

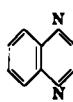
Chinazolin. Die Schaffung seines Namens verdanken wir Weddige⁴⁹⁾:

„Um ein Nomenklaturprinzip . . . zu gewinnen, nenne ich den mit dem Cinnolin und Chinoxalin isomeren Körper Chinazolin.“



Chinoxalin. O. Hinsberg⁵⁰⁾ begründet 1884 die Namensgebung:

„Ich schlage für diese Basen den Namen Chinoxaline vor, welcher an ihre Ähnlichkeit mit dem Chinolin und an ihre Entstehung aus dem Glyoxal erinnern sollen.“

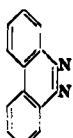


Phenazin. Die Bezeichnung für die dem Acridin entsprechende Base, die aus dieser Verbindung durch Austausch der mittelständigen Methin-Gruppe gegen Stickstoff entsteht, schlug V. Merz⁵¹⁾ vor:



„Derartige Substanzen könnten etwa Phenazine (in Abkürzung für Diphenylenazine) genannt werden.“

Phenazon. Diese Verbindung, die 1891 von Täuber⁵²⁾ entdeckt wurde, hieß anfangs Diphenylenazon.



„Ihre Formel erinnert wohl zunächst an diejenige des Phenanthrens, von dem sie sich durch Ersatz der beiden mittleren CH-Gruppen durch zwei Stickstoffatome ableitet . . .“

1896 kürzt Täuber⁵³⁾ den Namen in den noch heute gebräuchlichen „Phenazon“.

⁴⁹⁾ J. prakt. Chem. (2) 38, 142 [1887].

⁵⁰⁾ Ber. dtach. chem. Ges. 17, 319 [1884].

⁵¹⁾ Ebenda 19, 725 [1886].

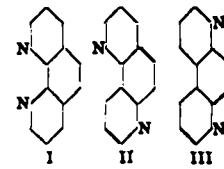
⁵²⁾ Ebenda 24, 3081 [1891].

⁵³⁾ Ebenda 29, 2272 [1896].

⁵⁴⁾ Siehe auch Kehrmann, Liebigs Ann. Chem. 290, 288 [1896], wo der Name auch für ein Oxophenazin vorgeschlagen wird.

Phenanthrillin. Kraup und Vortmann⁵⁵⁾ stellten 1882 erstmals eine Verbindung der Formel II dar und berichten:

„Jedenfalls steht es außer Zweifel, daß das m-Diamidobenzol mit Glycerin und Schwefelsäure . . . ein zweifach tertiäres Amin mit zwei Pyridinringen liefert . . . Spätere Versuche haben unzweideutig erwiesen, daß eine dem Phenanthren analog constituirte Base vorliegt, weshalb auch für diese der Name Phenanthrillin gewählt worden ist.“

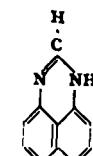


Peri-Stellung. „Immerhin scheint es uns angezeigt, die $\alpha_1\alpha_2$ -Stellung im Naphthalinmolekül, welche durch besondere Eigenschaften ausgezeichnet ist, auch durch besondere Bezeichnung hervorzuheben; wir schlagen für dieselbe das Präfix „Peri“ vor und bezeichnen beispielsweise die Naphthalsäure im Folgenden als Peri-Naphthalindicarbon-säure.“



So erläutern Bamberger und Phillip⁵⁶⁾ ihren obigen Vorschlag. ($\text{peri} = \text{rundherum}$).

Perimidin. Zu dieser Bezeichnung äußert sich Sachs⁵⁷⁾ in seiner Arbeit: „Über Ringschlüsse in Peri-stellung der Naphthalinreihe“ wie folgt:



„In diesem Namen soll sowohl die Peristellung im Naphthalinring, wie die imidartige Anordnung der beiden Stickstoffatome zum Ausdruck kommen. Correcter wäre zwar die Bezeichnung Naphthoperimidin, sie ist aber einerseits lang und bei Derivaten schleppend, andererseits sind analoge Peridiaminverbindungen bisher noch bekannt.“

Weitere Heterocyclen mit zwei und mehr Heteroatomen sollen gemeinsam mit den Alkaloiden und heterocyclischen Naturprodukten in der Folge behandelt werden.

