

κόπων, ἐργάζονται μετὰ μεγίστης προθυμίας καὶ ἐνθουσιασμοῦ πρὸς ἐπιτυχίαν αὐτοῦ. Δι' ὃ ἐκφράζω καὶ ἀπὸ τοῦ βήματος τῆς Ἀκαδημίας πρὸς πάντας τούτους θεομὰς εὐχαριστίας.

ΜΕΤΕΩΡΟΛΟΓΙΑ— *Βασιλείου Αἰγινήτου*: Τὸ κλίμα τῆς Κρήτης καὶ ἡ σταθερότης τοῦ κλίματος τῆς Ἑλλάδος ἀπὸ τῶν Μινωϊκῶν χρόνων*.

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΜΗ ΜΕΛΩΝ

ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ.—*Zur Electrophotometrischen Papierchromatographie der Aminosäuren, von Anastasios Ant. Christomanos*** Ἀνεκοινώθη ὑπὸ τοῦ κ. Γεωργ. Ἰωακείμογλου.

Es sind verschiedene Methoden vorgeschlagen worden um die bei der Chromatographie entstehende purpurblaue Ninhydrinfärbung quantitativ colorimetrisch zu erfassen. Unter anderen ist vorgeschlagen worden, die entstehende Flecke auszuschneiden, mit Aceton auszuziehen und den gefärbten Auszug zu colorimetrieren¹). Dieser Methode haftet aber der grosse Mangel an dass, bei geringen Aminosäuremengen bzw. bei sehr schwachen Purpurfärbung die Färbungsintensität der Acetonauszüge sehr viel zu wünschen übrig lässt. Liegen gleichzeitig mehrere Analysen vor so gestaltet sich diese Extractionsmethode sehr umständlich.

Amerikanische Autoren, so vor allem BULL und Mitarbeiter², haben mit einen eigens konstruierten Apparat, die Farbtiefe der Ninhydrinreaction auf dem Filterpapiergemessen. Dabei ist aber die Oberflächenausdehnung unberücksichtigt geblieben. Andere Autoren vergleichen die quantitativ zu bestimmenden Flecke, mit solchen bekannten Aminosäuregehaltes³, wobei ausser dem Subjectiven Beurteilungsfactor, die Notwendigkeit, des Vorhandenseins stets frischer Vergleichschromatogramme — die Farbe verblasst sehr schnell — den Analysengang erschweren. Aus den genannten Gründen haben wir für unsere Chromatographische Analysen eine Elektronenphotometrische Bestimmungsmethode ausgearbeitet mit direkter Ablesung der Farbtiefe auf dem Filterpapier

* Ἐδημοσιεύθη εἰς τὴν σειρὰν τῶν Πραγματειῶν τῆς Ἀκαδημίας, τόμ. 18 (1954) ἀρ. 3.

** ΑΝΑΣΤ. Α. ΧΡΗΣΤΟΜΑΝΟΥ: Ἡλεκτροφωτομετρικὴ χρωματογραφία ἐπὶ διηθητικοῦ χαρτοῦ.

¹ Naftalin, Nature. 1948. 161, 763.

² Journ. Amer. Chem. Soc. 1949. 71,550.

³ Polson, Mosley and Wykoff. Science, 1947. 105,603.

unter gleichzeitiger Oberflächenmessung des Fleckes mittels Millimeterpapier. Die Farbtiefe der Flecken kann mit jedem Elektrophotometer bestimmt werden, nur muss der Ausschlag des Milliamperemeters beim Durchgang des Lichtstrahles durch das weisse ungebrauchte Filterpapier ein maximaler sein, weil sonst die Ausschläge zu gering ausfallen würden, und eine Messung der Farbtiefedifferenzen der Ninhydrinflecke illusorisch werden würde. Zu diesem Zweck muss die Lichtintensität verstärkt, und ein entsprechender Regu-

