

ANNALES  
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA  
LUBLIN — POLONIA

VOL. XVII, 1

SECTIO D

1962

---

Katedra i Zakład Chemii Fizjologicznej. Wydział Lekarski. Akademia Medyczna w Lublinie  
Kierownik: prof. dr Janina Opleńska-Blauth

Zbigniew PRASAŁ

**Badania porównawcze nad kompleksami rtęci i miedzi z aminokwasami**

**Сравнительное изучение комплексных соединений ртути и меди  
с аминокислотами.**

**Comparative Studies on Amino Acid Complexes with Hg and Cu**

W piśmiennictwie znane są próby stosowania związków rtęci do oznaczania tryptofanu, podejmowane przez Folina i Ciocalteu (4), oraz Folina i Marenzi (5). Badania własne nad kompleksami aminokwasowo-rtęciowymi miały również na celu wykorzystanie ich własności do ilościowych oznaczeń aminokwasów. Na korzyść stosowania kompleksów aminokwasowo-rtęciowych przemawiały: małe zróżnicowanie barwy plam poszczególnych aminokwasów utrwalanych solami rtęci, stosunkowo wysokie stałe nietrwałości ( $\log K_s$ ) kompleksów aminokwasowo-rtęciowych (6, 9), oraz możliwość podwyższenia czułości oznaczeń azotu aminowego w porównaniu do metody kompleksów miedziowych (masa atomowa rtęci około trzykrotnie większa, natomiast czułość oznaczeń kolorymetrycznych miedzi i rtęci tego samego rzędu).

Powyższe cechy kompleksów rtęci z aminokwasami były zachęcające do przeprowadzenia badań porównawczych z odpowiednimi kompleksami miedzi w celu opracowania metod ilościowych do oznaczeń azotu aminowego lub też poszczególnych aminokwasów przy zastosowaniu związków rtęci.

## I MATERIAŁ, ODCZYNNIKI, APARATURA I METODY

### 1. Materiał badany

Aminokwasy wzorcowe (wszystkie w formie DL): glicyna, alanina, fenyloalanina, tryptofan, histydyna, leucyna, walina, lizyna, cytrulina, hydroksyprolina, metionina, kwas  $\alpha$ -aminomasłowy, kwas glutaminowy, kwas asparaginowy, asparagina, seryna, treonina i tryptofan (wszystkie firmy L'ight), oraz arginina (firmy Fluka). Aminokwasy suszono w temp. 120°C w ciągu 1 godz. (3) i sporządzano roztwory wodne. Tyrozynę i tryptofan rozpuszczano w 1% kwasie siarkowym.

## 2. Odczynniki i substancje specjalne

a) kompleksy rtęciowe:  $\text{Hg}_3(\text{PO}_4)_2$ , Bufor fosforanowy  $\frac{1}{15}$  m pH 7,4, Octan sodowy 0,2 m,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1<sup>0</sup>/<sub>0</sub>.

Roztwór żelazocyjanku: 0,076 g  $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  rozpuszczono w 100 ml wody redestylowanej z dodatkiem 1 ml 10<sup>0</sup>/<sub>0</sub>  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ .

Dwupirydył 0,5<sup>0</sup>/<sub>0</sub> roztwór alkoholowy.

Roztwór wzorcowy Hg(II): 1 m  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  sporządzono z przedestylowanej rtęci.

b) kompleksy miedziowe:  $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$ , Bufor boranowo-węglanowy (Atkinsa Pantina) pH 7,4,  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  5<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, Dwuetylodwutiokarbaminian sodowy 5<sup>0</sup>/<sub>0</sub>.

Roztwór wzorcowy Cu(II): 3,926 g  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  rozpuszczono w 1 l.

## 3. Aparatura i sprzęt

Pehametr firmy Piezoelektronika z elektrodą szklaną typ S-21 i kalomelową typ K-55.

Kolorymetr MGF Havemanna.

Wytrząsarka wbudowana w termostat powietrzny typ GW firmy Horyzont, Kraków.

Wirówka elektryczna WE1, ilość obrotów 1000—5000/min.

