

letztzustände dieser Kohlenwasserstoffe auch bei der Betrachtung eines größeren Experimentalmaterials ausgezeichnet mit dem Gang der beobachteten Frequenzen der langwelligsten Absorptionsbanden übereinstimmt. Unter Berücksichtigung der bereits früher von Th. Förster<sup>1)</sup> ermittelten Werte für die Kohlenwasserstoffe I, II, III, IV, V, X konnten durch die Rechnung die folgenden Erfahrungssätze bestätigt werden: 1. Innerhalb einer Isomerenreihe (z. B. V, VI, VII, VIII, IX) liegt die langwelligste Absorptionsbande bei gewinkelter Ringangliederung („angularer Annullierung“) im Gebiet kürzerer Wellen als bei linearer. 2. Zweifache Ringangliederung am selben Ring (IX) wirkt stärker hypsochrom als solche an verschiedenen Ringen (VII, VIII). 3. Bei cis- und trans-bisangularer Angliederung liegen die Absorptionsbanden an derselben Stelle (VII, VIII). 4. Bei einer linear annellierten Homologenreihe (z. B. III, V, X) rückt die Lichtabsorption wesentlich rascher in das sichtbare Gebiet als bei der angularen Reihe (z. B. IV, VI, XI).

—VB 17—

<sup>1)</sup> Th. Förster, Z. physik. Chem. (B), 41, 287 [1938].

## Medizinisch-chemisches Kolloquium Freiburg

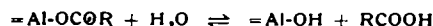
10. Juni 1947:

### G. HESSE: Über Adsorptionsanalyse

Die Adsorption beruht darauf, daß neutrale Molekeln miteinander Verbindungen eingehen können. Sie ist eine Gleichgewichtsreaktion, bei der je nach der Natur des Adsorptionsmittels und der zu adsorbierenden Substanz stärkere und schwächere Bindungskräfte bestehen. Bei der Trennung farbiger Substanzen, dem einfachsten Fall, erscheinen im Adsorptionsrohr farbige Blöcke. Diese sind jedoch nicht scharf abgegrenzt. Die Rechnung und die analytische Untersuchung ergibt eine sehr unsymmetrische Konzentrationsverteilung in der Adsorptionszone. Von den Lösungsmitteln werden am schwächsten von oberflächenaktiven Stoffen Kohlenwasserstoffe und  $\text{CCl}_4$  adsorbiert, am stärksten hydroxylhaltige Substanzen. Lösungsmittel, die stark adsorbiert werden, können zum Verdrängen einer bereits adsorbierten Substanz verwendet werden<sup>1)</sup>. Bei der Verdrängungsreaktion bilden sich im Rohr scharf getrennte Bereiche konstanter Zusammensetzung aus. Zur Charakterisierung der Wirksamkeit eines Adsorptionsrohres führte Tiselius den Begriff des spezifischen Verzögerungsvolumens ein; das ist die Menge Lösungsmittel einer Lösung, die das Rohr passiert, ohne die gelöste Substanz zu enthalten. Die gebräuchlichsten Adsorptionsmittel sind: C,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{AlO}(\text{OH})$ ,  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ,  $\text{MgCO}_3$ ,  $\text{ZnCO}_3$ ,  $\text{CaCO}_3$ , Ca-oxalat. Zu unterscheiden ist Quantität und Intensität der Adsorption. Sie lassen sich durch Aufnahme der Adsorptionsisotherme feststellen. In der Praxis sind sehr stark adsorbierende Mittel nicht erwünscht, dagegen Adsorptionsmittel mit einer großen Zahl von milden Zentren, d. h. einer großen Oberfläche. Ungleichmäßige Oberflächen sind ungeeignet. Man kann ein Adsorptionsmittel ausnivellieren und standardisieren durch Vorbelegung mit einem dritten Stoff, der gerade die besonders aktiven Zentren absättigt. Die Adsorptionsmittel können nach ihren Adsorptionsfähigkeiten geordnet werden. Diese Rangordnung gilt ziemlich weitgehend für die verschiedensten Substanzen; Kohlenwasserstoffe, Azo-Körper, OH-haltige,  $\text{NH}_2$ -haltige Verbindungen, Nitro-Verbindungen. Es gibt jedoch auch Ausnahmen. Die Adsorptionsanalyse wurde auf den Gaszustand übertragen, da hier übersichtlichere Verhältnisse als beim Lösungszustand erwartet wurden. Bei der Adsorption von Xyloldampf zeigte sich, daß die Adsorption ein langsamer Vorgang ist. Die Adsorptionsgeschwindigkeit wird zweckmäßigerweise durch die Zeit charakterisiert, bei der eine halbe Sättigung eintritt. Bei grobem Kieselgel ist z. B. die halbe Sättigung nach 34 sec erreicht, bei feinen Tonerdesorten nach 1 sec. Zur vollen Adsorption muß man das Gas langsam strömen lassen und große Säulen mit niedrigen Halbwertszeiten der Sättigung verwenden. Die Säulen haben z. T. ganz spezifische Effekte. So gibt es Säulen, die o-Xylol schneller als die p-Verbindung adsorbieren und solche, die p schneller als o adsorbieren.

