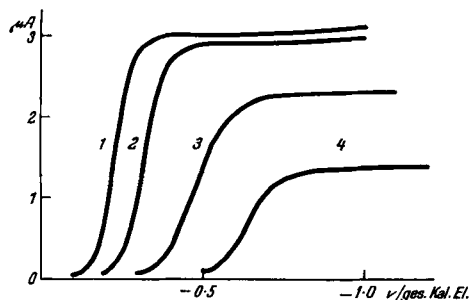


Das polarographische Verhalten von Ti(III) und Ti(IV) in Äthylendiamintetraacetat¹

Das polarographische Verhalten von Ti(IV) in Tartrat und Zitrat als Trägerelektrolyt wurde von VANDENBOSCH² und in Oxalat von PECOK³ eingehend untersucht. Es wird durch das Auftreten von verschiedenen Komplexen und durch Abhängigkeit des Halbwellenpotentials vom pH und der Konzentration an Komplexbildner kompliziert.

Im Verlauf einer Untersuchung über die Polarographie von Schwermetallkationen in Äthylendiamintetraacetat (Y^{4-}) stellten wir fest, dass das Verhalten von Ti(III) und Ti(IV) in diesem Komplexbildner bei niedrigerem pH besonders übersichtlich ist. Darüber soll im folgenden kurz berichtet werden.

Experimentelles. Die Messungen wurden mit einem manuellen Instrument durchgeführt, indem der Diffusionsstrom direkt mit einem empfindlichen Spiegelgalvanometer und die Spannung der Zelle (Hg/Ti-Komplex in Trägerelektrolyt/Agar-Agar 0,1 m NaClO₄/ges. Hg₂Cl₂-Elektrode) mit Hilfe eines Leeds-Northrup-Potentiometers, Typ K, gemessen wurde.



Alle Lösungen enthalten 10^{-3} Mol Titan, die erwähnten Mengen Gelatine sowie Neutralsalz, ausserdem: Kurve 1: $5 \cdot 10^{-3}$ Mol/l Na₂H₂Y und 0,1 Mol/l Glykokollpuffer, Kurven 2–4: $5 \cdot 10^{-2}$ Mol/l Na₂H₂Y. Die pH-Werte sind: Kurve 1: 2,25, Kurve 2: 3,70, Kurve 3: 4,82, Kurve 4: 6,2.

Zur Unterdrückung der Maxima enthielten alle Lösungen 0,01 % Gelatine.

Der Diffusionsstrom der kathodischen Welle des Ti(IV)-Komplexes bei pH 2,05 wurde bei 0,5 V gemessen, die Tropfzeit der Kapillare betrug 4,84 s und die Ausflussgeschwindigkeit 1,83 mg Hg/s bei einer Höhe der Hg-Säule von 66,2 cm, daraus berechnet sich $m^{2/3} t^{1/6} = 1,95 \text{ mg } t^{2/3} \text{ s}^{-1/2}$.

Diffusionsstromkonstante des Ti(IV)-Komplexes.

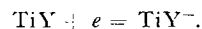
$c_{\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y}} = 2 \cdot 10^{-3} \text{ Mol/l}$ $c_{\text{Glykokollpuffer}} = 0,1 \text{ Mol/l}$
 $c_{\text{Gelatine}} = 0,01 \%$
 pH = 2,05

$c_{\text{Ti(IV)}}$ variiert von $2 \cdot 10^{-5}$ bis 10^{-3} Mol/l
 $i_d/c \text{ m}^{2/3} t^{1/6} = 1,53$

Verhalten bei niederen pH-Werten. Bei pH-Werten zwischen 1 und 2,5 liegt das Halbwellenpotential der Reduktionswelle des Ti(IV)-Komplexes (Kurve 1), unabhängig vom pH und der Konzentration an Komplexbildner bei $-0,22 \text{ V}$ gegen die ges. Hg₂Cl₂-Elektrode. Ti(III) bildet unter gleichen Bedingungen eine anodische Oxydationswelle mit identischem Halbwellenpotential und gleicher Stufenhöhe.

Der Reduktions-Oxydationsvorgang ist reversibel; trägt man ΔE gegen $\Delta \log(i/i_d - i)$ auf, so erhält man eine Gerade mit der Neigung $-0,064 \text{ V}$, entsprechend einer Eielektronenreduktion.

Diese Tatsachen machen folgende Redoxreaktion als Elektrodenvorgang wahrscheinlich:



Die gute Übereinstimmung der Diffusionsstromkonstante mit dem im hiesigen Laboratorium¹ gefundenen Wert (1,49 bei pH 3,4) für den Komplex FeY^- stützt diese Annahme.

Durch Dissoziation der Komplexe vermindert sich die Stufenhöhe in stark saurer Lösung; in 1 n, an H₄Y gesättigter Schwefelsäure ist die Reduktionswelle des Ti(IV)-Komplexes fast vollständig verschwunden.

