

kositätsformeln (S. 583—584) leicht überzeugen kann, denn es nimmt z. B. bei der Entquellung wohl das Volumen ab, dafür aber das Achsenverhältnis zu. Mit andern Worten: Bei langen Teilchen ist für die Viskosität praktisch nur die Länge massgeblich, während die Dicke in gewissen Grenzen kaum einen Einfluss ausübt.

In unserm Falle ist der Einfluss jedenfalls so klein, dass ein Viskositätsminimum als Folge von Effekt C nicht zu bemerken ist. Andererseits ist eine Beeinflussung der Strömungsdoppelbrechung ($n_s - n_x$) durch eine solche nur zweidimensionale Entquellung sehr wohl denkbar, denn:

1. nimmt die Dichte und damit der Brechungsindex der Teilchen zu, wodurch entsprechend der Wiener'schen Theorie der Anteil der Stäbchendoppelbrechung an der Gesamtdoppelbrechung zunehmen muss;

2. kann die Eigendoppelbrechung der Teilchen, die auf die Anisotropie der Polarisierbarkeit zurückzuführen ist, durch das Zusammenrücken der Peptidketten ebenfalls in einem gewissen Betrag erhöht werden.

Wir sind uns bewusst, dass gegen diese Interpretation von Effekt C Bedenken erhoben werden können. Was wir entwickelt haben, ist vorerst nur eine unbewiesene Theorie. Theorien haben aber dort ihre volle Berechtigung, wo eine exakte Analyse der Phänomene noch nicht möglich ist, nicht zuletzt deshalb, weil sie zur Kritik und zu neuer Fragestellung anregen.

Chemisches Institut der Universität Bern,
Organische Abteilung.

74. Über die quantitative Mikrobestimmung des Kaliums im tierischen Gewebe

von I. Abelin.

(30. IV. 41.)

Zu den jüngeren Abschnitten der medizinischen Forschung gehört u. a. die Biochemie der Mineralbestandteile. Deren qualitativer Nachweis in biologischen Objekten gelingt gewöhnlich leicht, deren zuverlässige quantitative Bestimmung ist aber oft mit erheblichen Schwierigkeiten verknüpft. Zu diesen Bioelementen gehört auch das Kalium, das nach neueren Feststellungen an sehr vielen Stoffwechselvorgängen teilnimmt. Dementsprechend hat letztthin die Bestimmung des Kaliums in tierischen und pflanzlichen Säften sowie Geweben bedeutend an Interesse gewonnen. Die Zahl der dabei benutzten Verfahren ist recht gross. Sie beruhen grösstenteils auf

der Anpassung der klassischen Methoden der analytischen Chemie an die besonderen Verhältnisse und Bedürfnisse des biologischen Versuches. Eine kurze Zusammenstellung der wichtigeren in letzter Zeit eingeführten Kalium-Bestimmungsmethoden enthält die nachfolgende Tabelle.

Tabelle 1.

Übersicht einiger der gebräuchlichsten Kaliumbestimmungsmethoden der Biochemie.

Art der Veraschung	Fällung des K ⁺ als	Bestimmung als	Autor
mit H ₂ SO ₄ und H ₂ O ₂	K ₂ [PtCl ₆]	Kaliumhexajodo- platinat(IV), titrimetrisch oder kolorimetrisch	Shohl, A. T. und Bennet, H. B. ¹⁾ Hartzler, E. P. ²⁾ Hald, P. M. ³⁾
mit H ₂ SO ₄ und Th(NO ₃) ₄	K ₂ [PtCl ₆]	Kaliumhexa- jodoplatinat(IV)	Strauss, M. B. ⁴⁾
H ₂ SO ₄ und HNO ₃	K ₂ [PtCl ₆]	spektrographisch	Thomson, V. B. und Lee, W. C. ⁵⁾
Trockenveraschung	K ₂ [PtCl ₆]	des Chlors, titrimetrisch	Harrison, H. E. und Darrow, D. C. ⁶⁾
keine	K ₂ Na[Co(NO ₂) ₆]	des Kobaltons, kolorimetrisch	Hoffman, W. S. ⁷⁾
ohne Veraschung	AgK ₂ [Co(NO ₂) ₆]	der salpetrigen Säure kolorimetrisch	Bretz, F. und Gaebler, O. H. ⁸⁾
H ₂ SO ₄ + HClO ₄	AgK ₂ [Co(NO ₂) ₆]	der salpetrigen Säure, kolorimetrisch	Truszkowski, R. u. Zwemer, R. L. ⁹⁾
H ₂ SO ₄ + HNO ₃ + HClO ₄	AgK ₂ [Co(NO ₂) ₆]	der salpetrigen Säure, gasometrisch; oder des Chlors titri- metrisch	Weichselbaum, T. E., Somogyi, M., Rusk, H. A. ¹⁰⁾