Die Adsorption von Kationen, Anionen und amphoteren Stoffen hängt vom  $\text{pH}$  der Füllung ab. Es findet in der Säule eine Salzbildung statt. An der Tonerde lassen sich die Verhältnisse sehr gut übersehen. Man kann hier grund-

sätzlich 3 Arten von Säulen unterscheiden: 1. die Säule mit  $-\text{Al}=\text{O}$  Gruppen, die besonders zur Adsorption organischer Substanzen verwendet wird, 2. die basische und saure Säule mit  $=\text{Al}-\text{ONa}$  bzw.  $=\text{Al}-\text{Cl}$  Gruppen (oder anderen ionogenen Gruppen). Diese Säulen eignen sich zur Trennung von Ionen. So lassen sich z. B. die Metallionen nach ihrer Adsorbierbarkeit in eine Adsorptionsreihe einordnen, wobei jeweils die nachstehenden Elemente die vorstehenden aus der Säule verdrängen können, 3. die Säule mit  $=\text{Al}-\text{OCOR}$  Gruppen, deren Wirksamkeit stark  $\text{pH}$  abhängig ist, wie aus folgender Gleichung hervorgeht:



Fast alle Stoffe, die adsorbiert werden, adsorbieren UV Licht. Man kann daher nach H. Brockmann<sup>2)</sup> eine mit Morin vorbehandelte Tonerde, die im UV Licht fluoresziert, zum Sichtbarmachen adsorbierter farbloser Substanzen verwenden. Nach Syngé und Martin läßt sich das Adsorptionsmittel durch ein zweites Lösungsmittel ersetzen, das in einem feinkörnigen porösen Stoff aufgesaugt ist. Durch Verwendung von Indikatoren können farblose Substanzen mit verschiedenem  $\text{pH}$  sichtbar gemacht werden.

