

# Ἐπίδρασις τῆς λευκωματίνης κατὰ τὰς ἀντιδράσεις Maclagan, Kunkel καὶ Hanger

ὑπὸ Σ. Α. ΓΑΡΖΩΝΗ, Α. Η. ΕΥΑΓΓΕΛΟΠΟΥΛΟΥ καὶ Κ. Α. ΝΙΚΟΛΑΪΔΗ

Ἡ αὐξησις τῆς γ-σφαιρίνης, ὡς μόνου παράγοντος διὰ τὴν πρόκλησιν θολερότητος ἢ κροκιδώσεως τοῦ ὁροῦ, ἠμφισβητήθη ὑπὸ ἐρευνητῶν, οἵτινες προέβαλον καὶ πειραματικὰ δεδομένα ὑπὲρ τῆς ἀπόψεως τῆς ἀνασταλτικῆς δράσεως τῆς λευκωματίνης ἐπὶ τῶν θολεροτικῶν καὶ κροκιδωτικῶν ἀντιδράσεων τοῦ ὁροῦ τοῦ αἵματος, χωρὶς ὁμως νὰ λύσωσι τὸ ὑφιστάμενον πρόβλημα τῆς ἐρμηνείας τοῦ φαινομένου τῆς θολερότητος καὶ τῆς κροκιδώσεως.

Ἐν τῇ παρούσῃ ἐργασίᾳ ἐμελετήθησαν διὰ τῆς στατιστικῆς ἐπεξεργασίας αἱ τιμαὶ τῶν χημικῶς προσδιορισθέντων κλασμάτων λευκωματίνης καὶ σφαιρινῶν, ἐναντι τῶν τιμῶν τῶν ἀντιδράσεων Maclagan, Kunkel καὶ Hanger, 250 ὁρῶν ἀσθενῶν νοσηλευθέντων ἐν τῇ Θεραπευτικῇ Κλινικῇ τοῦ Πανεπιστημίου Ἀθηνῶν.

Ὁ συντελεστὴς ὁμοσχετίσεως τῆς λευκωματίνης, κατ' ἐπέκτασιν δὲ καὶ τοῦ λευκωματικοῦ πηλίκου, πρὸς τὰς ἐξετάσεις Maclagan καὶ Kunkel, εὐρέθῃ ἀρνητικός, κατ' ἀντίθεσιν πρὸς τὸν τῶν σφαιρινῶν, ὅστις εὐρέθῃ θετικός. Ἀποδεικνύεται οὕτω, ἄφ' ἑνὸς μὲν, ἡ ἀντίστροφος σχέσις μεταξὺ λευκωματίνης καὶ τοῦ βαθμοῦ θετικότητος τῶν ἀντιδράσεων, ἄφ' ἑτέρου δέ, ἡ κατ' εὐθὺν λόγον σχέσις μεταξὺ αὐτῶν καὶ τῶν σφαιρινῶν. Τὸ αὐτὸ, ἐτι σαφέστερον, συμπεραίνεται καὶ ἐκ τῆς συσχετίσεως τῶν ἀρνητικῶν ἀντιδράσεων πρὸς τὸ σύνολον αὐτῶν, δι' ἑν ἕκαστον τῶν κλασμάτων.

Αἱ θολεροτικαὶ ἀντιδράσεις τοῦ ὁροῦ τοῦ αἵματος ἐγνωρίσαν, ἀλλὰ καὶ συνεχίζουσι εἰσέτι διατηροῦσαι τὴν αὐτὴν εὐρείαν ἐφαρμογὴν.

Αἱ ἀντιδράσεις αὗται τοῦ ὁροῦ τοῦ αἵματος καὶ τῶν πρωτεϊνικῶν ἐν γένει διαλυμάτων ἀπαιτοῦσι τὴν συμβολὴν πλειόνων παραγόντων, βασιζονται ὁμως ἰδιαιτέρως ἐπὶ τῆς ἰδιότητος τῶν λευκωμάτων νὰ ἐνοῦνται μετὰ βαρέων μετάλλων ἢ ἄλλων ὀργανικῶν ἐνώσεων, μεγάλου μοριακοῦ βάρους, πρὸς σχηματισμὸν ἀδιαλύτων ἰζημάτων.

Ἡ προσθήκη ἀλάτων ἀντιμονίου (ἀντίδρασις Chopra) προκαλεῖ ταχέως, ἐντὸς ὀλίγων λεπτῶν, κροκιδωσιν τῶν λευκωμάτων τοῦ ὁροῦ τῶν πασχόντων ἐκ Κάλια-ἄζαρ, χρονίας ὑποτροπιαζούσης ἐλονοσίας καὶ ἄλλων παρασιτώσεων.

Ὁ διχλωριούχου ὑδράργυρος (ἀντίδρασις Takata-Ara) προκαλεῖ κροκιδωσιν τῶν λευκωμάτων τοῦ ὁροῦ τοῦ αἵματος κατὰ τὴν διαδρομὴν λοιμωδῶν νόσων τῆς πνευμονίας, τοῦ Κάλια-ἄζαρ, τῆς ἐλονοσίας καὶ ἐπὶ νοσημάτων τοῦ ἥπατος (1).

Διάλυμα θυμόλης καὶ ἐναιώρημα κεφαλίνης-χοληστερόλης, (ἀντίδρασις Maclagan καὶ Hanger) προκαλεῖ θολερότητα τοῦ ὁροῦ ἐπὶ λοιμώξεων, ὡς καὶ ἐπὶ παθήσεων τοῦ ἥπατος (2) καὶ δύναται νὰ συμβάλῃ εἰς τὴν διαφορικὴν διαγνωστικὴν μεταξὺ ἀποφρακτικοῦ καὶ ἥπατοκυτταρικοῦ ἰκτέρου (1,3,4).

Ἐπίσης διαλύματα θειικοῦ ψευδαργύρου, θειικοῦ καδμίου, κολλοειδοῦς χρυσοῦ, χλωριούχου μαγνησίου, ἀλλὰ καὶ ἀπλοῦν ρυθμιστικὸν διάλυμα βερνάλης προκαλοῦσι θολερότητα τοῦ ὁροῦ τοῦ αἵματος ἐπὶ παθήσεων τοῦ ἥπατος (3).

Ἄλλαι κροκιδωτικαὶ ἀντιδράσεις, ἐθεωρήθησαν ὡς εἰδικαὶ δι' ὠρισμένας νοσολογικὰς ὀντότητας, ἐπὶ παραδείγματι ἡ ἀντίδρασις τῆς ρεσορκίνης διὰ τὴν φυματίωσιν καὶ τοῦ Weltmann (ἀντίδρασις διὰ δι-

χλωριούχου ἀσβεστίου) διὰ τοὺς ὄξει ρευματισμοὺς τῶν ἄρθρων.

Ἡ ἐπικρατεστέρα ἐρμηνεία τῶν θολεροτικῶν τούτων ἀντιδράσεων εἶναι ἡ τῆς θεωρίας τῆς ηὔξημένης στάθμης ἑνὸς ἐκ τῶν κλασμάτων τοῦ ὁροῦ τοῦ αἵματος (5). Ἡ πειραματικὴ ἀπόδειξις τῆς ἐρμηνείας ταύτης βασιζέται ἐπὶ τοῦ γεγονότος, ὅτι προσθήκη γ-σφαιρίνης, ληφθεῖσα εἴτε διὰ χημικοῦ διαχωρισμοῦ εἴτε δι' ἠλεκτροφορήσεως προκαλεῖ ἀναλόγως τῆς πυκνότητος αὐτῆς, ἄλλοτε μὲν θολεροτικὴν ἄλλοτε δὲ κροκιδωτικὴν ἀντίδρασιν (6).

Οἱ πλείονες τῶν ἐρευνητῶν ἀποδίδουσι τὴν θετικότητα τῶν ἀντιδράσεων τοῦ διχλωριούχου ὑδραργύρου, τοῦ κολλοειδοῦς χρυσοῦ, τοῦ χλωριούχου μαγνησίου, τῆς κεφαλίνης-χοληστερόλης, τῆς θυμόλης, τοῦ θειικοῦ ψευδαργύρου καὶ τοῦ θειικοῦ καδμίου εἰς τὴν αὐξησιν τῆς γ-σφαιρίνης (7).

Ἡ θετικότης τῶν ἀντιδράσεων τῆς ρεσορκίνης, τοῦ διχλωριούχου ἀσβεστίου, ἡ αὐξησις τῆς ταχύτητος καθιζήσεως ὡς καὶ ἐκείνη τῆς ἀπτοσφαιρίνης τοῦ Jayle ἀποδίδεται εἰς τὴν αὐξησιν τῆς α<sub>2</sub>-σφαιρίνης.

Ἐὰν αἱ θολεροτικαὶ ἀντιδράσεις τοῦ ὁροῦ τοῦ αἵματος οὐδὲν ἕτερον ἐπληροφόρουν πλὴν τῆς ποσοτικῆς αὐξήσεως τῶν κλασμάτων τῆς α<sub>2</sub>- ἢ τῆς γ-σφαιρίνης, θὰ ἠδύναντο νὰ ἀντικατασταθῶσι ὑπὸ τῆς ἠλεκτροφορήσεως, ἥτις δύναται νὰ πληροφωρήσῃ ἀκριβέστερον περὶ τῆς ἀναλογίας τῶν διαφόρων κλασμάτων ἢ οἰαδήποτε θολεροτικῆ ἢ κροκιδωτικῆ ἀντίδρασις τοῦ αἵματος.

Δὲν ἐπεκράτησεν ὁμως μέχρι σήμερον εἰς τὴν κλινικὴν ἢ ἀντικατάστασις αὕτη, ἄφ' ἑνὸς μὲν λόγῳ τῶν τεχνικῶν δυσχερειῶν, ἃς παρουσιάζει ἡ ἠλεκτροφορήσις ἐναντι τῶν θολεροτικῶν καὶ κροκιδωτικῶν ἀντιδράσεων, ἄφ' ἑτέρου δέ, διότι ὁ πολύπλοκος

μηχανισμός δι' οὗ προκαλείται ἡ θολερότης καὶ ἡ κροκιδώσις, δὲν εἶναι, ὡς εἶπομεν, ἀπλοῦς καὶ δὲν ἐξηγεῖται μόνον διὰ τῆς ἀποδιδομένης εἰς τὴν ποσοτικὴν αὐξησην τῆς γ-σφαιρίνης ἐρμηνείας (8).

Ἡ ἀναφερθεῖσα αὐξησης τῆς α<sub>2</sub> ἢ τῆς γ-σφαιρίνης γίνεται πάντοτε εἰς βάρους ἄλλου τινὸς κλάσματος τὸ ὁποῖον ἐλαττοῦται. Ἡ αὐξησης τῆς γ-σφαιρίνης εἰς τὰ ἥπατικά νοσήματα συνοδεύεται ὑπὸ ἐλαττώσεως τῶν λευκωματινῶν καὶ ἀναστροφῆς τοῦ λευκωματικοῦ πηλίκου.

Πιθανωτέρα ἐρμηνεία τοῦ φαινομένου εἶναι, ὅτι ὁ ἀνθρώπιος ὄρος περιέχει λευκωματικά κλάσματα, τῶν ὁποίων ἄλλα μὲν ἔχουσι ἐνεργητικὰς ιδιότητες, ὑποβοηθούσας τὴν θολερότητα, ἄλλα δὲ ἀνασταλτικὰς τοιαύτας (9,10).

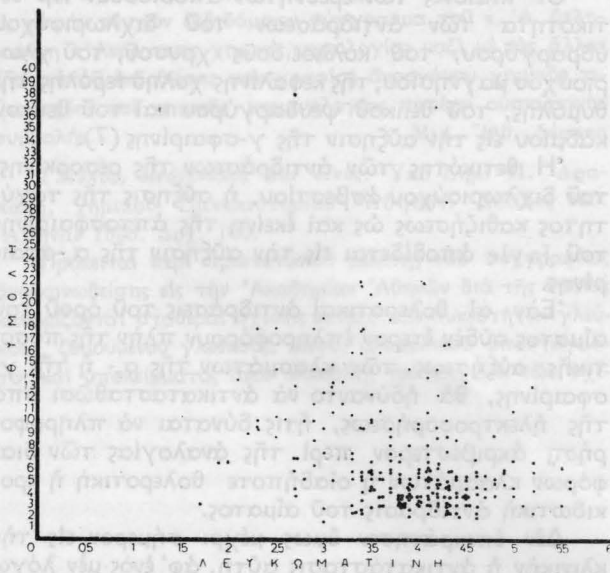
Εἰς τὸν ὄρον φυσιολογικῶς ἐχόντων ἀτόμων ὑφίσταται ἰσοζύγιον τῶν ἐνεργητικῶν καὶ ἀνασταλτικῶν οὐσιῶν, ἔχον ὡς ἀποτέλεσμα τὸ ἀρνητικὸν τῶν ἀντιδράσεων, διαταρασσόμενον ὑπὸ παθολογικῶς συνθήκας (5).

Ἡ πειραματικὴ προσθήκη λευκωματίνης ἐπαναφέρει τὸ διαταραχθὲν ἰσοζύγιον, παρεμποδίζουσα τὴν θολερότητα (6).

Ὁ ἀνασταλτικὸς παράγων ἀποτελεῖται πιθανῶς οὐχὶ μόνον ἐκ τῆς λευκωματίνης, ἀλλὰ ἐκ τμήματος τοῦ συμπλέγματος λευκωματίνης α-σφαιρίνης (7,11). Ἡ προσθήκη τῶν λοιπῶν ἐπὶ μέρους κλασμάτων εἰς φυσιολογικοὺς ὄρους οὐδεμίαν ἐπίδρασιν ἀσκεῖ ἐπὶ τῶν ἀντιδράσεων θολερότητος (5).

Οἱ Maclagan καὶ Bunn (6) καὶ Martin (9) κατέληξαν εἰς τὰ αὐτὰ συμπεράσματα δι' ὅ,τι ἀφορᾷ τὴν ἀντίδρασιν τῆς θυμόλης, ἀπέδωσαν δὲ τὴν θετικότητα τῆς ἀντιδράσεως ἐπὶ ἥπατίτιδος εἰς τὴν μείωσιν τῆς ἀνασταλτικῆς ἰκανότητος τῆς λευκωματίνης λόγῳ ποιοτικῆς ἀλλαγῆς ταύτης.

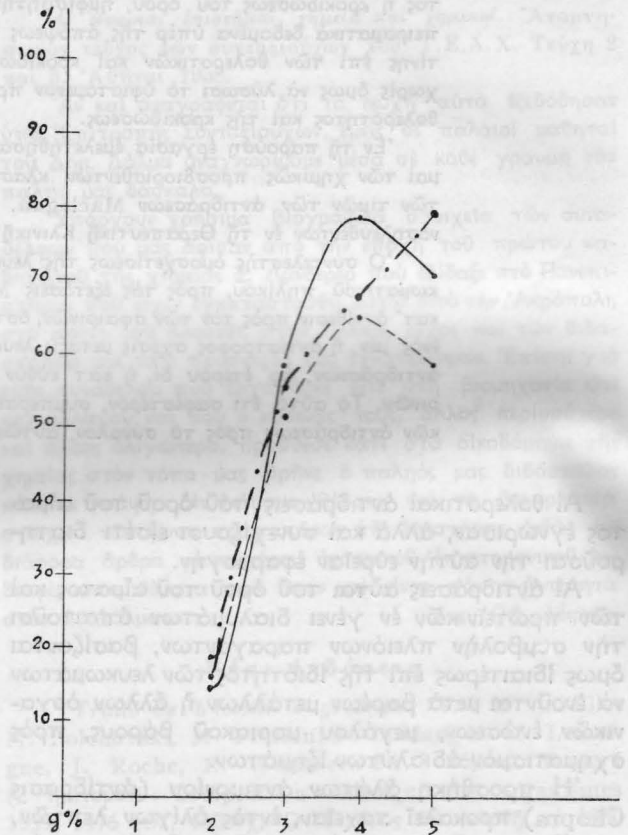
Αἱ ἐργαστηριακαὶ ὁμως αὐτὰ ἔρουναι in vitro



Σχ. 1, ἐμφαίνον τὴν ὁμοσχέτισιν τῆς λευκωματίνης, εἰς g% πρὸς τὸν βαθμὸν θολερότητος τῆς ἀντιδράσεως θυμόλης, εἰς μονάδας Maclagan.

δὲν ἀποδίδουσι ἐπακριβῶς τὰ ἐπισυμβαίνοντα in vivo καὶ δὴ ἐπὶ παθολογικῶν καταστάσεων, ἐνθα ἡ αὐξησης τῆς γ-σφαιρίνης οὐδὲ κἂν προσεγγίζει τὰς πειραματικῶς προστιθεμένας ποσότητας τοῦ κλάσματος τούτου.

Τὴν ἐνδεχομένην ἀνασταλτικὴν ἐπίδρασιν τῆς λευκωματίνης ἐπὶ τῶν θολεροτικῶν ἀντιδράσεων τοῦ



Σχ. 2, ἐμφαίνον τὴν ἑκατοστιαίαν ἀναλογίαν τῶν ἀρνητικῶν πρὸς τὸ σύνολον τῶν ἀντιδράσεων Maclagan (—), Kunkel (---) καὶ Hanger (-·-·-), εἰς διαφόρους τιμὰς λευκωματίνης τοῦ ὄρου τοῦ αἵματος.

ὄρου τοῦ αἵματος ἐσκέφθημεν νὰ ἐπαληθεύσωμεν. Πρὸς τὸν σκοπὸν τοῦτον συνεκρίναμεν, διὰ τῆς μεθόδου τῆς στατιστικῆς ἐπεξεργασίας, τὰς τιμὰς τῆς λευκωματίνης ἀφ' ἑνὸς καὶ τῶν σφαιρινῶν καὶ λευκωματικοῦ πηλίκου ἀφ' ἑτέρου (ληφθεῖσας διὰ χημικοῦ προσδιορισμοῦ) πρὸς τὰ ἀποτελέσματα τριῶν ἐκ τῶν πλέον ἀντιπροσωπευτικῶν ἐμπειρικῶν μεθόδων θολερότητος τοῦ ὄρου, ἧτοι ἐκείνων τῆς θυμόλης, τοῦ θειικοῦ ψευδαργύρου καὶ τῆς κεφαλίνης-χοληστερόλης.

**Πειραματικὸν μέρος**

Τὸ ὑλικὸν ἀποτελεῖται ἐκ 250 ὄρων. Οἱ ὄροι οὔτοι προήρχοντο ἐκ 241 ἀσθενῶν νοσηλευθέντων κατὰ τὸ χρονικὸν διάστημα μεταξὺ 8-12-56 καὶ 22-7-58 εἰς τὴν Θεραπευτικὴν Κλινικὴν τοῦ Πανεπιστημίου Ἀθηνῶν, πασχόντων ἐκ δια-

φόρων νοσημάτων. Είς 9 πάσχοντας αί θολεροτικά αντιδράσεις και τὰ κλάσματα τῶν λευκωμάτων ἐγένοντο δῖς.

Ὁ χημικός προσδιορισμός κατὰ Greenberg τοῦ ὀλικοῦ λευκώματος και τῶν κλασμάτων τούτου ἀφ' ἑνὸς και αἱ θολεροτικά ἀντιδράσεις θυμόλης, θεικοῦ ψευδαργύρου και κεφαλίνης-χοληστερόλης ἀφ' ἑτέρου, ἐγένοντο εἰς τὰ Κεντρικά Ἐργαστήρια τοῦ Μαιευτηρίου «Ἀλεξάνδρα».