Fast jedes dieser Verfahren bringt auf der einen Seite gewisse Vorteile, auf der anderen Seite aber Erschwerungen und neue Fehlerquellen. Die Ansichten der einzelnen Forscher über die am besten

¹⁾ Shohl, A. T. und Bennet, H. B., J. Biol. Chem. **78**, 643 (1928).

²⁾ Hartzler, E. P., J. Biol. Chem. **122**, 19 (1937/38).

³⁾ Hald, P. M., J. Biol. Chem. **103**, 471 (1933).

⁴⁾ Strauss, M. B., J. Biol. Chem. **118**, 331 (1937).

⁵⁾ Thomson, V. B. und Lee, W. C., J. Biol. Chem. **118**, 711 (1937); **126**, 1 (1938).

⁶⁾ Harrison, H. E. und Darrow, D. C., J. Biol. Chem. **121**, 631 (1937).

⁷⁾ Hoffman, W. S., J. Biol. Chem. **93**, 685 (1931); **120**, 57 (1937).

⁸⁾ Bretz, F. und Gaebler, O. H., J. Biol. Chem. **87**, 81 (1930).

⁹⁾ Truszkowski, R. und Zwemer, R. L., Biochem. J. **30**, II, 1345 (1936); **31**, I, 229 (1937).

¹⁰⁾ Weichselbaum, T. E., Somogyi, M., Rusk, H. A., J. Biol. Chem. **132**, 343 (1940).

zu empfehlenden Methoden gelien noch ziemlich weit auseinander, was wohl deutlich die Schwierigkeiten der Aufgabe beleuchtet. Mehrere Autoren empfehlen die Anwendung der Hexachloroplatin(IV)-säure bei der Kaliumfällung (s. Tabelle 1). Vergleichsversuche ergeben aber, dass bei Einhaltung gewisser Bedingungen auch andere Methoden sehr befriedigende Ergebnisse liefern. Es kommt dabei wesentlich auf die Art und die Gründlichkeit der Veraschung sowie auf die weitgehende Entfernung der benutzten Oxydationsmittel, wie Salpetersäure, Perchlorsäure, Wasserstoffperoxyd usw. an. Die Zerstörung der organischen Substanz der tierischen Organe blass mit Salpetersäure und Wasserstoffperoxyd, wie dieselbe u. a. von *Pincussen*¹⁾ empfohlen wird, kann sich lie und da als ungenügend erweisen und zu hohe Kaliumwerte ergeben. Die Veraschung blass mit konz. Schwefelsäure ist ebenfalls nicht überall gut durchführbar. Bessere Ergebnisse lassen sich mit der kombinierten Anwendung von Schwefelsäure, Salpetersäure und Wasserstoffperoxyd erzielen, doch ist eine Verbrennung des tierischen Gewebes mit einem Gemisch der drei Säuren, Salpeter-, Schwefel- und Perchlorsäure, am besten zu empfehlen. Das Organ kann sowohl im frischen wie im feuchten Zustande zur Veraschung gelangen. Bei richtig durchgeführter Veraschung kann auf die Verwendung der heutzutage nicht leicht zugänglichen Hexachloroplatin(IV)-säure verzichtet werden. Das Kaliumion kann fast ebenso sicher als Kaliumhexanitrokobaltat gefällt werden. In den letzten zwei Jahren hat sich mir folgende Arbeitsweise gut bewährt.