Eingeg. am 18. Dez. 1947. [A 97]

⁵⁵⁾ Mh. Chem. 3, 575 [1882].

⁵⁶⁾ Ber. dtach. chem. Ges. 50, 241 [1887].

⁵⁷⁾ Liebigs Ann. Chem. 365, 67 [1909].

Analytisch-technische Untersuchungen

Über die Bestimmung von Phosphor in eiweißhaltigen Substanzen

Von Dr. FRIEDRICH HAHN, Institut für Virusforschung, Heidelberg

Alle bis jetzt näher untersuchten Virusproteine sind Nukleoproteide und enthalten in ihrer Nukleinsäurekomponente Phosphor. Da der P-Gehalt der Nukleinsäuren 9,5–10% beträgt, besitzt man in der quantitativen Bestimmung des P eine geeignete Methode zur Bestimmung des Nukleinsäure-Gehaltes eines Nukleoproteids. Darüber hinaus gibt die Verfolgung des P-Gehaltes Aufschlüsse über das Schicksal der Nukleinsäurekomponente bei experimentellen Eingriffen in die Moleköl des Nukleoproteids.

Das Prinzip der Methode¹⁾ besteht in der kolorimetrischen Messung der Molybdänblau-Färbung, die durch Reduktion von Phosphorammoniummolybdat erzeugt wird. Trotzdem über diese Methode eine umfangreiche Literatur existiert, war es doch notwendig, für die Zwecke der chemischen Virusforschung ein spezielles Verfahren auszuarbeiten. Zu diesem Zweck mußte eine Reihe grundsätzlicher Untersuchungen über den Einfluß der verschiedenen Faktoren durchgeführt werden. Die vorliegende Arbeit berichtet über die Ergebnisse dieser Versuche sowie die ausgearbeiteten Arbeitsvorschriften, die auch für andere Probleme, wie die Verfolgung von Fermentreaktionen²⁾ und die Untersuchung physiologischer Substanzen geeignet erscheinen^{3,4,5,6,7)}. Nach Ziel und Gang des Verfahrens sollen zwei Methoden unterschieden werden:

1. Bestimmung des Gesamtphosphors: Die zu untersuchende Substanz wird eingewogen, mit konz. H_2SO_4 unter Zusatz von Perhydrol aufgeschlossen, der Aufschluß in einem Meßkolben mit 3 n Na-acetat-Lösung gegen α -Dinitrophenol neutralisiert, mit Molybdänschwefelsäure und Stannochlorid-Lösung versetzt, aufgefüllt und die entstandene Blaufärbung kolorimetriert.

2. Bestimmung des nicht an Eiweiß gebundenen Phosphors: Die zu untersuchende Protein-Lösung wird mit Trichloressigsäure-Lösung gefällt, das ausgefallene Eiweiß abfil-

triert und ausgewaschen und im Filtrat wird nach Verdünnung im Meßkolben in gleicher Weise wie bei 1 die Molybdänblau-Färbung erzeugt und kolorimetriert.

Das Aufschluß- bzw. Fällungsverfahren

Wegen des großen Einflusses, den freie Mineralsäure auf die Molybdänblau-Reaktion hat, mußte zwischen den zahlreichen Modifikationen des Aufschlußverfahrens ein Weg gefunden werden, mit einem Minimum an Säure und einem die nachfolgende Reduktion des Ammoniumphosphormolybdates nicht störenden Oxydationsmittel die zu prüfende Substanz aufzuschließen.