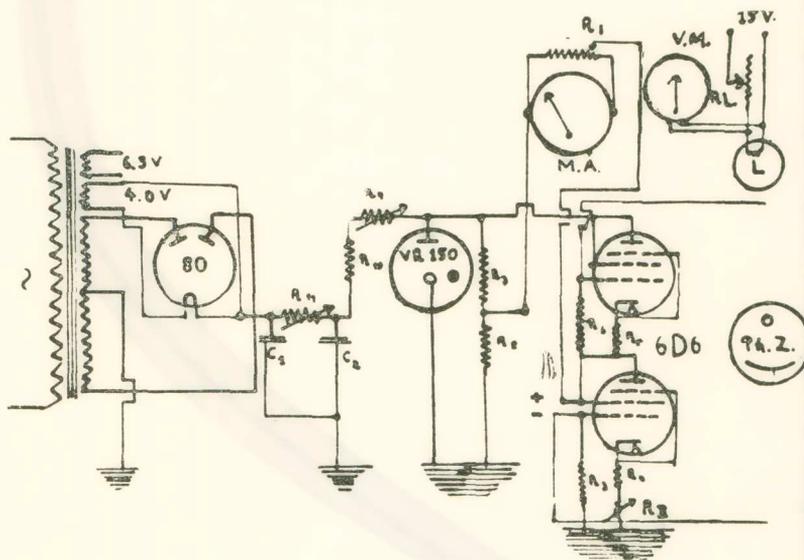


Fig. 1

lationsmechanismus eingeschaltet werden, anderenteils muss der Lichtstrahl durch Vorschaltung einer Irisblende derart an Breite verringert werden, dass sein Querschnitt den Querdurchmesser eines Aminosäureninhydrinflecks von 0,001 mg. entspricht, ca. 8 mmq.

Wir haben für unsere Zwecke ein Elektronenphotometer gebaut. Die beiden 6D6 Röhren sind in Kaskadenschaltung derart kompensiert, dass die kleinste Änderung im Elektrostaten Feld der Photozelle, einen entsprechenden Ausschlag des Milliamperemeters herbeiführt. Der Nullpunkt sowie die Ausschlagsbreite des Mil/meters kann durch regulierbare Widerstände beliebig verschoben werden können. Die Schaltungsskizze ist in grossen Zügen in Fig. I wiedergegeben. Nicht genug soll betont werden dass für einen konstanten Strom Sorge getragen werden muss, denn ohne diese Voraussetzung

ist jede Photoelektrische Messung absolut falsch. Entsprechende Apparate sind zwar teuer aber unumgänglich.

METHODISCHES

Das Chromatogramm wird 24 Stunden nach der Entwicklung auf Millimeterpapier aufgelegt¹, und mittels eines Pauschpapieres die Ränder der