Die Dissoziationskonstante des Komplexes TiY wurde aus der Abnahme der Stufenhöhe bei pH-Werten zwischen 0,5 und 2 und bekannter Konzentration an Komplexbildner mit Hilfe der von SCHWARZENBACH² ermittelten Dissoziationskonstanten von H₄Y überschlagsmäßig berechnet, es ergab sich ein Näherungswert von $K_{\text{TiY}} = 2 \cdot 10^{-18}$.

Das Normalpotential des Systems Ti(III)-Ion/Ti(IV)-Ion liegt bei $-0,04 \text{ V}$ gegen die $n\text{-H}_2$ -Elektrode³, das Halbwellenpotential des TiY/TiY^- -Systems liegt bei $-0,22 \text{ V}$ gegen die ges. Hg₂Cl₂-Elektrode oder bei $+0,03 \text{ V}$ gegen die $n\text{-H}_2$ -Elektrode. Wenn wir den Einfluss der Ionenstärke vernachlässigen, so finden wir, dass der Komplex TiY^- etwas mehr als eine Zehnerpotenz stabiler ist als der Komplex TiY .

Verhalten bei höheren pH-Werten. Bei pH-Werten über 2,5 wird das Halbwellenpotential des Reduktionsvorganges abhängig vom pH und der Konzentration an Komplexbildner, die Welle wird irreversibel, und die Wellenhöhe nimmt stark ab (Kurven 2–4).

Für die Oxydationswelle des Ti(III)-Komplexes gilt qualitativ dasselbe, die Höhe und der reversible Charakter der Welle bleiben aber etwa eine pH-Einheit länger erhalten.

Dieses Verhalten wurde noch nicht systematisch untersucht; vermutlich werden Oxokomplexe, wie sie SCHWARZENBACH⁴ bei Aluminium, Eisen und Chrom feststellte, und, bei höherem pH, mehrkernige Komplexe gebildet, wobei dieser Übergang beim Ti(IV)-Komplex früher erfolgt als beim Ti(III)-Komplex.

Die Durchführung dieser Arbeit wurde durch ein Stipendium der Janggen-Pöhn-Stiftung (St. Gallen) sowie durch einen Beitrag aus Mitteln der Graduate School der University of Minnesota ermöglicht.

M. BLUMER⁵ und I. M. KOLTHOFF

School of Chemistry, University of Minnesota, Minneapolis, den 31. Dezember 1951.

Summary

Ti(III) and Ti(IV) form complexes, at pH values of under 2.5, with ethylene di-amino-tetra-acetate (Y^{4-})

¹ I. M. KOLTHOFF und C. L. AUERBACH, Amer. Soc. (1952), im Druck.

² G. SCHWARZENBACH und H. ACKERMANN, Helv. chim. acta 30, 1798 (1947).

³ I. M. KOLTHOFF und E. B. SANDELL, Textbook of Quantitative Inorganic Analysis (Verlag Macmillan, New York 1943), S. 483.

⁴ G. SCHWARZENBACH und W. BIEDERMANN, Helv. chim. acta 31, 459 (1948).

⁵ Gegenwärtige Adresse: Anstalt für anorganische Chemie der Universität Basel.

¹ Vorläufige Mitteilung.

² V. VANDENBOSCH, Bull. Soc. Chim. Belg. 58, 532 (1949).

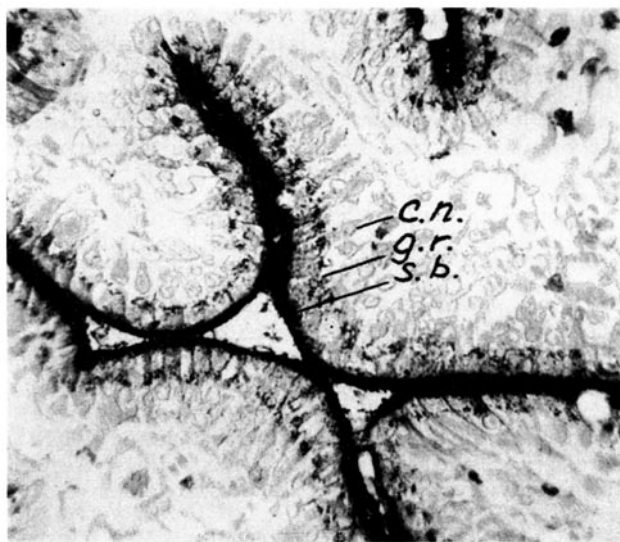
³ R. L. PECOK, Amer. Soc. 73, 1304 (1951).

with the probable formula TiY^- and TiY , which are reduced reversibly and independantly of pH at the dropping Hg-electrode. Temporary values are given for the dissociation constants. At higher pH values, the electrode processes are irreversible and dependant on pH. From this fact, and from the decrease in wave height, the presence of complexes containing oxygen and numerous nuclei is concluded.

