

mit Ninhydrinlösung kontrolliert, der andere Teil wird absteigend 24 Std mit der Butanol-Pyridin-Ammoniak-Mischung entwickelt. Bei der Elektrophorese werden Aminosäuren und ihre Derivate in folgende Gruppen getrennt: a) stark saure Aminosäurederivate, die drei gut getrennte Flecke bilden (Cysteinsäure + Serin-OSO<sub>3</sub>H, Tyrosin-OSO<sub>3</sub>H und Taurin + Äthanolamin-OSO<sub>3</sub>H); b) teilweise getrennte saure und neutrale Aminosäuren; c) praktisch ungetrennte basische Aminosäuren. Bei der *Analyse von Harn* ist die Trennung nicht so scharf wie bei synthetischen Gemischen, die einzelnen Komponenten nach der chromatographischen Trennung sind aber doch leicht zu identifizieren.

<sup>1</sup> Chem. analit. (Warszawa) **9**, 975–980 (1964) [Polnisch]. (Mit engl. Zus.fass.)  
Lehrst. physiol. Chem. Akad., Lublin (Polen). M. PRIBYL

**Kreatin und Kreatinin im Harn** können nach J. FISCHL, S. SEGAL und Y. YULZARI<sup>1</sup> durch *Papierelektrophorese* gut getrennt werden. Die Trennung erfolgt in dem von J. FISCHL und S. SEGAL<sup>2</sup> beschriebenen Gerät auf Schl. & Sch.-Papier 2043b Mgl oder Whatman-Papier MM3 mit einer Pufferlösung vom pH 2,2 aus 2,5%iger Ameisensäure und 7,8%iger Essigsäure (1:1) bei 650–700 Volt in 60–80 min. Die feuchten Streifen werden dann in einem Ofen bei 160–200°C getrocknet. Die Substanzen werden durch Besprühen mit frisch hergestellter alkalischer Pikratlösung oder Neblers Reagens sichtbar gemacht. Für die quantitative Bestimmung werden die entsprechenden Zonen ausgeschnitten, mit 2 ml 0,1%iger Salzsäure eluiert, mit 2 ml 0,1%iger Natronlauge neutralisiert und nach M. Z. JAFFÉ<sup>3</sup> oder mit Neblers Reagens, das mit Gummi arabicum als Schutzkolloid versetzt wurde, colorimetrisch bestimmt. Das Schutzkolloid soll vorher mit Permutit behandelt werden.

<sup>1</sup> Clin. chim. Acta (Amsterdam) **10**, 73–75 (1964). Dept. Biochem., „Asaf Harofe“ Governm. Hosp., Zerifin (Israel). — <sup>2</sup> Clin. chim. Acta (Amsterdam) **8**, 399 (1963). —

<sup>3</sup> Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **10**, 391 (1886).

A. NIEMANN

**Eine fluorimetrische Bestimmung von Trypsin**, die sich auch zur Analyse von Pankreassaft eignet, beschreibt M. ROTH<sup>1</sup>. Die Methode beruht darauf, daß *Trypsin* bei pH 7,8 aus *N-α-Benzoylarginin-β-naphthylamid β-Naphthylamin* abspaltet, dessen Fluoreszenz gemessen werden kann. Die Nachweisgrenze liegt bei  $5 \cdot 10^{-3} \mu\text{g/ml}$ . — *Ausführung*. Man stellt ein Reagensglas, das 3 ml Substratlösung (siehe unten) enthält und ein anderes mit der zu untersuchenden Trypsinlösung (neutral oder in 0,001 n Salzsäure) in ein Wasserbad von 37°C, pipettiert nach 5 min 1 ml der Trypsinlösung zum Substrat, schüttelt um und füllt das Gemisch in eine 1×1 cm-Küvette. Dann mißt man die Fluoreszenz (338 nm Anregung, 410 nm Emission) 5 min lang jede Minute gegen eine Standardlösung von 1 µg β-Naphthylamin in 1 ml 0,05 m Trispuffer pH 7,8 [6,075 g Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan + 30 ml n Salzsäure zu 1000 ml in Wasser gelöst]. Bei *Trypsinkonzentrationen unter 1 µg/ml* inkubiert man 2 Std bei 37°C und mißt dann die Fluoreszenz. *Zur Bestimmung im Pankreassaft* läßt man 4 ml der Substratlösung 5 min bei 37°C stehen, gibt 20–100 µl Pankreassaft zu, schüttelt um und mißt die Fluoreszenz wie oben beschrieben. — *Substratlösung*. Man löst 10 mg *N-α-Benzoyl-D,L-arginin-β-naphthylamid-chlorhydrat* in 2 ml Methanol und füllt mit Tris-Calciumchlorid-Puffer pH 7,8 [6,057 g Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan + 3,68 g CaCl<sub>2</sub> · 2 H<sub>2</sub>O + 30 ml n Salzsäure zu 1000 ml in Wasser gelöst] auf 100 ml auf. Die Lösung ist bei 4°C 7 Tage stabil. Für die Mikrobestimmung (unter 1 µg Trypsin/ml) setzt man täglich eine frische Lösung an.

<sup>1</sup> Clin. chim. Acta (Amsterdam) **8**, 574–578 (1963). Lab. Central, Hôp. Cantonal, Genf (Schweiz).  
URSULA BAUMANN