

Säure aber war konstitutionell unverändert geblieben, und nur eine kleinere Racemisierung war eingetreten.

Gleichartiges Erhitzen mit 1-*n*. Schwefelsäure verursachte eine beinahe vollständige Spaltung in Thio-äpfelsäure usw., die von teilweiser Racemisierung begleitet war; länger andauernde Behandlung mit konz. Chlorwasserstoffsäure bei Zimmertemperatur ergab dasselbe Resultat, doch war in diesem Fall die Spaltung weniger, die Racemisierung der Spaltungsprodukte weiter vorgeschritten.

Während also die Äthyl-carbamin-thioäpfelsäure (dank ihres Überganges in das Anhydrid) große Beständigkeit gegen saure Reagenzien, aber geringe gegen alkalische zeigt, liegen die Verhältnisse bei der Dimethyl-carbamin-thioäpfelsäure gerade umgekehrt.

Stockholm, Organ.-chem. Laborat. d. Techn. Hochschule, November 1922.

45 Julius Svehla: Gleichgewicht zwischen Amino-säuren und Formaldehyd in ihren wäßrigen Lösungen¹⁾.

[Aus d. Chem. Institut d. k. Ungar. Tierärztl. Hochschule Budapest.]

(Eingegangen am 25. September 1922.)

I. Die gegenseitige Einwirkung von Amino-säuren und Formaldehyd wurde zu allererst von H. Schiff²⁾ untersucht, der feststellte, daß hierbei 2H-Atome der NH₂-Gruppe durch den Rest CH₂ des Formaldehyds ersetzt werden. Die zuerst untersuchte Asparaginsäure ergab hierbei eine krystallisierbare Verbindung, die im Gegensatz zur Asparaginsäure eine starke Säure ist; sie zersetzt sich in Gegenwart von viel Wasser derart, daß ihre Acidität einer $\frac{1}{10}$ -*n*.Lauge gegenüber geringer ist, als gegenüber einer *n*-Lauge.

Durch spätere Forscher, insbesondere durch L. P. L. Sørensen, wurde diese Reaktion dann zur »Formol-Titration« ausgearbeitet, mittels welcher sich eine quantitative Bestimmung der Amino-säuren ausführen läßt; doch wurde gefunden, daß die Reaktion zwischen Amino-säuren und Formaldehyd mithin auch die Titration mittels Kalilauge, nicht vollständig ist, indem es unter der Einwirkung von Kalilauge und Formaldehyd zu einem Gleichgewichtszustande kommt.

¹⁾ Auszug aus d. ungar. Inaugural-Dissertat., Budapest 1919.

²⁾ H. Schiff, A. 310, 59; 319, 25; 325, 59.

Von physikalisch- und organisch-chemischem, sowie auch von biochemischem Gesichtspunkt aus erschien es mir interessant, mit Hilfe der chemischen Mechanik nachzuweisen, ob Amino-säuren und Formaldehyd an obiger Reaktion tatsächlich mit der von Schiff angegebenen Zahl von Molekülen teilnehmen, ferner auch festzustellen, inwiefern die Konstante des erwähnten chemischen Gleichgewichtes eine Funktion der Art der jeweils in Frage stehenden Amino-säure ist.

II. Da die käuflichen Formalin-Lösungen erhebliche Mengen von Methylalkohol enthalten, habe ich zu meinen Versuchen Lösungen von Formaldehyd verwendet, die aus Trioxymethylen hergestellt wurden. Die Konzentration der Lösungen wurde nach dem Romijnschen Verfahren¹⁾ bestimmt.

III. Die Gleichgewichts-Konstanten der Reaktionen zwischen Formaldehyd und Glykokoll, Alanin und Valin wurden auf Grund der Gefrierpunkts-Erniedrigung festgestellt. Zu diesem Behufe habe ich aus einer Formaldehyd- und einer Amino-säure-Lösung von bekannten Konzentrationen dreierlei Lösungen hergestellt; es wurden: a) die ursprünglichen Formaldehyd-Lösungen und b) die ursprünglichen Amino-säure-Lösungen mit Wasser auf das doppelte Volumen verdünnt; c) gleiche Volumina der ursprünglichen Lösungen des Formaldehyds und der Amino-säure vermischt. In jeder der angeführten drei Lösungen wurde die Gefrierpunkts-Erniedrigung festgestellt²⁾.

