

säuren der Vorzug gebührt, so kann man diese Frage nur unter Berücksichtigung der jeweiligen Aufgabenstellung entscheiden. Der ausschlaggebende Vorteil des Piperidins ist sein gutes Elutionsvermögen selbst in 0,1 M Konzentration. Die Tatsache jedoch, daß durch Piperidin in stärkerem Maße auch Metallionen eluiert werden, macht es erforderlich, die Eluatmenge auf das gerade notwendige Maß zu beschränken. Der Vorteil des Ammoniaks besteht in der durch die hohe Anwendungskonzentration bedingten Einsparung von Arbeitszeit. Unzulänglichkeiten des Ammoniaks in bezug auf unsere Erfordernisse sind beim Piperidin in gleicher Weise vorhanden.

Literatur

1. Bajor, M.: Geol. Rundschau **56**, 844–865 (1967).
2. Bohling, H.: Marine Biology, 1970 (in Vorbereitung).
3. Buchanan, D. L.: Anal. Chem. **29**, 1877–1878 (1957); vgl. diese Z. **163**, 308 (1958).
4. Connan, J.: Persönliche Mitteilung, SNPA/Centre de Recherches, Pau (1967).
5. Steven, F. S., Tristram, G. R.: Biochem. J. **83**, 245 (1962).

Dr. M. Bajor
Bundesanstalt für Bodenforschung
3000 Hannover, Postfach 54

Dr. H. Bohling
Biologische Anstalt Helgoland
D-2000 Hamburg 50, Palmallee 9

Spektrophotometrische Bestimmung von Hydrochinon als Chinon in Crememasse

Spectrophotometric Determination of Hydroquinone as Quinone in Creams

A. POPOV und N. YANISHELIEVA

Institut für organische Chemie der Bulgarischen Akademie der Wissenschaften, Sofia

Eingegangen am 14. Juli 1969

Hydrochinon ist als guter Inhibitor der Melanogenese das bisher beste Depigmentationsmittel, außerdem unter einem Gehalt von 5% ohne Reizwirkung auf die Haut [6] und somit Bestandteil einiger Depigmentierungscremes. Zu deren Qualitätsprüfung ist das meistverwendete Bestimmungsverfahren für Hydrochinon, die jodometrische Titration [5], durch Anwesenheit anderer jodabsorbierender Stoffe ungeeignet. Daher erscheint die Chinonbestimmung [1 bis 3] erfolgversprechend. Obwohl sich hier aufgrund

der Eigenfärbung ein photometrisches Verfahren anbietet, ist in der Literatur keine direkte Methode beschrieben.

So entwickelten wir ein Verfahren zur photometrischen Bestimmung von Hydrochinon als Chinon, das nach dem vorläufigen Stand der Untersuchung als Kontrollbestimmung geeignet ist. Beobachtungen der Farbänderung von wäßrigen Chinonlösungen in Abhängigkeit von der Zeit zeigten zwar eine gewisse Instabilität, die jodometrisch als 6%iger Chinonabfall in 24 h unter gleichzeitigem Anstieg der Extinktion bei 460 nm um das etwa 8fache bestätigt werden konnte; führt man jedoch das Chinon durch Extraktion mit CCl_4 in die organische Phase über, so ist im angegebenen Zeitintervall keine Farbänderung feststellbar.

Experimentelles

Reagentien. 30%ige Eisen(III)-chloridlösung; Eisessig p.a.; Tetrachlorkohlenstoff p.a.; 4 N Schwefelsäure p.a.; Hydrochinon p.a. (aus Wasser).

Arbeitsweise. Ein aliquoter Teil der 0,01–0,10 g Hydrochinon enthaltenden Lösung wird in einem 150 ml-Scheidetrichter mit 5 ml Eisessig und 8 ml Eisen(III)-chloridlösung versetzt, das Chinon 6 mal mit je 10 ml CCl_4 extrahiert, die Extrakte durch ein Papierfilter („Blauband“) filtriert und über 2 g wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Die Filtrate füllt man in einem 100 ml-Meßkolben mit CCl_4 auf und mißt die Extinktion (Photoelektrocolorimeter FEK-1 M mit Zeiss-Filter) bei 460 nm in 5 cm-Küvetten gegen CCl_4 .

Eichkurve. Von einer Standardlösung (in 1 l wäßriger Lösung 5,5 g Hydrochinon und 2,5 ml 4 N Schwefelsäure) mit jodometrisch ermitteltem Titer werden aliquote Teile wie oben behandelt. In einem Konzentrationsbereich von 0,01–0,10 g Hydrochinon ist das Lambert-Beersche Gesetz erfüllt.

