

ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ. — Μέθοδος προσδιορισμοῦ μικρῶν ποσοτήτων ἐπινεφριδίνης διὰ φωτομετρικῆς ὁδοῦ*, ὑπὸ Γ. Ν. Θώμη. Ἀνεκοινώθη ὑπὸ κ. Κ. Ζέγγελη.

Ἐφαρμόσαντες τὴν μέθοδον Atherton-Seidell (*J. of Biol. Chem.* 15, 197) διὰ τὸν χρωματομετρικὸν προσδιορισμὸν τῆς ἐπινεφριδίνης διεπιστώσαμεν ὅτι ἡ ἔντασις τῆς προκυπτούσης δι' ὀξειδώσεως χροιάς εἶναι κατ' εὐθεῖαν ἀνάλογος πρὸς τὴν ἐν διαλύσει ποσότητα οὐσίας μόνον ἐντεῦθεν ὠρισμένου τινὸς ὀρίου πυκνότητος. Πέραν τοῦ ὀρίου τούτου ἡ μέθοδος ἄγει εἰς ἀνακριβῆ ἀποτελέσματα.

Ἐτέρα πηγὴ λάθους εἶναι ἡ περίπτωσις παρουσίας ἐν τῷ ὑπ' ἀνάλυσιν διαλύματι μικρᾶς περισσείας ὑδροχλωρικοῦ ὀξέος, συχνάκις προστιθεμένου, ἰδίᾳ ἐν τοῖς δι' ἐνέσεις διαλύμασιν τῆς ἐπινεφριδίνης, πρὸς ἐπαύξησιν τῆς πυκνότητος εἰς ἰόντα ὑδρογόνου, συνθήκης συντελοῦσης εἰς τὴν ὡς οἶόν τε διατήρησιν τῶν ἐν λόγῳ διαλυμάτων (T. Vacek, *C. R. Soc. Biolog.*, 97, 1739). Ἐν παρομοίᾳ περιπτώσει τὸ διοξειδίου μαγγανίου ἐπενεργοῦν ταυτοχρόνως ἐπὶ τοῦ ὑδροχλωρικοῦ ὀξέος ἐλευθεροῖ χλώριον, ὅπερ ἀλλοιοῖ τὴν χροιάν. Δέον ὅθεν, ἐὰν διαπιστωθῇ παρουσία ἐλευθέρου ὑδροχλωρίου, νὰ ἐξουδετερωῦνται τοῦτο πρὸ τῆς προσθήκης τοῦ ὀξειδωτικοῦ¹

Αἱ ἀνωτέρω παρατηρήσεις ἤγαγον ἡμᾶς εἰς τὴν παροῦσαν μελέτην, ἧς κύριος σκοπὸς ἦτο ὁ καθορισμὸς τῶν ὀρίων πυκνότητος, μεταξὺ τῶν ὁποίων ἡ μέθοδος παρέχει τὴν ποθουμένην ἀκρίβειαν.

Ἐκ παραλλήλου πρὸς τὴν χρωματομετρικὴν ὁδὸν ἐμελετήθη ἡ χρωῖσις τῶν ὀξειδωθέντων διαλυμάτων καὶ ἡ ἀπόχρωσις ἐν σχέσει πρὸς τὴν πυκνότητα, διὰ μετρήσεως τοῦ βαθμοῦ περατότητος τούτων εἰς φωτεινὰς ἀκτῖνας διαφόρου μήκους κύματος, βασιζόμενοι δὲ ἐπὶ τῶν καμπυλῶν ἀπορροφῆσεως καὶ ἀποσβέσεως, ἃς ἐχαράξαμεν κατόπιν ἐπανειλημμένων παρατηρήσεων τῇ βοήθειᾳ τοῦ φωτομέτρου Pulfrich ἐπὶ γνωστῆς περιεκτικότητος διαλυμάτων, κατελήξαμεν εἰς τὸν διὰ φωτομετρικῆς ὁδοῦ προσδιορισμὸν τῆς ἐπινεφριδίνης.