Aus den Gefrierpunkten der reinen Lösungen des Formaldehyds und der Amino-säuren ließ sich die Gefrierpunkts-Erniedrigung berechnen, die in ihrem Gemische durch jede der beiden Komponenten hätte erzeugt werden müssen, falls sie sich miteinander nicht verbunden hätten; aus dem Unterschied zwischen dieser berechneten Gefrierpunkts-Erniedrigung und der im Versuche tatsächlich beobachteten Gefrierpunkts-Erniedrigung aber konnte ich die zur Zeit des Gleichgewichts bestehende Konzentration der neu entstandenen Verbindung berechnen.

In der 1. und 3. Spalte der nachfolgenden Tabelle I. sind die Konzentrationen der mit Wasser verd. Formaldehyd- und Amino-säure-Lösungen

¹⁾ Romijn, Fr. 36, 18—21.

²⁾ Vor jedem Versuche wurde zunächst in einem Vorversuche die Konvergenz-Temperatur festgestellt. Bei der Bestimmung des Gefrierpunktes wurde die Menge des ausgefrorenen Wassers in Rechnung gezogen. In eigens hierzu angestellten Versuchen habe ich mich auch davon überzeugt, daß das Formalin in den von mir verwendeten Konzentrationen keine das Versuchsergebnis störende Polymerisation erfährt (B. Tollens und F. Mayer, B. 21, 1571, 3503 [1888]).

(C_{Ald} , $C_{\text{Säure}}$) angegeben; in der 2. und 4. Spalte die diesen Lösungen entsprechenden korrigierten Gefrierpunkte (Δ_{Ald} , $\Delta_{\text{Säure}}$), in der 5. Spalte die Summe dieser Gefrierpunkte ($\Delta_{\text{A}} + \Delta_{\text{S}}$), in der 6. Spalte die beobachteten, korrigierten Gefrierpunkte des Lösungsgemisches ($\Delta_{\text{A+S}}$), in der 7. Spalte der Unterschied Δ_x der beiden letzterwähnten Daten ($\Delta_{\text{A}} + \Delta_{\text{S}} - \Delta_{\text{A+S}}$); in der 8. Spalte die Konzentration c_x der neu entstandenen Verbindung, berechnet auf Grund der Formel $c_x = \frac{\Delta_x}{1.85}$; in der letzten Spalte die Gleichgewichts-Konstanten K , berechnet auf Grund der Formel $K = \frac{(C_{\text{Ald}} - C_x)(C_{\text{Säure}} - C_x)}{C_x}$. Sämtliche Konzentrationen sind in Mol/l-Einheiten ausgedrückt.

Wie aus Tabelle I zu ersehen ist, weisen die Werte, die für die Gleichgewichts-Konstante erhalten wurden, erhebliche Schwankungen auf. Beim Alanin, besonders aber beim Valin rührt dies offenbar davon her, daß der absolute Wert von Δ_x ein recht geringer ist und die Versuchsfehler deshalb entsprechend schwer ins Gewicht fallen. Beim Glykokoll rühren die Schwankungen davon her, daß die molekulare Gefrierpunkts-Erniedrigung nicht immer den theoretischen Wert von 1.85° , sondern einen wechselnden, von der Konzentration der Lösung abhängenden Wert hat. Da andererseits Δ_x hier recht groß ist, sind die auf Grund der molekularen Gefrierpunkts-Erniedrigung 1.85° berechneten Werte c_x mit einem Fehler behaftet.

IV. Die Gleichgewichts-Konstanten bei Alanin, Leucin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Phenyl-alanin und Tyrosin.

An den höheren Gliedern der Amino-säuren-Reihe versuchte ich die Gleichgewichts-Konstanten dadurch festzustellen, daß ich ihre Löslichkeit einerseits in reinem Wasser, andererseits in Formaldehyd-Lösungen von verschiedener Konzentration bestimmte. Diese Bestimmungen wurden bei 25° ausgeführt, wobei mir als Thermostat ein mit einer Schüttelvorrichtung versehenes, ca. 50 l Wasser fassendes Wasserbad diente, dessen Temperatur durch einen Thermoregulator konstant erhalten werden konnte. Die Versuche wurden derart ausgeführt, daß ich in Reagens-Flaschen mit eingeschliffenem Glasstopfen 50 ccm Wasser einfüllte, die feste Phase im Überschuß hinzufügte, die Flasche mit Paraffin luftdicht verschloß und dann 2—3 Tage im Thermostaten schüttelte. Von dem Zeitpunkt des eingetretenen Gleichgewichtes habe ich mich durch Bestimmung des Amino-säure-Gehaltes der von Zeit zu Zeit herausgenommenen Proben überzeugt. Die Konzentration

