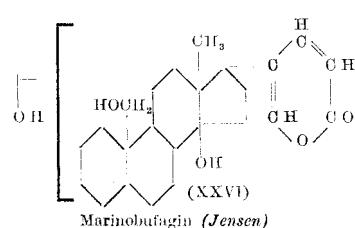


gespalten; eine davon wird das tertiäre Hydroxyl an C_{14} sein. Die Stellung der zweiten leicht acetylierbaren OH-Gruppe



lässt Jensen noch offen. Das dritte Hydroxyl soll sich nun in einer Oxyethylgruppe an C_{10} oder C_{13} finden, denn mit 50%iger Schwefelsäure bei 70° liefert Marinobufagin Formaldehyd. Es zeigt damit ein ähnliches Verhalten wie das schon genannte Ouabain.

Schließlich gibt Jensen an, daß es ihm gelungen ist, im

Chlorsäure-Oxydationsprodukt des Marinobufagins eine Aldehyd-Gruppe nachzuweisen. Da Tschesche u. Offe⁶⁹ in diesem Genin noch drei Doppelbindungen durch katalytische Hydrierung gefunden haben, schreibt Jensen dem Marinobufagin Formel (XXVI) zu.

Für die anderen in Tab. I aufgeführten Kröten-Genine ist die chemische Untersuchung kaum oder meist überhaupt nicht über die Aufstellung der Bruttoformel hinausgekommen, oder sie sind nur pharmakologisch geprüft worden. Bei den beiden Geninen der süd-amerikanischen Krötenart *Bufo arenarum* müssen die gegenseitigen Beziehungen erst noch aufgeklärt werden, so daß es sich im Rahmen dieser Zusammenfassung erübrigt, näher darauf einzugehen.

Eingeg. 2. Juli 1942. [A. 39]. (Schluß folgt.)

⁶⁹ Ebenda 69, 2361 [1936].

Analytisch-technische Untersuchungen

Zur colorimetrischen Bestimmung des Sauerstoffs in strömenden Gasen

Von Dr.-Ing. HEINRICH MACURA und Dipl.-Chem. GÜNTHER WERNER

Mitt. aus dem Schlesischen Kohlenforschungsinstitut der Kaiser-Wilhelm-Gesellschaft, Breslau

Zu diesem Zweck benutzen Hofer u. v. Wartenberg¹⁾ eine alkalische Natriumhydrosulfit-Lösung, der eine bestimmte Menge Indigocarmin (5,5'-Indigo-disulfonsäure) zugesetzt ist²⁾. Der Farbstoff wird in dieser Lösung verküpft; der durchperlende O_2 -haltige Gasstrom oxydiert die Leukoverbindung wieder zum Farbstoff, wobei die Farbe von Gelb in Blaugrün übergeht, die durch zwei empirische Vergleichsfarben — Guineaecligelb und Columbiagrün³⁾ — festgelegt sind. Der Verlauf der Farbvertiefung zwischen den beiden Eichtönen wird beobachtet und die dazu erforderliche Gasmenge mit dem Gasmesser bestimmt.

Dieses Verfahren, das für die Betriebskontrolle gedacht war, wurde von uns zu einer Präzisionsbestimmung ausgebaut und in einigen wesentlichen Punkten abgeändert. Die Farbänderung der verküpften Indigocarmin-Lösung hängt stark vom Alkali-Zusatz ab. In bicarbonatalkalischer Lösung geht die Farbänderung von Gelb zu Blau, ohne rote Nuancen zu durchlaufen. In stark alkalischer Lösung bildet sich das Na-Salz der 5,5'-Indigo-disulfonäure, das eine unrein gelbe Färbung gibt und nicht verküpbar ist.

In 0,15 n-Natronlauge gibt Indigocarmin eine blaugrüne Lösung, deren Farbe beim Verküpfen rein gelb wird und bei der Oxydation die Farbtöne Orange, Rot, Violett durchläuft und bei Blaugrün endet. Diese Farbskala gestattet einen sehr genauen Farbvergleich, weil sie viel differenzierter ist als der Farbumschlag von Gelb zu Blau. Deshalb legten wir sie unserem Verfahren zugrunde.