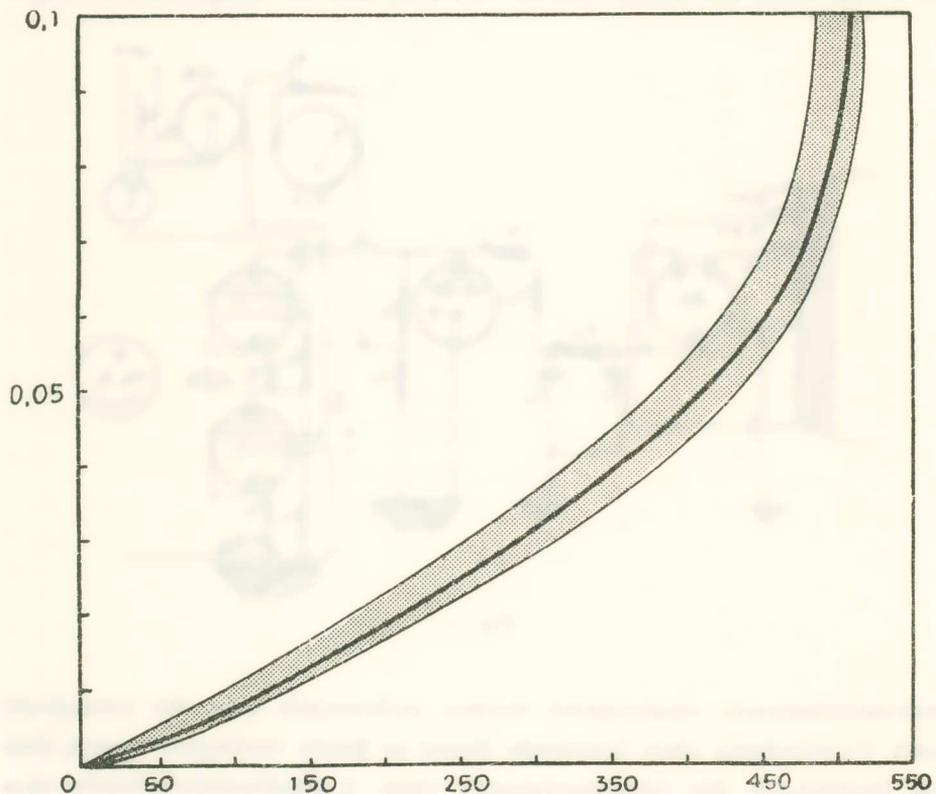


Fig. 2

Flecken umschrieben. Jedes Quadrat welches von der Randlinie berührt wird, wird mitgezählt. Die Messung ist äusserst genau. Es stellte sich dabei heraus dass die Produkte aus Oberflächengrösse (in quad. mm. ausgedrückt) und Photometerangabe (in willkürliche Skalateile ausgedrückt), wenn man als Abzisse die Oberflächen und als Ordinate die mg. der für den Eichungs-

¹ Nach Ablauf von 24 Stunden ist die Farbtiefe der Ninhydrinflecke am stärksten, später tritt eine Verblässung ein.

versuch verwendeten Aminosäuremengen schreibt, auf einer gleichmässigen Kurve liegen, Fig. 2. Es ist aus dieser Kurve¹ ersichtlich dass mit steigender Konzentration der Aminosäure, die Differenzen kleiner werden und eine exakte Messung nur bei Konzentrationen von 0,0005 bis höchstens 0,2 mg. Aminosäure möglich ist. Dies schmälert in keiner Weise das Gebrauchsfeld der Methode, da bekanntlich diese Konzentrationsgrenze in der Chromatographie üblich sind.

Hat man nun einmal das Produkt aus Oberfläche und Farbtiefe für eine bestimmte Aminosäure z. B. Glykokoll festgestellt, so kann man diese Zahl als Vergleichseinheit für die übrigen Aminosäuren gebrauchen, wobei aber die gefundene Aminosäurewerte mit einen Berichtigungsfaktor für jede einzelne Aminosäure multipliziert werden müssen. Dieser Faktor ist gleich dem Verhältniss $\frac{\text{Mol. Gew. der Aminosäure}}{\text{Mol. Gew. des Glykokolls}}$. Er ist für Alanin 1,2 für Leucin 1,8 für Tyrosin 2,4 u. s. w.

Selbstverständlich sind die Resultate der Messungen nur dann zu vergleichen wenn die gleichen Auslaufflüssigkeiten bei der Chromatographie benutzt wurden, da die Ausbreitung der Aminosäuren bzw. der Ninhydrinflecke, verschiedengrosse, je nach der Lösungsflüssigkeit, Oberflächen einnehmen.

BESPRECHUNG DER RESULTATE

Die hier angeführte Methode eignet sich in ausgezeichnete Weise zur approximativen quantitativen Bestimmung der Aminosäuren, sowohl in Hydro- oder Autolysate wie auch für klinische Untersuchungen im Blut und Harn. Sie vereinigt den Vorzug der Geschwindigkeit mit relativer Exaktheit der Messung. Da das Produkt aus Oberfläche und Farbtiefe gemessen wird, und nicht nur eine dieser beiden Grössen allein, werden Fehlresultate in grösseren Ausmass vermieden. Es sei ausdrücklich hier betont dass sie nur als Orientierende Methode Wert besitzt und nicht die absoluten quantitativen Aminosäurebestimmungsmethoden ersetzen kann, die aber für geringe Substanzmengen wie sie in der Chromatographie üblich sind nicht leicht verwendet werden können, zumal bei laufenden Untersuchungen.