Διὰ τὴν στατιστικὴν ἐπεξεργασίαν τῶν ἀποτελεσμάτων ἐξήχθησαν πλὴν τῆς μέσης τιμῆς και τοῦ συντελεστοῦ ἀποκλίσεως, ὁ συντελεστής ὁμοσχέτισεως τῶν Bravais και Pearson.

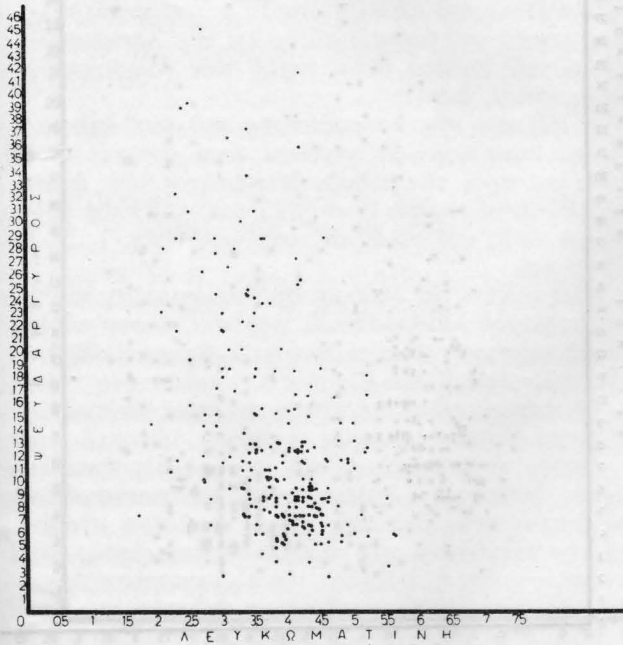
$$r = \frac{\Sigma\alpha\beta - \frac{\Sigma\alpha \cdot \Sigma\beta}{N}}{\sqrt{\left(\Sigma\alpha^2 - \frac{\Sigma\alpha^2}{N}\right) \left(\Sigma\beta^2 - \frac{\Sigma\beta^2}{N}\right)}}$$

Ἐνθα α εἶναι αἱ ἐπὶ μέρους τιμαὶ τῶν διαφόρων κλασμάτων τῶν λευκωμάτων (λευκωματίνης, σφαιρίνης ἢ σχέσεως αὐτῶν) και β εἶναι αἱ ἐπὶ μέρους τιμαὶ τῶν θολεροτικῶν ἀντιδράσεων (Maclagan ἢ Kunkel),  $\Sigma\alpha$  και  $\Sigma\beta$  τὸ σύνολον τῶν ἐπὶ μέρους τιμῶν και N ὁ ἀριθμὸς τῶν περιπτώσεων.

Ὡς γνωστόν, ὅταν τὸ r ἰσοῦται πρὸς τὴν μονάδα, τοῦτο σημαίνει, ὅτι ὑπάρχει ἀπόλυτος συσχέτισις, ἐνῶ ὅταν τοῦτο ἰσοῦται πρὸς μηδέν τοῦτο σημαίνει, ὅτι οὐδεμία συσχέτισις ὑπάρχει μεταξὺ τῶν σχετιζομένων ἀξιών.

Διὰ τὴν παραστατικὴν ἀπεικόνισιν τῶν ἀποτελεσμάτων ἐγένοντο κατὰ πρῶτον διαγράμματα διασπορᾶς διὰ τὴν σύγκρισιν τῶν τιμῶν :

α) τῆς λευκωματίνης και τῶν ἀντιδράσεων Maclagan (σχ. 1) και Kunkel (σχ. 3).



Σχ. 3, ἐμφαίνον τὴν ὁμοσχέτισιν τῆς λευκωματίνης, εἰς g%, πρὸς τὸν βαθμὸν θολερότητος τῆς ἀντιδράσεως θεικοῦ ψευδαργύρου, εἰς μονάδας Maclagan.

β) τῆς σφαιρίνης και τῶν ἀντιδράσεων Maclagan (σχ. 4) και Kunkel (σχ. 6) και

γ) τοῦ λευκωματικοῦ πηλίκου και τῶν ἀντιδράσεων Maclagan (σχ. 7) και Kunkel (σχ. 9).

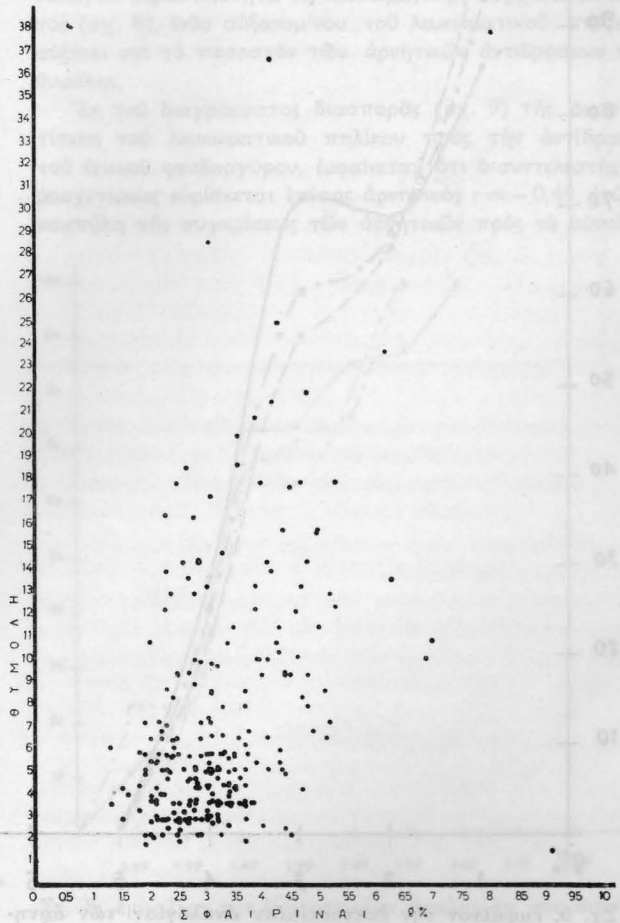
Κατὰ δεῦτερον, ἐγένοντο καμπύλαι τῆς ἑκατοστιαίας ἀναλογίας τῶν ἀρνητικῶν πρὸς τὸ σύνολον τῶν ἀντιδράσεων ἐν σχέσει πρὸς τὴν ἀριθμητικὴν τιμὴν :

- α) τῆς λευκωματίνης εἰς g% (σχ. 2)
- β) τῶν σφαιρινῶν εἰς g% (σχ. 4) και
- γ) τοῦ λευκωματικοῦ πηλίκου (σχ. 8).

Ἀρνητικαὶ ἀντιδράσεις, διὰ μὲν τὴν ἀντίδρασιν τῆς θυμόλης, ἐθεωρήθησαν αἱ τιμαὶ μεταξὺ 0 και 5 μονάδες Maclagan, διὰ δὲ τὴν ἀντίδρασιν τοῦ θεικοῦ ψευδαργύρου αἱ μεταξὺ 0 και 10 μονάδες θολερότητος Maclagan.

Αἱ θετικαὶ ἀντιδράσεις διεχωρίσθησαν ὡς ἑξῆς :

Βαθμὸς θεικότητος	Μονάδες Θυμόλης	Μονάδες θεικοῦ ψευδαργύρου
+	6 - 10	11 - 15
++	11 - 15	16 - 20
+++	16 - 20	21 - 25
++++	21 +	26 +



Σχ. 4, ἐμφαίνον τὴν ὁμοσχέτισιν τοῦ ἀθροίσματος τῶν σφαιρινῶν, εἰς g% πρὸς τὸν βαθμὸν θολερότητος τῆς ἀντιδράσεως θυμόλης, εἰς μονάδας Maclagan.

Ανάλυσις εύρημάτων

Η μελέτη των αποτελεσμάτων έχει αναλυτικώς ως εξής :

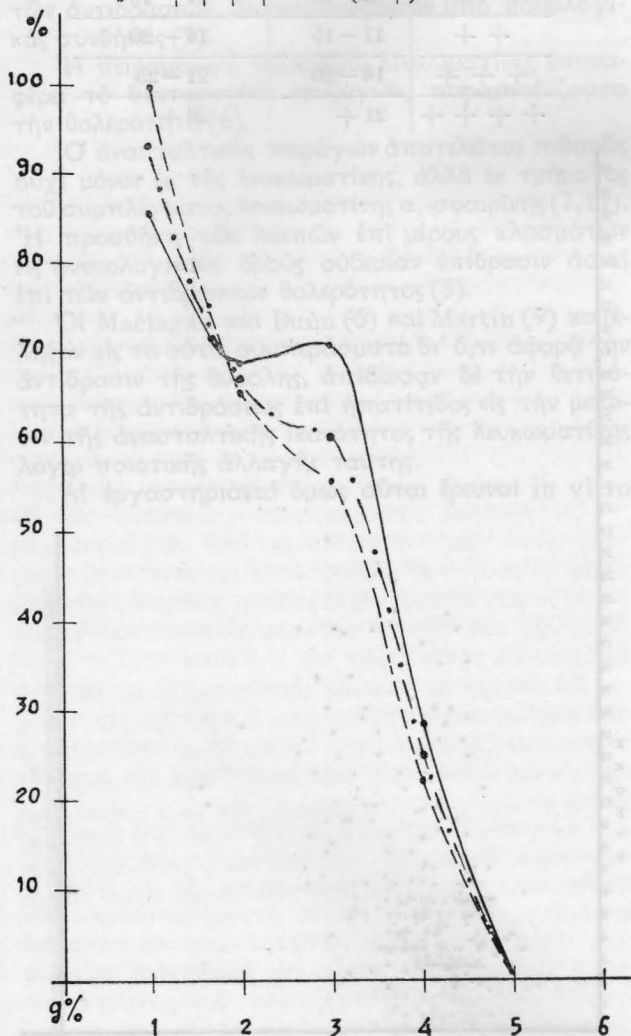
1) Έκ των 250 αντιδράσεων Maclagan εύρέθησαν :

α) άρνητικά (0-5 μον.)	155 περιπτώσεις
β) θετικά (6 μον. και άνω)	95 »
έξ ών μετά + (6-10 μον.)	55 »
» ++ (11-15 μον.)	23 »
» +++ (16-20 μον.)	12 »
» ++++ (21+)	5 »

Η μέση τιμή της αντίδρασεως θυμόλης εις μονάδας Maclagan ήτο 7.20 μετά σταθεράς άποκλίσεως  $\sigma = 5.60$ .

2) Έκ των 250 αντιδράσεων Kunkel εύρέθησαν :

α) άρνητικά (0-10 μόν.)	135 περιπτώσεις
β) θετικά (11 μόν. και άνω)	115 »
έξ ών μετά + (11-15 μόν.)	54 »
» ++ (16-20 »)	20 »
» +++ (21-25 »)	19 »
» ++++ (26+)	22 »



Σχ. 5, έμφαίνον την εκατοστιαίαν αναλογία των άρνητικών πρὸς τὸ σύνολον των αντιδράσεων Maclagan (—), Kunkel (----) καί Hanger (-.-.-), εις διαφόρους τιμάς τοῦ άθροίσματος των σφαιρινῶν τοῦ ὄρου τοῦ αίματος

Η μέση τιμή της αντίδρασεως θειικού ψευδαργύρου εις μονάδας Maclagan ήτο 12.90 μετά σταθεράς άποκλίσεως  $\sigma = 8.00$ .

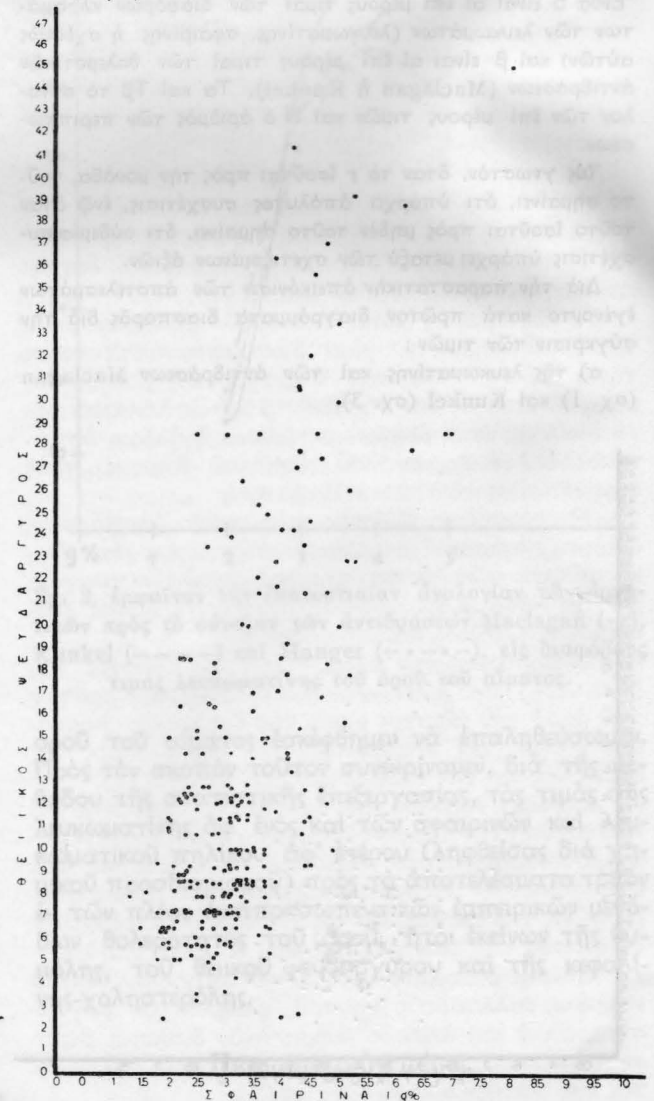
3) Έκ των 250 αντιδράσεων Hanger εύρέθησαν :

α) άρνητικά (-)	155 περιπτώσεις
β) θετικά	105 »
έξ ών μετά +	14 »
» ++	39 »
» +++	38 »
» ++++	14 »

4) Σχέσις λευκομαΐνης καί θολεροϊκῶν αντιδράσεων.

Η μέση τιμή της λευκομαΐνης εύρέθη 3.80, μετά σταθεράς άποκλίσεως  $\sigma = 0.80$ .

Έκ τοῦ διαγράμματος διασποράς (σχ. 1), της ὁμοσχέτισεως της λευκομαΐνης πρὸς τὸν βαθμὸν θετικότητος της αντίδρασεως της θυμόλης προκύπτει συντελεστής ὁμοσχέτισεως άρνητικὸς  $r = -0.25$ .



Σχ. 6, έμφαίνον την ὁμοσχέτισην τοῦ άθροίσματος των σφαιρινῶν, εις g%, πρὸς τὸν βαθμὸν θολεροΐτητος της αντιδράσεως θειικοῦ ψευδαργύρου, εις μονάδας Maclagan.

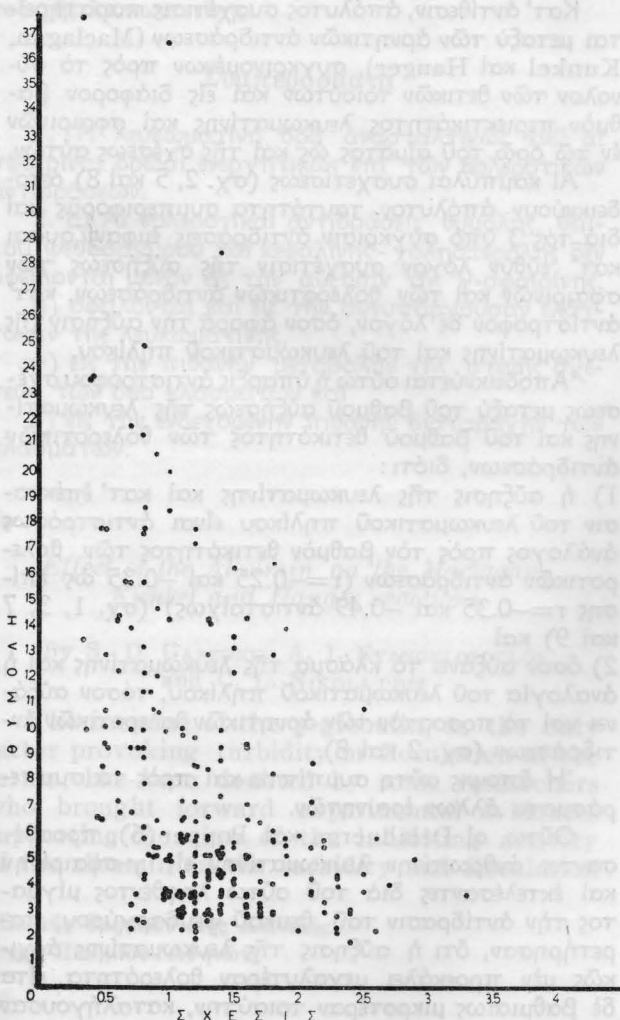
Ἡ συσχέτισις τῶν ἀρνητικῶν πρὸς τὸ σύνολον τῶν ἀντιδράσεων τῆς θυμόλης, τοῦ θειικοῦ ψευδαργύρου καὶ τῆς κεφαλίνης-χοληστερόλης τυγχάνει ἀπόλυτος. Ἡ σύγκρισις ἐγένετο εἰς διάφορον βαθμὸν περιεκτικότητος λευκωματίνης, ἐν τῷ ὄρῳ τοῦ αἵματος, ὡς τοῦτο ἐμφαίνεται ἐκ τῆς καμπύλης (σχ. 2), ἔνθα αὐξανόμενου τοῦ ποσοῦ τῆς λευκωματίνης μειοῦται ὁ βαθμὸς θετικότητος τῆς ἀντιδράσεως τῆς θυμόλης.

Ἐκ τοῦ διαγράμματος διασπορᾶς (σχ. 3) τῆς ὁμοσχέτισεως τῆς λευκωματίνης πρὸς τὴν ἀντίδρασιν τοῦ θειικοῦ ψευδαργύρου, προκύπτει, ὅτι ὁ συντελεστὴς ὁμοσχέτισεως εὑρίσκεται ἀρνητικὸς καὶ χαμηλὸς  $r = -0.36$ , ἐνῶ ἡ καμπύλη τῆς συγκρίσεως τῶν ἀρνητικῶν πρὸς τὸ σύνολον τῶν ἀντιδράσεων, εἶναι ταυτόσημος πρὸς τὴν καμπύλην τῆς ἀντιδράσεως τῆς θυμόλης.

5) Σχέσις σφαιρινῶν καὶ θολεροτικῶν ἀντιδράσεων.

Ἡ μέση τιμὴ τῶν σφαιρινῶν εὐρέθη 3.25, ἡ δὲ σταθερὰ ἀπόκλισις  $\sigma = 1.04$ .

Ἐκ τοῦ διαγράμματος διασπορᾶς (σχ. 4) τῆς ὁμοσχέτισεως τῶν σφαιρινῶν πρὸς τὸν βαθμὸν θετικότητος τῆς ἀντιδράσεως τῆς θυμόλης,



Σχ. 7, ἐμφαίνον τὴν ὁμοσχέτισιν τοῦ λευκωματικοῦ πηλίκου πρὸς τὸν βαθμὸν θολερότητος τῆς ἀντιδράσεως θυμόλης, εἰς μονάδας Maclagan.

τιδράσεως τῆς θυμόλης, προκύπτει συντελεστὴς ὁμοσχέτισεως  $r = 0.40$ .