Die eingangs genannten Vergleichsfarben sind für diese Farbskala unbrauchbar, weil sie deren Enden zu nahe liegen. Unsere Vergleichsfarben — Naphtholorange und Indigocarmin — liegen weiter nach der Mitte der Skala, wodurch die Farbentwicklung der Reaktionslösung Vorlauf und Auslauf erhält. Erst dadurch wird ein genauer Farbvergleich möglich. Da ferner die Ablesegenauigkeit eines Gasmessers in keinem Verhältnis zur Schärfe steht, mit der die Farbgleichheit in Reaktions- und Vergleichslösung zu erfassen ist, arbeiten wir mit konstanter Strömungsgeschwindigkeit (0,51/min) und bestimmen die Dauer der Farbänderung mit der Stoppuhr auf volle Sekunden. Der O_2 -Wert wird einem Konzentration-Zeit-Diagramm entnommen.

Die Apparatur (Abb. 1) ist grundsätzlich die gleiche geblieben; sie steht in einem Kasten, in den lediglich durch eine Milchglasscheibe das Licht einer Soffittenlampe (40–60 Watt) fällt. Die beiden Flaschen sollen möglichst den gleichen Durchmesser haben wie das Absorptionsgefäß. Dieses wird mit 300 cm³ destilliertem Wasser, 5 cm³ kalt ges. Indigocarmin-Lösung und 1 cm³ 4n-NaOH gefüllt, der Tropftrichter bis zum Ende des Auslaufs mit 10%iger Natriumhydrosulfit-Lösung. Damit während der Messung kein Hydrosulfit nachtropft, wird an einem Draht ein Stückchen Filterpapier befestigt und unter den Tropftrichter gebracht. Hierauf wird der Gasstrom auf 0,51/min eingestellt und durch einen Strömungsmesser am Gasaustrittslohr kontrolliert; gegen Schwankungen ist das Verfahren wenig empfindlich. Als Gaseinleitungsrohr dient eine Jenaer Fritte G 1. Das Absorptions-

kasten ist das Verfahren wenig empfindlich. Als Gaseinleitungsrohr dient eine Jenaer Fritte G 1. Das Absorptions-

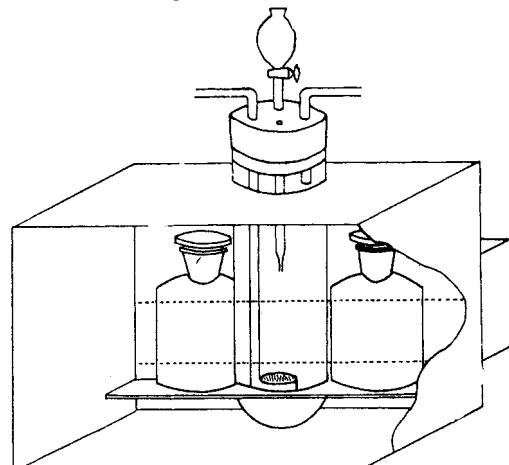


Abb. 1. Der besseren Übersicht wegen ist der Tropfenfänger weggelassen und nur die für ihn bestimmte Bohrung im Stopfen angedeutet. Die punktierten Linien bezeichnen die Lage des Beleuchtungsschlitzes.

rohr wird dann 1 min mit dem Gasstrom gespült, Hydrosulfit zugegeben, bis eben reine Gelbfärbung auftritt, und die Zeit bestimmt, in der sich die Farbe von Orange bis zum blauen Eichton entwickelt.

Tabelle 1.

% O ₂	t s	Δt	Streuung der Analysewerte
			für Meßfehler = ± 2 s
1,0	67	9	0,07
0,9	76	12	0,05
0,8	88	18	0,03
0,7	106	23	0,03
0,6	129	30	0,02
0,5	159	33	0,02
0,4	192	48	0,02
0,3	240	80	0,01
0,2	320	180	0,01
0,1	500	—	0,005

Tab. 1 enthält die Daten, die unserer Eichkurve (Abb. 2) zugrunde liegen.