A.—ΧΡΩΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ. Αἱ ἐκ τῶν γενομένων τυφλῶν πειραμάτων παρατηρήσεις εἶναι αἱ ἀκόλουθοι:

* **G. N. THOMIS.—Dosage photométrique de l'adrenaline.**

¹ Συχνάκις αἱ φύσιγγες ἐπινεφριδίνης ἐκτὸς τῆς μικρᾶς περισσείας ὑδροχλωρικοῦ ὀξέος ἐμπεριέχουσιν ὡς συντηρητικὸν καὶ θειῶδες τοιοῦτον (M. MALMY *J. pharm. et chim.*, 6, 1927, σ. 401). Ἐν παρομοίᾳ περιπτώσει συνιστῶμεν τὸν ἐπὶ μέρους τοῦ διαλύματος προσδιορισμὸν τῆς ποσότητος τοῦ ὀξέος τούτου μέσῳ διαλ. $\frac{4}{10}$ J καὶ τὴν ὅλην μετὰ ταῦτα ὀξυμέτρησιν τοῦ ὑγροῦ (HCl, H₂SO₄, HJ), ἵνα προκειμένου νὰ προσδιορισθῇ ἐπὶ ἐτέρου μέρους τοῦ αὐτοῦ διαλύματος ἡ ἐπινεφριδίνη, ὀξειδωθῇ πρότερον τὸ SO₂ διὰ τῆς καθορισθείσης ποσότητος J καὶ ἐξουδετερωθῇ ἐπακριβῶς τὸ ὑγρόν.

1^{ov}) Ἡ ἔντασις τῆς προκυπτούσης χροιάς εἶναι σταθερὰ δι' ἐκάστην πυκνότητα εἰς φυσικὴν ἢ συνθετικὴν ἐπινεφριδίνην.

2^{ov}) Ἡ διαφορὰ εἰς ἔντασιν χροιάς μεταξὺ δύο διαφόρου πυκνότητος διαλυμάτων εἶναι ἐπὶ τοσοῦτον σφαιστέρα, ὅσον ἀραιότερα τὰ ἐν λόγῳ διαλύματα.

3^{ov}) Ἀπὸ τῆς πυκνότητος 0,008 % ἄρχεται ἤδη ἀμβλυνομένη ἢ εὐαίσθησις τῆς μεθόδου.

4^{ov}) Ἀπὸ τῆς πυκνότητος 0,02 % παύει πλέον πᾶσα ἀναλογία μεταξὺ ἐντάσεως χροιάς καὶ περιεκτικότητος τῶν διαλυμάτων εἰς ἐπινεφριδίνην.

Διὰ τὴν παρασκευὴν τεχνητοῦ τύπου παραβολῆς ἐχρησιμοποίησαμεν διάφορα μίγματα ἀλάτων χρωμίου, οὐρανυλίου, κοβαλτίου καὶ χρυσοῦ, τοῦ συνδυασμοῦ τῶν δύο τελευταίων ὑπὸ τὰς κατωτέρω ἀναλογίας κριθέντος ὡς τοῦ καταλληλοτέρου.

Χλωριούχου κοβαλτίου, γραμμάρ.	0,20	0,25	0,35	0,50	0,75	0,9	1,0
Διαλ. χλωριούχου χρυσοῦ 5 %, κ. ἐκ.	0,08	0,10	0,14	0,20	0,30	0,36	0,4
Ἄπεσταγμ. ὕδατος, ὅσον ἀρκεῖ διὰ	10 κέ.	10 κέ.	10 κέ.	10 κέ.	10 κέ.	10 κέ.	10
Ἀντίστοιχ. περιεκτικότης εἰς ἐπινεφριδίνην δι' ἐκάστην βαθμίδα %	0,002	0,0025	0,0035	0,005	0,0075	0,009	0,01

Ἡ χρωματομετρικὴ αὕτη κλίμαξ, διατηρουμένη ἐπὶ πολλοὺς μῆνας ἐὰν φυλαχθῇ ἐπιμελῶς ἀπὸ τοῦ φωτός, ἐπιτρέπει τὸν μετὰ μεγάλῃς προσεγγίσεως προσδιορισμὸν τῆς ἐπινεφριδίνης εἰς τὰς συνήθεις ἀραιώσεις τῶν φαρμακευτικῶν φυσίγγων.

Β.—ΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ. Ἡ σειρά αὕτη τῶν πειραμάτων ἐξετελέσθη τῇ βοηθείᾳ ὀριζοντίου φωτομέτρου συστήματος Pulfrich. Ὡς ὀξειδωτικὸν μέσον ἐχρησιμοποιεῖτο ἀντὶ τοῦ πυρολουσίτου ὑπεροξειδίου μολύβδου.

