	0,312
Quecksilbersulfatniederschlag	0,048	—
Quecksilbersulfatfiltrat	0,196	—
Phosphorwolframniederschlag	0,095	0,148
Phosphorwolframfiltrat	0,059	0,066

Aus obiger Tabelle ersieht man, daß die Quantitäten der Basen, die von Phosphorwolframsäure allein ($0,148\%$) und von Quecksilbersulfat + Phosphorwolframsäure ($0,143\%$) gefällt wurden, gleich sind.

¹⁾ Wl. Gulewitsch, Diese Zeitschrift, Bd. 87, S. 9, Beob. XXII (1913).

²⁾ Wl. Gulewitsch, Diese Zeitschrift, Bd. 87, S. 10 (1913).

Tabelle II.

	Portion A		Portion B	Durchschnittszahl %
	HgSO ₄ - Niederschlag %	PW- Niederschlag %	PW- Niederschlag %	
Purine	0,058	—	0,038	0,048
Carnosin	0,115	—	0,076	0,096
Methylguanidin . .	—	0,018	0,038	0,028
Carnitin	—	0,047	0,042	0,045
Kreatin	—	0,133	0,173	0,153

Wie man aus Tabelle II ersehen kann, bestätigt vorliegende Arbeit vollkommen die Schlüsse meiner vorhergehenden Mitteilung über die Portionen I und III:¹⁾ den besten Ertrag an Purinen, Carnosin und zum Teil an Carnitin liefert die Behandlung des Extrakts mit Quecksilbersulfat; dagegen ist die Menge des Methylguanidins wie beim Ochsenfleisch unter dem Einfluß dieses Reagens eine geringere; dafür aber spart man an Phosphorwolframsäure (15%, in den entsprechenden Portionen des Ochsenfleisches sogar 22%).

Im Vergleich zum Ochsenfleischextrakt ist das Schafffleischextrakt ärmer an N (0,33 anstatt 0,45%); in letzterem wurden doppelt so viele Purine, fast doppelt so viel Carnitin (0,045 anstatt 0,028%), dafür aber fast dreimal weniger Carnosin (0,096 anstatt 0,264%) und nur halb so viel Methylguanidin (0,028 anstatt 0,057%) gefunden.

Purine und Carnitin enthält das Schafffleisch ebenfalls mehr als das Pferdefleisch (0,008 und 0,019),²⁾ Carnosin und Methylguanidin weniger (0,182 und 0,047).

¹⁾ J. Smorodinzew, Diese Zeitschrift, Bd. 92, S. 214 (1914).

²⁾ J. Smorodinzew, Diese Zeitschrift, Bd. 87, S. 20 (1913).