

Für die Bestimmung der Methylol-Gruppen in Resolen lieferte ein jodometrisches Verfahren zumindestens bei Modells-substanzen gute Werte⁵³⁾. Eine Methode zur Ermittlung des Gehalts an Dimethylen-Ätherbrücken in Phenolharzen⁵⁴⁾ beruht auf deren Verseifung mit HBr und anschließender Bestimmung des dabei freiwerdenden Wassers mittels des Fischerschen Reagenzes⁵⁵⁾. Die HBr-Verseifung und die Feststellung von „Bromwerten“ war vorher schon von A. Zinke⁵⁶⁾ zur quantitativen Bestimmung der Äther-Brücken herangezogen worden. M. M. Sprung und M. T. Gladstone⁵⁶⁾ bedienten sich einer verbesserten Bromierungs-Methode zum Studium der Kinetik einiger Kondensationsvorgänge des Saligenins.

Unter den physikalischen Methoden zum Nachweis bestimmter Gruppen in löslichen Phenolharzen sei vor allem auf die Aufnahme von Schwingungsspektren hingewiesen. Beispielsweise konnten Richards und Thompson⁵⁷⁾ mit Hilfe von Infrarot-Spektren das Vorliegen intramolekularer Wasserstoff-Brücken an einfachen Phenolharz-Bestandteilen nachweisen. Auch die

⁵³⁾ H. S. Lilley u. D. W. J. Osmond, J. Soc. chem. Ind. 66, 340 [1947]; (Kunststoffe 39, 103 [1949]).

⁵⁴⁾ H. S. Lilley u. D. W. J. Osmond, J. Soc. chem. Ind. 66, 425 [1947]; (Kunststoffe 39, 103 [1949]).

⁵⁵⁾ A. Zinke u. E. Ziegler, Ber. dtsh. chem. Ges. 77, 264 [1944].

⁵⁶⁾ J. Amer. Chem. Soc. 71, 2907 [1949].

⁵⁷⁾ H. W. Thompson, J. chem. Soc. [London] 1947, 293; R. E. Richards u. H. W. Thompson, ebenda 1947, 1260.

bereits erwähnten spektralanalytischen Arbeiten zur Strukturermittlung des „Koresins“⁴⁸⁾ sowie der Nachweis von Chroman-Ringen in den Reaktionsprodukten aus Kautschuk⁵⁸⁾ und Saligenin lassen sich in diesem Zusammenhang anführen.

Weitere Probleme

Die moderne Phenolharzchemie hat zahlreiche Wege gezeigt, auf denen sich die einzelnen Harze bilden können und werden. Sie hat vor allem aber auch offenkundig werden lassen, wie vielerlei Arten von äußerlich zwar ähnlichen, in ihrem chemischen Aufbau aber doch recht unterschiedlichen Phenolharzen zu erwarten sind. Diese soweit als zweckdienlich auseinanderzuhalten und ihren Aufbau unmittelbar zu beweisen, erscheint als wichtiges Ziel künftiger Arbeiten. Zu diesem Zweck werden auch weitere Analysemethoden entwickelt werden müssen – eine Aufgabe, die selbst bei guter Kenntnis der gesamten Phenolharzchemie nicht zu unterschätzende Schwierigkeiten birgt. Schließlich wird auch die Terminologie auf dem Phenolharzgebiet den fortgeschrittenen Erkenntnissen sich anpassen müssen und in mancherlei Hinsicht eine Neuordnung der Begriffe erfordern, wofür bereits Ansätze vorliegen^{18,31)}.

Eingeg. am 25. September 1950

[A 318]

⁵⁸⁾ J. I. Cunneen, E. H. Farmer u. H. P. Koch, ebenda 1943, 472; (Kunststoffe 34, 106 [1944]).