Probówki ze szlifem ca 25 ml.

## 4. Metody

a) Metoda Abegga i Bodländera (1, 2): Polega na określaniu równowagi między roztworem aminokwasu i trudno rozpuszczalną solą, zawierającą wspólny kation z środkowym jonem kompleksu. b) Metoda własna (10): Rtęć związaną w rozpuszczalnym kompleksie oznaczano kolorymetrycznie na zasadzie uwalniania Fe(II) z żelazocyjanku przez Hg(II) i tworzeniu czerwonego rozpuszczalnego kompleksu dwupirydylowo-żelazawego. c) Metoda kompleksów miedziowych Spiera i Paschera (8, 11).

## II BADANIA WŁASNE

### Opracowanie optymalnych warunków tworzenia kompleksów aminokwasowych z rtęcią

#### A. Dobór odpowiedniego buforu i pH.

Aminokwasy wytrząsano przez 1 godz. z badanym buforem i niewielką ilością trudno rozpuszczalnej soli rtęci. Odwirowywano i pobierano do analizy na rtęć (II) 0,1 objętości roztworu znad osadu. Równolegle w podobny sposób postępowano z próbą kontrolną. Wyniki absorpcji, jako średnie z kilku pomiarów, zamieszczono w tab. 1, 2 i 3. Ze stosowanych buforów najodpowiedniejszym do badania kompleksów rtęciowych był roztwór buforu fosforanowego i octanu sodowego o pH 7,4.

Optimum pH dla reakcji tworzenia kompleksów rtęciowych było 7,1—7,4. Bufory o pH > 7,5 jak również o pH < 7 nie nadawały się (w pierwszym wypadku wartość absorpcji próby kontrolnej była bardzo wysoka, w drugim tworzenie kompleksów przebiegało słabo).

Tab. 1. Wpływ buforów o pH 7,4 na wyniki absorpcji  
Effect of buffers at pH 7.4 on absorption results

Bufor pH 7,4	Absorpcja próby kontrolnej względem buforu	Absorpcja względem próby kontrolnej ( $\lambda = 495 \text{ m}\mu$ , grubość warstwy optycznej 1 cm)					
		Glicyna		Histydyna		Hydrokсыprolina	Kwas glutaminowy
		202,5 $\mu\text{g}\% \text{N}_{\text{NH}_2}$	405 $\mu\text{g}\% \text{N}_{\text{NH}_2}$	159 $\mu\text{g}\% \text{N}_{\text{NH}_2}$	212 $\mu\text{g}\% \text{N}_{\text{NH}_2}$		
Boranowo- węglanowy	0,135	0,070	0,129	0,038	0,072	0,020	0,005
Fosforanowy	0,030	0,065	0,130	0,072	0,089	0,060	0,016
Octan sodowy *)	0,065	0,084	0,168	0,038	0,115	0,069	0,020
Fosforanowy i octan sodowy *)	0,044	0,106	0,206	0,093	0,124	0,082	0,022

\*) Spełnia rolę buforu.

Tab. 2. Wartości absorpcyjne próby kontrolnej w zależności od pH  
(bufor fosforanowy,  $\text{Hg}_3(\text{PO}_4)_2$ )

Dependence of absorption of the blank on pH values (phosphate buffer,  $\text{Hg}_3(\text{PO}_4)_2$ )

pH	6,2	7,1	7,4	8,0
Absorpcja	0,010	0,025	0,030	0,165

Tab. 3. Wpływ pH na wyniki absorpcji  
Effect of pH on absorption results

Aminokwasy	Stężenie $\mu\text{g}\alpha\text{N}_{\text{NH}_2}/10\text{ml}$	Bufor fosforanowy $\frac{1}{15}$ m			
		Absorpcja próby właściwej względem kontrolnej			
		pH 6,2	pH 7,1	pH 7,4	pH 8,0
Glicyna	202	0,020	0,061	0,064	0,050
Histydyna	159	0,024	0,064	0,072	0,040
Hydroksypro- lina	164	0,010	0,056	0,060	0,035
Kwas glutaminowy	152	0,004	0,014	0,016	0,016

### B. Dobór trudno rozpuszczalnej soli rtęciowej.

Oprócz fosforanu rtęciowego stosowano w reakcjach kompleksowania z aminokwasami żółty  $\text{HgO}$  i  $\text{HgO} \cdot \text{HgCO}_3$  w roztworze buforu fosforanowego i octanu sodowego o pH 7,4. Wyniki absorpcji podano w tab. 4. Największe wartości absorpcji uzyskano przy zastosowaniu  $\text{Hg}_3(\text{PO}_4)_2$ .