Die Methodik der Messung sowohl der Obertlächenausdehnung des Fleckes wie die der Farbtiefe ist unter anderem angezeigt weil, bei Konzen-

¹ Der Schattige Teil der Kurve zeigt die Fehlerbreite an.

trationen von 0,1 mg. bis 0,04 mg. Aminosäure, die Farbtiefe der Ninhydrinflecke nicht sehr verschieden ist, wobei aber die Oberflächegrösse der Flecke sich merklich ändert. Genau das Gegenteil ist bei Konzentrationen von der Grössenordnung 0,0001 bis 0,0001 mg. Aminosäure zu bemerken.

Von ausschlaggebender Bedeutung ist weiterhin eine gleichmässige Bespritzung mit dem Ninhydrinreagenz bei der Entwicklung, weil bei ungleichmässiger Verteilung, irreführende Farbtiefen vorgetäuscht werden können. Erhitzung der Chromatogramme zur beschleunigten Entwicklung ist nicht angezeigt. Man muss auch in Rechnung ziehen dass, eine vollständige Rückgewinnung oder Bestimmung der zu untersuchenden Aminosäuregemische oder hydrolytisches Abbauprodukte nicht durchführbar ist, wie Arbeiten von FOWDEN und PENNEY erwiesen haben¹. Es werden von diesen Autoren beim einmaligen Auslauf Verluste bis 10 %, und beim zweidimensionalen Chromatogramm bis zu 25 %, festgestellt. Weiterhin ist die Temperatur von grosser Bedeutung bei der Ausbreitung der Ninhydrinflecke. Erhöhte Ausstemperatur vergrössert die Oberflächenausdehnung.

Zusammenfassung.—Es wird eine Methode beschrieben bei der die Oberflächenausdehnung und die Farbtiefe der Aminosäureninhydrinflecke direkt auf dem Filterpapier gemessen werden. Die Messungen liefern für eine und dieselbe Aminosäure unter gleichen Bedingungen, aber bei verschiedenen Konzentrationen, eine Kurve, die als Berechnungsbasis für approximativ quantitative Bestimmungen in Aminosäuregemische dienen kann.

Es werden die Vor- und Nachteile der Electrophotometrischen Papierchromatographie dargelegt, und auf die Brauchbarkeit der Methode für *schnelle orientierenden* Analysen bei Autolysaten, Hydrolysaten, und für klinische Zwecke hingewiesen.

Π Ε Ρ Ι Λ Η Ψ Ι Σ

Περιγράφεται μέθοδος ποσοτικού προσδιορισμού τῶν ἀμινοξέων εἰς τὰ χρωματογραφήματα, ἀφ' ἑνὸς μὲν διὰ μετρήσεως τῆς ἐπιφανειακῆς ἐκτάσεως τῶν διὰ νινυδρίνης κηλίδων τῶν ἀμινοξέων κατ' εὐθειᾶν ἐπὶ αὐτοῦ τούτου τοῦ χάρτου, ἀφ' ἑτέρου δὲ διὰ τῆς μετρήσεως τῆς ἐντάσεως τοῦ χρωματισμοῦ τῶν ἐν λόγῳ κηλίδων. Τὸ γινόμενον τῶν δύο τούτων μετρήσεων ἑνὸς καὶ τοῦ αὐτοῦ ἀμινοξέος,

¹ Nature, 1950. 165, 846.

π. χ. γλυκοκόλλης εις διαφόρους ποσοτικάς αναλογίας, επιτρέπει την κατασκευήν καμπύλης, η οποία δύναται να ληφθῆ ὡς βάσις μετρήσεως δι' ἄλλα ἀμινοξέα.

Δυνάμεθα διὰ τῆς ἀνωτέρω μεθόδου νὰ διαχωρίσωμεν εὐκρινῶς ποσότητας ἀμινοξέων κυμαινομένας ἀπὸ 0,0005 μέχρις 0,2 χγμ.