Ἡ πρὸς τὸ σύνολον τῶν ἀντιδράσεων συσχέτισις τῶν ἀρνητικῶν τοιοῦτων, εἰς διάφορον βαθμὸν περιεκτικότητος σφαιρινῶν ἐν τῷ ὄρῳ τοῦ αἵματος, τυγχάνει ἀπόλυτος, ὡς τοῦτο ἐμφαίνεται ἐκ τῆς καμπύλης (σχ. 5), ἔνθα αὐξανόμενου τοῦ ποσοῦ τῶν σφαιρινῶν αὐξάνει κατ' εὐθὺν λόγον καὶ ὁ βαθμὸς θετικότητος τῆς ἀντιδράσεως τῆς θυμόλης, τοῦ θειικοῦ ψευδαργύρου καὶ τῆς κεφαλίνης-χοληστερόλης.

Ἐκ τοῦ διαγράμματος διασπορᾶς (σχ. 6) τῆς ὁμοσχέτισεως τῶν σφαιρινῶν πρὸς τὴν ἀντίδρασιν τοῦ θειικοῦ ψευδαργύρου, προκύπτει συντελεστὴς ὁμοσχέτισεως  $r = 0.46$ .

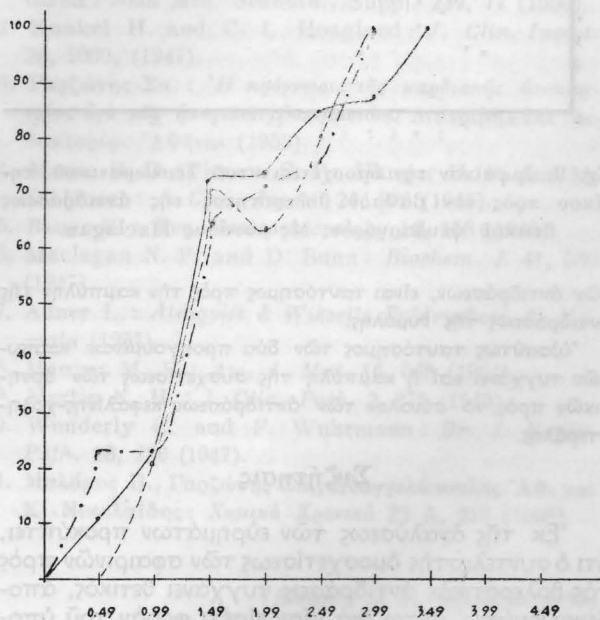
6) Σχέσις λευκωματικοῦ πηλίκου καὶ θολεροτικῶν ἀντιδράσεων.

Ἡ μέση τιμὴ τοῦ λευκωματικοῦ πηλίκου εὐρέθη 1.31 μετὰ σταθερᾶς ἀποκλίσεως  $\sigma = 0.56$ .

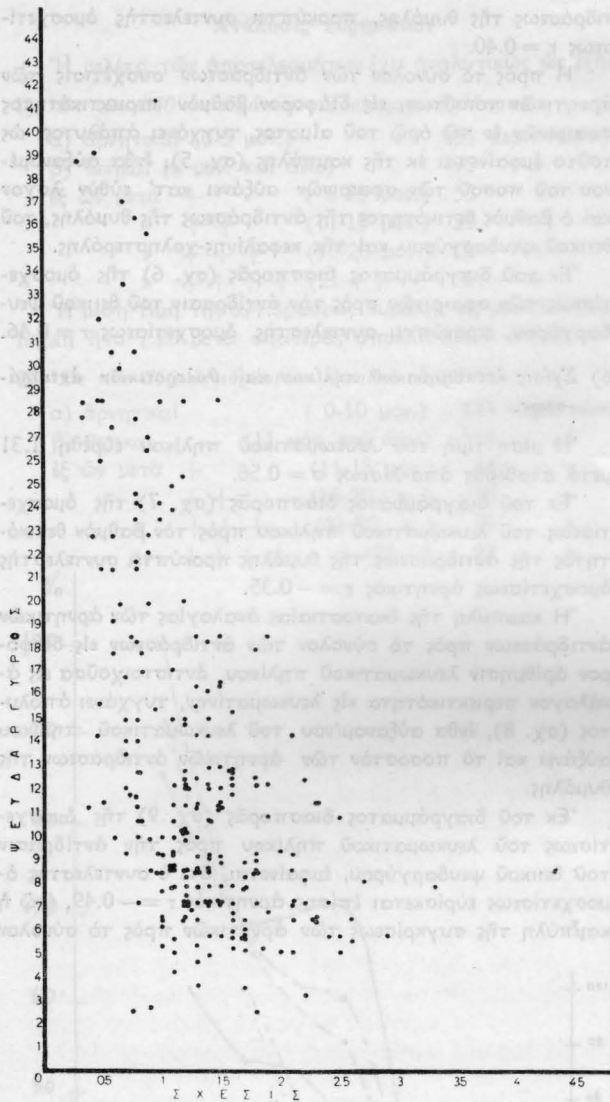
Ἐκ τοῦ διαγράμματος διασπορᾶς (σχ. 7) τῆς ὁμοσχέτισεως τοῦ λευκωματικοῦ πηλίκου πρὸς τὸν βαθμὸν θετικότητος τῆς ἀντιδράσεως τῆς θυμόλης προκύπτει συντελεστὴς ὁμοσχέτισεως ἀρνητικὸς  $r = -0.35$ .

Ἡ καμπύλη τῆς ἑκατοστιαίας ἀναλογίας τῶν ἀρνητικῶν ἀντιδράσεων πρὸς τὸ σύνολον τῶν ἀντιδράσεων εἰς διάφορον ἀριθμῶν λευκωματικοῦ πηλίκου, ἀντιστοιχοῦσα εἰς ἀνάλογον περιεκτικότητα εἰς λευκωματίνην, τυγχάνει ἀπόλυτος (σχ. 8), ἔνθα αὐξανόμενου τοῦ λευκωματικοῦ πηλίκου αὐξάνει καὶ τὸ ποσοστὸν τῶν ἀρνητικῶν ἀντιδράσεων τῆς θυμόλης.

Ἐκ τοῦ διαγράμματος διασπορᾶς (σχ. 9) τῆς ὁμοσχέτισεως τοῦ λευκωματικοῦ πηλίκου πρὸς τὴν ἀντίδρασιν τοῦ θειικοῦ ψευδαργύρου, ἐμφαίνεται, ὅτι ὁ συντελεστὴς ὁμοσχέτισεως εὑρίσκεται ἐπίσης ἀρνητικὸς  $r = -0.49$ , ἐνῶ ἡ καμπύλη τῆς συγκρίσεως τῶν ἀρνητικῶν πρὸς τὸ σύνολον



Σχ. 8, ἐμφαίνον τὴν ἑκατοστιαίαν ἀναλογίαν τῶν ἀρνητικῶν πρὸς τὸ σύνολον τῶν ἀντιδράσεων Maclagan (—), Kunkel (---) καὶ Hanger (-·-·-), εἰς διαφόρους τιμὰς τοῦ λευκωματικοῦ πηλίκου.



Σχ. 9, έμφαίνουν την όμοσχετίσειν του λευκωματικού πηλίκου προς τον βαθμόν θολερότητος της αντιδράσεως θειικού ψευδαργύρου, εις μονάδας Maclagan.

των αντιδράσεων, είναι ταυτόσημος προς την καμπύλην της αντιδράσεως της θυμόλης.

Ώσαύτως ταυτόσημος των δύο προηγουμένων καμπυλών τυγχάνει και ή καμπύλη της συσχετίσεως των άρνητικών προς τόν σύνολον των αντιδράσεων κεφαλίνης-χοληστερόλης.

### Συζήτησις

Έκ της αναλύσεως των εύρημάτων προκύπτει, ότι ό συντελεστής όμοσχετίσεως των σφαιρινών προς τας θολεροτικές αντιδράσεις τυγχάνει θετικός, άποδεικνυομένου ούτω διά μίαν εισέτι φοράν του ύποστηρικθέντος υπό άλλων έρευνητών, ότι ή στάθμη των σφαιρινών έχει κατ' εύθύν λόγον σχέσειν προς την θετικότητα των θολεροτικών αντιδράσεων.

Ή αύξησις των σφαιρινών συνοδεύεται υπό άντι-

στοίχου έλαττώσεως της αναλογίας της λευκωματινης και ή άποδιδόμενη εις την αύξησειν της γ-σφαιρίνης και γενικώς του άθροίσματος των σφαιρινών, θετικότητος των θολεροτικών αντιδράσεων δυνατόν να όφείλεται ούχι εις την αύξησειν των σφαιρινών, αλλά και εις την αντίστοιχον έλάττωσιν της λευκωματινης.

Ό συντελεστής όμοσχετίσεως τόσον της λευκωματινης όσον και του λευκωματικού πηλίκου προς τας θολεροτικές αντιδράσεις τυγχάνει άρνητικός, γεγονός όπερ σημαίνει, ότι αύξανόμενου του ποσοϋ της λευκωματινης έλαττοϋται ό αριθμός των θετικών θολεροτικών αντιδράσεων.

Αί άνευρεθείσαι όμως τιμαί του συντελεστοϋ όμοσχετίσεως (σχ. 1, 3, 4, 6, 7 και 9), κυμαινόμεναι μεταξύ +0.25 και +0.49 δέν είναι στατιστικώς σημαντικαί, άκόμη και κατά την όμοσχετίσειν των σφαιρινών προς τας θολεροτικές αντιδράσεις.

Ό μικρός βαθμός όμοσχετίσεως είναι μόνον φαινομενικός και ή μικρά τιμή  $r$  δέον ν' άποδοθῆ εις τας ύψηλάς άκραιάς επί μέρους τιμάς των θολεροτικών αντιδράσεων.

Κατ' αντίθεσιν, άπόλυτος συσχετίσις παρατηρείται μεταξύ των άρνητικών αντιδράσεων (Maclagan, Kunkel και Hanger), συγκρινομένων προς τόν σύνολον των θετικών τοιούτων και εις διάφορον βαθμόν περιεκτικότητος λευκωματινης και σφαιρινών έν τῷ όρῳ του αίματος ως και της σχέσεως αυτών.

Αί καμπύλαι συσχετίσεως (σχ. 2, 5 και 8) άποδεικνύουν άπόλυτον ταυτότητα συμπεριφοράς και διά τας 3 υπό σύγκρισιν αντιδράσεις έμφανίζουσαι κατ' εύθύν λόγον συσχετίσειν της αύξήσεως των σφαιρινών και των θολεροτικών αντιδράσεων, κατ' αντίστροφον δέ λόγον, όσον άφορά την αύξησειν της λευκωματινης και του λευκωματικού πηλίκου.

Άποδεικνύεται ούτω ή ύπαρξις άντιστρόφου σχέσεως μεταξύ του βαθμού αύξήσεως της λευκωματινης και του βαθμού θετικότητος των θολεροτικών αντιδράσεων, διότι:

1) ή αύξησις της λευκωματινης και κατ' επέκτασιν του λευκωματικού πηλίκου είναι άντιστρόφως άνάλογος προς τον βαθμόν θετικότητος των θολεροτικών αντιδράσεων ( $r = -0.25$  και  $-0.35$  ως επίσης  $r = -0.35$  και  $-0.49$  αντίστοιχως) (σχ. 1, 3, 7 και 9) και

2) όσον αύξάνει τόν κλάσμα της λευκωματινης και ή αναλογία του λευκωματικού πηλίκου, τόσον αύξάνει και τόν ποσοστόν των άρνητικών θολεροτικών αντιδράσεων (σχ. 2 και 8).

Ή άποψις αύτη συμπίπτει και προς τά συμπεράσματα άλλων έρευνητών.

Ούτω, οι Delahuerger και Popper (6), προσθέσαντες άνθρωπίνην λευκωματινήν εις γ-σφαιρίνην και έκτελέσαντες διά του ούτω ληφθέντος μίγματος την αντίδρασιν του θειικού ψευδαργύρου, παρετήρησαν, ότι ή αύξησις της λευκωματινης άρχικώς μόν προεκάλει μεγαλυτέραν θολερότητα, είτα δέ βαθμιαίως μικροτέραν τοιαύτην, καταλήγουσαν κάτω εισέτι και του επιπέδου του έπιτυχαομένου διά της άρχικώς προσθεθείσης άμιγους γ-σφαιρίνης. Ή πειραματική προσθήκη λευκωματινης εις

ὄρον προεκάλει ἐλάττωσιν τοῦ βαθμοῦ θετικότητος τῆς ἀντιδράσεως θολερότητος.

Κατ' ἄλλους, ἡ ἠλεκτροφορητικῶς ἀπομονωθεῖσα λευκωματίνη ἐκ φυσιολογικοῦ ὄρου εἰς ἱκανοποιητικὴν συγκέντρωσιν, τείνει νὰ ἐξουδετερώσῃ τὴν κροκιδωτικὴν ιδιότητα τῆς γ-σφαιρίνης, ἐνῶ ἡ λευκωματίνη, προερχομένη ἐξ ὄρου πασχόντων ἐξ ἡπατίτιδος, δεικνύει σχετικῶς μικροτέραν ἀνασταλτικὴν ἐπίδρασιν ἐπὶ τῆς κροκιδώσεως (4).

Ἐκ τῶν ὡς ἄνω προκύπτει, ὅτι αἱ θετικαὶ ἀντιδράσεις θολερότητος, αἱ παρατηρούμεναι ἐπὶ ἡπατικῆς βλάβης, ὀφείλονται πιθανώτατα εἰς ἀνωμαλίαν τῆς στενῆς σχέσεως τῆς λευκωματίνης καὶ τῶν σφαιρινῶν τοῦ ὄρου, ἢ εἰς ποιοτικὰ μεταβολὰς τῆς λευκωματίνης, αἵτινες ἐνίοτε συμβάλλουσι εἰς παθολογικὰς ἀντιδράσεις θεωρουμένας ὡς μὴ εἰδικὰς (7).

Ἡ θολερότης ὅθεν, δὲν ὀφείλεται μόνον εἰς τὴν αὔξησιν τῶν σφαιρινῶν ἢ τὴν συνοδὸν ἀντίστοιχον ἐλάττωσιν τῆς λευκωματίνης, ἀλλὰ εἰς τὴν δημιουργίαν ὠρισμένης ἀναλογίας τῶν ἐν λόγῳ κλασμάτων καὶ εἰς πιθανὴν ποιοτικὴν μεταβολὴν τοῦ κλάσματος τῆς λευκωματίνης.

### Συμπεράσματα

1. Ἡ λευκωματίνη δρᾷ ἀνασταλτικῶς ἐνῶ αἱ σφαιρίνα δρᾶσι ἐνεργητικῶς ἐπὶ τῶν θολεροτικῶν ἀντιδράσεων.

2. α) Αἱ θολεροτικαὶ ἀντιδράσεις θυμόλης, θεικοῦ ψευδαργύρου καὶ κεφαλίνης - χοληστερόλης δὲν ὀφείλονται μόνον εἰς τὴν αὔξησιν τῆς γ-σφαιρίνης,

β) ὀφείλονται καὶ εἰς τὴν συνυπάρχουσαν ἐλάττωσιν τῆς λευκωματίνης,

γ) εἰς τὴν πιθανὴν μεταβολὴν τῆς στενῆς σχέσεως τῶν δύο κλασμάτων καὶ

δ) εἰς τὴν ἐνδεχομένην πιθανὴν διαταραχὴν τῶν κλασμάτων.

### *Effect of the Albumin on the Maclagan, Kunkel and Hanger reactions*

By S. D. GARZONIS, A. I. EVANGELOPOULOS  
and C. L. NIKOLAΪDIS

The increase of the γ-globulin, as the only factor provoking turbidity or flocculation of the serum, has been doubted by some researchers who brought forward experimental evidences supporting the view of the inhibiting activity of the albumin on the turbidity and flocculation

(Ἐκ τῆς Θεραπευτικῆς Κλινικῆς  
τοῦ Παν/μίου Ἀθηνῶν)

reactions of the serum, without, however, solving the problem of the explanation of the phenomenon of turbidity and flocculation.

In the present work, studies were made by statistical observations on the values of the chemically determined fractions of albumin and globulin compared to the values of the reaction of Maclagan, Kunkel and Hanger, in the sera of 250 patients admitted in the Therapeutic Clinic of the University of Athens.

The correlation coefficient of the albumin, as well as of the protein quotient, compared with the reactions of Maclagan and Kunkel, was found to be negative in contrast to that of the globulins where it was found positive. It is so proved that, on one hand, there exists an indirect relation between the albumin and the positivity of the values of the reactions and on the other hand, a direct relation between them and the globulins. The same fact is more clearly represented by comparing the negative reactions to the total of the positive reactions in each of the fractions.

It is therefore concluded that the positivity of the reactions is reinforced by the globulins and inhibited by the albumins, whereas the reactions remain normal when there is a perfect balance in the ratio between these two fractions.

(From the Department of Clinical Therapeutics of the University of Athens).

### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Albertsen K., Christoffersen R. and F. Heintzelmann: *Acta Med. Scandin.*, Suppl. **239**, 77 (1950).
2. Kunkel H. and C. L. Hoagland: *J. Clin. Invest.* **26**, 1060, (1947).
3. Γαρζώνης Σπ.: *Ἡ πρόγνωση τῆς καρδιακῆς ἀνεπαρκείας διὰ τῶν ἡπατικῶν δοκιμασιῶν*. Διατριβὴ ἐπὶ διδακτορίῳ. Ἀθῆναι (1953).
4. Moore B. D., Pierson S. P., Hanger H. F. and M. D. Moore: *J. Clin. Invest.* **24**, 292 (1945).
5. Bauer R.: *Rev. Gastroenterology* **16**, 158 (1949).
6. Maclagan N. F. and D. Bunn: *Biochem. J.* **41**, 580 (1947).
7. Adner L.: *Almqvist & Wiksells Boktryckeri Ab Uppsala* (1957).
8. Hanger M. F.: *Am. J. Med.* **16**, 565 (1954).
9. Martin N. H.: *J. Clin. Path.* **2**, 275 (1949).
10. Wunderly C. and F. Wuhrmann: *Br. J. Exper. Path.* **28**, 286 (1947).
11. Μαλάμος Β., Γαρζώνης Σπ., Εὐαγγελόπουλος Ἀθ. καὶ Κ. Νικολαΐδης: *Χημικὰ Χρονικὰ* **23 A**, 218 (1958).

(Εἰσήχθη τῇ 1ῃ Ἀπριλίου 1959)

# Χρωματογραφικός διαχωρισμός τῶν δινιτροφαινυλιωμένων ἀμινοξέων διὰ προσροφήσεως ἐπὶ στηλῶν ἐκ πυριτικοῦ ὀξέος, κατὰ C. Green καὶ L. Kay

ὑπὸ ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΥ Α. ΧΡΗΣΤΟΜΑΝΟΥ

Περιγράφεται ἐφαρμογὴ χρωματογραφικῆς μεθόδου διαχωρισμοῦ τῶν δινιτροφαινυλιωμένων ἀμινοξέων (ΔΝΦΑ), ὡς αὕτη χρησιμοποιεῖται παρ' ἡμῶν, διὰ προσροφήσεως αὐτῶν ἐπὶ στηλῆς ἐκ μίγματος ὀξέος καὶ celite. Συγχρόνως περιγράφεται ἡ μέθοδος τῆς δινιτροφαινυλιώσεως, ἀμινοξέων καὶ πεπτιδίων, διὰ 1-φθορο-2,4-δινιτροβενζολίου.