C. Metodyka oznaczeń azotu aminowego za pomocą kompleksów rtęciowych.

Tab. 4. Wpływ trudno rozpuszczalnych  
Effect of insoluble Hg compounds

Związek rtęci trudno rozpuszczalny	Absorpcja ( $\lambda = 495$ m $\mu$ )			
	Glicyna		Alanina	
	202 $\mu\text{g}$ $\alpha\text{N}_{\text{NH}_2}$	404 $\mu\text{g}$ $\alpha\text{N}_{\text{NH}_2}$	160 $\mu\text{g}$ $\alpha\text{N}_{\text{NH}_2}$	320 $\mu\text{g}$ $\alpha\text{N}_{\text{NH}_2}$
$\text{HgO}$ żółty	0,024	0,062	0,020	0,032
$\text{Hg}_3(\text{PO}_4)_2$	0,106	0,206	0,074	0,144

## 1. Sposób tworzenia kompleksów aminokwasowo-rtęciowych.

Do próbówki pobierano 0,1—1 ml aminokwasu (10—600  $\mu\text{g } \alpha \text{N}_{\text{NH}_2}$ ), dodawano 5 ml buforu fosforanowego o pH 7,4, niewielki nadmiar  $\text{Hg}_3(\text{PO}_4)_2$  *in substantia* ( $\approx 30$  mg) i dopełniano 0,2 m octanem sodowym do 10 ml. Wytrząsano 1 godz., odwirowywano nadmiar osadu fosforanu rtęciowego i pobierano do analizy na rtęć (II) 1 ml klarownego roztworu znad osadu.

## 2. Oznaczenia kolorymetryczne rtęci związanej w kompleksie.

1 ml pobranego roztworu zakwaszono 0,1 ml 10%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  i dodawano 0,2 m octanu sodowego w celu doprowadzenia próby do pH 3 wobec papierka indykatorowego. Następnie zadawano 1 ml żelazocyjanku i po 3 min. 0,4 dwupirydyłu. Po 15 min. oznaczono absorpcję w kolorymetrze Havemanna (dł. fali 495 m $\mu$ , grubość warstwy optycznej 1 cm). Równolegle w identyczny sposób postępowano z próbą kontrolną. Z krzywej kalibracyjnej znajdowano ilość rtęci w 1 ml próby (tab. 5 i 6).

## OMÓWIENIE WYNIKÓW I WNIOSKI

O wyborze klasycznej metody badania kompleksów zadecydowała łatwość stosowania jej w praktyce i możliwość bezpośredniego porównywania wyników odnośnie kompleksów rtęciowych i miedziowych. W ustalaniu optymalnych warunków metody brano pod uwagę minimum absorpcji próby kontrolnej i maksimum zdolności kompleksowania aminokwasów z rtęcią. Bufor Atkinsa i Pantina stosowany w metodzie kompleksów miedziowych nie nadawał się z powodu wzmożonego wpływu chlorków na wartość absorpcji próby kontrolnej. Stwierdzono, że jony chlorkowe nawet w ilościach mikrogramowych w próbce reagowały z substancją trudno rozpuszczalną rtęci i tworzyły rozpuszczalne chlorortęciany, zdolne do uwalniania żelaza (II) z żelazocyjanku podczas kolorymetrycznego oznaczania rtęci. Wszystkie sposoby uwalniania chlorków z płynów biologicznych powodują nowe trudności

związków rtęci na wyniki absorpcji  
on absorption results

grubość warstwy optycznej 1 cm				Związek rtęci trudno rozpuszczalny
Asparagina		Tyrozyna		
246 $\mu\text{g } \alpha\text{N}_{\text{NH}_2}$	345 $\mu\text{g } \alpha\text{N}_{\text{NH}_2}$	75,7 $\mu\text{g } \alpha\text{N}_{\text{NH}_2}$	13 $\mu\text{g } \alpha\text{N}_{\text{NH}_2}$	
0,055	0,064	0,022	0,032	HgO żółty
0,146	0,218	0,044	0,060	$\text{Hg}_3(\text{PO}_4)_2$

