

ORIGINALABHANDLUNGEN.

ANWENDUNG DER TÜPFELREAKTION BEI DER
AUSFÜHRUNG DER NINHYDRINPROBE.

Von

EMIL ABDERHALDEN,

Halle/S.

(Eingelangt am 22. Juni 1936.)

Bei der Durchführung des Nachweises von Abwehrproteinasewirkungen unter Anwendung der Ninhydrinreaktion spielt eine wesentliche Rolle die absolute Freiheit der anzuwendenden eiweißhaltigen Substrate von in Wasser löslichen Produkten, die mit dem genannten Reagens eine Blaufärbung ergeben. Bislang wurden die Substrate mit wenig Wasser gründlich ausgekocht, und zwar nachdem sie zuvor mittels Kochsalzlösung zur Quellung gebracht worden waren, um eingeschlossene Substanzen zu entfernen. Nach erfolgter Filtration wurde das Kochwasser mit einer höheren Konzentration an Ninhydrin gekocht, als beim eigentlichen Versuch zur Anwendung gelangt. Es läßt sich nun die ganze Probe dadurch wesentlich vereinfachen und, da das Ninhydrin ziemlich teuer ist, auch verbilligen, daß man in die Delle eines Porzellanblockes 1—2 Tropfen der filtrierten Auskochflüssigkeit des Substrates gibt und dann 1 Tropfen einer 2%igen Ninhydrinlösung hinzufügt. Hierauf stellt man den Block in einen Wärmeschrank, der so eingerichtet ist, daß das Aussehen des Gemisches in der Delle des Blockes während der Erwärmung fortlaufend beobachtet werden kann, ohne daß irgendwelche Temperaturschwankungen im Inneren des Raumes auftreten. Es hat sich uns in dieser Hinsicht der Wärmeschrank der Firma W. G. HERAEUS, Hanau (Bakterien-Brutschrank „RB“), ausgezeichnet bewährt¹. Es verbleibt der Block bei 100°, bis die Lösung verdampft ist. Zur Kontrolle kann man 1—2 Tropfen Wasser mit 1 Tropfen der gleichen Ninhydrinlösung

¹ Vgl. hierzu EMIL ABDERHALDEN: *Fermentforschung*. **15**, 93 (1936); *Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden*. Abt. IV, 2551 (1936).

den gleichen Bedingungen aussetzen. Nötig ist diese Kontrolle nicht, indem bei Fehlen von Substanzen, die mit Ninhydrin unter Blaufärbung reagieren, die Probe unter allen Umständen negativ ausfallen muß.

Handelt es sich darum, bei andersartigen Untersuchungen Konzentrationsunterschiede im Gehalt an mit Ninhydrin unter Blaufärbung reagierenden Stoffen nachzuweisen, dann führt dieses einfache Verfahren deshalb nicht zum Ziel, weil beim Eindunsten Schichten (Ringe) entstehen, die verschieden intensiv blau gefärbt sind. Es ist in diesem Fall nicht möglich, sich ein Urteil über die Intensität der Färbung bei Vergleichen zu bilden, wenn die Unterschiede nicht sehr große sind. Es empfiehlt sich in solchen Fällen, nicht eine reine Ninhydrinlösung anzuwenden, vielmehr eine Substanz beizufügen, die die Schichtung (Ringbildung) verhindert. Bei unseren Versuchen hat sich folgendes Gemisch bewährt: 0,5 ccm einer 1%igen Ninhydrinlösung plus 19,5 ccm einer 20%igen Traubenzuckerlösung. Hinzufügung von etwas Thymol macht das Gemisch haltbar. Bei derartigen vergleichenden quantitativen Untersuchungen muß die Beschickung der Dellen des Blockes selbstverständlich vollkommen gleich sein. Man verwendet 0,05 ccm der zu prüfenden Flüssigkeit und benützt zur Abmessung Pipetten zu 0,1 ccm mit 100 Teilstrichen und einer sehr feinen Ausflußöffnung. Von der Ninhydrinlösung fügt man mittels einer Tropfpipette 1 Tropfen zu der erwähnten Lösung in der Delle des Blockes hinzu. Man mischt mit Hilfe eines fein ausgezogenen Glasstabes durch und stellt dann den Block in den oben erwähnten Wärmeschrank und beobachtet das Verhalten der Flüssigkeit in den einzelnen Dellen bei einer konstant auf 100° gehaltenen Temperatur durch die geschlossene Glastür des Wärmeschrankes. In besonderen Versuchen ist festgestellt worden, daß die erwähnte Tüpfelprobe, der in früherer Weise ausgeführten sogenannten Kochprobe überlegen ist. Zu den Versuchen wurden Aminosäuren, Polypeptide und auch Peptonarten benutzt. Als vorteilhaft hat sich erwiesen, nicht Blocks mit mehreren Dellen zu benutzen, sondern solche mit nur 1 bzw. 2 Dellen. Man kann dann bei Vergleichen die einzelnen Blocks nach Belieben aneinander reihen und so den Vergleich besonders eindeutig gestalten.