Über Retentionsanalyse IV*)

Quantitative Bestimmung von Aminosäuren mit der verbesserten Retentionstechnik

Von Prof. Dr. Th. WIELAND und LISELOTTE WIRTH

Organisch-chemisches Institut der Universität Mainz und Max Planck-Institut für medizinische Forschung, Heidelberg

Streifenförmiges Auftragen der Substanz vor der Papierchromatographie und -ionophorese ermöglicht mit erhöhter Genauigkeit die retentiometrische Bestimmung verschiedener Aminosäure-Gemische, wie an Beispielen gezeigt wird.

Bei der von Th. Wieland und E. Fischer¹⁾ beschriebenen Retentionsanalyse erhält man eine quantitative Aussage über die Menge an einem Stoff, der sich als Flecken auf Filtrierpapier befindet dadurch, daß man eine geeignete Reagenslösung darüber hinweg-sickern läßt. Dann bildet sich über dem Flecken eine charakteristische Lücke aus, deren Flächeninhalt der Substanzkonzentration proportional ist. Handelt es sich nun darum, mehrere Stoffe nebeneinander zu bestimmen, die in ihrer Konzentration sehr verschieden sind, so gibt sich die Grenze der Leistungsfähigkeit der beschriebenen Analysetechnik bald zu erkennen. So kommt es z. B. vor, daß eine größere Substanzmenge noch lange nicht ausreagiert hat, wenn in einem daneben liegenden Fleck kleiner Substanzkonzentration die Reaktion mit der Retentionslösung schon längst stattgefunden hat. Durch Anwendung eines Kunstgriffs, nämlich der streifen-artigen Aufbringung der Substanzen auf das Papier, haben wir diesen Nachteil zu beseitigen vermocht. In der vorhergehenden Arbeit, die von der quantitativen Auswertung von Eiweiß-elektropherogrammen mit dieser verbesserten Retentionstechnik handelt²⁾, ist die Berechnungsweise genauer beschrieben, die man anwenden muß, um von den erhaltenen Frontverlaufskurven zu wahren Konzentrationskurven zu gelangen.

Wir haben nun die Vorteile der neuen Technik auch an Gemischen von Aminosäuren, die durch Papierchromatographie oder Papier-ionophorese³⁾ getrennt wurden, zeigen können. Außer bei diesen leistet die Retentionsanalyse auch bei der quantitativen Auswertung von Papierchromatogrammen und -ionopherogrammen von Oxycarbonsäuren wertvolle Dienste. Weiterhin haben wir das Verhalten einiger Purine untersucht, die sich ebenfalls auf diese Weise quantitativ bestimmen lassen, und sind z. Z. mit der Untersuchung der Analysenmöglichkeiten von Gemischen organischer Phosphate beschäftigt, nachdem sich gezeigt hat, daß

auch diese Stoffklasse der neuen Methode zugänglich ist. Über diese Untersuchungen soll später mit U. Feld und S. M. Flintje berichtet werden.

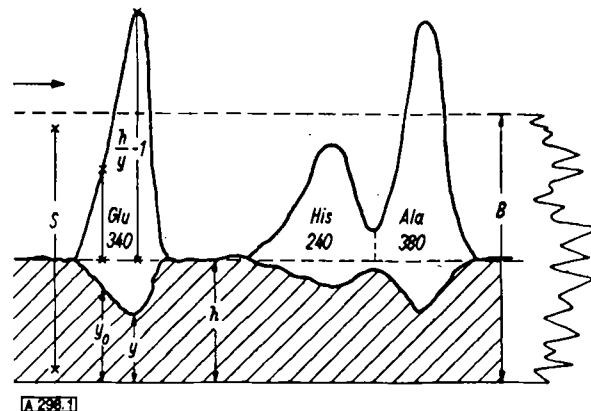


Bild 1

Retentiographie eines Papierchromatogramms von Glutaminsäure, Histidin und Alanin. S = Startlinie, B = Breite des Papierbandes, h = Aufstiegshöhe des Cu im Papier, y, y₀ = Aufstiegshöhe des Cu im Aminosäure-haltigen Bezirk. → = Chromatographierichtung