Tab. 5. Oznaczenie stosunków stechiometrycznych i atomowych dla kompleksów  
 rtęciowych i miedziowych poszczególnych aminokwasów  
 Determination of stoichiometric and atomic relationships for mercury and copper  
 complexes with separate amino acids

Rodzaj amino- kwasu	$\mu\text{g}\alpha\text{N}_{\text{NH}_2}$	$\mu\text{g Hg}$ w 0,1 części próby	N/Hg	Stosunek atomowy $\text{N}_{\text{NH}_2} : \text{Hg}$	$\mu\text{g Cu}$ w 0,1 części próby	N/Cu	Stosunek atomowy $\text{N}_{\text{NH}_2} : \text{Cu}$
Glicyna	135	44	0,306	4 : 1	29	0,466	2 : 1
	202,5	59	0,342		44	0,459	
	270	99	0,272		90	0,450	
	337	108	0,306				
	405	114	0,350	5 : 1			
Alanina	160,2	40	0,400	6 : 1	32	0,500	5 : 2
	320,5	79	0,505		60,5	0,529	
	471	97	0,484				
Leucyna	114,6	34	0,335	5 : 1	8	1,425	0
	229,2	68,5	0,334		6	3,816	
	296,5	94,5	0,303		7	4,080	
Walina	135,6	21	0,642	0	28	0,482	0
	226,1	39	0,580		49	0,491	
	452	82	0,551				
Lizyna	142	26	0,564	0	23,5	0,624	3 : 1
	293,5	56	0,524		46	0,637	
	587	105	0,559				
Metionina	124,8	28	0,449	6 : 1	18,5	0,675	0
	249,5	58	0,453		13,5	0,844	
	499	109	0,457				
Cytrulina	81,9	17	0,481	0	16	0,513	5 : 2
	102,4	52	0,463		18,5	0,551	
	204,8	56	0,364				
Hydroksy- prolina	82,1	20	0,410	5 : 1	39	0,420	2 : 1
	164,2	45	0,364				
	328,4	88	0,372				
Tryptofan	11,2	13	0,086	4 : 3	1,5	0,747	0
	22,4	25	0,083		3,5	0,640	
	44,8	50	0,089		6	0,933	
	56	59	0,093				
	78,4	86	0,091				
	112	123	0,087				

c.d. tab. 5

Rodzaj amino-kwasu	$\mu\text{g}\alpha\text{NNH}_2$	$\mu\text{g Hg}$ w 0,1 części próby	N/Hg	Stosunek atomowy $\text{NNH}_2:\text{Hg}$	$\mu\text{g Cu}$ w 0,1 części próby	N/Cu	Stosunek atomowy $\text{NNH}_2:\text{Cu}$	
Arginina	23,8	—	—	0	3,5	0,680	3:1	
	71,4	—	—		10,5	0,680		
	166,6	—	—		29,6	0,562		
	238	23	1,020		42,5	0,560	5:2	
	357	48	0,743		60,5	0,590		
Kwas $\alpha$ -amino masłowy	92,1	17	0,541	0	19	0,484	0	
	184,2	39,5	0,465		37,5	0,490		
	368,3	78	0,471					
Kwas glutami-nowy	90	5	1,800	0	21	0,428	0	
	151,9	11	1,380		39	0,387		
	304	15,5	1,961		80	0,380		
Kwas asparagi-nowy	99,9	51	0,194	3:1	46,5 80	0,428	4:3	
	199,8	82	0,242			0,375		
	299,7	140	0,213					
Asparagina	148,1	56	0,264	4:1	34	0,435	2:1	
	246,8	80	0,307					
	345,5	120	0,187					
Tyrozyna	75,7	24	0,321	4:1	16 33	0,467	2:1	
	113,5	33	0,343					
	151,4	51	0,296					
Fenylolaal- nina	17,9	15	0,113	2:1	9 18 35,5	0,588	0	
	53,4	32	0,165			0,488		
	88,9	59	0,149			0,450		
	160,2	96	0,166					
	177,9	123	0,144					
	266,9	165	0,161					
Seryna	55,2	23	0,239	3:1	25 50,5	0,440	2:1	
	110,4	41	0,268					
	165,8	74	0,223					
	221,1	104	0,112					
	331,6	164	0,202					
Treonina	130,8	63	0,207	3:1	35,5	0,442	2:1	
	157	75	0,209					
	291,7	120	0,218					
Histydyna	53	44	0,302	4:1	19,5	0,272	3:2	
	106				41	0,258		
	132,5							
	159				50	0,310		
	265				92	0,288		76