Es wurden Untersuchungen mit Perchlorsäure, mit verschiedenen Mengen konz. H_2SO_4 unter Zusatz von Bromwasser, konz. HNO_3 , rauchender Schwefelsäure und Perhydrol gemacht. Als geeignet erwies sich ein Verfahren, das mit einer relativ geringen Menge konz. H_2SO_4 arbeitet, wobei zum Schluß 1–2 Tropfen Perhydrol hinzugefügt werden. Der Aufschluß wird zweckmäßig in einem elektrisch beheizten Sandbad in Reagensgläsern oder kleinen Kjeldahl-Kolben durchgeführt. Diese Arbeitsweise ist deutend vorteilhafter als das Erhitzen mit Mikrobrennern. In dem fertigen Aufschluß liegt der gesamte Phosphor als Phosphat vor und kann kolorimetrisch bestimmt werden.

Soll nach 2. der nicht an Eiweiß gebundene P bestimmt werden, so wird zu 1 cm³ der ungefähr 10 mg Eiweiß enthaltenden Probe 2 cm³ 25 proz. Trichloressigsäure-Lösung hinzugesetzt. Nach 30 min wird filtriert, mit wenig H_2O nachgewaschen und das im Meßkolben verdünnte Filtrat direkt mit den Reagenzien zur Erzeugung der Molybdänblau-Färbung versetzt. Auf diese Weise wird aller P erfaßt, der bereits als Phosphat in der Lösung vorliegen hat.

Eine Modifikation muß das Verfahren durchmachen, wenn es sich darum handelt, die aus einem Nukleoproteid abgespaltene Nukleinsäure neben einem noch teilweise nukleinsäurehaltigen Proteid zu bestimmen. In diesem Falle befindet sich im Filtrat der Trichloressigsäure-Fällung die abgespaltene Nukleinsäure, die ihrerseits noch mit konz. H_2SO_4 und Perhydrol aufgeschlossen

¹⁾ P. Osmond, Bull. Soc. chim. France 47, 475 [1887].

²⁾ Lohmann u. Jendrassik, Biochem. Z. 178, 419 [1926].

³⁾ P. S. Randles u. A. Knudson, J. biol. Chemistry 53, 53 [1922].

⁴⁾ E. J. Baumann, J. biol. Chemistry 69, 667 [1924].

⁵⁾ J. C. Whitehorn, J. biol. Chemistry 62, 135 [1924].

⁶⁾ C. Urbach, Biochem. Z. 239, 182–5 [1931].

⁷⁾ H. G. Kainlich, Klin. Wschr. 17, 706 [1938].

werden muß. Mit Rücksicht auf gerade diese Untersuchungen wurde die Einwirkungsdauer der Trichloressigsäure auf genau 30 min festgesetzt, um eine evtl. Freisetzung von geringen Mengen Nukleinsäure durch die Trichloressigsäure in gleichen Grenzen zu halten. Filtrat und Waschwasser der Trichloressigsäure-Fällung, zusammen etwa 7–8 cm³ müssen vor dem Säureaufschluß erst vorsichtig eingedampft werden.

Der Einfluß der Säurekonzentration Neutralisationsverfahren

Da die Konzentration an freier Säure von ausschlaggebender Bedeutung für das Entstehen einer reproduzierbaren Molybdänblau-Färbung ist, wurde der Einfluß des Zusatzes von konz. H₂SO₄ oder 25proz. Trichloressigsäure auf die entstehende Färbung eingehend studiert. Bild 1 zeigt den Einfluß der Schwefelsäurekonzentration auf die Färbung der Molybdänblau-Reaktion. Schon der Zusatz von 1 cm³ konz. H₂SO₄ zu der Reaktionsmischung, die 100 cm³ Volumen hat, läßt die Blaufärbung völlig verschwinden. Bei Trichloressigsäure (Bild 2) ist der Einfluß wesentlich schwächer, so daß durch Zugabe von 1–2 cm³ 25proz. Lösung nur ein geringer systematischer Fehler entsteht, der durch Hinzufügen der gleichen Säuremenge zu den Eichbestimmungen leicht auszugleichen ist.