Bild 1 stellt die Auswertung eines Papierchromatogramms von 3 Aminosäuren dar. Dazu war eine je 0,5proz. wäßrige Lösung von Glutaminsäure, Histidin-monohydrochlorid H₂O und Alanin aus einer Kapillarpipette in Form eines etwa 5 mm breiten und 9 cm langen Querstreifens ans obere Ende eines 10 cm breiten und 40 cm langen Bandes aus Whatmanpapier (Nr. 1) gebracht worden (Starts' lle S). Daraufhin wurde absteigend mit einem Gemisch von Äthylenglykol-monoäthyläther (80 Vol) + konz. wäbr. Ammoniak (20 Vol) chromatographiert. Nach dem Trocknen bei 100° rollten wir den Streifen zu einem Zylinder und stellten diesen im Exsiccator in eine große Kristallisierschale, in der sich einige Millimeter hoch die Reagenslösung (0,5 g Kupferacetat in 5 cm³ Wasser gelöst, dann mit Tetrahydrofuran auf 100 cm³ aufgefüllt

*) 111. Mitt. s. Fußnote 2).

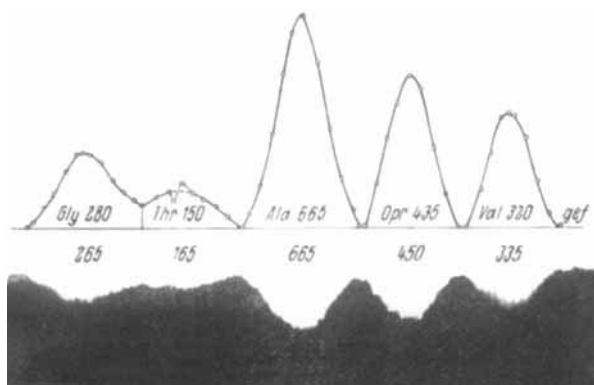
¹⁾ Th. Wieland u. E. Fischer, Naturwiss. 35, 29 [1948]; diese Ztschr. 60, 313 [1948].

²⁾ Th. Wieland u. L. Wirth, diese Ztschr. 62, 473 [1950].

³⁾ Th. Wieland u. E. Fischer, Naturwiss. 35, 29 [1948].

und einige Tropfen Eisessig zur Beseitigung der Trübung zugesetzt) liefend. Die Lösung ließen wir bis zum oberen Zylinderrand aufsickern, wonach das Cu^{2+} mit Rubeanwasserstoff oder Diäthylthio-carbamid sichtbar gemacht, etwa 5 cm h in Bild 1) im Papier aufgestiegen war. In den Aminosäure-haltigen Bezirken erreichte die Cu-Front hingegen nur die geringeren Höhen y , y_0 usw., so daß sich ein kurvenförmiger Frontverlauf ergab, der die Cu-haltige, im Bild schraffierte Fläche nach oben hin abgrenzt. Die darüber gezeichnete Konzentrationskurve ergab sich durch Konstruktion aus der unteren, wobei für markante beliebig gewählte Punkte als neue Ordinate der aus den abgemessenen Strecken gebildete Ausdruck $(\frac{h}{y}-1)$ eingesetzt wurde. Die planimetrische Auswertung der so erhaltenen, den Konzentrationen an Aminosäuren proportionalen Flächen ergab (in willkürlichem Maß) für Glutaminsäure 340, Histidin 240 und Alanin 380, während 336, 241 und 380 berechnet waren.

Bei dieser Berechnung ist die Kupfer-Äquivalenz der verschiedenen Aminosäuren berücksichtigt, die wir nunmehr für alle exakt bestimmt haben. Dabei hat sich gezeigt, daß außer 3 der untersuchten alle Aminosäuren pro Mol bei der Retentiometrie gleich viel Kupfer-Ionen, sicherlich 2 Äquivalente binden. Die sauren Asparagin- und Glutaminsäure verbrauchen zusätzlich 1 Äquivalent, wohl unter Bildung eines normalen Cu-Salzes an der zweiten Carboxyl-Gruppe, also im ganzen 3, und dasselbe gilt für das Histidin, dessen Imidazol-Ring sich anscheinend ebenfalls an der Cu-Bindung beteiligt. Wie man hier nebenbei sieht, läßt sich die Retentionsanalyse auch zur Ermittlung des Schwermetallbindevermögens heranziehen.