Stosunek atomowy = 0; nie określano, kompleksy trudno rozpuszczalne.

(strącanie azotanem srebra wymaga usuwania jonów srebra, które przeskadzają, odsalanie na kolumnach jonitowych daje straty aminokwasów).

Tab. 6. Oznaczenia stosunków stechiometrycznych i atomowych dla kompleksów rtęciowych i miedziowych mieszanek aminokwasów

Determination of stoichiometric and atomic relationships for mercury and copper complexes of amino acid mixtures

	Ilość ml mieszan-ki w próbce	$\mu\text{g } \alpha\text{N}_{\text{NH}_2}$	$\mu\text{g Hg}$ w 0,1 części próby	N/Hg	Stosunek atomowy $\alpha\text{N}_{\text{NH}_2}:\text{Hg}$	odchyl. od wart. teoret. %	$\mu\text{g Cu}$ w 0,1 części próby	N/Cu	Stosunek atomowy $\alpha\text{N}_{\text{NH}_2}:\text{Cu}$	odchyl. od wart. teoret. %
Mieszanka I	0,2	83	26	0,337	5:1	-3,7	18,0	0,488	2:1	+9,0
	0,4	179	53	0,332	5:1	-5,1	38,5	0,457	2:1	+4,5
	0,5	220					51,0	0,431	2:1	-2,2
	0,6	264	74	0,352	5:1	+0,6	55,0	0,480	2:1	+8,9
	0,7	308					64,5	0,477	2:1	+8,8
	0,8	352	96	0,366	5:1	+4,5	69,0	0,510	2:1	+15,9
Mieszanka II	0,5	139,9	22	0,630	8:1 (?)		31,0	0,448	2:1	+2,2
	1,0	279,8	46	0,600	8:1 (?)		57,5	0,481	2:1	+9,1

Skład mieszanki I: Kwas asparaginowy — 2 ml 0,2%, kwas glutaminowy — 0,2 ml 0,3%, glicyna 1,5 ml 0,6%, seryna — 10 ml 0,4%, walina — 1 ml 0,3%, leucyna — 1 ml 0,2%, fenyloalanina — 2,3 ml 0,2%, tyrozyna — 2 ml 0,1%.

Skład mieszanki II: Tryptofan 238  $\mu\text{g}$ , leucyna 190  $\mu\text{g}$ , lizyna 306  $\mu\text{g}$ , metionina 266  $\mu\text{g}$ , hydroksyprolina 512,7  $\mu\text{g}$ , cytrulina 256  $\mu\text{g}$ , walina 374  $\mu\text{g}$ , kwas glutaminowy 319  $\mu\text{g}$ , arginina 206  $\mu\text{g}$ . Objętość 1 ml.