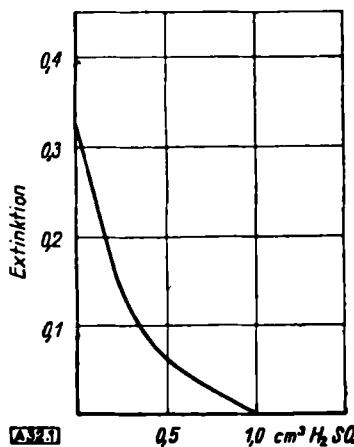


Bild 1
Einfluß der Schwefelsäurekonzentration auf die Molybdänblau-Reaktion

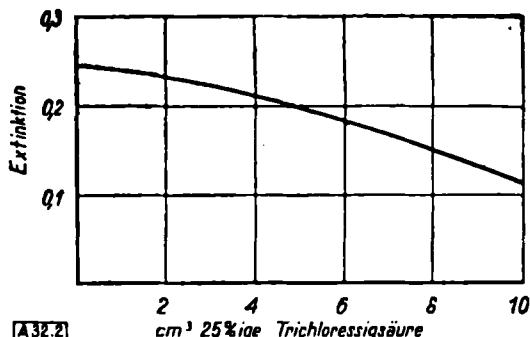


Bild 2
Einfluß der Trichloressigsäurekonzentration auf die Molybdänblau-Reaktion

Nach dem Säureaufschluß jedoch ist es zur Erzielung reproduzierbarer Bedingungen notwendig, die Konzentration an freier H₂SO₄ stets auf einem optimalen Wert zu halten. Manche Autoren haben das zu erreichen versucht, indem sie die erforderliche Säuremenge gleich zum Aufschluß benutztten und das Ammonium-molybdat nachher in wäßriger Lösung zusetzen⁹⁾. Ein besonders origineller Weg erschien es mir, den Aufschluß gleich mit der molybdänhaltigen H₂SO₄ durchzuführen, die als Färbereagens gebraucht wird. Bei beiden Methoden jedoch wird die Säuremenge vernachlässigt, die bei der Oxydation der organischen Substanz verbraucht wird. Es erschien daher als der beste Weg, die nach dem Aufschluß verbleibende H₂SO₄ zu neutralisieren¹⁰⁾ und dann die für die Färbung optimale Säuremenge zusammen mit dem Farbreagens hinzuzusetzen. Die Schwierigkeit bestand dabei in der Erzielung einer genauen und richtigen Neutralisation. Als Neutralisationsmittel wurden NaOH, gesättigte Sodalösung¹¹⁾ und 3 n Natriumacetatlösung geprüft. Es wurden verschiedene p_H-Bereiche zwischen 10,0 und 2,8 untersucht. Dabei konnten nur solche Indikatoren Verwendung finden, die im sauren Gebiet farbos sind, damit nicht ihre Eigenfärbung nach Zusatz der Molybdän-Schwefelsäure die Farbreaktion beeinflußt. Bei ungeeignetem Neutralisationsmittel bzw. p_H ist die Färbung entweder nicht reproduzierbar oder verschwindet kurze Zeit nach ihrem Auftreten fast völlig. Als geeignet erwies sich schließlich die Verwendung von 3 n Na-Acetatlösung mit α-Dinitrophenol (in 1proz. wäßriger

⁹⁾ H. Theorell, Biochem. Z. 230, 1 [1931].

Lösung) als Indikator, der zwischen p_H 2,8–4,4 umschlägt und im sauren Gebiet farbos ist. Die sorgfältige und stets gleichartige Ausführung der Neutralisation ist die wichtigste Vorbedingung für die Genauigkeit der Methode.