Ἡ μέθοδος χρωματογραφήσεως διὰ πυριτικοῦ ὀξέος καὶ χρησιμοποίησεως διαφόρων ὀργανικῶν διαλυτικῶν, ὡς μέσων ἀναπτύξεως τοῦ χρωματογραφήματος, περιγράφη τὸ πρῶτον ὑπὸ τῶν C. Green καὶ L. Kay. Τὸ προτέρημα τῆς μεθόδου ταύτης εἶναι ἡ ταχύτης μετακινήσεως τῶν δινιτροφαινυλοπαραγῶγων τῶν ἀμινοξέων καὶ πεπτιδίων ἐντὸς τῆς στηλῆς τοῦ προσροφητικοῦ μέσου, καὶ ὁ ἐξαιρετὸς διαχωρισμὸς τῶν περισσοτέρων ΔΝΦΑ.

Διὰ τῆς ὑπὸ τοῦ Sanger (1) χρησιμοποίησεως τοῦ 1-φθορο-2,4-δινιτροβενζολίου, διὰ τὴν σύνθεσιν τῶν ἐντόνως κιτρίνως κεχρωσμένων δινιτροφαινυλαμινοξέων (ΔΝΦΑ), προσετέθη νέα ἀναλυτικὴ μέθοδος εἰς τὴν χημείαν τῶν ἀμινοξέων καὶ λευκωμάτων, ἥτις καὶ ἐχρησιμοποιήθη ὑπὸ τῶν Biserte καὶ Osteux (2) διὰ τὴν ἐπὶ διηθητικοῦ χάρτου ποιοτικὴν χρωματογραφίαν τῶν ΔΝΦΑ. Πρὸς ποσοτικὸν προσδιορισμὸν τῶν ΔΝΦΑ ὁ Sanger καὶ ἄλλοι μετεχειρίσθησαν στηλῆς κολλοειδοῦς πυριτικοῦ ὀξέος ὅπερ παρσκευάζον ἐξ ὑδρῶλου. Ἡ ἐτοιμασία τοιούτων στηλῶν ἐκ πυριτικοῦ ὀξέος προσέκρουεν ἀφ' ἑνὸς μὲν ἐπὶ τῶν τεχνικῶν δυσχερειῶν παρασκευῆς ὁμοιοτρόπως δρῶντος πυριτικοῦ ὀξέος, ἀφ' ἑτέρου δὲ ἐπὶ τῆς κολλοειδοῦς αὐτοῦ καταστάσεως καὶ τῆς ἀναμίξεώς του μετὰ ὑδροξειδίων τοῦ πυριτίου.

Διὰ τοὺς λόγους αὐτοὺς ἐχρησιμοποιήθη ὑπὸ τοῦ W. Schröder καὶ τῶν συνεργατῶν αὐτοῦ C. Green καὶ L. Kay πυριτικὸν ὀξύ τοῦ ἐμπορίου ἀναμεμιγμένον μετὰ celite.

Ἐπειδὴ ηὐτύχησα νὰ εὐρίσκωμαι κατὰ τὴν ἐποχὴν ἐκείνην εἰς τὸ ἐν Pasadena τῆς Καλιφορνίας Τεχνολογικὸν Ἰνστιτοῦτον, εἶχον τὴν εὐκαιρίαν νὰ λάβω τότε μέρος εἰς τὰς ὡς ἄνω ἀναλυτικὰς ἐργασίας καὶ ἐπειδὴ καὶ ἡμεῖς ἀκολουθοῦμεν τὰς αὐτὰς μεθόδους ἀναλύσεως, νομίζω ὅτι θὰ ᾔτο χρήσιμος ἡ ἐξἠκείνης πείρας περιγραφή τῆς ἀνωτέρω μεθόδου, ἥτις εἶναι μέχρις σήμερον ἡ ταχύτερα καὶ ἀκριβεστέρα μέθοδος ἀναλύσεως μίγματος ἀμινοξέων.

## Πειραματικὸν Μέρος

**Δινιτροφαινυλίωσις ἀμινοξέων καὶ πεπτιδίων.**

Ἐπειδὴ ἡ μέθοδος αὕτη βασίζεται κυρίως ἐπὶ τῆς συγκρίσεως ταχυτήτων μετακινήσεως καὶ ἐπὶ τῶν θέσεων ἃς καταλαμβάνουν τὰ ΔΝΦΑ ἐντὸς τῶν στηλῶν πρέπει πρῶτον νὰ μελετηθῇ ἀκριβῶς ἡ θέσις τῶν καθαρῶν γνωστῶν ΔΝΦΑ εἰς

τὸ ἐκάστοτε χρησιμοποιηθῆσόμενον πυριτικὸν ὀξύ. Τοῦτο δέ, διότι αἱ θέσεις τῶν ΔΝΦΑ παραλλάσσουσιν ἀναλόγως τῆς προσροφητικῆς ἰκανότητος τῶν πυριτικῶν ὀξέων τοῦ ἐμπορίου. Τὰ καλλίτερα ἀποτελέσματα δίδει τὸ πυριτικὸν ὀξύ τοῦ οἴκου Merck No 40446, ἀναμεμιγμένον μετὰ celite 4:1 ἢ 4,7:1 κατ' ὄγκον. Ἡ ἀνάμιξις πρέπει νὰ εἶναι τελεία, πρᾶγμα ὅπερ ἐπιτυγχάνεται διὰ τῆς ταυτοχρόνου διελεύσεως τῶν δύο σωμάτων δι' ἑνὸς κοσκίνου 60 mesh. Ἡ κόνις φυλάσσεται εἰς μεγάλας φιάλας οὐχὶ ἐρμητικῶς κλειστάς, οὕτως ὥστε νὰ δυνηθῇ νὰ ἰσοροπήσῃ τὸ μίγμα πρὸς τὴν ἐν τῷ ἐργαστηρίῳ ἐνυπάρχουσαν ὑγρασίαν.

Διὰ τὴν σύνθεσιν τῶν ΔΝΦΑ μεταχειρίζομεθα τὴν ὑπὸ τοῦ Sanger διαμορφωθεῖσαν μέθοδον, ἥτις καὶ περιγράφεται κατωτέρω:

10 ἕως 20 mg ἀμινοξέος φέρονται ἐντὸς, δι' ἐσμηρισμένου πώματος καλῶς πωματιζομένης, φιάλης περιεκτικότητος οὐχὶ μεγαλυτέρας τῶν 50 κυβ. ἐκ. μετὰ 2 κυβ. ἐκ. ὕδατος, καὶ εἶτα προστίθενται 100—200 mg στερεοῦ  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (pro analysis), καὶ τὸ μίγμα ἀνακινεῖται μέχρι τελείας διαλύσεως τοῦ ἀμινοξέος. Εἶτα προστίθενται 0,1 ἕως 0,2 κυβ. ἐκ. 1-φθορο-2,4-δινιτροβενζολίου, διαλελυμένου ἐντὸς 1—2 κυβ. ἐκ. ἀπολύτου αἰθυλικῆς ἀλκοόλης, μεθ' ἧς ἡ φιάλη κλείεται ἐρμητικῶς καὶ ἀναταράσσεται συνεχῶς ἐπὶ τέσσαρας ὥρας. *ΠΡΟΣΟΧΗ εἰς τὴν χρῆσιν τοῦ φθοροδινιτροβενζολίου καθ' ὅτι προκαλεῖ δυσίατα βλαβερά ἐγκαύματα.*

Μετὰ τὸ πέρας τῆς δινιτροφαινυλιώσεως ἐκχέεται τὸ ὑγρὸν ἐντὸς διαχωριστικῆς χοάνης καὶ ἐκπλύνεται 4 φορές μετὰ 25 κυβ. ἐκ. ἐκάστοτε αἰθέρος πρὸς ἀπομάκρυνσιν τῆς περισεύσεως τοῦ ἀντιδραστηρίου. Ὁ αἰθὴρ ἀπορρίπτεται, καὶ τὸ ἀλκαλικὸν διάλυμα ὀξυνίζεται διὰ τῆς προσθήκης 1—2 κυβ. ἐκ. 6 N HCl, ἀναλόγως τῆς χρησιμοποιηθείσης ποσότητος τοῦ  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  καὶ ἐκχυλίζεται 5 φορές μετὰ 5 κυβ. ἐκ. ἐκάστοτε αἰθέρος πρὸς παραλαβὴν τῶν ΔΝΦΑ. Τὰ συνενωθέντα αἰθερικά ἐκχυλίσματα ἐκπλύνονται 3 φορές μετὰ 5 κυβ. ἐκ. ἐκάστοτε ὕδατος εἰς ὃ προστίθενται 2 σταγόνας 6 N HCl, καθ' ὅτι ἀνευ προσθήκης ὀξέος τὰ ΔΝΦΑ τείνουν νὰ διαλυθοῦν εἰς τὴν ὑδατικὴν φάσιν.

Ἀκριβῶς ἡ αὕτη μέθοδος δινιτροφαινυλιώσεως χρησιμοποιεῖται καὶ διὰ τὰ πεπτιδία. Κατὰ τὴν ἐκχύλισιν ὁμοῦ



δινιτροφαινυλοπεπτιδίων (ΔΝΦΠ) μεταχειριζόμεθα αντί αιθέρος οξείκον αιθυλεστέρα. Εάν υπάρχει πιθανότης συνυπάρξεως ΔΝΦΠ και ΔΝΦΑ τότε εκχυλίζομεν πρώτον δι' αιθέρος και είτα διὰ οξείκου αιθυλεστέρος πρὸς παραλαβὴν τῶν ΔΝΦΠ.

Μετὰ τὴν ἐξάτμισιν τοῦ αιθέρος καὶ τοῦ οξείκου αιθυλεστέρος παραμένουν εἰς μὲν τὴν πρώτην περίπτωσιν τὰ κίτρινα ΔΝΦΑ ὡς ἐπὶ τὸ πλεῖστον εἰς κρυσταλλικὴν κατάστασιν, ἐνῶ εἰς τὴν δευτέραν περίπτωσιν τὰ ΔΝΦΠ παραμένουν ὡς ἄμορφον κίτρινον ὑπόλειμμα. Τὰ ΔΝΦΑ καὶ ΔΝΦΠ δύνανται νὰ φυλαχθοῦν εἰς καλῶς κλειούσας φιάλας εἰς τὸ σκότος ἐπ' ἀπειρον ἄνευ κινδύνου μεταβολῆς τῶν. Κατωτέρω παραθέτομεν πίνακα σημ. τῆξ. τῶν ΔΝΦΑ.

ΠΙΝΑΞ Ι. Σημεῖα τήξεως τῶν 2-4-δινιτροφαινυλωμένων ἀμινοξέων

ΔΝΦΑ	Μέσον ἀνακρυσταλλώσεως	Σ. Τ. °C
ΔΝΦ-DL-άλανίνη	ἀκετόνη-λιγροΐνη	172—173
ΔΝΦ-DL-ἀσπαραγινικόνη ὀξύ	ὄξεικ. αἰθυλεσθῆρ καὶ λιγροΐνη	188—189
Δι-ΔΝΦ-DL-κυστίνη	ὄξεικ. ὀξύ - ἕδωρ	118—121
ΔΝΦ-DL-γλουταμινικόνη ὀξύ	δὲν κρυσταλλοῦται	155—162
ΔΝΦ-γλυκόκολλα	ἀκετόνη-λιγροΐνη	192—193
ΔΝΦ-DL-ἰσολευκίνη	ἀκετόνη-λιγροΐνη	168—172
ΔΝΦ-DL-λευκίνη	ἀκετόνη-λιγροΐνη	131—132
Δι-ΔΝΦ-DL-λυσίνη	μυρμηκ. ὀξύ ἢ μεθανόλη-ἕδωρ	173—174,5
ΔΝΦ-DL-μεθιονίνη	αἰθῆρ-λιγροΐνη	107—112
ΔΝΦ-DL-φαιτυλααγινίνη	ἀκετόνη-λιγροΐνη	204—206
ΔΝΦ-L-προλίνη	αἰθῆρ-λιγροΐνη	137—138,5
ΔΝΦ-DL-σερίνη	ἀκετόνη-λιγροΐνη	186—188
ΔΝΦ-DL-θρεονίνη	ἀκετόνη λιγροΐνη ἢ αἰθῆρ-λιγροΐνη	177—178
ΔΝΦ-DL-θρυπτοφάνη	δὲν κρυσταλλοῦται	196—198
Δι-ΔΝΦ-D-τυροσίνη	δὲν κρυσταλλοῦται	92—98
ΔΝΦ-DL-βαλίνη	ἀκετόνη-λιγροΐνη	182,5—183,5

**Διαστάσεις τῶν χρωματογραφικῶν σωλῆνων καὶ στηλῶν.**

Συνήθως χρησιμοποιοῦνται διὰ τὴν μέθοδον ταύτην σωλῆνες ἐξ ὑάλου pyrex μήκους 200 mm καὶ διαμέτρου 9 μέχρι 14 mm, οἵτινες, διὰ τοῦ κάτω ἐσμυρισμένου αὐτῶν ἄκρου, προσαρμόζονται πρὸς σωλῆνα φέροντα διάτρητον πλάκα, δυνάμενον νὰ προσαρμοσθῇ εἴτε δι' ἔλαστικοῦ πώματος, εἴτε καὶ δι' ἐνδιαμέσου ἐσμυρισμένης ἐνώσεως μετὰ διηθητικὴν φιάλην συνδεδεμένην μέσῳ τριοδικῆς στρόφιγγος πρὸς τὴν ὕδραεραντλίαν.

**Πλήρωσις τοῦ σωλῆνος διὰ πυριτικοῦ ὀξέος.**

Πρὸς πλήρωσιν τοῦ σωλῆνος διὰ πυριτικοῦ ὀξέος συνδέομεν τοῦτον μετὰ τὴν διηθητικὴν φιάλην καὶ θέτομεν εἰς λειτουργίαν τὴν ὕδραεραντλίαν, στρέφοντες τὴν στρόφιγγα οὕτως ὥστε μόνον τὸ ἥμισυ τοῦ ρεύματος νὰ διέρχεται διὰ τοῦ σωλῆνος. Μετὰ ταῦτα θέτομεν δι' ὑάλινης ράβδου ἕν μικρὸν τεμάχιον βάμβακος διὰ μέσου τοῦ σωλῆνος ἐπὶ τῆς διατρήτου ὑάλινης πλακῶς καὶ πιέζομεν τοῦτο καλῶς ἐγχύοντες ἀμέσως μετὰ ταῦτα ἠρέμως καὶ συνεχῶς, ἀνοικτῆς οὔσης τῆς ὕδραεραντλίας, τὸ μίγμα τοῦ πυριτικοῦ ὀξέος καὶ celite μέχρις ὕψους 150 mm. Διὰ πλατείας ὑάλινης ράβδου ὀριζοντιοποιούμεν τὴν ἄνω ἐπιφάνειαν τοῦ πυριτικοῦ ὀξέος ἐντὸς τῆς στήλης. Μετὰ ταῦτα στρέφομεν τὴν τριοδι-

κὴν στρόφιγγα οὕτως ὥστε ὀλόκληρον τὸ ρεῦμα τῆς ὕδραεραντλίας νὰ διέρχεται διὰ τοῦ σωλῆνος καὶ ἐπιχέομεν μετὰ προσοχῆς, ὥστε νὰ μὴ ἀναταραχθῇ ἡ ἄνω ἐπιφάνεια τοῦ προσροφητικοῦ μέσου, τὰ ἐξῆς διαλύματα κατὰ σειρὰν, ἀτινα ἀποτελοῦν καὶ τὴν πρόπλυσιν, ἧτις πρέπει πάντοτε νὰ γίνεται πρὸ τῆς καθ' ἑαυτὸ χρωματογραφίας:

Πρώτον: 7 κυβ. ἐκ. αἰθυλαιθέρος.

Δεύτερον: Μίγμα ἐκ 5 κυβ. ἐκ. ἀκετόνης καὶ 5 κυβ. ἐκ. αἰθυλαιθέρος.

Τρίτον: 7 κυβ. ἐκ. λιγροΐνης.

Διὰ τῆς προπλύσεως ταύτης τὸ προσροφητικὸν μέσον καθίσταται ὁμοιογενέστερον. Πρωτοῦ ὁμως διέλθουν αἱ τελευταῖαι ποσότητες τῆς λιγροΐνης, —δὲν πρέπει ἐφ' ὅσον ἤρχισε ἡ πρόπλυσις νὰ διακοπῇ πλέον ἢ χρωματογράφησις— ἐπιχέομεν τὸ διάλυμα τῶν ΔΝΦΑ ἢ ΔΝΦΠ ὅπερ θέλομεν νὰ διαχωρίσωμεν.

**Κυρίως χρωματογραφίαι τῶν ΔΝΦΑ καὶ ΔΝΦΠ.**

Τὰ ΔΝΦΑ διαλύονται συνήθως εἰς 2 ἢ 3 κυβ. ἐκ. διαλύματος ἀποτελουμένου ἐκ 10 κυβ. ἐκ. ἀκετόνης καὶ 90 κυβ. ἐκ. λιγροΐνης\*. Πολλάκις ὠρισμένα ΔΝΦΑ καὶ ἰδίως ΔΝΦΠ δὲν διαλύονται εὐχερῶς σχηματίζοντα θολερότητα. Εἰς τὰς περιπτώσεις αὐτὰς τὸ διαλυτικὸν μέσον ἐξατμίζεται, καὶ τὰ ὑπολείμματα ἀναδιαλύονται εἰς 2 ἢ 3 κυβ. ἐκ. 2 ΟΟ-2 ΟΑ-Λ ἢ τὰ πλέον δυσδιάλυτα ΔΝΦΠ, εἰς 0,2 ΟΟ-5 Β.

Τὰ οὕτω λαμβανόμενα διαυγῆ διαλύματα τῶν ΔΝΦΑ ἢ ΔΝΦΠ, ἐπιχέονται, ὡς ἀνωτέρω ἐλέχθη, καὶ πρωτοῦ διέλθῃ ἐντελῶς ἡ λιγροΐνη τῆς προπλύσεως ἐπὶ τῆς προσροφητικῆς στήλης, ὡς καὶ 1 ἕως 2 κυβ. ἐκ. τοῦ ἀμέσως μετὰ ταῦτα χρησιμοποιηθησομένου ὕγρου ἀναπτύξεως τοῦ χρωματογραφήματος, δι' οὗ ἐκπλένομεν τὴν φιάλην, εἰς ἣν ἦσαν διαλελυμένα τὰ ΔΝΦ-παράγωγα, ὡς καὶ τὰς παρειὰς τοῦ σωλῆνος προσροφήσεως, ἐπιχέοντες εἴτα ἕν συνεχεῖα τὸ ὕγρον ἀναπτύξεως.

Τὰ ὕγρα ἀναπτύξεως εἶναι μίγματα διαφόρων ὀργανικῶν διαλυτικῶν μέσων μετὰ μικρῶν ποσοτήτων οξείκου ὀξέος καὶ παραλλάσσουσιν ἀναλόγως τῆς ὁμάδος τῶν ΔΝΦΑ, ἅτινα θέλομεν νὰ διαχωρίσωμεν.