Δίδομεν ἐν περιλήψει τὰς ἐκ τῆς μελέτης ταύτης προκυψάσας παρατηρήσεις:

1^{ov}) Ἡ ἐκ τῆς ὀξειδώσεως τῆς ἐπινεφριδίνης λαμβανομένη χροιά δὲν ἀκολουθεῖ τὸν νόμον τῶν Lambert-Beer εἰ μὴ ἐντὸς ὀρισμένων ὀρίων πυκνότητος, ἐπαληθευθείσης τῆς διὰ γυμνοῦ ὀφθαλμοῦ γενομένης, ὡς ἀνωτέρω ἀναφέρομεν, ἐμπειρικῆς παρατηρήσεως.

2^{ov}) Ἀπὸ τῆς πυκνότητος 0,01 % αἰ διὰ τοῦ φωτομέτρου μετρήσεις καθίστανται δυσχερεῖς λόγῳ μεγάλῃς ἀπορροφήσεως φωτός.

3^{ov}) Ἐν περιπτώσει μεγαλυτέρων πυκνοτήτων καὶ ἐὰν ἀκόμη γίνῃ χρῆσις κυψελίδων¹ μικροτέρων, οἱ ὑπολογιζόμενοι διὰ τὰς ἀναγινωσκομένας περατότητας συντελεστοὶ ἀποσβέσεως δὲν εἶναι πλέον κατ' εὐθεῖαν ἀνάλογοι πρὸς τὴν πυκνότητα.

4^{ov}) Διὰ πυκνότητας μικροτέρας τῆς 0,001 % ἰσχύει μὲν ὁ νόμος Lambert-Beer,

¹ Ἐξ ἐδικῆς ὑέλου ὀπτικά δοχεῖα συσκευῆς Pulfrich.

δέον ὅμως νὰ ἐκτελεθῆται ἡ φωτομέτρησης ἐπὶ παχυτέρας στιβάδος ὑγροῦ, χρησιμοποιομένης πρὸς τοῦτο μεγαλύτερας κυψελίδος, πρὸς ἐλάττωσιν τῆς ἐντάσεως τοῦ ἐξερχομένου φωτὸς καὶ ἀκριβεστέραν ἐκτίμησιν τῆς ἀπορροφῆσεως.

5^{ov}) Ἴνα ἐπιτευχθῆ ὁ ἀκριβῆς προσδιορισμὸς τῆς ἐπιπεφριδίνης διὰ τῆς φωτομετρικῆς ταύτης μεθόδου, δέον ἢ πυκνότης τοῦ ἐξεταζομένου διαλύματος νὰ κυμαίνεται μεταξὺ τῶν ὀρίων 0,002 - 0,006 %.

6^{ov}) Ὁ χρόνος ἐπιδρᾶς ἐπὶ τῆς ἐντάσεως τῆς χροιάς, καθισταμένης ἀντιληπτῆς φωτομετρικῶς ἐνάρξεως τῆς ἐξασθενίσεως ταύτης ἤδη μετὰ παρέλευσιν εἰκοσιτετραώρου ἀπὸ τῆς προσθήκης τοῦ ὀξειδωτικοῦ.

Ἐν τῷ κατωτέρῳ πίνακι δίδεται ὁ μέσος ὄρος τῆς ἐντάσεως τῶν διερχομένων φωτεινῶν ἀκτίνων διαφόρου μήκους κύματος διὰ πυκνότητα διαλύματος ἐπιπεφριδίνης 0,005 % καὶ πάχος στιβάδος 10 χστ. Οἱ ἀριθμοὶ προέκυψαν κατόπιν ἐπανειλημμένων παρατηρήσεων τῇ βοήθειᾳ τῶν σημειομένων ὀπτικῶν ἡθμῶν τοῦ ὄργάνου.

Ἐν τῇ τελευταίᾳ στήλῃ δίδομεν ἀντιστοιχῶς τοὺς ὑπολογισθέντας συντελεστὰς ἀποσβέσεως¹.

Ἡθμοὶ S	Μήκος κύματος	Περατότητες J	Συντελ. Ἀποσβέσεως E
S/61	615 mμ	91,50 %	0,03858
S/57	570	48,90 %	0,31069
S/53	530	16,57 %	0,78068
S/50	495	8,75 %	1,05799
S/47	462	10,02 %	0,99913
S/43	434	18,90 %	0,72354

Καταλληλότεροι ἡθμοὶ διὰ τὴν μέτρησιν εἶναι οἱ 57, 53, 50 καὶ 47, ὅλως δ' ἰδιαιτέρως οἱ δύο τελευταῖοι.