Die Konzentration der Farbreagenzien

Als Molybdänblaureagens¹²⁾ wird die Mischung von 250 cm³ einer 10proz. wäßrigen Lösung von Ammoniummolybdat p. a. mit 750 cm³ halbkonzentrierter Schwefelsäure verwendet. Vor dem Mischen der beiden Anteile beträgt die Normalität der Säure 19,4 und muß zum Erhalten vergleichbarer Resultate bei jedem neuen Ansetzen des Reagens genau eingestellt werden. Eine schwache Blaufärbung, die sich bilden kann, ist ohne Einfluß auf die Bestimmung. Die Lösung ist lange Zeit haltbar.

Da in der Literatur die zur Erzeugung der Farbreaktion verwandten Mengen Molybdän-Schwefelsäure in gewissen Grenzen variieren und zudem auch wohl mit der Natur des verwandten Reduktionsmittels geändert werden müssen, wurden Versuche mit wechselnden Mengen Molybdän-Schwefelsäure gemacht. Die folgende Tabelle gibt Aufschluß über den Zusammenhang zwischen der Konzentration des Mo-Reagens und der Extinktion der erzielten Färbung.

cm ³ Mo-Reagens	entspricht cm ³ H ₂ SO ₄	Extinktion
0.5	0.19	—
1.0	0.37	— } Versuchsansatz getrübt. Nur ganz
1.5	0.56	— } schwache Färbung
2.0	0.75	0.258
2.5	0.94	0.261
3.0	1.12	0.252
3.5	1.31	0.248
4.0	1.50	0.244
4.5	1.69	0.236

Tabelle 1
Abhängigkeit der Extinktion der Färbung von der Konzentration des Mo-Reagens

Vor Erreichen einer gewissen Mindestkonzentration tritt überhaupt keine kolorimetrierbare Blaufärbung auf. Der Effekt der Trübung und ganz geringen Blaufärbung ist ganz der gleiche, wie er bei Proben vorkommt, die beim Neutralisieren zu stark alkalisch gemacht werden. Es folgt dann schnell eine optimale Konzentration, und bei weiterer Erhöhung der Reagensmengen sinkt dann die Extinktion stetig wieder ab. Dieser Effekt muß auf die verschiedenen Schwefelsäure-Konzentrationen zurückgeführt werden, die mit den verschiedenen Reagensmengen hinzugefügt werden. Daher sind in Spalte 2 auch die Mengen H₂SO₄ aufgeführt, die in den jeweiligen Gaben von Mo-Reagens enthalten sind.

Als Reduktionsmittel standen zahlreiche Substanzen zur Auswahl: Zunächst existiert eine Gruppe organischer Substanzen wie 1,2,4-Aminonaphtholsulfosäure^{8,10,11,12)}, Hydrochinon¹³⁾ oder Monomethyl-p-aminophenolsulfat¹⁴⁾, die als photographische Entwickler gebräuchlich sind. Auch Benzidin und Hydraxinsulfat sind als Reduktionsmittel angewandt worden. Demgegenüber stehen die anorganischen Reagenzien wie die mit Molybdän reduzierte Molybdän-Schwefelsäure nach Zinadze¹⁵⁾ und das Zinn(II)-chlorid. Empfindlichkeit und Haltbarkeit der Blaufärbung hängen von der Natur des Reduktionsmittels ab. Da Zinn(II)-chlorid als empfindlichstes Mittel bekannt ist, wurde es gewählt, da für den vorliegenden Zweck die Bestimmung sehr kleiner P-Mengen notwendig ist. Benutzt wird eine 10proz. Lösung von SnCl₂ p. a. in konz. HCl, die durch vorsichtiges Erwärmen frisch hergestellt wird und etwa 12 h haltbar ist.

Einfluß von Zeit und Belichtung auf die Farbtiefe

Um zu klären unter welchen Bedingungen eine reproduzierbare, kolorimetrierbare Blaufärbung auftritt, wurden Untersuchungen über die Haltbarkeit und Lichtempfindlichkeit der Färbung angestellt. Bild 3 gibt Aufschluß über das Ergebnis der Versuche.