Συνήθως ἡ πρώτη ἀνάπτυξις μίγματος ΔΝΦΑ, ἀγνώστου ἡμῖν συστάσεως, γίνεται πάντοτε διὰ τοῦ ἰδίου διαλυτικοῦ μέσου ὅπερ εἶναι 8 ΟΟ-4 Α-Λ. Λέγοντες δὲ ἀνάπτυξιν τοῦ χρωματογραφήματος ἐννοοῦμεν τὸν διαχωρισμὸν τοῦ μίγματος τῶν ΔΝΦΑ ἢ ΔΝΦΠ εἰς διαφόρους κίτρινας ζώνας, αἵτινες, συνεπεία τῆς μεγαλύτερας ἢ μικροτέρας αὐτῶν προσροφήσεως, ἀφ' ἑνός, καὶ τῆς μικροτέρας ἢ μεγαλύτερας αὐτῶν διαλυτότητος εἰς τὸ μέσον ἀναπτύξεως, κινοῦνται διὰ μέσου τῆς στήλης τοῦ πυριτικοῦ ὀξέος μετὰ διαφόρου τα-

\* Χάρις ἀπλουσιεύσεως, θὰ ἀναφέρωμεν κατωτέρω, ποιῶντες μνείαν τῶν διαφόρων διαλυμάτων, τὸν ἀριθμὸν τῶν κυβ. ἐκ. καὶ τὰ ἀρχικὰ ψηφία τῶν διαλυτικῶν μέσων. Τὸ τελευταῖον ἀρχικὸν ψηφίον ὑπονοεῖ τὸ ἐκάστοτε ὀνομαζόμενον διαλυτικὸν μέσον εἰς ποσότητα τοιαύτην ὥστε ὁ ὄγκος τοῦ ὅλου διαλύματος νὰ φθάσῃ τὰ 100 κυβ. ἐκ. Διὰ τὴν ἀκετόνην (Α), διὰ τὸν αἰθυλ. αἰθέρα (ΑΑ), διὰ τὸν οξείκον ὀξύ (ΟΟ), διὰ τὸ μυρμηκικὸν ὀξύ (Μ), διὰ τὸν οξείκον αἰθυλεστέρα (ΟΑ), διὰ τὸ βενζόλιον (Β), διὰ τὸ κνυλοξάνιον (ΚΕ) καὶ διὰ τὴν λιγροΐνην (Λ). Ὡς ἐκ τούτου ἡ παραστάσις 8 ΟΟ-4 Α-Λ σημαίνει ὀκτώ κυβ. ἐκ. οξείκου ὀξέος καὶ τέσσαρα κυβ. ἐκ. ἀκετόνης συμπληρωθέντα μέχρι ὄγκου 100 κυβ. ἐκ. διὰ λιγροΐνης.

χύτητος μετά την προσθήκην ἐκάστοτε τῶν αὐτῶν ποσοτήτων ὑγροῦ ἀναπτύξεως. Ὡς ἐκ τούτου, ὡς ἐν ἀρχῇ ἐτοπίσθη, γνωρίζοντες ποῖαν θέσιν καταλαμβάνει ἐν ἑκάστον ΔΝΦΑ μετά την διέλευσιν ὠρισμένου ποσοῦ ὑγροῦ ἀναπτύξεως, δυνάμεθα νὰ κρίνωμεν περὶ τῆς ταυτότητος ἀγνωστων ἡμῖν ΔΝΦΑ μετά μεγίστης ἀκριβείας, ἐφ' ὅσον βεβαίως χρησιμοποιοῦμεν πάντοτε τὸ αὐτὸ προσροφητικὸν μέσον καὶ τὰ αὐτὰ ὑγρὰ ἀναπτύξεως.

Ἡ ἀνάπτυξις τοῦ χρωματογραφήματος γίνεται οὕτω πως :

Ἀμέσως μετά την προσθήκην τῶν πρώτων 7 κυβ. ἐκ. ὑγροῦ ἀναπτύξεως καὶ προτοῦ διέλθουν ἐντελῶς ταῦτα μετροῦμεν ταχέως διὰ ὑποδεκαμέτρου ἐπὶ τοῦ σωλήνος προσροφήσεως τὴν ἀπόστασιν τῆς μετακινουμένης κιτρίνης ζώνης ἀπὸ τῆς ἄνω ἐπιφανείας τῆς στήλης. σημειοῦντες τὸσον τὴν ἀπόστασιν τῆς ἄνω ὡς καὶ τῆς κάτω ἐπιφανείας αὐτῆς. Ἡ μέτρησις αὕτη πρέπει νὰ γίνῃ ταχύτατα καὶ ἐπακριβῶς. Εἶτα προτοῦ διέλθουν καὶ αἱ τελευταῖαι σταγόνες τοῦ ὑγροῦ ἀναπτύξεως προστίθενται ἕτερα 7 κυβ. ἐκ. αὐτοῦ καὶ μετράται πάλιν, προτοῦ διέλθουν ταῦτα ἐντελῶς, ἡ ἀπόστασις τῆς ἄνω καὶ κάτω ἐπιφανείας τῆς ζώνης ἀπὸ τῆς ἄνω ἐπιφανείας τῆς προσροφητικῆς στήλης. Χάριν ἀπλουστεύσεως καὶ ἐπειδὴ ὑπῆρχε ἡ συνήθεια, ἕνεκα τοῦ μεγέθους τῶν σωλήνων, νὰ προστίθενται πάντοτε ἀνὰ 7 κυβ. ἐκ. ὑγροῦ ἀναπτύξεως, ὀνομάζομεν τὰ 7 κυβ. ἐκ. V, τὰ 14 κυβ. ἐκ. 2V καὶ οὕτω καθ' ἑξῆς.

Ἐὰν τὸ ὑπὸ ἐξέτασιν διάλυμα ἀποτελεῖται μόνον ἀπὸ ἓνα ΔΝΦΑ τότε ἡ κιτρίνη ζώνη θὰ μετακινήθῃ ὁμοιόμορφως καὶ θὰ φθάσῃ μετὰ τὴν προσθήκην ὠρισμένου ἀριθμοῦ V εἰς ἓνα σημεῖον τῆς στήλης ἢ, ἐφ' ὅσον κινεῖται ταχέως, δύναται νὰ διέλθῃ τῆς στήλης καὶ νὰ συλλεγῇ ἐντὸς τοῦ διηθήματος. Ἐὰν ὁμως ὑπάρχουν εἰς τὸ ὑπὸ ἀνάλυσιν διάλυμα περισσότερα τοῦ ἓνός ΔΝΦΑ, ὅπως τοῦτο συμβαίνει κατὰ τὴν ἀνάλυσιν προϊόντων ὑδρολύσεως τῶν λευκωμάτων, τότε μετὰ τὴν προσθήκην 2V ἢ 3V θὰ ἐπέλθῃ διαχωρισμὸς τῆς πρώτης ζώνης εἰς δύο, τρεῖς ἢ καὶ τέσσαρας, ἀναλόγως τῶν ἐμπεριεχομένων ΔΝΦΑ, ἅτινα βαδίζουν διὰ μέσου τοῦ προσροφητικοῦ μέσου καθ' ὁμάδας. Εἰς τὴν περίπτωσιν αὕτην μετρώμεν ἐπακριβῶς καὶ καταγράφομεν τὰς ἀποστάσεις τῆς ἄνω καὶ κάτω ἐπιφανείας ἐκάστης ζώνης ἀπὸ τῆς ἄνω ἐπιφανείας τοῦ προσροφητικοῦ μέσου, μετὰ προσθήκην ἐκάστου V. Ἡ μετακίνησις τῶν ζωνῶν διὰ μέσου τοῦ προσροφητικοῦ μέσου γίνεται ἅμα τῇ διαχωρίσει μὲ διάφορον

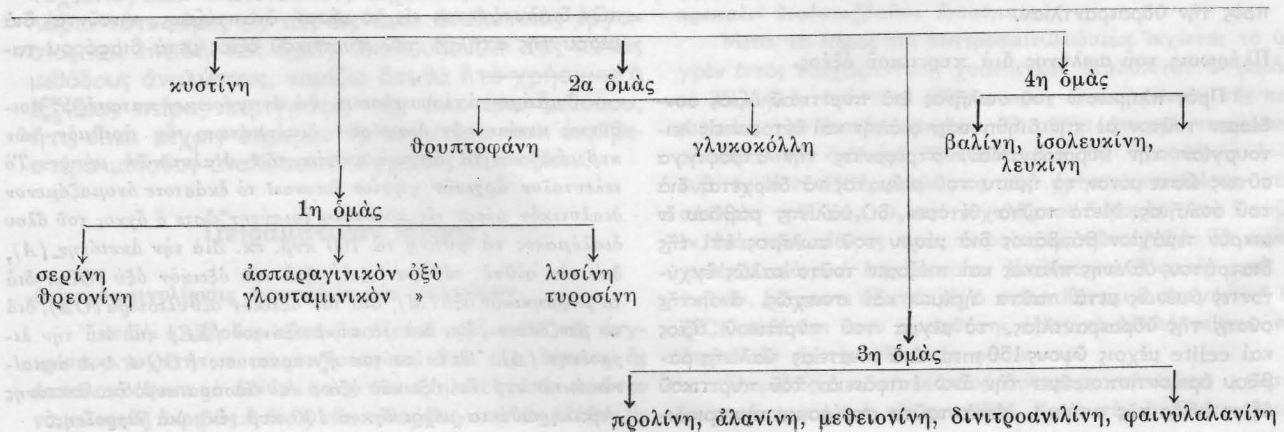
δι' ἐκάστην ὁμάδα ΔΝΦΑ ταχύτητα, οὕτως ὥστε μετὰ τὴν διέλευσιν 7 ἢ 8 V νὰ ἔχῃ ἐπέλθῃ τέλειος διαχωρισμὸς τῶν κιτρίνων ζωνῶν δι' ἐνδιαμέσων λευκῶν.

Ὡς ἐκ τοῦ σχήματος I φανεροῦται, αἱ τέσσαρες ὁμάδες ΔΝΦΑ σχηματίζουν χωριστὰ πορευομένας ζώνας, αἵτινες περιλαμβάνονται μεταξὺ δύο εὐθειῶν ἐκ τῶν ἐποίων ἢ ἄνω ἀντιπροσωπεύει τὴν ἄνω, καὶ ἡ κάτω εὐθεῖα τὴν κάτω ἐπιφάνειαν τῆς κιτρίνης ζώνης. Τὰ εἰς ἐκάστην ὁμάδα ἀνήκοντα ΔΝΦΑ καταλαμβάνουν πάντοτε τὴν αὐτὴν θέσιν μετὰ προσθήκην τῶν αὐτῶν ποσοτήτων ὑγροῦ ἀναπτύξεως. Οὕτω βλέπομεν ἐκ τοῦ σχήματος I ὅτι τὰ εἰς τὴν 1ην ὁμάδα ἀνήκοντα ΔΝΦΑ εὐρίσκονται μετὰ τὴν προσθήκην καὶ 8V ἦτοι 56 κυβ. ἐκ. ἐντὸς τοῦ σωλήνος προσροφήσεως σχηματίζονται κιτρίνη ζώνη, ἣς ἡ ἄνω ἐπιφάνεια κεῖται εἰς ἀπόστασιν 19 mm καὶ ἡ κάτω εἰς ἀπόστασιν 65 mm ἀπὸ τῆς ἄνω ἐπιφανείας τοῦ μέσου προσροφήσεως, ἐνῶ ἀφ' ἑτέρου ἡ 2α ὁμάς μετὰ 8V εὐρίσκεται σχηματίζουσα ζώνην ἀπέχουσαν 70 περίπου mm ἄνω καὶ 120 mm κάτω τῆς ἄνω ἐπιφανείας τοῦ πυριτικοῦ ὀξέος. Ἀντιθέτως ὁμως βλέπομεν ἐπίσης ὅτι ἡ 3η ὁμάς μετὰ προσθήκην 8V ἔχει ἀρχίσει νὰ διέρχεται πρὸς τὴν διηθητικὴν φιάλην διότι μόνον ἡ ἄνω ἐπιφάνεια τῆς ζώνης εὐρίσκεται ἐντὸς τοῦ σωλήνος καὶ εἰς ἀπόστασιν 130 mm ἀπὸ τῆς ἄνω ἐπιφανείας, ἐνῶ ἡ 4η ὁμάς ἔχει ἤδη διέλθῃ ὀλοκληρωτικῶς μετὰ 8V διὰ τοῦ σωλήνος. Ὡς ἐκ τούτου ἐὰν ἠθέλαμεν νὰ συγκρατήσωμεν καὶ τὰς τέσσαρας ὁμάδας ἐπὶ τοῦ σωλήνος χρωματογραφήσεως θὰ ἔπρεπε νὰ εἴχωμεν διακόψει τὴν προσθήκην ὑγροῦ ἀναπτύξεως ἀμέσως μετὰ τὰ 2V. Συνεπῶς δυνάμεθα κανονίζοντες τὸ ποσὸν τῶν V νὰ συγκρατήσωμεν ἐπὶ τοῦ σωλήνος προσροφήσεως ἢ νὰ ἀναγκάσωμεν νὰ διέλθῃ εἰς τὸ διηθήμα ἡ ὁμάς ἢ αἱ ὁμάδες ΔΝΦΑ, αἵτινες μετακινοῦνται ταχύτερον

Ἐφ' ὅσον τὸ ὑπὸ ἀνάλυσιν διάλυμα σχηματίζει διὰ τοῦ 8 OO-4 A-Λ τέσσαρας ἢ καὶ ὀλιγωτέρας ζώνας, πλὴν τῆς ὑπὸ τῆς Δι-ΔΝΦ-κυστίνης σχηματιζομένης ζώνης, ἣτις παραμένει, ἐφ' ὅσον βεβαίως ὑπάρχει, πλησίον τῆς ἐπιφανείας τοῦ πυριτικοῦ ὀξέος σχεδὸν οὐδὸλως μετακινουμένη, τὸ ἐπόμενον βῆμα εἶναι ὁ διαχωρισμὸς τῶν ζωνῶν καὶ ἡ ἀπομόνωσις τοῦ μίγματος τῶν εἰς ἐκάστην ζώνην ἐμπεριεχομένων ΔΝΦΑ.

Διὰ συγκρίσεως τοῦ σχήματος I καὶ τοῦ πίνακος V γίνεται εὐκόλως φανερόν ὅτι διὰ τῆς ἀναπτύξεως διὰ 8 OO-4 A-Λ διαφαίνονται ὄχι μόνον ἡ σειρά τῶν ζωνῶν ἀλλὰ καὶ τὰ εἰς ἐκάστην ζώνην ἀνήκοντα ἀμινοξέα. Ἡ κυστίνη σχηματίζει τὴν ἀνωτάτην πλησίον τῆς ἐπιφανείας ζώνην, ἐνῶ ἡ 4η

ΠΙΝΑΞ II. Μίγμα 16 ΔΝΦ ἀμινοξέων. Προσροφῆσις ἐπὶ πυριτικοῦ ὀξέος, ἀνάπτυξις διὰ 8 OO-4 A-Λ



όμας κινουμένη ταχύτερον όλων σχηματίζει την κατωτάτην ζώνην.

Είναι ευνόητον ότι τα άμινοξέα τής τετάρτης ομάδος και μέρος τών τής τρίτης, ως ταχύτερον τών άλλων μετακινούμενα, θα διέλθουν διά μέσου τής στήλης μετά την διέλευσιν 8V=56 κυβ. εκ. ύγρου άναπτύξεως εκ τής στήλης προς την φιάλην διηθήσεως. Ούτω δυνάμεθα μετά την διέλευσιν τής τετάρτης ομάδος, τουτέστιν τής πέμπτης ζώνης, άλλάζοντες την φιάλην διηθήσεως, να λάβωμεν χωριστά και την τετάρτην ζώνην. Περαιτέρω δυνάμεθα να προσθέσωμεν εν συνεχεία ύγρον άναπτύξεως, μέχρις ότου διέλθουν διά τής στήλης ή τρίτη και ή δευτέρα ζώνη, αν και ή μέθοδος αυτή απαιτεί περισσότερον χρονικόν διάστημα ίνα διέλθουν αι ζώναι. Συνήθως όταν διέλθη ή τετάρτη όμας, διακόπτομεν την προσθήκην του ύγρου άναπτύξεως, άφίνομεν να διέλθη άηρ επί τινα μόνον λεπτά εκ τής συσκευής, και είτα άπο χωρίζομεν τον ύάλινον σωλήνα προσροφήσεως εκ τής βάσεως αυτού και κτυπώμεν έλαφρώς κρατούντες αυτόν εκ του κάτω μέρους, ώστε ή άνω έπιφάνεια τής προσροφητικής στήλης να διευθύνεται προς τα άνω, επί του άκρου τής τραπέζης, ούτως ώστε στρέφοντες αυτόν συνεχώς, να κτυπηθούν όλαι αι πλευραι αυτού. Είτα διά στρογγύλης ράβδου έχούσης κατά τι μικροτέραν διάμετρον τής του σωλήνος, πιέζομεν εκ τής κάτω αυτού όπής το πυριτικόν όξύ, ούτως ώστε να έκβάλωμεν όλόκληρον την στήλην επί

Ανάλυσις τών διαφόρων ομάδων εις τα έξ ών αποτελούνται ΔΝΦΑ.

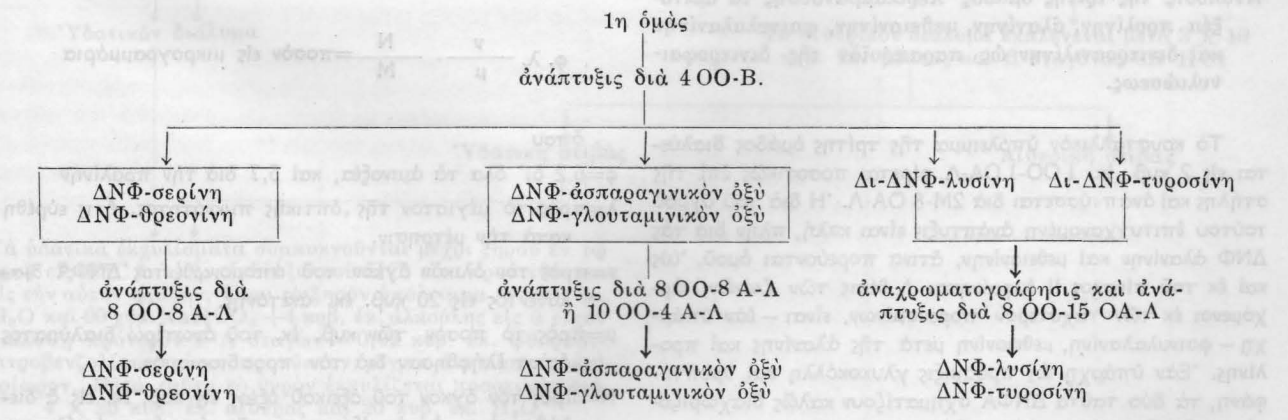
Διά τής προηγηθείσης αναλύσεως του ύδρολυτικού μίγματος διεχωρίσθησαν τα ΔΝΦΑ, πλην τής δι-ΔΝΦ-κυστίνης, ήτις παρέμεινε εις την άνωτάτην έπιφάνειαν τής στήλης, εις τέσσαρας ομάδας, αίτινες έκλουσθεΐσαι έκρυσταλλώθησαν κατόπιν έξαμίσεως του διαλυτικού αυτού μέρους.

Κατωτέρω θα έξετάσωμεν την άνάλυσιν μιās έκάστης τών ομάδων εις τα ΔΝΦΑ άτινα περιέχει.

Ανάλυσις τής πρώτης ομάδος άποτελουμένης εκ τών ΔΝΦΑ σερίνης, θρεονίνης, άσπαραγινικού και γλουταμινικού όξέος, λυσίνης και τυροσίνης.