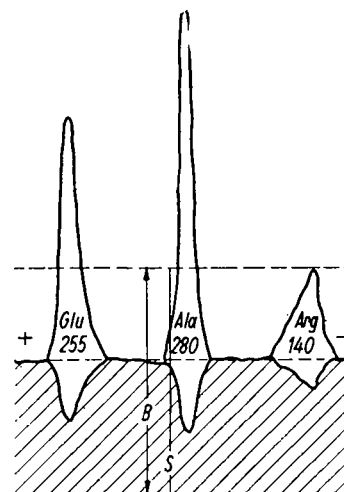


[A 298.2] Bild 2. Retentiographie eines Gemisches von Glycin, Threonin, Alanin, Oxyprolin und Valin

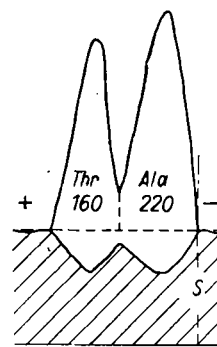
Bild 2 zeigt die Retentiographie eines Gemisches von Glycin, Threonin, Alanin, Oxyprolin und Valin (0,3–2proz. wäßrige Lösung), das mit Phenol chromatographiert war. Die Flächen der im gleichen Bild mitphotographierten verzerrten Kurve verhalten sich wie 280:150:665:435:320, während auf Grund der Einwaagen 265:165:665:450:335 zu erwarten war.

Bild 3 zeigt die gleiche Auswertung bei einem Ionophogramm eines Gemisches von je 0,6% Glutaminsäure, Alanin und Arginin, das längs der Linie S auf den pufferfeuchten Streifen, nicht ganz bis zu den Rändern, aufgetragen war. Eine gute Trennung und ein sauberes Retentiogramm gaben sehr verdünnte Elektrolytlösungen. Vorteilhaft benutzt man eine $\frac{m}{50}$ Na-Acetat-Lösung, die nach der Ionophorese (1–2 h mit 150 V Spannung an den Elektroden) und dem Trocknen des Streifens den Retentionsvorgang in keiner Weise stört. Änderungen des p_H können durch Zusatz weniger Tropfen HCl oder NaOH erzielt werden.

In Bild 4 ist die quantitative Bestimmung von Alanin neben Threonin dargestellt, die bei p_H 11 auf Grund der verschiedenen Ionenbeweglichkeiten der Anionen voneinander getrennt werden können.



[A 298.3] Bild 3 Retentiographie eines Ionophogramms gleicher Mengen (je 0,6%) Glutaminsäure, Alanin und Arginin. S = Startlinie, B = Breite des Papierstreifens. Ber.: Glutaminsäure 255, Alanin 280, Arginin 145



[A 298.4] Bild 4 Retentiographie eines Ionophogramms gleicher Mengen (0,5%) Alanin und Threonin. Ber.: Ala. 220, Thre. 165

Eingeg. am 14. August 1950

[A 298]

Zuschriften

Holzaufschluß mit Peressigsäure

Zu dem gleichnamigen Aufsatz von Herrn Dipl.-Chem. A. Poljak¹⁾.

In der oben erwähnten Arbeit gibt der Autor an, die Aufschließbarkeit von Holz mit Peressigsäure entdeckt zu haben. Ich möchte darauf hinweisen, daß die Reaktion 1944 in unserem Laboratorium in Pirna von mir zusammen mit Frl. Helene Hopp gefunden wurde, als wir die Ergebnisse von Fuchs²⁾ nachprüften. Da beim Arbeiten mit Benzopersäure störende Nebenreaktionen auftraten, benutzten wir Peressigsäure und fanden, daß dabei das Holz aufgeschlossen wird. (Eisessig und hochkonz. Wasserstoffsuperoxyd wirken analog).