Die in der Dunkelheit gehaltene Probe zeigt nach der Zugabe des SnCl₂ zunächst einen steilen Anstieg der Farbtiefe, bis

- ⁸⁾ J. Tischer, Z. Pflanzenernähr., Düng. Bodenkunde, A, 33, 192–242 [1934].
- ⁹⁾ C. H. Fiske u. Y. Subbarow, J. biol. Chemistry 66, 375–400 [1925].
- ¹⁰⁾ M. Macheboeuf u. G. Zwilling, Bull. Soc. Chim. biol. 9, 700 [1927].
- ¹¹⁾ W. P. Hillebrand u. G. E. F. Lundell, J. Amer. chem. Soc. 42, 2609 [1920].
- ¹²⁾ O. Arrhenius, Pflanzenernähr., Düng. Bodenkunde, A, 14, 185 [1929].
- ¹³⁾ Scheel, Bodenkunde u. Pflanzenernähr., 4, 19 [1937].
- ¹⁴⁾ Sch. R. Zinadze, Pflanzenernähr., Düng. Bodenkunde, A, 16, 126 [1930] u. 23, 447 [1932]; Ind. Engng. Chem. 27, 24 [1935].

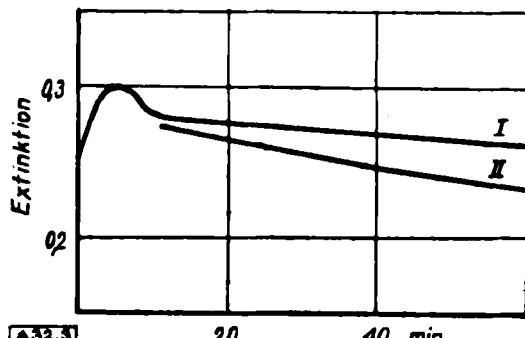


Bild 3
Veränderung der Molybdälauffärbung mit der Zeit. I: im Dunklen gehaltene Probe; II: im Sonnenlicht gehaltene Probe

nach etwa 5 min ein Maximum erreicht wird. Dann folgt ein Abfall der Extinktionswerte, der zunächst schnell, dann langsamer vor sich geht, bis nach 20 min eine schwache stetige Abnahme der Extinktion einsetzt, die in dem zur Kolorimetrierung einer längeren Versuchsserie notwendigen Zeitraum eine befriedigende Konstanz zeigt. Ins direkte Sonnenlicht gebrachte Proben zeigen einen prinzipiell ähnlichen Verlauf ihrer Zeitkurve, nur daß die Abnahme der Extinktion mit der Zeit etwas größer ist. Es empfiehlt sich daher, die Proben im Dunkeln aufzubewahren, bis sie kolorimetriert werden.

Das photometrische Verfahren

Bei dem angegebenen Meßverfahren mit dem lichtelektrischen Lange-Kolorimeter genügt es im allg., wenn eine einmalige Verfahrenseichung durchgeführt wird, die zu einer ein für alle Male festgelegten Eichkurve führt. Bild 4 gibt eine solche Eichkurve für den Bereich von 0,000—0,150 mg P wieder. Bei der Konzentration 0,000 muß die Kurve durch den Koordinatenanfangspunkt gehen, wenn die benutzten Reagenzien frei von P sind. Bei einem Wechsel der Reagenzien besonders bei Übergang zu Substanzen von geringerem Reinheitsgrad muß diese Bedingung sorgfältig nachgeprüft bzw.

Bei einem Wechsel der Reagenzien besonders bei Übergang zu Substanzen von geringerem Reinheitsgrad muß diese Bedingung sorgfältig nachgeprüft bzw. bei einem Wechsel der Reagenzien besonders bei Übergang zu Substanzen von geringerem Reinheitsgrad muß diese Bedingung sorgfältig nachgeprüft bzw.