Το κρυσταλλικόν ύπόλειμμα τής 1ης ομάδος διαλύεται εις εν ή δύο κυβ. εκ. 2 00-2 0Α-Λ ή εις 0.2 00-5 Β, και το διάλυμα έπιχέεται επί τής στήλης, άφοϋ έκπλυθη ή φιάλη εντός τής όποίας ήτο διαλελυμένον το ύπόλειμμα μετά του ύγρου άναπτύξεως, το όποιον εις την προκειμένην περίπτωσιν είναι 4 00-Β ή 4 00-Λ ή τέλος 4 00-ΚΕ. Εάν μεταχειρισθώμεν διά την άνάπτυξιν τής ομάδος ταύτης το 4 00-Β αι ζώναι διαχωρίζονται καλώς άλλά πολλάκις ιδίως ή ΔΝΦ-τυροσίη σχηματίζει άμυδρως μόνον διαγραφομένην ζώνην, και ως εκ τούτου συνιστώμεν όπως το πρώτον έστω και άχρον διήθημα, φυλάσσεται ίνα χρωματογραφηθη άργότερον μόνον του, μετά 8 00-8 Α-Λ ή 10 00-5 Α-Λ.

ΠΙΝΑΞ ΙΙΙ. Χρωματογραφική άνάπτυξις 1ης ομάδος



ένος καθαρού λευκού φύλλου χάρτου όπερ είχομεν τοποθετήσει επί τής τραπέζης. Αμέσως μετά ταύτα και ένόσω άκόμη δέν έχει ξηρανθη ή στήλη του πυριτικού όξέος, μετρώμεν έπακριβώς την έκτασιν τών ζωνών, και κόπτομεν ταύτας διά μιās ξυριστικής λεπίδος εν εκατοστών άνωθεν και κάτωθεν τών όρίων τής ζώνης, ή και περισσότερον εάν είναι άνάγκη, (ένεκα άνωμάλου κατευθύνσεως τών ζωνών), θέτομεν ποσοτικώς τα τεμάχια ένα έκαστον χωριστά, (προσοχή μόνον διά σκληρού χάρτου και τής ξυριστικής λεπίδος, όχι διά τών δακτύλων), εντός ήθμοϋ εκ πορσελάνης, και έκλούομεν τα ΔΝΦΑ δι' ύγρου άποτελουμένου εκ μίγματος 1 : 4 άλκοόλης-αιθέρος. Τα ούτω ληφθέντα ύγρά κλάσματα, τα άντιστοιχοϋντα προς τας τέσσαρας ομάδας τών ΔΝΦΑ και τής δι-ΔΝΦ-κυστίνης, έξαμίζονται μέχρι ξηρού και τα κρυσταλλικά ΔΝΦΑ φυλάττονται μέχρι περαιτέρω κατεργασίας εις το σκότος.

Ο διαχωρισμός τής 1ης ομάδος λαμβάνει την έξης μορφήν : Η ΔΝΦ τυροσίη κινείται ταχύτερον όλων και ως εκ τούτου, κατόπιν προσθήκης 4V ύγρου άναπτύξεως, το μεγαλύτερον αυτής μέρος διέρχεται εις το διήθημα. Η ΔΝΦ λυσίνη κινείται επίσης ταχέως άκολουθούσα όμως την τυροσίην, και κατόπιν 7V, έκπλένεται ώσαύτως εντός του διηθήματος. Η τρίτη άμέσως μετά την λυσίνη έρχομένη ζώνη, άνήκει εις τα ΔΝΦ άσπαραγινικόν και γλουταμινικόν όξύ, άτινα κινούνται όμοϋ. Τέλος ή τελευταία ζώνη, ή κινουμένη βραδύτερον όλων, άποτελείται εκ του ζεύγους τής ΔΝΦ θρεονίνης και σερίνης.

Τα δύο ταύτα ζεύγη τών ΔΝΦΑ, τουτέστιν το άσπαραγινικόν και γλουταμινικόν όξύ άφ' ενός, και ή θρεονίνη και σερίνη άφ' έτέρου, χρωματογραφούνται μετά έκλουσιν αυτών εκ τής στήλης δι' άλκοόλης-αιθέρος (1 : 4) έξαμίσεως του διαλυτικού μέρους, και διαλύσεως του κρυσταλλικού ύ-

πολείμματος εις 2 κυβ. εκ. 2 00-2 0-Λ, και περαιτέρω αναπτύξεως του χρωματογραφήματος δια 8 00-8 Α-Λ η 10 00-5 Α-Λ.

Πρός επιβεβαίωσιν των αποτελεσμάτων της αναλύσεως της 1ης ομάδος, καλόν είναι ή ομάς αυτή να χρωματογραφηθή και δια 8 00-15 0Α-Λ ως υγρού αναπτύξεως.

**Ανάλυσις της δευτέρας ομάδος αποτελουμένης εκ θρυπτοφάνης και γλυκοκόλλης.**

Το κρυσταλλικόν ίζημα διαλύεται εις 2 κυβ. εκ. 1 00-1 0Α-Λ, φέρεται ποσοτικώς επί της στήλης και αναπτύσσεται δια 2 00-1 0Α-Λ, η και δια 1 Μ-1 0Α-Λ. Εις άμφοτέρας τās περιπτώσεις μετά την διέλευσιν 49 κυβ. εκ.=7V υγρού αναπτύξεως, τὰ άμινοξέα έχουν διαχωρισθῆ καλώς εις δύο ζώνας, εκ των οποίων ή κάτω ζώνη αντιπροσωπεύεται υπό της ΔΝΦ-γλυκοκόλλης, ενώ ή άνω υπό της ΔΝΦ-θρυπτοφάνης. Η τυχόν παρουσία ΔΝΦ-προλίνης εις την ομάδα ταύτην δέν βλάπτει, διότι το άμινοξύ τουτο πορευόμενον ταχύτερον των άλλων δύο εις τὰ αναφερθέντα υγρά αναπτύξεως, σχηματίζει χωριστήν προπορευομένην ζώνην.

Ός και εις τās άνωτέρω περιπτώσεις των ΔΝΦΑ της 1ης ομάδος, αί ζώναι κόπτονται άφου εκβληθῆ ή στήλη του πυριτικού όξέος εκ του σωλήνος, εκλούνται δι' οίνοπνεύματος και αίθέρου, και προσδιορίζεται το ποσόν του ένεχομένου άμινοξέος φασματοσκοπικώς.

**Ανάλυσις της τρίτης ομάδος περιλαμβανούσης τὰ άμινοξέα προλίνη, άλανίνη, μεθειονίνη, φαινυλαλανίνη και δινιτροανιλίνη ως παραπροϊόν της δινιτροφαινυλίσεως.**

Το κρυσταλλικόν υπόλειμμα της τρίτης ομάδος διαλύεται εις 2 κυβ. εκ. 1 00-1 0Α-Λ, φέρεται ποσοτικώς επί της στήλης και αναπτύσσεται δια 2 Μ·8 0Α-Λ. Η δια του υγρού τουτου έπιτυγχανομένη ανάπτυξις είναι καλή, πλην δια τās ΔΝΦ άλανίνη και μεθειονίνη, άτινα πορευόνται όμοϋ. Ός και εκ του πίνακος II έμφαίνεται ή θέσις των ζωνών, άρχόμενοι εκ των ταχύτερον πορευομένων, είναι — έάν ύπαρχη — φαινυλαλανίνη, μεθειονίνη μετά της άλανίνης και προλίνης. Έάν ύπαρχη ως πρόσμιξις γλυκοκόλλη και θρυπτοφάνη, τὰ δύο ταϋτα ΔΝΦΑ σχηματίζουν καλώς διαχωρισμένην, άνωθεν της προλίνης, ζώνην.

Μετά τον διαχωρισμόν των ζωνών και μετά την εκλουσιν της ζώνης, ήτις περιέχει όμοϋ τὰ ΔΝΦΑ μεθειονίνη και άλανίνη, το κρυσταλλικόν υπόλειμμα της εκλούσεως άφου διαλυθῆ ως άνωτέρω, χρωματογραφείται εκ νέου δι' αναπτύξεως μετά 3 00-5 Α-ΚΕ η δια 2 00·6 Α-ΚΕ, όποτε έπέρχεται άρκετά καλός διαχωρισμός των δύο αυτών άμινοξέων, άν και ή μεταξύ των δύο κιτρίνων ζωνών ζώνη, δέν μένει όπως εις όλας τās άλλας περιπτώσεις άχρους, αλλά είναι έλαφρώς κιτρίνως κεχρωσμένη. Η την ΔΝΦ-φαινυλαλανίνη έμπεριέχουσα ζώνη, ήτις πολλακίς ένέχει και την ΔΝΦ-άλανίνη δύναται να χρωματογραφηθῆ και να αναπτυχθῆ δια 5 00-5 0Α-Λ όποτε έπέρχεται διαχωρισμός εις δύο ζώνας. Κατά την χρωματογράφησιν της ομάδος ταύτης πρέπει να δοθῆ μεγάλη προσοχή εις την ΔΝΦ-προλίνη, ήτις σχηματίζει συνήθως ζώνας πολϋ άμυδρως κιτρίνας, οϋτως ώστε αυται μη παροραθοϋν.

**Ανόλυσις της τετάρτης ομάδος περιεχούσης τὰ άμινοξέα βαλίνη, ισολευκίνη και λευκίνη.**

Το κρυσταλλικόν υπόλειμμα της ομάδος ταύτης διαλύεται ως και άνωτέρω, και χρωματογραφείται δι' αναπτύξεως μετά 4 00-2 Α-Λ. Κατά την χρωματογράφησιν ως εκ του πίνακος V έμφαίνεται σχηματίζονται δύο ζώναι, εκ των οποίων ή κατωτέρα άνήκει εις τὰ ΔΝΦΑ, ισολευκίνη και λευκίνη, άτινα δέν δύναται να διαχωρισθοϋν περαιτέρω, και ή άνωθεν εύρισκομένη ζώνη, ήτις άνήκει εις την ΔΝΦ-βαλίνη.

Πολλάκις κατά την χρωματογράφησιν παρατηρείται ταχύτατα κινουμένη ώχροκιτρίνη ζώνη ήτις μετά 2V, διέρχεται εις το διήθημα. Η ζώνη αυτή όφείλει την παρουσία της εις την κατά την δινιτροφαινυλίωσιν σχηματισθείσαν δινιτροφαινόλην, ήτις όμως λόγω της ταχυτάτης αυτής μετακινήσεως δέν βλάπτει.

Απαντα τὰ ΔΝΦΑ δεικνϋουν έντονον καμπϋλην άπορροφήσεως εις το υπεριώδες και δη με μέγιστα άπορροφήσεως περι τὰ 3500 έως 3400 Å. Δια μετρήσεως της όπτικής πυκνότητος εις τὰ μήκη του υπεριώδους, δυνάμεθα να προσδιορίσωμεν ποσοτικώς τὰ δια της άνωτέρω χρωματογραφίας διαχωρισθέντα ΔΝΦΑ.

Πρός τουτο διαλύονται τὰ ΔΝΦΑ εις πυκνόν όξεικόν όξύ, και εις μέρος αυτου μετρείται ή όπτική πυκνότης εις την περιοχήν των 4600 Å μέχρι 2500 Å δια του φασματοφωτομέτρου Beckman, και εύρίσκεται το σημειον της μεγίστης άπορροφήσεως. Το μέγιστον τουτο λ χρησιμοποιείται εις την κατωτέρω γνωστήν έξίσωσιν.

$$\phi. \lambda. = \frac{\nu}{\mu} \cdot \frac{N}{M} = \text{ποσόν εις μικρογραμμάρια}$$

όπου

$\phi$  = 6,2 δι' όλα τὰ άμινοξέα, και 5,7 δια την προλίνην  
 $\lambda$  = πρόσ το μέγιστον της όπτικής πυκνότητος, ήτις εύρέθη κατά την μέτρησιν.

$\nu$  = πρόσ τον όλικόν όγκον του άπομονωθέντος ΔΝΦΑ διαλυθέντος εις 20 κυβ. εκ. άκετόνης.

$\mu$  = πρόσ το ποσόν των κυβ. εκ. του άνωτέρω διαλύματος άτινα έλήφθησαν δια τον προσδιορισμόν.

$N$  = πρόσ τον όγκον του όξεικού όξέος εις κυβ. εκ. εις α διε-λύθη το μετά την έξάτμισιν της άκετόνης υπόλειμμα του μ.

$M$  = πρόσ 100.

Π.χ. Έάν διαλύσωμεν το ξηρόν υπόλειφθην ΔΝΦΑ εις 20 κυβ. εκ. άκετόνης και λάβωμεν 0,5 κυβ. εκ. τουτου, και διαλύσωμεν το υπόλειμμα μετά την έξάτμισιν της άκετόνης εις 10 κυβ. εκ. πυκνου όξεικού όξέος και εύρωμεν εις το φασματοφωτόμετρον την μεγίστην όπτικήν πυκνότητα 0,612 τότε ή άνωτέρω έξίσωσις θα είναι

$$5,2 \times 0,612 \times \frac{20}{0,5} \times \frac{10}{100} = 15,17 \text{ μικρογραμμάρια ΔΝΦΑ}$$

Περαιτέρω εις τον πίνακα IV παραθέτομεν παράδειγμα της πορείας αναλύσεως ένός άγνωστου πεπτιδίου, δια την καλλιτέραν κατανοήσιν των έκτεθέντων.

ΠΙΝΑΞ IV.

\*Αγνωστον πεπτιδιον (20 mg.) δινιτροφαινιλιουται εντός διαλύματος Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> μετά 1-φθορο-2,4-δινιτροβενζολίου εις 40 °C επί τετράωρον.

Ποσοτική εκχύλισις εντός διαχωριστικής χοάνης μετά 4 × 25 κυβ. εκ. αιθυλαιθέρος

\*Ο αιθήρ εάν είναι άχρους απορρίπτεται, εάν κερωσμένος εκπλένεται τετραίσι δι' ύδατος όξυνισθέντος δια 1 κυβ. εκ. 6 N HCl. Το ύδωρ παραλαμβάνει τά ΔΝΦΠ.

\*Η κιτρινή ύδατική φάσις εκχυλίζεται μετά 4 × 25 κυβ. εκ. όξεικου αιθυλεστερος + 1 κυβ. εκ. N HCl.

\*Εστερική στιβάς κιτρινας κερωσμένη

\*Υδατική στιβάς άχρους

\*Εκπλένεται εις διαχωριστικήν χοάνη μετά 3 × 10 κυβ. εκ. ύδατος και 3 σταγόνας 6 N HCl.

\*Εστερική στιβάς. Το μετά την εξαίτησιν του όξ. αιθυλεστερος υπόλειμμα διαλύεται εις 0.2 00-5 B και χρωματογραφείται δια 3 00-15 A-Λ. Αι κίτρινοι ζώναι διαχωρίζονται και εκλούονται δι' οίνοπνεύματος-αιθέρος 1 : 4, το διαλυτικόν μέσον εξατμίζεται και το υπόλειμμα παραλαμβάνεται εις 20 κυβ. εκ. άκετόνης. Ωρισμένον ποσόν του διαλύματος εξατμίζεται, το υπόλειμμα ύδρολύεται μετά 10 κυβ. εκ. 6N HCl επί 5 ώρας μετά καθέτου ψυκτήρος. Είτα εκχυλίζεται ποσοτικώς μετά 4 × 25 κυβ. εκ. αιθέρος

\*Υδατική στιβάς απορρίπτεται

\*Υδατικόν διάλυμα

Τό αιθερικόν διάλυμα εκπλένεται μετά 3 × 10 κυβ. εκ. ύδατος και 3 σταγόνας 6N HCl

\*Υδατική στιβάς

Αιθερική στιβάς

Τά ύδατικά εκχυλίσματα συμπυκνούνται μέχρι ξηροϋ εν τῷ κενῷ εις 40°C δια την εκδίωξιν του HCl είτα προστίθενται εις την αυτήν φιάλην, όπου τό ξηρόν υπόλειμμα, 2 κυβ. εκ. H<sub>2</sub>O και 20 γμμ. NaHCO<sub>3</sub> + 4 κυβ. εκ. αλκοόλης εις ά είχον διαλυθή πρότερον 1 1/2 σταγών = 0,02 κυβ. εκ. φθοροδινιτροβενζολίου και τό προκύπτον μίγμα άνακινείται επί τριώρον. Μετά ταύτα τή ύγρον εκχυλίζεται ποσοτικώς δια 4 × 25 κυβ. εκ. αιθέρος και 20 κυβ. εκ. H<sub>2</sub>O.

Αιθερική στιβάς συνήθως άχρους όποτε και απορρίπτεται. Εάν όχι ό αιθήρ εξατμίζεται τό υπόλειμμα διαλύεται εις 1 00-1 0A-Λ και χρωματογραφείται δια 8 00-4 A-Λ. Πιθανώς θά ένεχη φθοροδινιτροβενζόλιον και ΔΝΦΑ, έν τοιαύτη δε περιπτώσει πρέπει νά απομακρυνθοϋν ταύτα.

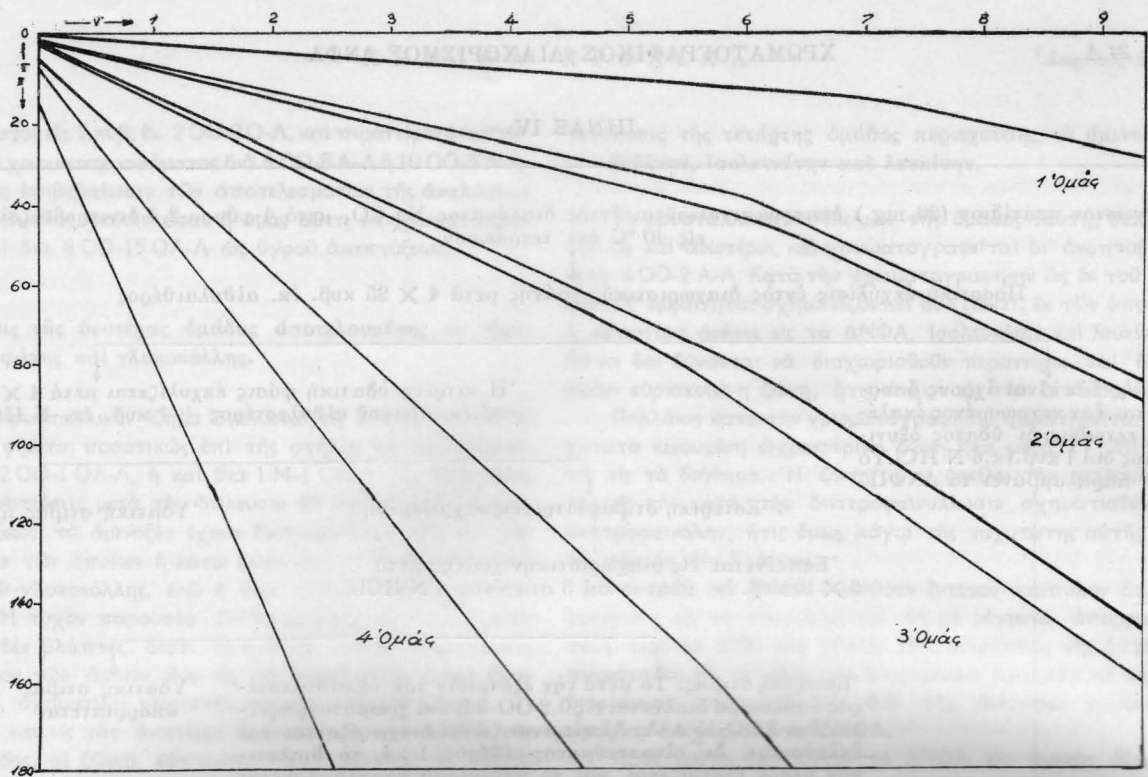
\*Υδατική στιβάς κιτρινή περιέχει ΔΝΦΑ εκπλένεται 4 × 25 κυβ. εκ. αιθέρος 1 κ. εκ. N HCl.