Erforderlich sind: Konz. Salpetersäure (1,42) pro analysi. — Konz. Schwefelsäure (1,84) pro analysi. — 4-n. Schwefelsäure. — 35-proz. Perchlorsäure pro analysi. — 10-proz. Natronlauge. — 5-proz. Schwefelsäure. — Universalindikator nach *Van der Burg* (5 mg Thymolblau, 25 mg Methylrot, 60 mg Bromthymolblau und 60 mg Phenolphthalein werden in 100 cm³ 75-proz. Alkohol unter eventuellem leichtem Erwärmern aufgelöst. Die Lösung wird mit einigen Tropfen 0,01-n. Natronlauge bis zum Auftreten einer grünen Farbe versetzt).

Arbeitsgang.

a) Veraschung von frischen Organen.

Eine genau abgewogene Menge des frischen Organs, z. B. der Leber (etwa 0,5 g) wird im Mikro-Kjeldahl-Kolben mit 3 cm³ konz. Salpetersäure übergossen und etwa 20 Minuten stehen gelassen. Das Kölbchen wird dann im Veraschungsgestell nach *Pregl* bis zur vollständigen Auflösung der Leber erwärmt, wieder etwa 20 Minuten stehen gelassen und darauf nochmals kurz erhitzt. Nach dem Erkalten wird der Kolbeninhalt mit 7 Tropfen konz. Schwefelsäure und mit einer Glasperle versetzt und vorsichtig über schwacher Flamme etwa 25 Minuten lang erhitzt. Man vergrössert die

¹⁾ L. *Pincussen*, Mikromethodik, 4. Auflage, Berlin.

Flamme und hält den Kolbeninhalt bis zum Auftreten von Salpetersäuredämpfen im Sieden. Erscheint nun der Rückstand dunkel, so werden nach dem Erkalten 30 Tropfen konz. Salpetersäure sowie $0,75 \text{ cm}^3$ 4-n. Schwefelsäure zugegeben und über nicht zu grosser Flamme bis zur Trockne eingedampft. Falls der Rückstand immer noch eine dunkle Färbung aufweist, wird die Veraschung durch Zusatz von 30 Tropfen konz. Salpetersäure und $0,75 \text{ cm}^3$ 4-n. Schwefelsäure wiederholt. Zuletzt gibt man 3 Tropfen 35-proz. Perchlorsäure hinzu und erhitzt 10 Minuten über schwacher und 2—3 Minuten über stärkerer Flamme. Es empfiehlt sich, in diesem Stadium die Kölbchen mehrmals umzuschütteln.

Die noch leicht warme, aber vollkommen klare Veraschungslösung wird mit etwa 3 cm^3 destilliertem Wasser verdünnt. Erst nach Zugabe von $3\text{--}4 \text{ cm}^3$ 10-proz. Natronlauge werden 2 Tropfen Universalindikator hinzugefügt und unter fortwährendem gutem Mischen so lange tropfenweise Natronlauge dazugegeben, bis ein p_H von 10 erreicht ist (violette Farbe). Die alkalische Lösung wird $\frac{1}{2}$ Stunde stehen gelassen, mit 5-proz. Schwefelsäure auf ein p_H 7 gebracht (Umschlag nach gelbgrün), filtriert und im Messkölbchen auf 10 cm^3 aufgefüllt. In einem aliquoten Teil dieser Lösung wird das Kalium bestimmt.

b) Veraschung von getrockneten Organen.

Die Gewinnung des Trockenpulvers erfolgt am besten nach den Angaben von *Willstätter*, wobei das fein zerteilte Gewebe mindestens je 1 Stunde hintereinander mit Aceton, mit einer Mischung von Aceton und Äther (1:1) und zuletzt mit Äther behandelt wird. Nach dem Verdampfen des Äthers wird das Gewebe 1 Stunde lang bei 110°C getrocknet. Bei der Veraschung verfährt man im allgemeinen wie oben beschrieben, mit dem Unterschiede, dass man mit geringeren Säuremengen auskommt. Etwa 50 mg der getrockneten und fein pulverisierten Leber werden vorerst mit 30 Tropfen konz. Salpetersäure übergossen, wie vorher angegeben, unter Erwärmung aufgelöst und an Stelle von konz. Schwefelsäure mit $0,75 \text{ cm}^3$ 4-n. Schwefelsäure versetzt. Die weitere Behandlung des Gemisches erfolgt in gleicher Weise wie oben.