Herr Poljak wurde zu den Arbeiten mit herangezogen. Anfang 1945 lagen etwa die in der oben genannten Arbeit veröffentlichten Ergebnisse vor, die Herr Poljak offenbar nach einigen ergänzenden Versuchen veröffentlichte. Gegen die selbständige Weiterbearbeitung des Themas durch Herrn Poljak hatten wir nichts einzuwenden, jedoch zur Bedingung gemacht, den wahren Sachverhalt nicht zu verschweigen. Unsere eigenen Untersuchungsergebnisse sind leider durch Kriegseinwirkung verlorengegangen.

Dr. A. Ogait/Aschaffenburg-M.

Erwiderung

Frl. H. Hopp war 1944 im Centralen Forschungslaboratorium der Aschaffenburg Zellstoffwerke AG in Pirna mit der Nachprüfung der von W. Fuchs publizierten Ergebnisse betraut, als meine Tätigkeit dort begann. Sie erhielt jedoch keine von W. Fuchs abweichenden Resultate. Der Gedanke, Peressigsäure statt Benzopersäure zu benutzen, stammt nur von mir allein. Die von mir veröffentlichten Ergebnisse lagen 1945 keineswegs vor, vielmehr waren in Pirna nur Versuche zur Darstellung der Peressigsäure nach D'Ans und Frey gemacht und 2 oder 3 orientierende Versuche mit Holz, z. T. nur im Reagenzglas. Eine Weiterbearbeitung

¹⁾ Diese Ztschr. 60, 45/46 [1948]. ²⁾ Ber. dtsch. chem. Ges. 60, 776 [1927].

war in Pirna nicht möglich, da das Laboratorium zerstört und demontiert wurde. Vor Zeugen bestätigte Herr Ogait mir dort mein alleiniges geistiges Urheberrecht an der von mir gefundenen Holzreaktion und das unbeschränkte Recht, an der Weiterentwicklung und Auswertung des Verfahrens zu arbeiten. Ich räumte ihm als Laboratoriumsleiter die gleichen Rechte ein. Inzwischen habe ich die Reaktion weiter verfolgt und gelangte zu einigen durchaus bedeutenden Ergebnissen. Ich wendete mich 1949 – ohne eine Antwort zu erhalten – an das in Aschaffenburg wieder eröffnete Laboratorium mit dem Vorschlag, die Arbeit, deren unveröffentlichte Ergebnisse ich gleichzeitig bekanntgab, gemeinsam abzuschließen. Herrn Dr. Ogait's „Bemerkung“ hat mich daher umso mehr verwundert, als sie erst 2 Jahre nach meiner Veröffentlichung und im Anschluß an die von mir ihm bekanntgegebenen neuen Ergebnisse erfolgt ist.

Dr. A. Poljak

Entgegnung

Daß die Einwirkung von Peressigsäure auf Holz bereits vor dem am 1. Juli 1944 erfolgten Eintritt des Herrn Poljak bei uns studiert wurde, geht aus einem der regelmäßig zum Quartalswechsel verfaßten Vierteljahresberichte hervor. Für die Monate April–Juni heißt es wörtlich: „Neuerdings haben wir die Peressigsäure in die Untersuchungen mit einbezogen. Die Arbeiten werden voraussichtlich längere Zeit in Anspruch nehmen und sehr interessante Ergebnisse zeitigen“. Herr Poljak hat sich während seiner sechsmonatigen Tätigkeit bei uns fast nur diesen Untersuchungen gewidmet, so daß sich die Arbeit bei seinem Austritt bereits in einem ziemlich fortgeschrittenen Stadium befand. Daß Herr Poljak bei der selbständigen Weiterbearbeitung zu weiteren uns damals noch nicht bekannten Ergebnissen gekommen ist, ändert aber nichts an meiner geistigen Urheberschaft. Meine Angaben können von einem Teil meiner früheren Kollegen und Mitarbeiter bestätigt werden.

Dr. Ogait/Aschaffenburg-M.