\*Υδατική στιβάς απορρίπτεται

Αιθερική στιβάς εκπλένεται μετά 3 × 10 κυβ. εκ. H<sub>2</sub>O + 3 σταγόνας 6N HCl.

Αιθερική στιβάς ό αιθήρ εξατμίζεται, τό υπόλειμμα διαλύεται εις άκετόνην, και μετά την εξαίτησιν τής άκετόνης τό ξηρόν υπόλειμμα διαλύεται εις 1 00-1 0A-Λ και χρωματογραφείται δια 8 00-4 A-Λ.

\*Υδατική στιβάς απορρίπτεται



Σχ. 1. Ἐκάστη ομάδα ΔΝΦΑ περιλαμβάνεται μεταξύ δύο γραμμῶν, ἐκ τῶν ὁποίων ἡ ἀνωτέρα ἀντιπροσωπεύει τὴν ἄνω ἐπιφάνειαν καὶ ἡ κατωτέρα τὴν κάτω ἐπιφάνειαν τῆς προσροφηθεῖσης κιτρίνης ζώνης.

ΠΙΝΑΞ V.

	Ὅμας I	Ὅμας II	Ὅμας III	Ὅμας IV
0	Σερίνη			
20	Θρεονίνη			
40	Ἀσπαραγιν. ὄξύ	Ὅμας I	Γλυκοκόλλη Θρυπτοφάνη	
60	Γλουταμιν. ὄξύ			
80	Λυσίνη	Θρυπτοφάνη	Προλίνη	Βαλίνη
100			Ἀλανίνη	Ἴσολευκίνη
120		Γλυκοκόλλη	Μεθειονίνη	Λευκίνη
140	Τυροσίνη		Φαινυλαλανίνη	
160		Προλίνη	Δινιτροανιλίνη	
Ἐγγὺς ἀναπτύξεως	5 00- B	2 00-1 0Α-Λ	2 M-8 0Α-Λ	4 00-2 Α-Λ
Ἔγχος	35 V	7 V	7 V	6 V

## S U M M A R Y

*Chromatographic Separation of DNPhaminoacids on Silicic acid-Celite column according to C. Green and L. Kay method.*

By A. A. CHRISTOMANOS

Adsorption Chromatography of DNPhaminoacids on silicic acid-celite had been first published by C. Green and L. Kay.

The value and exactness was proved by us. The advantage of the method by developing the compact yellow zones of the 2,4-dinitrophenylacids with organic solvents consists in the behaviour of the dinitrophenylacids which move much

(Έκ του Έργαστηρίου Βιολογικής Χημείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης)

faster than in the usual partition chromatography, so that a complete quantitative analysis could be finished in few hours.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. L. Kay and W. Schroeder: *J. Am. Chem. Soc.* **76**, 3564, (1954).
2. W. Schroeder and J. LeGette: *J. Am. Chem. Soc.* **75**, 4612, (1953).
3. C. Green and L. Kay: *Analytical Chemistry*, **24**, 726, (1952).
4. W. Schroeder and L. Honnen: *J. Am. Chem. Soc.* **75**, 4615, (1953).
5. W. Schroeder, L. Kay, J. Le Gette, L. Honnen and C. Green: *J. Am. Chem. Soc.* **76**, 3556, (1954).

(Εισήχθη τη 2α 'Απριλίου 1959)

## ‘Αλογονοξέα τής Β’ κυρίας ομάδος του Περιοδικού Συστήματος

‘Υπό ΑΝΔΡΕΟΥ Γ. ΓΑΛΗΝΟΥ

Περιγράφεται ή τὸ πρῶτον παρασκευὴ τῶν ἀλογονοξέων τῶν μετάλλων τῆς Β’ κυρίας ομάδος τοῦ Περιοδικοῦ Συστήματος μετὰ ὑδροβρωμίου καὶ ὑδροχλωρίου καὶ μελετᾶται ή σταθερότης αὐτῶν τῶν ἐνώσεων καὶ αἱ γενικαὶ αὐτῶν ιδιότητες.

Εἰς σειράν προηγηθεισῶν ἀνακοινώσεων ἡμῶν, ἐδείχθη ὅτι δύνανται εὐκόλως νὰ παρασκευασθοῦν συμπλοκα ἀλογονοξέα πλείστων μετάλλων καὶ ν’ ἀπομονωθοῦν ὑπὸ τὴν μορφήν ἀλατοειδῶν ἐνώσεων αὐτῶν μετὰ διαιθυλαιθέρος (1, 2, 3, 4, 5, 6).

‘Υπὸ τὴν μορφήν ταύτην τὰ ἀλογονοξέα δεικνύουν ἐπισημειωμένη καταλυτικὴν δράσιν κατὰ τὴν διεξαγωγὴν διαφόρων ἀντιδράσεων ἐν συγκρίσει πρὸς τὰ ἀνυδρα ἅλατα τῶν μετάλλων ἐκ τῶν ὁποίων προέρχονται.

Πρὸ τετραετίας περίπου ὑπεβλήθη εἰς τὴν Φυσικομαθηματικὴν Σχολὴν τοῦ Παν(μίου) Ἀθηνῶν καὶ ἐνεκρίθη ὑπὸ ταύτης ή διδακτορικὴ ἡμῶν διατριβὴ ὑπὸ τὸν τίτλον «Περὶ μεταλλοαλογονοξέων τινῶν».

Τμῆμα τῆς διατριβῆς ἐδημοσιεύθη ἤδη ὑπὸ τὴν μορφήν προδρόμου ἀνακοινώσεως εἰς τὸ Περιοδικὸν *Angewante Chemie* (7). Ἐν τοῖς ἐπομένοις ἐκτίθενται ή παρασκευὴ τῶν συμπλόκων ἀλογονοξέων τῶν μετάλλων ἀσβεστίου, στροντίου, καὶ βαρίου, ἀνηκόντων ὡς γνωστὸν εἰς τὴν Β’ κυρίαν ομάδα τοῦ περιοδικοῦ συστήματος.

Εἰς τὸ πειραματικὸν μέρος τῆς παρουσίας ἀνακοινώσεως περιλαμβάνεται ή μέθοδος παρασκευῆς τῶν ὡς ἄνω ὀξέων καὶ αἱ ιδιότητες αὐτῶν πρὸς συμπλήρωσιν τῶν γνώσεων ἐπὶ τῆς καθολικότητος τῶν μεθόδων παρασκευῆς τῶν συμπλόκων ἀλογονοξέων καὶ τῆς συγκρίσεως τῆς χημικῆς συμπεριφορᾶς τῆς ὅλης ομάδος τῶν συμπλόκων ἀλογονοξέων.

### Πειραματικὸν Μέρος

α) ‘*H ἐνωσις*  $H_2 [CaBr_{4.}]_2 R_2O$ . Διὰ διαλύσεως ἀνύδρου βρωμιούχου ἀσβεστίου, ἀπολύτως καθαροῦ, εἰς προσφάτως παρασκευασθὲν διάλυμα ὑδροβρωμίου εἰς ἀπόλυτον αἰθέρα καὶ χωρὶς νὰ γίνεται ἀντιληπτὴ μακροσκοπικῶς οὐδεμίαν ἀντίδρασιν οὔτε ή θερμοκρασία τοῦ ὑγροῦ νὰ μεταβάλλεται, παρατηρεῖται σὺν τῷ χρόνῳ ή ἐμφάνισις ἐλαιώδους συστάσεως στιβάδος χρώματος φαιοκιτρίνου, ἥτις εὐρίσκεται κάτωθι τῆς αἰθερικῆς, εἰς τὴν ὁποίαν εἶναι ἀδιάλυτος. ‘*H αὐτὴ ἐλαιώδης στιβάς ἐμφανίζεται ἐπίσης ἂν εἰς τὴν θέσιν τοῦ ἀνύδρου βρωμιούχου ἀσβεστίου θέσωμεν τεμάχια μεταλλικοῦ ἀσβεστίου, ὅτε ὁμοως παρατηρεῖται ἐντονωτάτη ἐκλυσις ὑδρογόνου καὶ σὺν τῷ χρόνῳ ἐμφάνισις τῆς ἐλαιώδους στιβάδος.*

‘*H ἐλαιώδους συστάσεως οὐσία εἶναι λίαν εὐαίσθητος ἐναντι τῆς ὑγρασίας τοῦ ἀέρος καὶ καταστρέφεται λίαν συντόμως ὑπ’ αὐτῆς, ἀποδίδει ὁσμὴν ὑδροβρωμίου καὶ ἔχει ἰσχυρῶς ὀξινον ἀντίδρασιν.*

Πρὸς πιστοποίησιν τῆς ἀγνώστου ταυτότητος οὐσίας ἐζυγίσθη εἰς ἐπιμελῶς ἀποξηρανθέντα σωληνίσκον ποσότης αὐτῆς ἥτις εἰς κλειστὸν μετ’ ἐσμυρισμένου πώματος δοχείου διεσπᾶσθη ὑπὸ ἀπεσταγμένου ὕδατος.

‘*H ὀξύτης τοῦ προκύπτοντος ὑγροῦ προσδιορίσθη ὀγκομετρικῶς με  $N/10 NaOH$  παρουσίᾳ ἡλιανθίνης, τὸ περιεχόμενον ἀσβέστιον ὀγκομετρικῶς, τὸ βρώμιον κατὰ Volhard καὶ τὰ περιεχόμενα μόρια τοῦ αἰθέρος ὑπελογίσθησαν ἐκ τῆς διαφορᾶς βάρους. Κατόπιν πολλῶν ἀναλύσεων προέκυ-*

φαν αἱ κάτωθι ἀναλογίαι μεταξύ τῶν συστατικῶν.



ἐκ τῶν ὁποίων προκύπτει ὅτι ἡ νέα αὕτη ἔνωσις δέον νὰ ἔχη τὸν τύπον  $\text{H}_2\text{CaBr}_4 \cdot 3\text{R}_2\text{O}$ .

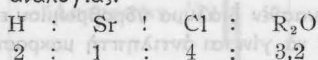
Ἡ οὕτω παρασκευασθεῖσα οὐσία εἶναι ἀδιάλυτος, πλὴν τοῦ αἰθέρος, καὶ εἰς τὸ βενζόλιον καὶ διθειοῦχον ἄνθρακα, καίεται μετὰ φλογὸς πρασίνης, ἀτμίζει εἰς τὸν ἀέρα, εἶναι δὲ διαλυτὴ εἰς χλωροφόρμιον καὶ ἀλκοόλην, εἰς τὸ πρῶτον διαλυτικὸν ὑπὸ σχηματισμὸν ἐλαφροῦ θολώματος. Ἡ ἐν λόγῳ οὐσία δι' ἰσχυρᾶς ψύξεως εἰς λουτρὸν ἐκ στερεοῦ διοξειδίου τοῦ ἄνθρακος καὶ τολουολίου στερεοποιεῖται πρὸς ὑαλώδη μᾶζαν χρώματος φαιοκιτρίνου.

Ἐργαζόμενοι ἀναλόγως ἐπεχειρήσαμεν τὴν παρασκευὴν τοῦ ἀντιστοίχου χλωροπαραγωγῆς τῆς ἔνώσεως, πλὴν ὅμως διὰ διαλύσεως μεταλλικοῦ ἀσβεστίου ἢ ἀντίδρασις δὲν γίνεται μακροσκοπικῶς τοῦλάχιστον αἰσθητὴ κατὰ συνέπειαν ἢ ἔνωσις μόνον εἰς ἴχνη δυνατὸν νὰ σχηματίζεται, μὴ δυνάμενα εὐκόλως νὰ ἀνιχνευθοῦν.

β) Ἡ ἔνωσις  $\text{H}_2[\text{SrCl}_4]3\text{R}_2\text{O}$ . Διὰ προσθήκης ἀνύδρου ἀνθρακικοῦ στροντίου ἐντὸς πυκνοῦ αἰθερικοῦ διαλύματος ὑδροχλωρίου προσφάτως παρασκευασθέντος, παρατηρεῖται ζωηροτάτη ἔκλυσις ἀερίου ( $\text{CO}_2$ ) καὶ σὺν τῷ χρόνῳ τὸ διάλυμα τοῦ αἰθέρος χρώσσεται καστανοκίτρινον.

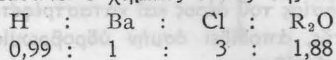
Μετὰ πάροδον ὥρων τινῶν (2-3) καὶ ἀφοῦ πλέον παύσει ἐκλυόμενον τὸ ἀέριον, ἀποχωρίζεται διὰ διηθήσεως ἢ ὑγρὰ στιβὰς ἀπὸ τὴν ἑναπομείνανσαν στερεὰν καὶ ὑποβάλλεται εἰς ἀντλησιν εἰς ἀντλίαν ὕδατος. Μετὰ τὴν ἐξάτμισιν τῆς περισεύσεως τοῦ αἰθέρος, παραμένει τελικῶς ἐλαιώδους συστάσεως ἔνωσις χρώματος φαιοκιτρίνου, ἰδιαζούσης ὁσμῆς.

Πρὸς πιστοποίησιν τῆς ταυτότητος τῆς οὐσίας ταύτης ἐξυγίσθη εἰς ξηραθέντα σωληνίσκον ποσὸν αὐτῆς, ὅπερ διεσπάσθη εἰς κλειστὸν δοχεῖον μετ' ἐσμυρισμένου πύματος καὶ ἀναλθεῖσα διὰ τῶν γνωστῶν μεθόδων εὐρέθη ὅτι ἔχει τὰς κάτωθι ἀναλογίας.



Ἐκ τῶν ἀναλογιῶν μεταξύ τῶν συστατικῶν προκύπτει ὅτι ἡ ἔνωσις ἔχει τὸν τύπον  $\text{H}_2\text{SrCl}_4 \cdot 3\text{R}_2\text{O}$ . Ἡ ἔνωσις εἶναι διαλυτὴ εἰς τὸν αἰθέρα καὶ καίεται μετὰ πρασίνης φλογὸς.

γ) Ἡ ἔνωσις  $\text{H}[\text{BaCl}_3]2\text{R}_2\text{O}$ . Ἐντελῶς ἀνάλογος μὲ τὴν παρασκευὴν τῆς ἔνώσεως τοῦ στροντίου εἶναι καὶ ἡ παρασκευὴ τῆς ἐν λόγῳ ἔνώσεως. Τὸ χρῶμα τῆς εἶναι σκοτεινὸν κίτρινον καὶ εἶναι ἀδιάλυτος εἰς τὸν αἰθέρα. Ποσὸν αὐτῆς ἐπιμελῶς παρασκευασθὲν καὶ κατὰ τὰ γνωστὰ ἀναλυθὲν ἔδωκε τὰς κάτωθι ἀναλογίας μεταξύ τῶν συστατικῶν ἐκ τῶν ὁποίων προκύπτει ὁ χημικὸς τύπος τῆς ἔνώσεως.



ἄρα ἡ ἔνωσις θὰ ἔχη τὸν τύπον  $\text{HBaCl}_3 \cdot 2\text{R}_2\text{O}$ .

Ἡ ἔνωσις εἶναι ἀδιάλυτος εἰς τὸν αἰθέρα καὶ καίεται μετὰ πρασίνης φλογὸς.

Ἐξήγησιν τῆς σταθερότητος τῶν ἐν λόγῳ ἔνώσεων δυνάμεθα νὰ δώσωμεν παραδεχόμενοι τὴν ὑπαρξιν γεφύρας δι' ὑδρογόνου μεταξύ τοῦ κατιόντος ὑδρογόνου τοῦ συμπλόκου καὶ τῶν δύο μορίων τοῦ αἰθέρος τῆς ἔνώσεως (8). Ἡ

(Ἐκ τοῦ Ἐργαστηρίου τῆς Γενικῆς Πειραματικῆς Χημείας τοῦ Ε.Μ.Π.)

ὑπὸ τῶν διβασικῶν συμπλόκων μεταλλοαλογονοξέων συγκράτησις τριῶν μορίων αἰθέρος δύναται ἐπίσης νὰ ἀποδοθῆ εἰς τὴν δέσμευσιν διὰ γεφύρας, συντελουμένης ὑπὸ τοῦ δευτέρου ἰοντοποιησίου ὑδρογόνου τοῦ ὀξέος, καὶ τρίτου μορίου αἰθέρος, συνδυαζομένου πρὸς ἀσύζευκτον ζεύγος ἠλεκτρονίων ἐνὸς τῶν ἀτόμων ὀξυγόνου ἐκ τῶν δύο μορίων τοῦ αἰθέρος (9).

#### ZUSAMMENFASSUNG

#### Über Halogensäuren der Elemente der zweiten Hauptgruppe

Von A. G. GALINOS

In der vorliegenden Arbeit zeigen wir die Darstellung und die Eigenschaften der Halogensäuren der Metalle der zweiten Hauptgruppe des periodischen Systems, Calcium, Strontium und Barium.

So wird im allgemeinen, durch Einleiten von trockenem Chlor-bzw. Bromwasserstoff in eine Lösung des entsprechenden Metallhalogenide oder Carbonats in wasserfreiem Ather das Atherat der komplexen Halogensäure als eine ölige Flüssigkeit ausgeschieden, die nach Trocknung im Vakuum fast analysenrein vorliegt. Durch diese einfache Methode wurden die Tetrabromstrontiumsäure,  $\text{H}_2[\text{CaBr}_4]3\text{R}_2\text{O}$ , die Tetrachlorstrontiumsäure,  $\text{H}_2[\text{SrCl}_4]3\text{R}_2\text{O}$ , und die Trichlorbariumsäure,  $\text{HBaCl}_3 \cdot 2\text{R}_2\text{O}$  isoliert. Sie stellen ölige Flüssigkeiten dar, die hellbraun gefärbt sind, die an der Luft stark rauchen und durch Wasser schnell hydrolysiert werden.

Man kann die Stabilität der freien Halogensäuren durch die Annahme erklären, dass das Wasserstoffion der komplexen Säure eine Wasserstoffbrücke zwischen den beiden Athermolekülen bildet. Die entsprechenden zweibasischen Halogensäuren, die gewöhnlich drei Moleküle Ather festhalten, können durch eine zweite, durch das zweite Wasserstoffion bewirkte Brücke, ein drittes Molekül Ather verbinden, wodei das ganze Gebilde stabilisiert und isolierungsfähig wird.