Ausfällung und Bestimmung des Kaliums.

Ist die Veraschung richtig durchgeführt, so begegnet die Fällung des Kaliums mittelst Natriumhexanitrokobaltat(III) und die Titration mittelst Kaliumpermanganat keinen besonderen Schwierigkeiten mehr. Man hält sich dabei an die bewährte, von *Kramer* und *Tisdall*¹⁾ angegebene Arbeitsweise und sorgt dafür, dass zur Analyse jeweils nicht mehr als 0,2—0,5 mg Kalium gelangen. Diese Menge

¹⁾ *Kramer, B. und Tisdall, F. F., J. Biol. Chem.* **46**, 339 (1921).

ist in ca. 50 mg frischer bzw. ca. 20 mg getrockneter Lebersubstanz enthalten.

Von verschiedener Seite wurde bereits auf die Notwendigkeit eines sehr gründlichen Auswaschens des Kaliumhexanitrokobaltat-Niederschlages hingewiesen. An Stelle von eiskaltem Wasser kann der Niederschlag zuerst zweimal mit 50-proz. Aceton behandelt werden. Die Überreste des Acetons werden an der Wasserstrahlpumpe abgesaugt und der Niederschlag zuletzt einmal mit eiskaltem Wasser behandelt. Im Hochsommer bietet dieses Verfahren einige Vorteile.

Zur Kontrolle des Arbeitsganges und besonders zur Feststellung eventueller Verluste beim Veraschen wurde in Lösungen von bekanntem Kaliumgehalt das Kalium einmal ohne und einmal nach der Veraschung bestimmt. Die Zahlen stellen Mittelwerte von Doppelanalysen dar.

Tabelle 2.
Kalium gefunden:

Ohne Veraschung mg	Mit Veraschung mg	Ohne Veraschung mg	Mit Veraschung mg
0,54	0,53	0,25	0,235
	0,53	0,54	0,53
	0,53	0,26	0,26
	0,53	0,24	0,24

Ein Urteil über die Brauchbarkeit der Arbeitsweise erlauben auch die Bestimmungen speziell zum Organ zugesetzter bekannter Kaliummengen.

Tabelle 3.

Ermittlung der zur Leber bzw. zum Blut zugesetzten bekannten Kaliummengen (Mittelwerte von Doppelanalysen).

Dem Gewebe zugesetztes Kalium in mg	Nach der Veraschung des Gewebes darin wiedergefundenes Kalium in mg
0,941	0,945
0,924	0,941
0,910	0,923
0,962	0,965

Bindungsformen des Kaliums.

Die Alkalibestandteile der tierischen Organe sind nicht einheitlich gebunden und weisen eine verschiedenartige Verteilung auf. So wird das Natrium hauptsächlich in den tierischen Flüssigkeiten

(Blut, Lymphe, Harn, Liquor cerebrospinalis usw.), und zwar vorwiegend in Begleitung der Anionen Chlor, Hydrogencarbonat, Carbonat und nur zum Teil als Phosphat angetroffen. Das Kalium dagegen ist grösstenteils an Phosphat gebunden und auf die einzelnen Organe (Muskel, Leber, Gehirn usw.) verteilt. In Begleitung der Phosphorsäure findet nun das Kalium seinen Weg sowohl zu den Kohlehydraten, Lipoiden, Eiweisstoffen wie zu den zahlreichen Zwischenprodukten dieser drei Körperklassen. Diese wechselvolle Bindung des Kaliums spielt auch bei dessen quantitativen Bestimmung in den Organen eine Rolle. Genau so wie etwa die Phosphorsäure bald als säurelösliche, bald als säureunlösliche, bald als Lipoidphosphorsäure usw. bestimmt werden kann, genau so kann auch der Gesamtkaliumgehalt in verschiedene Fraktionen zerlegt werden. Ein Teil des Gesamtkaliums der Organe kann mit organischen Lösungsmitteln wie Aceton und Äther abgetrennt werden. Dafür bieten u. a. die Kaliumverbindungen der Leber ein geeignetes Beispiel. Die Aceton-Ätherauszüge des Lebergewebes erweisen sich als kaliumhaltig. Die Menge des in den Aceton-Ätherauszug übergehenden Kaliums schwankt beträchtlich, wahrscheinlich je nach dem Gehalt der Leber an Lipoiden, Zuckerphosphorsäure-Estern sowie allgemein je nach den augenblicklichen Stoffwechselvorgängen in der Leberzelle. In einzelnen Versuchen wurden z. B. folgende Werte gefunden:

Tabelle 4.