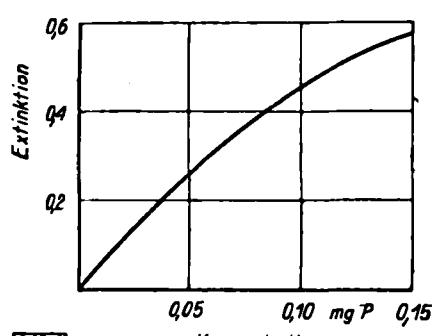


Bild 4
Beispiel einer Eichkurve zur kolorimetrischen P-Bestimmung

Für besonders wichtige Bestimmungen empfiehlt es sich, den in einem Vorversuch angennähert ermittelten P-Wert noch einmal in zwei Eichwerte einzugeben, deren innerhalb der Fehlergrenze genaue Lage auf der Eichkurve die konstante Übereinstimmung aller Versuchsbedingungen mit den Bedingungen der Verfahrenseichung erweist. Für diesen Zweck sowie zur Ausführung der

Eichung selbst benötigt man eine Standardlösung mit bekanntem P-Gehalt. Feingepulvertes prim. Kaliumphosphat wird im Exsiccator über Schwefelsäure gründlich getrocknet. 0,4394 g davon werden in 1000 cm³ Wasser gelöst, das 33 cm³ konz. H₂SO₄ enthält. Diese Lösung enthält 0,1 mg P auf 1 cm³ und ist unbegrenzt haltbar. Zum alsbaldigen Verbrauch kann sie beliebig mit H₂O weiter verdünnt werden.

Für die Kolorimetrierung dient das Schott-Filter GG 11, das ein Durchlässigkeitsgebiet von 500—550 m μ an aufwärts hat und von 410 m μ an abwärts stark absorbiert¹⁹⁾. Um eine einzige Eichkurve für den ganzen Konzentrationsbereich zu erhalten, wurde eine mittlere Schichtdicke von 15 mm gewählt, wie sie die rechteckigen Trogküvetten des Kolorimeters besitzen. Als Meßmethode dient das von B. Lange als „Ausschlagmethode“ bezeichnete Verfahren²⁰⁾. Als photometrische Vergleichslösung wird eine Blindprobe benutzt, die bis auf die Abwesenheit des P-haltigen Materials alle Zusätze des Analysenganges enthält.

Arbeitsvorschrift zur Best. des Gesamt-P in Eiweißsubstanzen

Die Probe, die bis zu 0,15 mg P enthalten darf und im Mittel 10 mg Eiweiß enthalten kann, wird im Reagenzglas oder Mikro-Kjeldahlkolben mit 15 Tropfen konz. H₂SO₄ versetzt und auf dem elektrisch beheizten Sandbad erhitzt. Wenn alles H₂O verdampft ist, was am Auftreten von SO₂-Nebeln erkennbar ist, wird der Aufschluß vom Sandbad genommen und nach kurzem Abkühlen 1 Tropfen Perhydrol 30% (Merck) hinzugefügt. Darauf wird nochmals 30 min auf dem Sandbad weiter erhitzt. Der abgekühlte Aufschluß, der wasserklar und ungefärbt aussehen soll (andernfalls ist Perhydrol-Zugabe und Erhitzen zu wiederholen), wird in einen 100 cm³ Meßkolben übergespült und auf ein Volumen von etwa 50 cm³ gebracht. Dann versetzt man mit 1 Tropfen einer 1%igen wässrigen α -Dinitrophenol-Lösung und läßt aus einer Bürette soviel 3 n Na-Acetat-Lösung hinzutropfen, bis ein schwacher gelber Farnton auftritt. Dazu sind etwa 4 cm³ erforderlich. Dann wird aufgefüllt bis etwa 80—85 cm³ Volumen und 2 cm³ Molybdänschwefelsäure (1 Teil 10%ige Ammoniummolybdat-Lösung + 3 Teile 19,4 n H₂SO₄) hinzugefügt. Es wird umgeschüttelt, mit 3 Tropfen frisch bereiter SnCl₂-Lösung (1 g SnCl₂, p. a. in 10 cm³ konz. HCl unter vorsichtigem Erwärmen frisch gelöst) versetzt, sofort kräftig umgeschüttelt und bis zur Marke aufgefüllt. Dann wird die Probe 30 min ins Dunkle gestellt und photometriert. Als Bezugslösung dient ein Blindversuch, der farblos sein muß, wenn die verwandten Reagenzien frei von P sind.