W badaniach nie zajmowano się ani ustalaniem składu kompleksów ani ich strukturą, lecz poszukiwano zależności liczbowej między ilością  $\mu\text{g}$  wziętego do analizy aminokwasu ( $\mu\text{g } \alpha\text{N}_{\text{NH}_2}$ ) a oznaczaną ilością rtęci związanej w rozpuszczalnym kompleksie. Zależność ta podana w tabelach w formie stosunku stechiometrycznego N/Hg czy N/Cu pozwoliła jednak zorientować się w składzie kompleksów łatwo rozpuszczalnych, umożliwiła rozpoznanie kompleksów trudno rozpuszczalnych względnie trudno kompleksujących aminokwasów (stosunki N/Hg i N/Cu były wysokie) i dała podstawę do obliczenia współczynnika przeliczeniowego na azot aminowy. Nie udało się wyznaczyć jednakowego stosunku N/Hg czy N/Cu dla wszystkich badanych aminokwasów, co byłoby pożądane w oznaczeniu azotu aminowego w uniwersalnych mieszanek aminokwasów. W mieszanek zawierających przewagę aminokwasów dających kompleksy łatwo rozpuszczalne (fenyloalanina, seryna, kwas asparaginowy) stosunek N/Hg zachował wartość równą



0,350 (w granicy błędu doświadczalnego  $\pm 5\%$ ) (Tab. 6). W innych mieszkankach składających się z przewagi aminokwasów dających kompleksy trudno rozpuszczalne stosunek N/Hg był zupełnie inny (0,600) i należałoby dla tego stosunku przyjąć hipotetyczny skład  $8N_{NH_2}:1Hg$ .

Kompleksy miedziowe w przypadku badanych mieszanek aminokwasowych wykazywały mniejsze odchylenia stosunku N/Cu od teoretycznego składu  $2N_{NH_2}:1Cu$  niż rtęciowe od składu  $5N_{NH_2}:1Hg$ . Jednak i tutaj błąd oznaczenia azotu aminowego wahał się w granicach  $-2\%$  do  $+15\%$ . (Tab. 6).

Na szczególną uwagę zasługiwało zachowanie się tryptofanu w kompleksach rtęciowych. Tryptofan miał najmniejszy ze wszystkich przebadanych aminokwasów stosunek stechiometryczny N/Hg (0,080). W danych warunkach doświadczenia kompleks tryptofanowo-rtęciowy miał skład  $4N:3Hg$  i w zakresie stężeń  $10-120 \mu g \alpha N_{NH_2}/10 ml$  zachowywał swój skład i stosunek N/Hg. Natomiast kompleksy tryptofanowo-miedziowe wykazywały znaczną rozbieżność stosunku N/Cu (0,6—11,2) i brak jednolitego składu. Różnice te spowodowane były trudną rozpuszczalnością kompleksu tryptofanowo-miedziowego (7).

Metoda kompleksów rtęciowych nie nadawała się do oznaczeń azotu aminowego w płynach biologicznych (przeszkadzały chlorki) i mieszaninach aminokwasowych z przewagą aminokwasów tworzących trudno rozpuszczalne kompleksy rtęciowe. Natomiast nadawała się do oznaczeń azotu aminowego dla większości poszczególnych aminokwasów z wyjątkiem waliny, lizyny, cytruliny, argininy i kwasu glutaminowego, oraz mieszanin zawierających aminokwasy o zbliżonym stosunku N/Hg. Łatwo rozpuszczalny kompleks tryptofanowo-rtęciowy, w przeciwieństwie do kompleksu tryptofanu z miedzią, może być wykorzystany do kolorymetrycznego oznaczania tryptofanu.

#### PIŚMIENNICTWO

1. A begg R., Bodländer G.; cyt. wg A. K. Babko: Analiza fizykochemiczna związków kompleksowych w roztworach. PWN, Warszawa 1960.
2. A begg R. i wsp.; cyt. wg A. K. Babko: Analiza fizykochemiczna związków kompleksowych w roztworach. PWN, Warszawa 1960.
3. Albert A.: Quantitative Studies of the Avidity of Naturally Occurring Substances for Trace Metals. *Biochem. J.* **47**, 531, 1950.
4. Folin O., Ciocalteu V.; cyt. wg J. Fischl.: Quantitative Colorimetric Determination of Tryptofan. *J. Biol. Chem.* **235**, 999, 1960.
5. Folin O., Marenzi A. D.; cyt. wg J. Fischl.: Quantitative Colorimetric Determination of Tryptofan. *J. Biol. Chem.* **235**, 999, 1960.
6. Gurd F. R. N., Wilcox P. E.: Complex Formation between Metallic Cations and Proteins, Peptides and Amino-Acids. *Adv. in Protein Chem.* **11**, 312, 1956.