des Formaldehyds wurde mittels der bereits erwähnten Romijn-schen jodometrischen Methode, die der Amino-säure nach dem D. D. van Slykeschen Verfahren¹⁾ bestimmt. In eigens hierzu angestellten Versuchen habe ich mich auch davon überzeugt, daß die Anwesenheit von Formaldehyd auf das Verfahren nicht störend einwirkt.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in nachfolgender Tabelle II enthalten, in welcher durch $c_{\text{Säure}}$ die Löslichkeit der Amino-säure in Wasser, durch $c_{\text{Ald.}}$ die Konzentration des als Lösungsmittel verwendeten Formaldehyds, durch C die Löslichkeit der Amino-säure in der verwendeten Formaldehyd-Lösung, durch c_x die Zunahme ihrer Löslichkeit, also $C - c_{\text{Säure}}$ bezeichnet ist. Die in der letzten Spalte der Tabelle enthaltenen Dissoziationskonstanten habe ich nach der Formel $\frac{(C_{\text{Ald.}} - C_x) c_{\text{Säure}}}{C_x} = K$ berechnet. Sämtliche Konzentrationen sind in Mol/l-Einheiten ausgedrückt.

Vergleicht man die auf Grund der Kryoskopie und der Löslichkeits-Bestimmung erhaltenen Gleichgewichts-Konstanten der aliphatischen Amino-säuren mit ihrem Molekulargewicht oder mit der Zahl ihrer Kohlenstoffatome, so ergibt sich, daß die Dissoziations-Konstanten der entstandenen *N*-Methylen-Derivate mit zunehmendem Molekulargewicht stets größer sind, und daß durch die Zahl der Carboxylgruppen die Reaktion, wie es scheint, in dem Sinne beeinflußt wird, daß sich das Gleichgewicht zugunsten der neu entstandenen Verbindung verschiebt.

Aus den mit Phenyl-alanin und Tyrosin ausgeführten Versuchen geht hervor, daß die Löslichkeit aromatischer Amino-säuren in Gegenwart von Formaldehyd keine Zunahme erfährt; denn auch bei konzentrierteren Formaldehyd-Lösungen (4.9 Mol) konnte mit Hilfe dieses empfindlichen Verfahrens keine Konzentrationszunahme nachgewiesen werden, die die zulässigen Versuchsfehler überschritten hätte²⁾.

V. Das Gleichgewicht zwischen Leucyl-glycin und Formaldehyd

wurde, wie im vorangehenden Abschnitt geprüft; die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind aus nachstehender Tabelle III ersichtlich, wo

$$K_1 = \frac{(C_{\text{Ald.}} - C_x) c_{\text{Säure}}}{C_x}, \quad K_2 = \frac{(C_{\text{Ald.}} - 2 C_x)^2 c_{\text{Säure}}}{C_x}$$

¹⁾ Abderhalden, Hdb. d. biochem. Arbeitsmethod. 6, 278.

²⁾ Die aromatischen Amino-säuren lassen sich vermöge ihrer Phenyl- bzw. Phenoxy-Gruppe auch ohne Zusatz von Formaldehyd mit Lauge titrieren.

Die für die Gleichgewichts-Konstante aus der voranstehenden ersten Formel berechneten Werte (K_1) weisen eine entschiedene Zunahme in einer Richtung auf; rechnet man nach dem bimolekularen Typus, so erhält man besser übereinstimmende Werte (K_2). Dieser Umstand weist darauf hin, daß das Leucyl-glycin mit zwei Formaldehyd-Molekülen reagiert. Da jedoch auf diese Weise in der mit Formaldehyd versetzten Lösung dreierlei Arten von methylenierten Amino-säure-Molekülen anwesend sein können, nämlich solche, in denen die Substitution der NH_2 -Gruppe durch die Methylengruppe nur im Leucin- oder nur im Glykokoll- bzw. in beiden Resten zugleich erfolgt war, so bestehen gleichzeitig viererlei Gleichgewichte, und es ist klar, daß auch die nach der zweiten Gleichung berechneten Werte (K_2) nicht konstant sein können.

Zusammenfassung.

Es wurde die zwischen Amino-säuren und Formaldehyd in verdünnten wäßrigen Lösungen vor sich gehende Reaktion geprüft und die entsprechende Gleichgewichts-Konstante auf Grund nachstehender Gleichung bestimmt:

$$\frac{\text{CAld.} \cdot \text{CSäure}}{\text{CAld.-Säure}} = K.$$

Ich kam zu folgenden Ergebnissen:

| | K |
|--------------------------|------|
| Glykokoll | 1.73 |
| Alanin | 14.1 |
| Valin | 28.9 |
| Leucin | 36.8 |
| Asparaginsäure | 25.7 |
| Glutaminsäure | 30.7 |

Es darf angenommen werden, daß Leucyl-glycin in verdünnten wäßrigen Lösungen mit zwei Formaldehyd-Molekülen reagiert.