8. Juli 1947:

### G. HESSE: Die Anwendung der Adsorptionsmethoden in der Eiweißanalyse

Die verschiedenen Eiweiße unterscheiden sich chemisch in erster Linie durch das Mengenverhältnis der verschiedenen Aminosäuren. Die klassischen Methoden der Trennung der Aminosäuren durch Destillation der Ester (nach E. Fischer) und Ausschütteln des Eiweißhydrolysates mit Butylalkohol (nach Dakin) reichen nicht aus zur Analyse von Eiweißen und Aminosäuren, die in geringen Mengen vorkommen. Es wurden daher die modernen Methoden der Adsorptionsanalyse auf die Aminosäuren angewendet. Die ersten Adsorptionsversuche an Kohle ergaben, daß die aromatischen Aminosäuren viel stärker adsorbiert werden als die aliphatischen, und so eine Trennung der beiden Klassen stattfinden kann. Weitere Erfolge erzielte man durch Ausnutzung der heteropolaren Eigenschaften der Aminosäuren. So gelang es Turba, das Gemisch der auf Filter-Neutrol adsorbierten basischen Aminosäuren mit Pyridinsulfat auszuwaschen und dann auf Floridin zu trennen. Th. Wieland führte zu dem gleichen Zweck Aluminiumoxyd als Kationenaustauscher ein, und Freudenberg wies darauf hin, daß man die mineralischen Adsorptionsmittel durch organische Austauscher (Wofatite) ersetzen kann. Es gelang ihm auf diese Weise, das Hydrolysat des für die Blutgruppe A charakteristischen Stoffes, das Aminosäuren und Kohlehydrate enthält, zu trennen. Durch Anwendung des  $>\text{Al}-\text{Cl}$  Types (saures Aluminiumoxyd) als Adsorptionsmittel lassen sich die sauren Aminosäuren trennen. Das Cystin gerät auf diese Weise zu den sauren Aminosäuren, da sein isoelektrischer Punkt mit dem  $\text{pH}$  des Adsorptionsmittels zusammenfällt und es als Zwitterion fast unlöslich ist. Es läßt sich jedoch leicht zum Cystein reduzieren und durch Auswaschen von den sauren Aminosäuren trennen. Das Hauptproblem ist die Trennung der neutralen Aminosäuren. Man adsorbiert sie aus 80—90% Alkohol und löst sie mit Wasser wieder ab. Hier sind erst Teilerfolge zu verzeichnen. Man kann die Ergebnisse verbessern durch Überführen der Aminosäuren in ihre Derivate. Dadurch werden die neutralen Aminosäuren, adsorptionstechnisch gesehen, einander unähnlicher. So werden die neutralen Aminosäuren durch Formaldehyd-Behandlung sauer und lassen sich nun auf Grund ihrer verschiedenen  $\text{pH}$ -Werte teilweise trennen. Karrer stellte die farbigen, gut adsorbierbaren Azobenzyl-Derivate der Aminosäuren her. Syngé und Martin acetylierten die Amino-Gruppe. Dadurch werden die vorher neutralen Aminosäuren sauer und chloroform-löslich. Sie trübten die Kiesel säure mit einer wäßrigen Indicatorlösung und ließen die Chloroform-Lösung der acetylierten Aminosäuren durch die Säule laufen. Es bildet sich ein Verteilungsgleichgewicht aus und in der Säule entstehen Adsorptionsbänder, die an den Indikatorumschlägen erkennbar sind. Bei dieser Methode sind durch Variation der Derivate und Lösungsmittel weitere Fortschritte zu erwarten. Turba oxydiert und decarboxyliert die Aminosäuren durch Ninhydrin. Die dabei primär entstehenden Imine gehen in die Aldehyde über, die über die gelben Dinitrophenylhydrazone leicht getrennt und charakterisiert werden können. Tiselius stellte eine Standardmethode für eine Eiweißanalyse auf, für die etwa 50 mg Substanz benötigt werden. In seiner Anordnung verbinden sich verschiedene Adsorptionsmittel (Kohle, Wofatit C, Wofatit KS, Amberlit) in einer zerlegbaren Säule übereinander. Tiselius stellte Versuche mit einem künstlichen Gemisch von Aminosäuren schwierigen Trennungsverhältnisses an und erzielte gute Ergebnisse. Die neueste Methode verwendet Filterpapier statt Adsorptionsröhren und erlaubt, die Verwendung kleiner Substanzmengen. — Die Adsorptionsmethode wurde mit Erfolg auf einfach gebaute Peptide angewendet. So ermittelte Waldschmidt-Leitz die Zusammensetzung des Clupeins und Clupeans<sup>3)</sup>. In diesen Peptiden besteht eine streng systematische Anordnung der Aminosäurebausteine. Nach Bergmann besteht in den Eiweißen eine bestimmte Zahlenordnung des Vorkommens der Grundbausteine. Nach den verschiedenen analytischen Verfahren werden 65—96% des Eiweißhydrolysates gefunden. Der bisher nicht erfaßte Rest kann andere Aminosäuren, z. B. Oxyaminosäuren, oder Kohlehydrate oder prosthetische Gruppen wie Phosphorsäure usw. enthalten.

—G.B.

<sup>1)</sup> Vgl. diese Ztschr. 59, 30 [1947]; 59, 199 [1947].

<sup>2)</sup> Vgl. diese Ztschr. 59, 176 [1947].