7. Neuberg C., Lustig H., Mondl I.: Heavy-Metal Hydroxides in Statu Nascendi as Reagents for the Purification of Amino Acid Mixtures and the Preparation of Pure Heavy-Metal Salts of Individual Amino Acids. Arch. Biochem. 26, 77, 1950.
8. Opieńska-Blauth J., Prasał Z.: Badania porównawcze nad oznaczeniem azotu aminowego w płynach ustrojowych. Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, Sec. D, 14, 117, 1959.
9. Perkins D. J.: Study of the Amino-Acid Complexes Formed by Metals of Group II of the Periodic Classification. Biochem. J. 51, 487, 1952.
10. Prasał Z.: Nowa kolorymetryczna metoda oznaczania rtęci dwuwartościowej. Chem. Anal. 7, 617, 1962.
11. Spier H. W., Pascher G.: Zur quantitativen Mikroanalyse freier Aminosäuren mittels einer einfachen Cu-Komplexmethode. Z. Physiol. Chem. 296, 147, 1954.

### РЕЗЮМЕ

Установлены оптимальные условия образования ртутных комплексов с аминокислотами. Применялся метод Абега и Бодлендера (фосфатный буфор и укусный ацетат pH 7,4, фосфат ртути, труднорастворимый).

Определены стехиометрические и атомные соотношения ртутных и медных комплексов для 19 отдельных аминокислот и 2 аминокислотных смесей.

Ртуть и медь, связанные в комплексы с аминокислотами, определялись колориметрически. Разработан метод определения аммиачного азота для большинства отдельных аминокислот и смесей, состоящих из аминокислот с подобным стехиометрическим соотношением N/Hg.

Хорошая растворимость и наиболее низкое стехиометрическое соотношение комплекса триптофан-ртуть в противоположность к комплексу триптофана с медью делает возможным определение триптофана в пределах 10—120 мкг  $\alpha$ -NH<sub>2</sub> в 10 мл колориметрическим методом.

Заметное влияние хлоридов на результаты определений аммиачного азота в биологическом материале затрудняет применение рассматриваемого ртутного метода для этих целей.

Табл. 1. Влияние буфоров с pH 7,4 на результаты абсорбции.

Табл. 2. Ход абсорбции контрольной пробы в зависимости от pH (фосфатный буфор, Hg<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>).

Табл. 3. Влияние pH на результаты абсорбции.

Табл. 4. Влияние труднорастворимых соединений ртути на результаты абсорбции.

Табл. 5. Определение стехиометрических и атомных соотношений для ртутных и медных комплексов с отдельными аминокислотами.

Табл. 6. Определение стехиометрических и атомных соотношений для ртутных и медных комплексов для смеси аминокислот.

## SUMMARY

Optimal conditions for obtaining Hg complexes with amino acids by the method of A b e g g and B o d l ä n d e r (phosphate buffer and Na acetate pH 7,4,  $\text{Hg}_3(\text{PO}_4)_2$ ) are described.

Stoichiometric and atomic relationships of both mercury and copper complexes for 19 amino acids in particular and 2 amino acid mixtures were established.

Mercury and copper as bound in complexes with amino acids were determined colorimetrically.

A method of determining  $\alpha$ - $\text{NH}_2$  nitrogen for the majority of the separate amino acids with closely related ratio N/Hg was worked out.

Easy solubility and the lowest stoichiometric ratio of the Hg-tryptophan complex — in contrast to the Cu-tryptophan complex — make it possible to determine colorimetrically this amino acid in the range of concentrations from 10 to 120  $\mu\text{g}$   $\alpha$ - $\text{NH}_2$  nitrogen per 10 ml.

The presence of chlorides in biological material interferes with the determination of  $\alpha$ - $\text{NH}_2$  nitrogen by the above method.