Diese Versuche wurden auf Anregung und unter Leitung des Hrn. Prof. Dr. Julius Gróh ausgeführt.

Tabelle I.
Glykokoll.

| CAld. | $\Delta\text{Ald.}$ | CSäure | $\Delta\text{Säure}$ | $\Delta\text{A} + \Delta\text{S}$ | $\Delta\text{A} + \text{S}$ | Δ_x | c_x | K |
|--------|---------------------|--------|----------------------|-----------------------------------|-----------------------------|------------|-------|------|
| 1.0427 | 1.885 | 0.8156 | 1.468 | 3.353 | 2.869 | 0.484 | 0.261 | 1.66 |
| 1.0454 | 1.889 | 0.5452 | 0.988 | 2.877 | 2.532 | 0.345 | 0.186 | 1.66 |
| 1.0488 | 1.895 | 0.4102 | 0.762 | 2.657 | 2.397 | 0.260 | 0.140 | 1.75 |
| 0.6949 | 1.284 | 0.5437 | 0.987 | 2.271 | 2.013 | 0.258 | 0.139 | 1.62 |
| 0.5217 | 0.973 | 0.4082 | 0.756 | 1.729 | 1.577 | 0.152 | 0.082 | 1.75 |
| 1.0455 | 1.888 | 0.2333 | 0.433 | 2.321 | 2.173 | 0.148 | 0.080 | 1.85 |
| 1.0433 | 1.885 | 0.1087 | 0.202 | 2.087 | 2.014 | 0.073 | 0.039 | 1.80 |

Mittel 1.73

| Alanin. | | | | | | | | |
|---------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|--------|-------------|
| 1.3929 | 2.500 | 0.3788 | 0.716 | 3.216 | 3.171 | 0.045 | 0.0243 | 20.0 |
| 1.1581 | 2.106 | 0.5100 | 0.967 | 3.073 | 3.020 | 0.053 | 0.0286 | 19.0 |
| 1.0502 | 1.904 | 0.2853 | 0.530 | 2.434 | 2.402 | 0.032 | 0.0173 | 16.0 |
| 1.0452 | 1.895 | 0.5663 | 1.082 | 2.977 | 2.916 | 0.061 | 0.0330 | 16.4 |
| 0.5247 | 0.975 | 0.2852 | 0.531 | 1.506 | 1.487 | 0.019 | 0.0102 | 13.9 |
| 0.8973 | 1.276 | 0.7589 | 1.475 | 2.751 | 2.690 | 0.061 | 0.0330 | 14.6 |
| | | | | | | | | Mittel 16.7 |

| Valin. | | | | | | | | |
|--------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|--------|-------------|
| 1.7023 | 2.894 | 0.5776 | 1.036 | 3.930 | 3.880 | 0.050 | 0.0270 | 34.2 |
| 1.5686 | 2.698 | 0.1792 | 0.330 | 3.028 | 3.012 | 0.016 | 0.0086 | 31.0 |
| 1.0994 | 1.935 | 0.5418 | 0.978 | 2.913 | 2.875 | 0.038 | 0.0205 | 27.4 |
| 1.0981 | 1.933 | 0.2692 | 0.493 | 2.426 | 2.406 | 0.020 | 0.0108 | 26.0 |
| 1.0823 | 1.905 | 0.4153 | 0.756 | 2.661 | 2.636 | 0.025 | 0.0135 | 31.8 |
| 0.7139 | 1.292 | 0.5750 | 1.085 | 2.327 | 2.296 | 0.031 | 0.0167 | 23.3 |
| | | | | | | | | Mittel 28.9 |

Tabelle II.