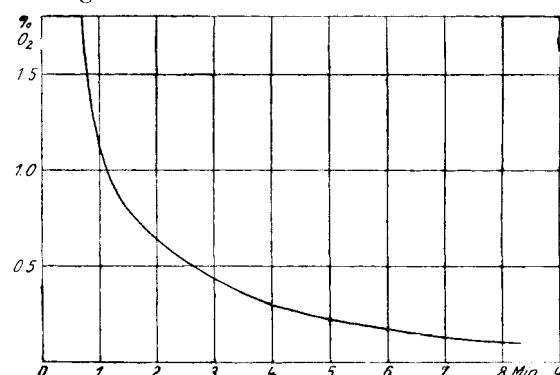


Abb. 2. Eichkurve: Diagramm aus O₂-Konzentration in Vol.-% und Zeit in Sekunden.

¹⁾ a) Diese Ztschr. 38, 9 [1925]. b) Dieselben, Diss. T. H. Danzig 1923; c) Sachlich unveränderte Auszüge in: F. Bayer: Gasanalyse, Encke Stuttgart. I. u. II. Aufl. 1938 u. 1941.

²⁾ Franzen, Ber. dtsch. chem. Ges. 39, 2069 [1906].

³⁾ Der I. G. Farbenindustrie A.-G., Ludwigshafen a. Rh., sind wir für die Überlassung dieser Farbstoffe zu Dank verpflichtet.

Die Streuungen der Analysenwerte sind für einen Fehler von ± 2 s bei der Zeitmessung berechnet. Diese Genauigkeit ist leicht einzuhalten; damit der Meßfehler klein bleibt gegeir über dem Meßergebnis, ist für höhere O_2 -Konzentrationen die Dauer der Farbentwicklung zu verlängern, für niedere zu verkürzen; dies geschieht durch Erhöhung bzw. Senkung des Farbstoffzusatzes im Absorptionsrohr. Meßfehler von ± 5 s zeigen einen apparativen oder methodischen Fehler an. Der quantitative Nachweis von rd. 0,2% O_2 dauert insgesamt ~ 10 min, dabei werden ~ 5 l Gas verbraucht; zum Nachweis, daß ein Gasstrom weniger als 0,05% O_2 enthält, sind 101 notwendig, für die Doppelbestimmung also 201. Störend sind Gase mit saurer Reaktion, wie CO_2 , H_2S , SO_2 , u. zw. schon in Konzentrationen von $\sim 1\%$ ab, weil sie die Alkalität der Reaktionslösung ändern und der Farbumschlag an einen verhältnismäßig schmalen p_H -Bereich gebunden ist (s. o.). Außerdem stören ungesättigte Kohlenwasserstoffe von $\sim 10\%$ ab, weil auch sie durch alkalische $Na_2S_2O_4$ -Lösung langsam oxydiert werden.

Reagentien.

Die Lösung von Natriumhydrosulfit ist nur sehr begrenzt haltbar und deshalb jeden Tag frisch anzusetzen. Zur Bestimmung kleiner O_2 -Konzentrationen ist die 10%ige Lösung vorteilhaft noch weiter zu verdünnen.

Zur Bereitung der Indigocarmin-Lösung werden 4—5 g „Indigocarmin optimum, teigförmig, Merck“ in 1 l Wasser durch kurzes Aufkochen möglichst vollständig gelöst, die Lösung auf Zimmertemperatur abgekühlt und filtriert. Zum Zeichen der Sättigung soll auf der Nutsche ein kleiner Rückstand Indigocarmin hinterbleiben.

Die Vergleichsfarben werden folgendermaßen hergestellt: Für den Eichton Orange werden 50 Tropfen einer kalt gesättigten

Lösung von Naphtholorange in 200 cm³ Wasser eingetropft. Die Lösung ist lichtbeständig und ändert ihre Nuance auch in mehreren Monaten nicht merklich. Für den Eichton Blau werden 3 cm³ der kalt gesättigten Indigocarmin-Lösung, die auch im Absorptionsrohr verwandt wird, mit 200 cm³ Wasser verdünnt. Die Lösung bleicht im Hellen wie im Dunklen langsam aus. Für die Vergleichslösung ist dies aber ohne Bedeutung, denn man wählt als Schlußpunkt der Messung nicht die Farbgleichheit in Absorptionsgefäß und Vergleichslösung, sondern den Augenblick, in dem die Rotkomponente im Farbton der Meßlösung eben verschwindet und der Farbton in ein reines Blau übergeht. Es kommt also weniger auf die immer gleichbleibende Stärke der blauen Vergleichslösung an, sondern darauf, daß sie den charakteristischen Rotstich zeigt.