Bei 3 mal 20 Parallelbestimmungen von $2,94 \cdot 10^{-2}$ g Hydrochinon ergab sich eine Standardabweichung $S = 2,94 \cdot 10^{-4}$ g bzw. relative Standardabweichung $V = 1\%$ [4]. Bis $S = 2,94 \cdot 10^{-4}$ g und $n = 19$ ist das Vertrauensintervall $\Delta x = t(P, n) \cdot S = 6 \cdot 10^{-4}$ g (für $P = 95\%$) und $S = 9 \cdot 10^{-4}$ g (für $P = 99\%$). Das Verfahren ist frei von systematischen Fehlern.

Colorimetrische Bestimmung von Hydrochinon in Crememasse. 4 g ($\pm 0,001$) Creme werden in einen 25 ml-Becher eingewogen und quantitativ mit drei 15 ml-Portionen Benzol in einen 150 ml-Scheidetrichter gebracht. Man spült 2 mal mit je 8 ml angesäuertem dest. Wasser (10 ml konz. Essigsäure/l) und filtriert die wäßrige Phase nach vollständiger Trennung über ein Blauband-Filter in einen 100 ml-Meßkolben. Nach weiteren 5 Extraktionen mit je 15 ml angesäuertem Wasser wird mit dest. Wasser aufgefüllt (die Vollständigkeit des Hydrochinonauszuges wurde an 5 Modellgemischen überprüft). In einem aliquoten Teil dieses Auszuges wurde das Hydrochinon nach dem oben beschriebenen photometrischen Verfahren als Chinon bestimmt mit einer Standardabweichung $S = 12,5 \cdot 10^{-4}$ g bzw. $V = 2\%$.

Literatur

1. Beljakov, A. A.: Tr. Komis. Anal. Chim., Akad. Nauk. URSS, Inst. Geochem. Anal. Chim. **13**, 405 (1963).
2. Brauer, E., Stande, H.: Z. Wiss. Phot. **48**, 16 (1953); vgl. Chem. Abstr. **48**, 3204 (1954).
3. Čelap, M. R., Janjić, T. J., Nikolić, A. T.: Mikrochim. Acta **1963**, 1040; vgl. diese Z. **210**, 148 (1965).
4. Doerffel, K.: Statistik in der analytischen Chemie. Leipzig: Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie 1966.
5. Kolthoff, I. M., Belcher, R.: Volumetric analysis, Vol. III, p. 396. New York: Intersci. Publ. 1957.
6. Spencer, M. G.: Arch. Dermatol. **84**, 121 (1961).

Prof. Dr. A. Popov
 Institut für organische Chemie
 der Bulgarischen Akademie der Wissenschaften
 Sofia 13, Bulgarien

Bestimmung von Dimethylanilin-oxid in biologischem Material

Determination of Dimethylaniline-oxide
 in Biological Material

GERHARD RENNERT

Pharmakologisches Institut der Universität München

Eingegangen am 7. November 1969

Bei unseren Untersuchungen über die autokatalytische Bildung von Ferrihämoglobin durch Dimethylanilin-oxid [2] wurde die Konzentration des Aminoxids in Hämoglobinlösungen zunächst nach der Methode von Ziegler u. Pettit [3] bestimmt. An Lösungen, die Cytochrom c enthielten, war die Methode nicht anwendbar. Wir haben daher eine einfache, empfindliche Methode entwickelt, welche auch an Lösungen von Cytochrom c und anderem biologischem Material anwendbar ist. — *Prinzip*. Der Probe werden Arylamine und Aminophenole durch Extraktion mit Äther entzogen. Das in der wäßrigen Phase verbleibende Dimethylanilin-oxid wird durch naszierenden Wasserstoff zu N,N-Dimethylanilin reduziert. Dieses wird in Äther gezogen und durch seine Extinktion bei 251,5 nm bestimmt. Eine Lösung von 1 µg N,N-Dimethylanilin je Milliliter Äther hat in 1 cm-Schicht eine Extinktion von 0,131. Die eingesetzten Dimethylanilin-oxid-Konzentrationen werden aus Cytochrom c enthaltenden Lösungen zu etwa 90% erfaßt.