Αἱ σχέσεις αἱ χαρακτηρίζουσαι φωτομετρικῶς τὴν ἐν λόγῳ χροιάν εἶναι αἱ ἀκόλουθοι:

$$\frac{E_{57}}{E_{53}} = 0,389 \quad \frac{E_{53}}{E_{50}} = 0,73 \quad \frac{E_{50}}{E_{47}} = 1,06$$

Ἐπὶ τῇ βάσει τῶν σταθερῶν, ἃς σημειοῦμεν ἀνωτέρω, δυνάμεθα εὐχερῶς νὰ ὑπολογίσωμεν τὴν περιεκτικότητα ἀγνώστου τινος διαλύματος εἰς ἐπιπεφριδίνην, χρησιμοποιοῦντες τὸν τύπον

$$Cx = C \frac{E_x}{E} \quad (1)$$

ἐνθα ὁ παρονομαστὴς E, ἀναλόγως τοῦ χρησιμοποιουμένου ἡθμοῦ, δύναται νὰ ἀντικατασταθῇ δι' ἐνὸς ἐκ τῶν δοθέντων συντελεστῶν ἀποσβέσεως διὰ τὴν πυκνότητα $C = 0,005 \%$ καὶ κυψελίδα 10 χστμ. Ἡ Cx εὐρίσκεται διὰ φωτομετρήσεως τοῦ ἀγνώστου ὑγροῦ καὶ ἀντικαταστάσεως τοῦ ἀριθμητικοῦ E_x ὑπὸ τῶν ἀντιστοιχούντων εἰς τὰς ἀναγνωσθεῖσας νέας περατότητας συντελεστῶν ἀποσβέσεως.

Παράδειγμα ἐκ τῶν ἡμετέρων τυφλῶν πειραμάτων.

Λαμβάνομεν διὰ μικροπροχοίδος λ. χ. 3,85 κ.ἐκ., διαλύματος (0,1 %) ἐπιπεφριδίνης, προσθέτομεν 0,1 γρ. ὑπεροξειδίου μολύβδου καὶ ἀραιοῦμεν εἰς 100 κ. ἐ. Μετὰ παρέλευσιν μιᾶς

¹ Ἀρνητικοὶ λογάριθμοι τῶν ἐπὶ τοῦ τυμπάνου τοῦ φωτομέτρου ἀναγνωσθεισῶν περατοτήτων.

ώρας διηθοῦμεν καὶ ἐκ τοῦ διηθήματος πληροῦμεν τὴν ἐτέραν ἐκ τῶν εἰδικῶν τοῦ φωτομέτρου κυψελίδων πάχους 10 χιλ. (ἡ δευτέρα κυψελὶς πληροῦται ἀπεσταγμένου ὕδατος). Ἡ φωτομέτρσις δίδει :

	57	57,56 %	0,23988
S	53	J 25,02 %	E _x 0,60829
	50	15,45 %	0,81107
	47	17,10 %	0,76700

Ἀντικαθιστῶντες τὰς τιμὰς ταύτας τῶν E_x ἐν τῷ τύπῳ (1) εὐρίσκομεν διὰ τὸν ἡθμὸν

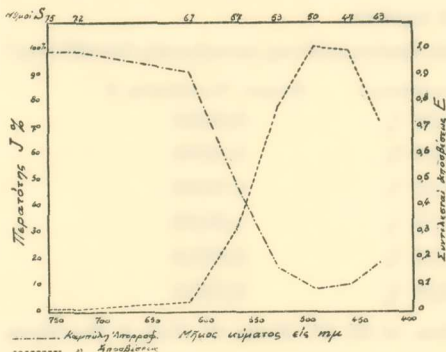
$$S57 \quad C_x = 0,005 \cdot 0,23988 : 0,31069 = 0,0038604$$

$$S53 \quad C_x = 0,005 \cdot 0,60829 : 0,78068 = 0,0038958$$

$$S50 \quad C_x = 0,005 \cdot 0,81107 : 1,05799 = 0,0038330$$

$$S47 \quad C_x = 0,005 \cdot 0,76700 : 0,99913 = 0,0038380$$

ἢτοι κατὰ μέσον ὄρον ἡ αἰτουμένη περιεκτικότης τοῦ ἀραιωθέντος διαλύματος εἰς ἐπινεφριδίνην εἶναι 0,0038573 % καὶ ἡ τοῦ ἀρχικοῦ ἔπομένως 0,100198 % (ἀντὶ 0,1 %).