A Modification of the Histochemical Method for Demonstration of Alkaline Phosphatase in which the Diffusion Phenomenon is Reduced

The method for histochemical demonstration of alkaline phosphatase presented by GOMORI¹ and TAKAMATSU² has been the object of a number of critical studies upon which modifications have been based.

The diffusion phenomena, first demonstrated by MARTIN and JACOBY³, are now generally considered to represent a serious objection to the method, inasmuch as the diffusion is thought to effect principally the cell nuclei which could thereby simulate phosphatase activity. Any possible original enzyme activity is thereby masked. For this reason, the question as to whether alkaline phosphatase exists at all in cell nuclei must remain unanswered. Cytochemical phosphatase determinations indicate that there is only minor activity in cell nuclei in liver, kidney, and intestine⁴.



Rat intestine (duodenum). Fixation: acetone. Stained for alkaline phosphatase. Personal modification. Incubated for 1 hour. Cobalt nitrate. Note that cell nuclei (c.n.) are not stained. g.r. = Golgi region. s.b. = striated border. 280:1.

A number of methods for the extraction of phosphatase make use of acetone in various concentrations. The major part of the enzyme is contained in the protein fraction which precipitates in the presence of 38 to 50 % acetone⁵.

Therefore, the effect of acetone in the incubation mixture has been studied with regard to diffusion, following MARTIN and JACOBY¹, using superimposed sections.

The diffusion observed by MARTIN and JACOBY¹ and others has been verified. This diffusion decreases with rising concentration of acetone in the incubation mixture, ceasing entirely at a concentration of 50 %. However, at that concentration, the enzyme activity has diminished considerably, in part, because of lowered solvent effect upon the substrate. The optimal results, from this point of view, were obtained with an incubation mixture containing 40 % acetone concentration. Quantitative chemical controls show that this lowers the phosphatase activity by approximately 20 %. Histochemical controls show that no new nonspecific reactions arise.

Preparations made in this manner differ from those described earlier, in that phosphatase activity could not be shown in cell nuclei in liver, kidney, or intestine. No other deviations from the current conception concerning the localization of alkaline phosphatase in these tissues could be demonstrated.

On the basis of the aforementioned observations, a modification of the histochemical method for determining alkaline phosphatase is recommended. This involves incubation in the presence of 40 % acetone after deparaffination. Continuous controls must always be made.

The introduction of this modification lowers not only the solubility of the enzyme, but also that of calcium phosphate. In addition, the milieu in which the diffusion takes place is changed in that the protein of the tissue is further coagulated. The lack of the phosphatase reaction in the cell nuclei in the organs studied must not be interpreted as meaning that the enzyme is entirely absent there. It is possible that the nuclei contain enzyme in such low concentrations that the phosphate concentration there never becomes high enough for precipitation to occur unless phosphate or possibly enzyme diffuse from other places with higher enzyme concentration². A precipitation is then obtained through additive effect, but when the diffusion has been reduced, the necessary phosphate concentration is never attained.

B. FREDRICSSON

Histological Department, Karolinska Institutet, Stockholm, January 29, 1952.

Zusammenfassung

Die Diffusionsphänomene bei der histochemischen Phosphatasereaktion im alkalischen Gebiet können reduziert werden, wenn die Inkubationsmischung 40 % Azeton enthält. Dabei treten keine neuen unspezifischen Reaktionen oder eine grössere Inaktivierung des Enzyms auf.

¹ B. F. MARTIN and F. JACOBY, J. Anat. 83, 351 (1949).

² W. L. DOYLE, Am. J. Anat. 87, 79 (1950).

Sur la présence de pigments jaunes non caroténoïdes chez *Mucor hiemalis*

Mucor hiemalis (Phycomycète) est un très fort producteur de caroténoïdes¹. Comme *Phycomyces*², *Mucor hie-*

¹ W. H. SCHOPFER, Bull. Soc. bot. Genève 20, 149 (1928).

² W. H. SCHOPFER et E. C. GROB, Exper. 6, 419 (1950). – E. C. GROB, G. G. PORETTI, A. V. MURALT et W. H. SCHOPFER, Exper. 7, 218 (1951).

¹ G. GOMORI, Proc. Soc. Exp. Biol. 42, 23 (1939).

² H. TAKAMATSU, Trans. Soc. Path. Japan 29, 492 (1939).

³ B. F. MARTIN and F. JACOBY, J. Anat. 83, 351 (1949).

⁴ H. G. HERS, J. BERTHET, L. BERTHET, and CHR. DE DUVE, Bull. Soc. Chim. Biol. 33, 21 (1951).

⁵ M. A. M. ABUL-FADL, E. J. KING, J. ROCHE, and NGUYEN-VAN THOAI, Biochem. J. 44, 428 (1949).