Arbeitsvorschrift zur Best. des als Phosphat vorliegenden P

Die eiweißhaltige Lösung wird mit 2 cm³ Wasser verdünnt und darauf mit 2 cm³ 25%iger Trichloressigsäure versetzt. Es wird öfter umgeschüttelt, nach 30 min der Niederschlag abfiltriert und mit 2—3 cm³ Wasser nachgewaschen. Darauf wird das Filtrat + Waschwasser in einen 100 cm³ Meßkolben übergespült, auf etwa 80 cm³ aufgefüllt, mit 2 cm³ Molybdänschwefelsäure versetzt und dann weiter behandelt wie bei der ersten Vorschrift. Ist der P zwar nicht an Eiweiß wohl aber in anderer Form (Nukleinsäure) an organische Substanz gebunden, die mit Trichloressigsäure nicht gefällt wird, so müssen Filtrat und Waschwasser der Trichloressigsäure-Fällung erst eingedampft und dann wie angegeben mit Schwefelsäure-Perhydrol aufgeschlossen werden.

Eingeg. 21. März 47. [A 32].

¹⁹⁾ Liste der Diabatiewerte für Jenaer Farb- u. Filterglas, herausgegeben von Schott u. Gen. Jena.

²⁰⁾ B. Lange, Kolorimetrische Analyse, Berlin 1942, Verlag Chemie.

Über die Veraschungsdauer bei der Mikro-Stickstoff-Bestimmung nach Kjeldahl

Von Dr. H. M. RAUEN und MARIANNE BUCHKA

Aus dem Institut für vegetative Physiologie der Universität Frankfurt a. M.

Die Bestimmung des nicht an Sauerstoff gebundenen Stickstoffs organischer Verbindungen nach Kjeldahl ist ein heute unentbehrliches Verfahren. Nachdem vor etwa 20 Jahren eine Mikroausführung beschrieben und im Laufe der Zeit noch verbessert wurde, konnten auch kleinste Substanzmengen mit hinreichender Genauigkeit analysiert werden.

Mit dem Fortschritt der Eiweißchemie wurde auch die Mikro-N-Bestimmung immer wieder überprüft. Die meisten Kritiken betreffen den ersten Teil des Bestimmungsverfahrens, die Veraschung, während die Bestimmung des Ammoniaks nach dem Destillationsverfahren oder durch „Neßlerisation“ heute

kaum noch Probleme sein dürften. So wurde wiederholt darauf hingewiesen, daß es beim Aufschluß trotz des großen Überschusses an konz. Schwefelsäure zu N-Verlusten kommen kann. Ein Teil des Gesamt-Stickstoffs soll in Form von Methylamin²¹⁾ oder anderen Aminen²²⁾ und elementarem Stickstoff²³⁾ in den Veraschungsabgasen nachgewiesen worden sein. Von verschiedenen Autoren wurde angegeben, daß Stickstoff-Verluste bei der Veraschung von Lysin, Tryptophan und Tyrosin eintreten, die u. U.

²¹⁾ H. J. Fuchs, Klin. Wschr. 9, 1990 [1930].

²²⁾ R. A. Gortner u. W. F. Hoffmann, J. biol. Chemistry 70, 457 [1926].

²³⁾ J. P. Peters u. D. D. Van Slyke: Quantitative Clinical Chemical Methods, S. 519. Baltimore 1932.