| | CSäure | Cald. | C | c _x | K |
|--------------------------|--------|-------|--------|----------------|-------------|
| Alanin | 1.668 | 2.037 | 1.880 | 0.212 | 14.4 |
| | | 1.719 | 1.843 | 0.175 | 14.7 |
| | | 1.216 | 1.798 | 0.130 | 13.9 |
| | | 1.001 | 1.777 | 0.109 | 13.7 |
| | | 0.813 | 1.750 | 0.082 | 14.9 |
| | | 0.407 | 1.714 | 0.046 | 13.1 |
| | | 0.203 | 1.690 | 0.022 | 13.7 |
| | | 0.626 | 1.734 | 0.066 | 14.1 |
| | | | | | Mittel 14.1 |
| Leucin | 0.1274 | 2.504 | 0.1357 | 0.0083 | 37.2 |
| | | 2.003 | 0.1341 | 0.0067 | 36.8 |
| | | 1.502 | 0.1320 | 0.0046 | 40.3 |
| | | 1.335 | 0.1318 | 0.0042 | 39.2 |
| | | 1.001 | 0.1311 | 0.0037 | 33.2 |
| | | 0.501 | 0.1292 | 0.0018 | 34.2 |
| | | | | | Mittel 36.8 |
| Asparaginsäure | 0.0386 | 2.036 | 0.0680 | 0.0293 | 26.4 |
| | | 1.223 | 0.0556 | 0.0169 | 27.5 |
| | | 1.731 | 0.0636 | 0.0248 | 26.5 |
| | | 1.019 | 0.0534 | 0.0147 | 26.3 |
| | | 0.816 | 0.0506 | 0.0119 | 28.1 |
| | | 0.672 | 0.0492 | 0.0105 | 24.3 |
| | | 0.408 | 0.0447 | 0.0061 | 25.4 |
| | | 0.204 | 0.0419 | 0.0033 | 23.5 |
| | | | | | Mittel 25.7 |

| | | | | | |
|-------------------------|--------|-------|--------|--------|-------------|
| Glutaminsäure | 0.0599 | 2.038 | 0.0961 | 0.0362 | 33.1 |
| | | 1.732 | 0.0921 | 0.0322 | 31.6 |
| | | 1.229 | 0.0826 | 0.0227 | 31.8 |
| | | 1.002 | 0.0787 | 0.0188 | 31.2 |
| | | 0.815 | 0.0748 | 0.0149 | 30.1 |
| | | 0.408 | 0.0673 | 0.0074 | 32.4 |
| | | 0.204 | 0.0637 | 0.0038 | 31.5 |
| | | 0.082 | 0.0616 | 0.0017 | 28.2 |
| | | 0.041 | 0.0608 | 0.0009 | 26.7 |
| | | | | | Mittel 30.7 |
| Phenyl-alanin | 0.1470 | 2.504 | 0.1479 | 0.0009 | — |
| | | 2.003 | 0.1471 | 0.0001 | — |
| | | 1.763 | 0.1478 | 0.0008 | — |
| | | 4.938 | 0.1481 | 0.0011 | — |
| Tyrosin | 0.0047 | 2.504 | 0.0047 | — | — |
| | | 2.003 | 0.0045 | — | — |
| | | 4.938 | 0.0048 | — | — |
| | | 4.073 | 0.0047 | — | — |

Tabelle III.

| CSäure | Cald. | C | c _x | K ₁ | K ₂ | |
|-------------------------|--------|-------|----------------|----------------|----------------|------|
| Leucyl-glycin | 0.1758 | 2.504 | 0.3100 | 0.1342 | 3.10 | 6.54 |
| | | 2.003 | 0.2644 | 0.0886 | 3.79 | 6.61 |
| | | 1.763 | 0.2462 | 0.0704 | 4.22 | 6.57 |
| | | 1.211 | 0.2064 | 0.0306 | 6.78 | 7.59 |
| | | 0.938 | 0.1948 | 0.0187 | 8.64 | 7.62 |
| | | 0.875 | 0.1927 | 0.0161 | 9.37 | 7.75 |

46. Carl Faurholt: Über den Nachweis von Salpetersäure mit Ferrosulfat.

[Aus d. Chem. Laborat. d. Kgl. Tierärztl. u. Landwirtschaftl. Hochschule in Kopenhagen.]

(Eingegangen am 4. Dezember 1922.)

I. Im hiesigen Unterrichtslaboratorium hat man bisher zum Nachweis der Salpetersäure das folgende, wohl allgemein übliche Verfahren angewandt:

2 ccm der durch Kochen der Analysen-Substanz mit Soda bereiteten Lösung wurden mit verd. Schwefelsäure angesäuert und mit dem gleichen Volumen konz. Schwefelsäure gemischt. Die abgekühlte Lösung wurde dann mit einer schwach sauren Ferrosulfat-Lösung (ca. 20-proz. FeSO₄ · 7H₂O) überschichtet.

Die Resultate waren dabei merkwürdig schwankend, indem die braune Zone oft momentan, häufig aber erst nach einiger Zeit er-