Ausführung. Zu 3 ml der Probe werden 3 ml einer 0,6 M Perchlorsäure gegeben. Der Niederschlag wird abzentrifugiert. 4 ml des Überstands werden mit 2 ml einer gesätt. Na-Carbonatlösung versetzt und dreimal mit je 20 ml Äther

jeweils 15 min geschüttelt; die Ätherphasen werden verworfen. 4,5 ml der wäßrigen Lösung werden mit 2 ml einer 20%igen HCl-Lösung und einigen Gramm Zinkstaub versetzt und 15 min geschüttelt. Die Mischung wird filtriert und das Filter gründlich nachgespült. Das Filtrat wird mit 3 ml einer 2 N NaOH alkalisch gemacht und 10 min mit 10 ml Äther extrahiert. Die Extinktion der ätherischen Lösung wird bei 251,5 nm gemessen.

Die Störungen der Methode von Ziegler u. Pettit durch Cytochrom c veranlaßten uns, den gelben Farbstoff, der zur Bestimmung aus dem Dimethylanilin-oxid gebildet wird, zu untersuchen:

Nach Ziegler u. Pettit wird das Aminoxid in wäßriger Lösung bei pH 2,5 durch salpetrige Säure in einen gelben Farbstoff umgewandelt; seine Extinktion wird bei 420 nm gemessen. Die Autoren nehmen an, daß der gelbe Farbstoff 4-Nitroso-N,N-dimethylanilin sei. Schon Bamberger u. Tschirner [1] haben aber gezeigt, daß bei der Reaktion von Dimethylanilin-oxid mit salpetriger Säure nur wenig 4-Nitroso-N,N-dimethylanilin gebildet wird, und daß 2-Nitro-N,N-dimethylanilin und 4-Nitro-N,N-dimethylanilin die Hauptprodukte sind. Durch Isolierung und Bestimmung der Reaktionsprodukte haben wir den von Bamberger u. Tschirner beschriebenen Reaktionsverlauf auch für die Bedingungen der Methode von Ziegler u. Pettit bestätigt.

Trichloressigsäure Proben mit $5 \cdot 10^{-5}$ bis $5 \cdot 10^{-3}$ M Dimethylanilin-oxid wurden bei pH 2,5 mit $9 \cdot 10^{-3}$ M NaNO₂ versetzt und 5 min auf 60°C erwärmt. Die Proben mit hohen Aminoxid-Konzentrationen schieden gelbe Kristalle aus. Das Absorptionsmaximum der Lösungen war danach von 420 nm nach längeren Wellen verschoben. Ein zweites Absorptionsmaximum von geringer Intensität befand sich bei etwa 350 nm. Mit Lösungen, welche keine Kristalle ausgeschieden hatten, wurde ein konstantes Verhältnis von Lichtabsorption bei 420 nm zu Aminoxid-Konzentration gefunden.

Nach Abtrennung und Wägung der ausgeschiedenen Kristalle wurden von allen Proben aliquote Teile auf Chromatographiesäulen (Ø 11–12 mm, 25 cm DEAE-Sephadex A-25 + 18 cm Sephadex G-25) gegeben und mit verd. Trichloressigsäure entwickelt. Äquilibration und Elution erfolgten mit verd., auf pH 2,5 eingestellter Trichloressigsäure. Zwei gelbe und eine orangefarbene Zone stimmten in Wanderungsgeschwindigkeit, Farbe und Spektren der eluierten Farbstoffe mit authentischem 4-Nitroso-N,N-dimethylanilin bzw. 2- und 4-Nitro-N,N-dimethylanilin überein. Die gelben Kristalle, die sich nach dem Erwärmen der Proben mit Nitrit aus einigen Lösungen abgeschieden hatten, wurden durch Schmelzpunkt, Mischschmelzpunkt und Spektren als 4-Nitro-N,N-dimethylanilin identifiziert.

Die Lichtabsorptionen der nach dem Verfahren von Ziegler u. Pettit erhaltenen Lösungen bei 420 nm werden aus den Absorptionen der drei Verbindungen gebildet. Dabei ist der Anteil des nur in geringer Konzentration gebildeten 4-Nitroso-N,N-dimethylanilins an der Gesamtabsorption sehr klein. Da das Verhältnis von Lichtabsorption bei 420 nm zu Dimethylanilin-oxid-Konzentration konstant ist, müssen auch die drei Substanzen bei den untersuchten Konzentrationen und unter den Bedingungen der Bestimmungsmethode von Ziegler u. Pettit in einem konstanten Verhältnis gebildet werden. Im Bereich von $5 \cdot 10^{-5}$ bis $5 \cdot 10^{-3}$ M Dimethylanilin-oxid wurden durch $9 \cdot 10^{-3}$ M NaNO₂ etwa 3%