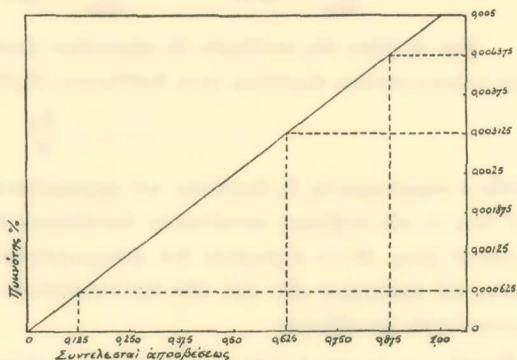
Σχ. 1.

παρέχουσι κατὰ σύμπτωσιν περατότητας, ὧν οἱ συντελεσταὶ ἀποσβέσεως δίδουσι κατ' εὐθείαν τὴν αἰτουμένην πυκνότητα ἐὰν διαιρεθῶσι διὰ τοῦ 200. Ἐν τῇ καμπύλῃ τῶν E47 συναρτήσῃ τῆς πυκνότητος μεταξὺ 0 καὶ 0,005 % (σχ. 2) ἡ σύμπτωσις αὕτη καθίσταται πλέον καταφανής.

Ἡ μέθοδος εἶναι ταχεῖα καὶ ἀκριβής.

RÉSUMÉ

En dosant l'adrénaline d'après la méthode colorimétrique Atherton-Seiddell, on risque d'obtenir des résultats inexacts si l'on ne tient pas compte de certains facteurs. Ainsi p. ex., la présence d'ac. chlorhydrique



Σχ. 2.

libre, ajouté souvent surtout dans les solutions injectables d'adrénaline, peut donner lieu à des erreurs graves, si on n'a pas soin de neutraliser la solution avant l'addition de l'oxydant. Dans le cas contraire le chlore libéré altère profondément l'intensité et la nuance de la coloration.

La concentration joue de même un rôle capital, puisqu'à partir de 0,02%, il n'y a plus de rapport direct entre l'intensité de coloration et la teneur du liquide en adrénaline. Une échelle-type stable à couleur très voisine peut être préparée à base de sels de cobalt et or.

Voie photométrique. Ayant utilisé le photomètre Pulfrich, nous avons constaté que cette réaction colorée de l'adrénaline ne suit la loi de Beer qu'entre certaines limites de concentration. Au dessus de 0,01%, les coefficients d'extinction correspondants aux perméabilités observées ne sont plus proportionnels à la concentration, celle-ci devant être comprise entre 0,002 et 0,006% afin que les résultats obtenus par cette méthode soient exacts.

La lumière et le temps influencent la nuance.

Finissant, nous donnons les courbes d'absorption et d'extinction, tracées après une série d'observations sur solution d'adrénaline à 0,005% et pour épaisseur de cuvette de 10 mm. A base de ces constantes on peut calculer aisément la teneur d'une solution inconnue en se rappelant que

$$C_x : C = E_x : E.$$

ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΓΕΩΛΟΓΙΑ.—**Beiträge zur Entwicklung des oberen Miocäns und seiner Fauna in Akarnanien***. Von Max K. Mitzopoulos.

Der vorliegenden Arbeit liegt eine kleine Bivalven- und Gastropoden-Fauna zu Grunde, welche Herr Prof. Renz¹ gelegentlich seiner geologischen Studien im akarnanischen Küsten- und Inselgebiet gesammelt hat. Dieses Material wurde mir in liebenswürdiger Weise von Herrn Prof. Renz zur Bearbeitung überlassen, wofür ich ihm auch an dieser Stelle meinen besten Dank ausspreche.

Die folgende Abhandlung soll einen Beitrag zur Kenntniss des Miocäns in Griechenland liefern. Die interessante Frage der stratigraphisch-faziellen Verhältnisse des akarnanischen Miocäns sowie der Vergleich mit anderen griechischen und mediterranen Vorkommnissen wird späteren Untersuchungen vorbehalten bleiben, welche sich auf ein grösseres Material und umfangreichere Beobachtungen stützen.

* Μ. Κ. ΜΗΤΣΟΠΟΥΛΟΥ.—'Η ανάπτυξις τοῦ ἀνωτέρου Μειοκαίνου εἰς τὴν Ἀκαρνανίαν.

¹ RENZ C. Zur Geologie der akarnanischen Küsten und Inseln (Westgriechenland). *Verhandl. der Naturforschenden Gesellschaft in Basel.*, 36, 1925, p. 301.