Kaliumgehalt von frischen Rattenlebern in mg%	Von dem Gesamtkaliumgehalt der frischen Leber gingen jeweils in den Aceton-Ätherauszug über in mg%
492,85	80,19
428,95	101,05
462,10	50,84
490,23	145,73
501,75	169,65
505,48	92,15
432,50	86,57
465,27	91,71

Zusammenfassung.

1. Es werden nähere Angaben über eine zuverlässige Durchführung der Kaliumbestimmung in tierischen Organen gemacht. Als Veraschungsmittel hat sich die aufeinanderfolgende Anwendung von Salpeter-, Schwefel- und Perchlorsäure gut bewährt. Nach sorgfältiger Einstellung der verdünnten Veraschungslösung auf ein p_H 7 kann das Kalium mit Hilfe der Hexanitrokobaltat-Methode nach Kramer und Tisdall ohne Schwierigkeiten bestimmt werden.

2. Bei der Behandlung des frischen tierischen Gewebes, z. B. der Leber, mit Aceton und Äther geht ein beträchtlicher, aber jeweilen wechselnder Teil des Gesamtkaliums in den Aceton-Ätherauszug über. Die Bestimmung des absoluten Kaliumgehaltes eines Organs soll daher in dem feuchten und nicht in dem mit organischen Lösungsmitteln, wie Alkohol, Aceton, Äther, vorbehandelten Gewebe erfolgen.

Fräulein *Erika Wyss* bin ich für die treue Mitarbeit zu Dank verpflichtet.

Physiologisches Institut der Universität Bern.

75. Redoxgleichgewichte, Aciditätsgleichgewichte und die Absorptionsspektren bei Oxychinonen¹⁾

von G. Schwarzenbach und Hans Suter.

(10. V. 41.)

Als weitere Gruppe von Substanzen mit mesomeren Partikeln als molekulare Bausteine berichten wir heute über einige Oxychinone. Bei diesen sind nicht nur die Aciditätsgleichgewichte, sondern auch die Reduktions-Oxydations-Gleichgewichte einfach messbar. Die Redoxpotentiale, als Ausdruck der freien Energie dieser Reaktionen, sind ebenfalls für die Valenzchemie von besonderem Interesse, weshalb wir diese Potentiale hier mitteilen, neben den Aciditätskonstanten.

Das empirische Redoxpotential E_0 . Die Messung der Redoxpotentiale geschah durch Aufnahme reduktometrischer oder oxydimetrischer Titrationskurven in Lösungen bekannten p_H -Wertes mit grosser Pufferkapazität. Es wurde dabei stets dafür gesorgt, dass sich der p_H -Wert, die ionale Stärke und das Volumen der Lösung während der Titration praktisch nicht ändern. Auch wurde in einem Raumthermostaten bei der konstanten Temperatur von 25° gearbeitet. Unter diesen Umständen bekommen die Titrationskurven die vollkommen symmetrische Form des in Fig. 1 gegebenen Beispiels.

Die Ordinate misst dabei das Potential E einer Goldelektrode und die Abszisse die Menge des zugesetzten Reduktions- oder Oxydationsmittels in Äquivalenten x . Die Kurve beginnt mit einem Steilgebiet ($dE/dx = \text{gross}$) bei $x = 0$ und ein zweites Steilgebiet zeigt das Ende der Titration an. Dieses zweite Steilgebiet liegt also bei $x = 2$, wenn die Reduktion zwei Elektronen pro Molekel benötigt, wie das bei fast allen organischen Systemen der Fall ist (s. hingegen die Rhodizonsäure S. 629 u. 630).

¹⁾ Auszug aus der Diss. *Hans Suter*, Zürich 1940.