Dagegen darf diese Unbeständigkeit nicht vernachlässigt werden bei der Indigocarmin-Lösung, die zur Füllung des Absorptionsrohres dient. Dieser Variablen wird auf folgende Weise Rechnung getragen: Die Bestimmung wird mit einem Gas bekannten O_2 -Gehaltes n% durchgeführt. Der Eichkurve ist die Zeitdauer t s für den Farbumschlag zu entnehmen. In mehreren Versuchen wird die Menge x cm³ der Farbstofflösung bestimmt, die der Reaktionslösung im Absorptionsrohr zugesetzt werden muß, damit der Sauerstoff-Konzentration n% die Zeit t s entspricht.

Zur Eichung dienten Gase aus Stahlflaschen, u. zw. N_2 , H_2 , CO , CH_4 , die geringe Mengen O_2 enthielten, außerdem Mischungen dieser Gase mit vollkommen O_2 -freiem Stickstoff, der in einer von Meyer u. Ronge⁴⁾ beschriebenen Anordnung hergestellt wurde. Zur Mischung der Gase dienten genau durchgegliche Strömungsmesser. Sehr elegant ist der Vorschlag von Hofer u. v. Wartenberg⁵⁾, den Sauerstoff-Zusatz elektrolytisch zu erzeugen und durch Regelung der Stromstärke zu dosieren.

Eingeg. 6. Oktober 1942. [A. 58.]

⁴⁾ Diese Ztschr. 52, 687 [1939].

Colorimetrische Bestimmung der Alpha-Aminosäuren Arginin und Tyrosin im Eiweiß^{*})

Von Privatdozent Dr. E. RAUTERBERG

Landw. Versuchsstation des Deutschen Kalisyndikates, Berlin-Lichterfelde-Süd

Die α -Aminosäuren, aus denen das Eiweiß aufgebaut ist, bestimmen nach Art und Menge den Wert der Eiweißstoffe als Nahrungs- und Futtermittel. Zur Bestimmung der Aminosäuren müssen die Eiweißstoffe hydrolysiert werden; dies geschieht mit Fermenten, Säuren oder auch Laugen. Da die Präparate zur fermentativen Hydrolyse häufig Aminosäuren enthalten, die gesondert bestimmt werden müssen, und da ihre Wirksamkeit durch Begleitsubstanzen der Eiweißstoffe beeinflußt werden kann, sind die Ergebnisse etwas unsicher. Andererseits wird bei der Hydrolyse mit Säuren oder Laugen, die besser reproduzierbare Ergebnisse liefern, nicht die gleiche Menge an Aminosäuren gefunden wie bei der fermentativen Hydrolyse, so daß nur bedingt Schlüsse über die Verwertbarkeit der Eiweißstoffe durch den Tierkörper zu ziehen sind. Außerdem werden beim Kochen mit den relativ starken Säuren und Laugen organische Verbindungen zerstört und in dunkelbraun oder auch schwarz gefärbte Substanzen übergeführt, die das Hydrolysat intensiv färben und entfernt werden müssen, wenn die Aminosäuren colorimetrisch bestimmt werden sollen. Häufig sind in den Hydrolysaten auch Verbindungen enthalten, welche ebenfalls eine Farbreaktion geben wie die zu bestimmende Aminosäure und daher ebenfalls vor der Analyse zu entfernen sind. Die Entfernung derartiger Verbindungen ist i. allg. schwieriger als die Entfernung der gefärbten Substanzen. Einzelne Verbindungen lassen sich wohl durch Aussäufung beseitigen, andere können durch Ausschütteln mit Äther, Chloroform usw. entfernt werden, wobei die p_H -Zahl des Hydrolysats eine große Rolle spielt. Ob Säuren oder Laugen zur Hydrolyse zu verwenden sind, richtet sich nach der Empfindlichkeit der Aminosäuren. Schließlich ist die Haltbarkeit der gefärbten Lösung zu prüfen.