Ἐν συνεχείᾳ περιγράφεται ὑπὸ τοῦ συγγραφέως εἰδικὸν φωτόμετρον, κατασκευασθὲν ὑπ' αὐτοῦ, οὗχ' ἦιτον ὅμως αἱ μετρήσεις δύναται νὰ γίνουσι καὶ εἰς ἄλλα φωτόμετρα ὑπὸ ὠρισμένας προϋποθέσεις.

Ἡ ἀνωτέρω μέθοδος δὲν δύναται βεβαίως νὰ ἔχη τὴν ἀκρίβειαν τῶν εἰδικῶν χημικῶν μεθόδων προσδιορισμοῦ τῶν ἀμινοξέων, ὑπερέχει ὅμως τούτων ἕνεκα τῆς ταχύτητος μεθ' ἧς δύναται νὰ ἐκτελεσθῆ ὡς καὶ τῶν μικροτάτων χρησιμοποιουμένων διὰ τὴν ἀνάλυσιν ποσοτήτων τῆς πρὸς ἐξέτασιν οὐσίας.

Πλὴν τῶν καθαρῶς βιοχημικῶν σκοπῶν, ἡ μέθοδος αὕτη ἐνδείκνυται διὰ ταχείας ἀναλύσεις οὕρων καὶ αἵματος ἐν τῇ κλινικῇ, ἰδίως ἐν συνδυασμῷ πρὸς τὸν προσδιορισμὸν ὀλικοῦ ἄζωτου.

ΜΕΤΕΩΡΟΛΟΓΙΑ.—Περὶ τῆς συχνότητος τῶν βροχῶν τῶν συνοδευομένων ὑπὸ ἀνέμων ἐντάσεως $\gg 10$ μ/s ἐν Ἀθήναις*, ὑπὸ Δεων. Ν. Καραπιπέρη. Ἀνεκοινώθη ὑπὸ τοῦ κ. Βασιλ. Αἰγινήτου.

Ἡ κινητικὴ ἐνέργεια (E) τῶν σταγόνων τῆς βροχῆς δίδεται ὑπὸ τῆς σχέσεως¹

$$E = \frac{1}{2} \mu \kappa^2$$

ὅπου μ παριστᾷ τὴν μᾶζαν τοῦ ὕδατος τῆς βροχῆς τὴν περιεχομένην εἰς 1 κυβικὸν μέτρον ἀέρος καὶ κ τὴν ταχύτητα τοῦ ἀνέμου.

Ἐκ τῆς ἀνωτέρω σχέσεως συνάγεται ὅτι ἡ ἐνέργεια τῶν βροχῶν αὐξάνει μετὰ τῆς ταχύτητος τοῦ ἀνέμου, ἕνεκα δὲ τούτου ἡ μελέτη τῆς συγχρόνου δράσεως τοῦ ἀνέμου καὶ τῆς βροχῆς παρουσιάζει μεγάλην σπουδαιότητα.

Ἐπὸ τῶν τεχνικῶν θεωροῦνται γενικῶς ὡς βλαβεραὶ διὰ τὰς οἰκοδομὰς αἱ βροχαὶ αἱ συνοδευόμεναι ὑπὸ ἀνέμου ταχύτητος $\gg 10$ μ/δ ἢ ἐντάσεως \gg τοῦ 6 τῆς ἀνεμομετρικῆς κλίμακος Beaufort, διότι ἡ βροχή, ὅταν συνοδεύεται ὑπὸ ἀνέμων μεγάλης σχετικῶς ἐντάσεως δρᾷ εἰς τὴν πλειονότητα τῶν περιπτώσεων βλαβερῶς ἐπὶ τῶν τοίχων, θυρῶν, παραθύρων κ.λ.π. ἑξωτερικῶν τμημάτων τῶν οἰ-

* L. N. CARAPIPERIS: Sur la fréquence des pluies suivies par vents d'une force $\gg 10$ m/s à Athènes.

¹ B. Hrudica, Meteorologie im Dienste der Bautechnik. «Das Wetter» 1937, σ. 37 - 47, 69 - 76.