#### BIBLIOΓΡΑΦΙΑ

1. Wibeg, M. Schmidt, A. Galinos: *Ztschr. Angw. Chem.* **15**, 443, (1954)
2. Wibeg, M. Schmidt, A. Galinos: *Ztschr. Angw. Chem.* **15**, 443, (1954)
3. Wibeg, M. Schmidt, A. Galinos: *Ztschr. Angw. Chem.* **15**, 443, (1954)
4. Wibeg, M. Schmidt, A. Galinos: *Ztschr. Angw. Chem.* **15**, 444, (1954)
5. Κ. Ι. Ἀσκητοπούλου καὶ Α. Γ. Γαλινοῦ: *Πρακτ. Ἀκαδημ. Ἀθηνῶν* **32**, 395, 398, (1957)
6. Κ. Ι. Ἀσκητοπούλου Α. Γ. Γαλινοῦ, Ι. Μ. Τσαγγάρη: *Πρακτ. Ἀκαδημ. Ἀθηνῶν* **32**, 388, 393 (1957)
7. Α. Γ. Galinos: *Ztschr. f. Angew. Chemie* **69**, 607, (1958)
8. Α. Γ. Γαλινοῦ καὶ Ι. Κ. Κοντογιαννάκου: *Χημ. Χρον.* **23Α**, 267 - 268, (1958)
9. Α. Γ. Γαλινοῦ: *Διατριβὴ ἐπὶ Ὑψηλοῦ, ἀνεκδοτος*, σελ. 7, Ἀθῆναι (1957)

(Εἰσήχθη τῇ 16ῃ Ἀπριλίου 1959)



## ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΚΑΙ ΤΕΧΝΙΚΑ ΝΕΑ

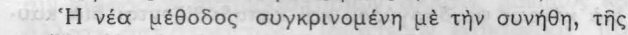
**Νέα μέθοδος άναγωγής βαρυτών.** G. Salvi and A. Fiumara, *Rivista dei Combustibili*, 12, (7), 525, (1958). The *Encyclopedia of Chemistry*, by G. Clark and Gessner G. Hawley 405. — Μέθοδος Fluidisation διά την άναγωγήν των βαρυτών ανεπτύχθη εις Fuel Research Institute, εις Μιλάνον. Η μέθοδος αύτη είναι έν όλίγοις ή έξής :

Ρεώμα άερίου διαπερά έκ των κάτω ένα στρώμα λεπτός κοινοποιημένου στερεού, κατά τοιοϋτον τρόπον, ώστε ή ροή του άερίου να είναι όμοιόμορφος καθ' όλην την έκτασιν του στρώματος.

Αύξανομένης της ταχύτητος ροής του άερίου, επιτυγχάνεται μία κρίσιμος τοιαύτη, όπου τό στρώμα αρχίζει να έκτείνεται πρός τά άνω (extends) καθώς τά στερεά τεμάχια άνυψοϋνται υπό του άερίου. Αύξανομένης περαιτέρω της ταχύτητος ροής του άερίου, τό στρώμα συνεχίζει να έκτείνεται και αί κινήσεις των τεμαχίων αύξάνουν, μέχρις ότου αυτά τελικώς εύρεθούν εις έλευθέραν και τυχαίαν κίνησιν.

Η εικόνα την όποιαν παρουσιάζει τό άνω μέρος του στρώματος συγκρίνεται πρός εκείνην της έπιφανείας ύγρου έν βρασμώ. Αύξανομένης συνεχώς της ταχύτητος ροής του άερίου τά στερεά τεμαχίδια άπομακρύνονται του στρώματος, εισερχόμενα εις τό ρεώμα του άερίου και τελικώς ή άνω έπιφάνεια του στρώματος της κόνεως του στερεού άπομακρύνεται πλήρως άκολουθούσα τό ρεώμα του άερίου.

Η κυρία αντίδρασις παρίσταται διά της έξισώσεως:



Η νέα μέθοδος συγκρινομένη με την συνήθη, της άναγωγής των βαρυτών διά θερμάνσεως των με άνθρακα, έχει καλλιτέραν άπόδοσιν, όφειλομένην εις την μικροτέραν θερμοκρασίαν άντιδράσεως (700 — 750° C), μη έπιτρεπομένου οϋτω του σχηματισμού σιδηρικών και πυριτικών άλάτων.

Τό κόστος της νέας μεθόδου είναι αρκετά χαμηλότερον, δύναται δε να χρησιμοποιηθή λεπτή λευκή κόνις βαρυτών. Όμοια πειράματα διεξήχθησαν με Η<sub>2</sub> και με μερικώς όξειδωμένα φυσικά άέρια, ως άναγωγικά.

Η νέα μέθοδος είναι πολύ ένδιαφέρουσα διά την βιομηχανίαν του πετρελαίου, λαμβανομένου υπ' όψιν ότι έτησίως άνάγονται περί τούς 1.200.000 τόννους βαρυτών, κατανεμομένων ως έξής :

630.000 t. εις U.S.A., 310.000 t. εις Γερμανίαν, 95.000 t. εις Μ. Βρετανίαν, και μικρότεροι ποσότητες εις Καναδάν, Ιταλίαν, Γαλλίαν και Ελλάδα.

Δ. Χούλης

**Υπερμικροπροσδιορισμός συνολικού άζώτου εις άμυνοξέα και πολυπεπίδια άπομονωθέντα έν χρωματογραφημάτων ή ηλεκτροφορογραφημάτων.** P. Baudet και E. Cherbuliez. *Helv. Chim. Acta*, 40, 1612—1620 (1958). —

Η μέθοδος συνίσταται εις την θέρμανσιν του δείγματος 1—8 μgr εις 450°C έντός κλειστών τριχοειδών σωλήνων, μετά 10 μl. μίγματος του καταλλήλου διαλυτικού και θεϊκού όξέος (1 : 1 κατ' όγκον) περιέχοντος 0,2% χλωριούχον ύδράργυρον και τόν έν συνεχεία προσδιορισμόν του άζώτου χρωματομετρικώς διά νινυδρίνης.

Αίν. Βασιλειάδης

**Βινυλοχλωρίδιον από τό πετρέλαιον.** K. J. Kosterhon, *Erdöl und Kohle*, 11, (6), 390 (1958). — Νέα μέθοδος παρασκευής βινυλοχλωριδίου από αίθυλένιον έμελετήθη εις τά έρευνητικά έργαστήρια της Shell εις Amsterdam.

Έντός όλίγων έτών, είναι πιθανόν ή νέα αύτη μέθοδος να άντικαταστήση την μέθοδον παρασκευής βινυλοχλωριδίου από άνθρακα μέσω άνθρακαοβεσίτου και άκετυλενίου.

Κατ' αρχήν τό αίθυλένιον χλωριούται πρός διχλωροαιθάνιον ( $\text{CH}_2 = \text{CH}_2 + \text{Cl}_2 \rightarrow \text{CH}_2\text{ClCH}_2\text{Cl}$ ) και κατόπιν λαμβάνεται έξ αυτού τό βινυλοχλωρίδιον, δι' άφαιρέσεως HCl ( $\text{CH}_2\text{ClCH}_2\text{Cl} \rightarrow \text{ClCH} = \text{CH}_2 + \text{HCl}$ ).

Αν και ή άνωτέρω μέθοδος λαμβάνει χώραν εις δύο φάσεις, συγκρινομένη με την μίαν φάσιν, ήτις απαιτείται διά την μετατροπήν του άκετυλενίου πρός βινυλοχλωρίδιον διά της προσθήκης HCl εις αυτό, συναγωνίζεται την δευτέραν, διότι τό αίθυλένιον παραγόμενον έκ του πετρελαίου είναι πολύ εύθηνότερον άπ' ό,τι τό άκετυλένιον παρασκευαζόμενον από άνθρακα, λόγω του μεγάλου ποσού ηλεκτρικής ένεργείας, τό όποιον απαιτείται διά την παρασκευήν του καρβιδίου.

Περαιτέρω, ή αντίδρασις μεταξύ ένός άερίου κλάσματος, του πετρελαίου, περιέχοντος άνω του 40% αίθυλένιον, και χλωρίου, είναι σχετικώς άπλη, λαμβάνουσα χώραν εις θερμοκρασίαν 60° C υπό έλαφράν πίεσιν και με FeCl<sub>3</sub> ως καταλύτην. Η άποσύνθεσις του σχηματιζόμενου διχλωροαιθανίου γίνεται διά πυρολύσεως εις άέριον φάσιν. Τό άποιδιόθωρον HCl περιέχει ίχνη μόνο διχλωροαιθανίου και βινυλοχλωριδίου, διαλυόμενον δε εις ύδωρ πωλείται ως ύδροχλωρικών όξύ.

Δοκιμαστική έγκατάστασις (Pilot-Plant) κατασκευασθείσα εις Rotterdam έδωσε πλήρη και ίκανοποιητικά άποτελέσματα μεγάλη δε βιομηχανική έγκατάστασις εύρίσκεται υπό κατασκευήν εις Pernis της Όλλανδίας.

Δ. Χούλης

**Προσδιορισμός διοξειδίου του μολύβδου εις έρυθρόν του μολύβδου.** C. L. Lameris και D. W. Templeman. *Chem. Weekblad* 53, 473 (1957), έκ των C. A. 52 7015 i (1958). — Περιγράφεται πολύ άπλη, όξειδομετρική μέθοδος προσδιορισμού ή όποία συμφωνεί με την ίωδιομετρικήν τοιαύτην. Ένα γραμμάριον ούσις, διαλύεται εις 25 cm<sup>3</sup> HNO<sub>3</sub> (1 : 1) περίπου, μέχρις έξαφανίσεως του έρυθρου χρώματος. Ακολουθώς προστίθενται 50 cm<sup>3</sup> ύδατος και 20 cm<sup>3</sup> 0,2 N H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>. Τό όλον διάλυμα αναταράσσεται καλώς μέχρις ότου τό καστανομέλαν ίζημα του PbO<sub>2</sub> έξαφανισθή (έν παρασπή άνάγκη, θερμαίνεται και θραύονται τά χονδρά τεμάχια). Μετά την προσθήκην 5 cm<sup>3</sup> περίπου διαλύματος 10% Fe(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> τό δείγμα τιτλοδοτείται διά κανονικού διαλύματος KMnO<sub>4</sub> μέχρις άσθενεστάτης ροδοχρού χροιάς. X. Μάντζος

**Έξαμεταφωσφορικόν νάτριον ως άντιδραστήριον εις την ποσοτικήν ανάλυσιν.** R. Ripan, C. Stanisav, G. Marcu και M. Vancea. *Rev. Chim. Acad. R. P. R.*, 1, 13—17, 3 (1958) *Analytical Absts.* 6 No 3 παραγρ. 814. — *I. Διαχωρισμός του PbSO<sub>4</sub> από SiO<sub>2</sub>.* Τό έξαμεταφωσφορικόν νάτριον, διαλύει τόν PbSO<sub>4</sub>, πρός εύδιαλύτους συμπλόκους μορφάς του χημικού τύπου Na<sub>4</sub> Pb[(PO<sub>3</sub>)<sub>6</sub>]

και  $\text{Na}_2 [\text{Pb} (\text{PO}_3)_6]$  χωρίς να προσβάλλονται τα πυριτικά. Τα ανωτέρω σύμπλοκα καταστρέφονται δια ζέσεως μετά  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , ό δε μόλυβδος καταπίπτει ως  $\text{PbSO}_4$ . 'Η ανωτέρω μέθοδος δύναται να χρησιμοποιηθή και εις τόν προσδιορισμόν του μόλυβδου εις θειούχα όρυκτά (γαληνίτης). 2. Διαχωρισμός  $\text{PbSO}_4$  από  $\text{AU}^{3+}$  και  $\text{Te}^{4+}$ . Κατά την όξειδωτικήν διάσπασιν συμπλόκων όρυκτών περιεχόντων Pd, Au, Te, ό  $\text{PbSO}_4$  διαλύεται εις τό έξαμεταφωσφορικόν νάτριον, ό Au κατακρηνίζεται υπό όξάλικοϋ όξέος, εις δέ τό διήθημα διαβιβάζεται, εις περιβάλλον, μετρίως άλκαλικόν,  $\text{H}_2\text{S}$ , όποτε ό μόν μόλυβδος καταπίπτει ως  $\text{PbS}$ , τό δέ Te μεταπίπτει εις ευδιάλυτον  $\text{Na}_2\text{TeS}_4$ . Εις τό διήθημα τό περιέχον  $\text{Na}_2\text{TeS}_4$  διαβιβάζεται  $\text{SO}_2$ , ότε καταπίπτει Te. 3. Διαχωρισμός  $\text{Pb}^{2+}$  από  $\text{Bi}^{3+}$ . Κατά την καταβύθισιν του Pb ως  $\text{PbSO}_4$ , παρουσία  $\text{Bi}^{3+}$ , δυνατόν να συγκαθίζση και τοϋτο. Δια διαλύσεως όμως του ίζηματος, εις έξαμεταφωσφορικόν νάτριον και επανακαθίζσεως, τό βισμούθιον παραμένει εις τό διάλυμα. Δια θερμάνσεως του διαλύματος μετά πυκνού  $\text{HNO}_3$  τό Bi καταβυθίζεται ως  $\text{BiPO}_4$ . 4. Διαχωρισμός μόλυβδου από  $\text{SO}_4^{2-}$ . Δια θερμάνσεως έξαμεταφωσφορικού νατρίου μετά  $\text{BaCl}_2$ , σχηματίζεται τό μετά Βαρίου άλας τούτου, τό όποιον μετεργαζόμενον μετά του  $\text{PbSO}_4$ , μετατρέπει τόν μόλυβδον εις ευδιάλυτον σύμπλοκον ένωσιν, τά δέ θειικά καταβυθίζονται ως  $\text{BaSO}_4$ . 'Ο διαχωρισμός οδτος δύναται να χρησιμοποιηθή δια τόν προσδιορισμόν του θείου εις όρυκτά του μόλυβδου. 5 Διαχωρισμός  $\text{Fe}^{3+}$  και  $\text{Cr}^{3+}$ . Τό έξαμεταφωσφορικόν νάτριον σχηματίζει ευδιάλυτα σύμπλοκα μετά του  $\text{Fe}^{3+}$  και  $\text{Cr}^{3+}$ . Τό του  $\text{Fe}^{3+}$ , άποσυντίθεται δια διαβιβάσεως  $\text{H}_2\text{S}$  παρουσία  $\text{NH}_3$  και  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , τό δέ χρώμιον παραμένει εις τό διάλυμα. 'Ο επί του ήθμοϋ  $\text{FeS}$  διαλύεται εις  $\text{HCl}$  (1:1), όξειδούται ό σίδηρος, δια κατεργασίας του διαλύματος μετά πυκνού  $\text{HNO}_3$  προστίθεται άμμωνία και τελικώς ζυγίζεται ως  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ . Τό διήθημα τό περιέχον τό χρώμιον θερμαίνεται προς άπομάκρυνσιν της περισείας του  $\text{H}_2\text{S}$ , άκολούθως τό διήθημα συμπυκνύεται και τό χρώμιον όξειδούται προς  $\text{CrO}_4^{2-}$  δια  $\text{KMO}_4$ . 'Η περίσσεια του  $\text{KMO}_4$  καταστρέφεται δια θερμάνσεως, τά δέ  $\text{CrO}_4^{2-}$  προδιορίζονται δια προσθήκης ίωδιούχου καλίου και τιτλοδοτήσεως του έλευθερουμένου ίωδίου δια  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ . Κατά τόν αυτόν τρόπον είναι δυνατόν να διαχωρισθή και προσδιορισθή ό σίδηρος από τό άργίλλιον.

Χάρης Μάντζος

'Η τύπωση των ύφασμάτων δια φωτογραφικών μεθόδων. H. Schönefeld, Deut. Textiltech. 8, 506 (1958). εκ του CA 53, 3701i (1959).—Προς τόν σκοπόν αυτόν χρησιμοποιούνται αι έξης μέθοδοι:

1) Δι' αντιδιαζωτικών άλάτων. Αι διαζωτικά ένώσεις των πρωτοταγών άρωματικών άμινών ευρίσκονται υπό δύο μορφάς, σν και αντί. 'Αμφότεραι συζεύγνυνται μετά ναφθολών, μόνον όμως ή σν δίδει χρωματιστάς ένώσεις. 'Η συζευγμένη αντι-μορφή μετατρέπεται εις την έγχρωμον δι' όξέων, αύξήσεως της θερμοκρασίας ή φωτός. Τα άκτινοβοληθέντα τμήματα των αντι-ένώσεων προσορφώνται ίσχυρως υπό των ίνών, ένω τά

μη φωτισθέντα άπομακρύνονται ευκόλως δι' έκπλύσεως. 'Η ευαισθησία εις τό φως του μετά θειώδους όξέος διαζωνικοϋ άλατος είναι 100 φορές μεγαλύτερα της χρωμοζελατινης (ζελατίνη+διχρωμικόν άμινών).

2. Δι' άλάτων χρωμίου. Χρωμικά άλατα μετατρέπονται εις άδιάλυτα εις ύδωρ όξειδια του χρωμίου παρουσία κολλοειδών ένώσεων και φωτός. Φως μετατρέπει επίσης πολλά κολλοειδή εις άδιαλύτους εις ύδωρ ένώσεις παρουσία χρωμικών άλάτων. 'Εάν ύφασμα, τό όποιον έχει υποστή κατεργασίαν δια τοιούτων ένώσεων και έκλεκτικών φωτισμόν βαφών δια χρωμάτων προστύψεως, τό χρώμα στερεοϋται μόνον επί των φωτισθέντων τμημάτων του ύφασματος.

3. Δια χρωμοζελατινης. Τό μη φωτισθέν τμήμα άπομακρύνεται δι' ύδατος  $38^\circ-40^\circ\text{C}$ , ένω τό υπόλοιπον σκληρύνεται δια διαλύματος 50gr φορμαλδεϋδης (40%) άνά λίτρον.

4. Δια διαζωνικών άλάτων. Τό ύφασμα κατεργάζεται δια διαζωτωμένης β-ναφθυλαμίνης, ή όποία κατά τόν φωτισμόν μετατρέπεται εις β-ναφθόλην. 'Η ούτω σχηματιζόμενη ναφθόλη συζεύγνυται μετά τινος διαζωσώματος προς σχηματισμόν του χρώματος επί της ίνός.

5. Δι' άλάτων άργύρου. Τό ύφασμα κατεργάζεται δια διαλύματος περιέχοντος όξάλικόν σίδηρον και νιτρικόν άργυρον, ξηραίνεται εις τό σκότος, φωτίζεται έκλεκτικώς, έκπλύνεται και έμφανίζεται δια θειοθειικού νατρίου.

6. Δια λευκοενώσεων όργανικών χρωμάτων. Βασικά χρώματα διαλύονται εις ύδροχλωρικόν όξύ άνάγονται δια κόνεως ψευδαργύρου και καταβυθίζονται δια καυστικού νατρίου. Τό δι' αίθερος παραληφθέν ίζημα υποβάλλεται, εις κατεργασίαν παρουσία κολλοδίου. Τό ύφασμα μετά ταϋτα φωτίζεται έκλεκτικώς προς άνασχηματισμόν του χρώματος.

7. Δια χρωμάτων όξειδώσεως. "Αν τό ύφασμα κατεργασθί δια τινος όξειδωτικοϋ καταστρεφόμενου υπό τό φωτός και έν συνεχεία βαφή δια τινος χρώματος όξειδώσεως, τό χρώμα θα σχηματισθί μόνον εις τά μη φωτισθέντα τμήματα του ύφασματος.

Δέψιν δια ταννίνης εις έν λουτρόν. E. Mezei, Das Leder 9, 155, (1958).—Καλής ποιότητος σολοδέρματα παράγονται εις την 'Αργεντινήν δια δέψεως εις έν λουτρόν βάσει της μεθόδου Schnoeller. Μετά την κανονικήν προεργασίαν και προδέψιν, ή δορά άφυδατοϋται μηχανικώς και ύφίσταται δέψιν δια καθωρισμένης ποσότητος ειδικου έκχυλίσματος (κεμπράχο, καρυδιάς ή μιμόζας). 'Ο συνολικός χρόνος μετατροπής της δοράς εις τέλειον δέρμα είναι 12 ήμέραι συμπεριλαμβανομένης της λευκάνσεως, της κατεργασίας δι' έλαίου, της έκπλύσεως και της ξηράνεως. 'Η μέθοδος είναι ευκολωτάτη, διότι τό έκχύλισμα, διάφορον εις έκάστην περίπτωση, παραμένει άμετάβλητον καθ' όλην την δέψιν. 'Υπολογίζεται ότι τό κέρδος εις δεψικά ύλικά άνέρχεται εις 15%, των δέ εργατικών εις 50%.

Αινείας Βασιλειάδης