Alle diese Schwierigkeiten sind zu beachten und möglichst zu umgehen, wenn eine brauchbare Bestimmungsmethode ausgearbeitet werden soll. Die Arginin-Bestimmung, die im folgenden geschildert wird, ist ein lehrreiches Beispiel hierfür und wie es gerade bei colorimetrischen Bestimmungen darauf ankommt, daß alle wohlüberlegten und ausprobierten Vorschriften genau eingehalten werden.

Arginin-Bestimmung.

Die colorimetrischen Methoden zur Bestimmung der einzelnen Aminosäuren haben sich häufig aus Farbreaktionen entwickelt, die zum qualitativen Nachweis der Eiweißstoffe benutzt werden.

1925 war von Sakaguchi¹⁾ entdeckt worden, daß Eiweißstoffe mit α -Naphthol und Natriumhypochlorit eine Rotfärbung liefern, und daß die Rotfärbung auf das Arginin zurückzuführen ist. Poller²⁾ untersuchte, welche Verbindungen außer Arginin eine derartige Rotfärbung geben, und fand eine positive Reaktion bei Dicyandiamid, Monomethylguanidin usw., negative Reaktion z. B. bei Guanidin, asym. Dimethylguanidin, Nitroguanidin usw. Für das Auftreten der Farbreaktion ist der Guanidin-Kein verantwortlich, u. zw. muß mindestens ein Wasserstoff-Atom substituiert sein; außerdem dürfen von einer Amino-Gruppe zwei Wasserstoff-Atome nicht substituiert sein, und schließlich darf keine Amino-Gruppe mit einem negativen Substituenten verbunden sein. Um die Haltbarkeit der Rotfärbung zu verbessern, ersetzte Weber³⁾ das Hypochlorit durch Hypobromit und zerstörte das überschüssige Hypobromit durch Harnstoff; durch Eiskühlung wird dafür gesorgt, daß die Reaktion nicht zu schnell verläuft. Wie bei vielen colorimetrischen Methoden muß auch bei der Arginin-Bestimmung die Intensität der entstandenen Farblösung nach einer genau einzuhaltenden Zeitspanne nach Zugabe der Reagentien gemessen werden.

Die Hydrolyse erfolgt mit Säuren, u. zw., da die 2stündige Behandlung mit 10%iger Schwefelsäure bei 200° im zugeschmolzenen Rohr nach Klein u. Tauböck⁴⁾ bei Serienuntersuchungen zu umständlich ist, nach Alten u. Haupt⁵⁾ durch Kochen mit Schwefelsäure bei normalem Druck. Einfluß von Schwefelsäure-Konzentration, Hydrolyserzeit und Einwaage auf die Arginin-Menge, die bei der Hydrolyse in Lösung gebracht wird, wurden überprüft. Danach wächst mit steigender Konzentration der Schwefelsäure die Ausbeute an Arginin; bei einer Versuchsreihe mit Haferstroh fanden wir z. B. bei 5%iger Schwefelsäure 10,5 γ Arginin, bei 10%iger 11,5 γ, bei 15%iger 12 γ, bei 20%iger 12,5 γ, bei 25%iger 13,5 γ und bei 30%iger 13,5 γ Arginin. Die Hydrolyserzeit und auch die Einwaage haben praktisch keinen Einfluß. Die Pflanzenproben müssen für die Hydrolyse fein zerkleinert werden, es genügt aber, wenn sie in einer Dr.-Körner-Schlagmühle so weit zerkleinert werden, daß die Probe ein 1-mm-Sieb

^{*} Vorgetragen auf der Kriegsarbeitstagung der Arbeitsgruppe für Analyt. Chemie und der FBBK der Dechema am 24. Oktober 1942 in Frankfurt a. M.

¹⁾ J. Biochemistry 5, 25 [1925]. ²⁾ Ber. dtsch. chem. Ges. 59, 1927 [1926].

³⁾ J. biol. Chemistry 86, 217 [1930].

⁴⁾ Biochem. Z. 251, 10 [1932].

⁵⁾ Bodenkunde u. Pflanzenernähr. 16, 372 [1939].