

Bestimmung von Hydroxyprolin in Leder

Die ursprüngliche Berechnung der Hautsubstanz war nur über eine Stickstoffbestimmung möglich, die durch die in die Leder eingebrachten stickstoffhaltigen Substanzen gestört bzw. verfälscht wurde. Daher ist eine Methode erarbeitet worden, die es gestattet, eine für Kollagen spezifische Aminosäure, die in nahezu konstanter Menge darin vorkommt, zu bestimmen. Es handelt sich um das Hydroxyprolin (im folgenden als Hypro bezeichnet).

Prinzip der Methode:

Das Hydroxyprolin wird durch eine Hydrolyse in 6-n-Salzsäure bei erhöhter Temperatur zwischen 110 °C und 130 °C freigesetzt. Danach wird das Hypro mit einem Oxidationsmittel (z.B. Wasserstoffperoxid oder Chloramin T) in ungesättigte Pyrrolidincarbonsäure überführt. Die ungesättigte Säure wird bei erhöhter Temperatur dekarboxiliert, wobei Pyrrol entsteht. Zu dem gebildeten Pyrrol wird eine Lösung von para-Dimethylaminobenzaldehyd (DMAB) gegeben, wobei sich ein stark gefärbtes Produkt bildet, das kolorimetriert wird.

Bestimmung des Hydroxyprolins:

Aus der gemahlene Probe werden etwa 90 bis 110 mg (entsprechend etwa einer Kollagenmasse von 45 mg) auf 0,001 g genau eingewogen und in ein kalibriertes Hydrolyserohr mit 20 ml Fassungsvermögen und eingeschliffenem Stopfen gegeben. Es werden 20 ml 6-molare Salzsäure zugefügt, das Glas geschlossen und in ein Glycerinbad gegeben, das auf (120 ± 2) °C eingestellt ist. Die Hydrolysendauer beträgt etwa 15 Stunden. Das Glas wird danach abgekühlt und das Hydrolysat durch ein weiches Papierrundfilter in einen 50ml Messkolben filtriert. Nach sorgfältigem Auswaschen des Filters wird der Messkolben mit Wasser zur Marke aufgefüllt und nach dem guten Durchmischen 5 ml in ein 50ml Becherglas einpipettiert. Der Inhalt wird auf dem Wasserbad zur Trockene eingedampft, wobei die Salzsäure quantitativ entweichen muss. Ein weiteres Erhitzen des Glases mit dem Rückstand im Trockenschrank bei (102 ± 1) °C für zehn Minuten ist erforderlich. Danach werden zu dem Rückstand 5 ml einer Boratlösung, die aus einer wässrigen Lösung von 50 g Kaliumhydroxid (86 %ig) und 94,8 g Borsäure im Liter besteht, hinzugegeben und ein zweites Mal zur Trockene auf dem Wasserbad eingedampft. Der Rückstand wird in 12,5 ml wässriger Borsäurelösung, die 24,1 g Säure im Liter enthält, gelöst und das Glas 15 Minuten in einen Thermostaten von $(20 \pm 0,5)$ °C gestellt. Zur partiellen Dehydrierung bzw. Oxidation des Hydroxyprolins fügt man nun genau 12,5 ml eines Oxidationsreagenzes hinzu, das aus 14,0 g Chloramin T im Liter Wasser besteht und lässt die Lösung genau 20 Minuten im Thermostat bei $(20 \pm 0,5)$ °C stehen. Die Oxidation findet bei einem pH-Wert im Bereich von 8 statt. Nach der angegebenen Zeit werden zur Entfernung des Überschusses des Oxidationsmittels 12,5 ml Zinn-(II)-chloridlösung hinzugefügt. Dieses Reduktionsreagenz wird durch Lösen von 45 g Zinn-(II)-chlorid ($\text{SnCl}_2 \times 2 \text{H}_2\text{O}$) in einem Volumen von 1 l molarer Salzsäure hergestellt, und es ist wie das Oxidationsreagenz für jeden Ansatz frisch zuzubereiten. Sofort danach wird der Ansatz einer Wasserdampfdestillation unterzogen. In der Siedehitze entsteht durch Decarboxylierung Pyrrol, das wasserdampfflüchtig ist. Die vorbereitete Lösung wird in einen 100 bis 200ml Destillierkolben quantitativ überführt und mit 50 ml Wasser und 12,5 ml 2 molarer Salzsäure versetzt. Als Apparatur kann das Gerät zur Stickstoffbestimmung nach Parnas-Wagner oder eine Büchi-Apparatur verwendet werden. Die Wasserdampfdestillation wird abgebrochen, wenn 100 bis

150 ml Destillat in einen 250ml Messkolben als Vorlage übergegangen sind. Danach wird mit Wasser zur Marke aufgefüllt und für die photometrische Bestimmung ein aliquoter Teil entnommen, z.B. 20 ml in einen 60 ml Messkolben. Dann wird wiederum mit einer Lösung, hergestellt aus 15 g Dimethylaminobenzaldehyd (DMAB), 850 ml Eisessig und 150 ml wässriger 4,5 molarer Schwefelsäure, zur Marke aufgefüllt. Der sich dabei bildende rote Farbstoff wird nach gutem Durchmischen (etwa 5 Minuten) unter Vorschaltung eines Grünfilters bei 555 nm photometriert. Die am Instrument abgelesene Extinktion wird mit einer Eichkurve verglichen und der Hydroxyprolingehalt abgelesen. Für den Blindversuch wird ein Gemisch von 10 ml DMAB-Reagenz und 5 ml Wasser verwendet.

Kategorien:

[Alle-Seiten](#), [Gesamt](#), [Lederpruefung](#)

Quellenangabe:

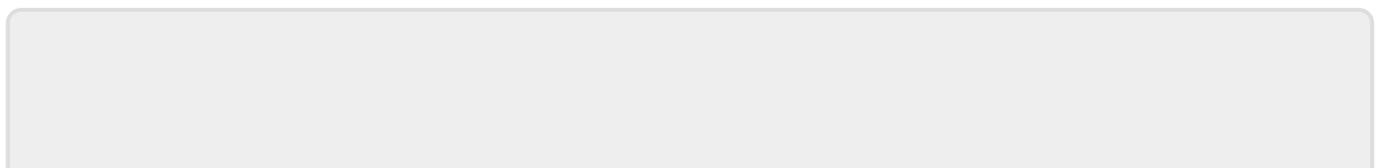
[Quellenangabe zum Inhalt](#)

Zitierpflicht und Verwendung / kommerzielle Nutzung

Bei der Verwendung von Inhalten aus [Lederpedia.de](#) besteht eine Zitierpflicht gemäß Lizenz [CC Attribution-Share Alike 4.0 International](#). Informationen dazu finden Sie hier [Zitierpflicht bei Verwendung von Inhalten aus Lederpedia.de](#). Für die kommerzielle Nutzung von Inhalten aus [Lederpedia.de](#) muss zuvor eine schriftliche Zustimmung ([Anfrage via Kontaktformular](#)) zwingend erfolgen.

[www.Lederpedia.de](#) - Lederpedia - Lederwiki - Lederlexikon

Eine freie Enzyklopädie und Informationsseite über Leder, Ledertechnik, Lederbegriffe, Lederpflege, Lederreinigung, Lederverarbeitung, Lederherstellung und Ledertechnologie



From:

<https://www.lederpedia.de/> - **Lederpedia** - Lederwiki - Lederlexikon

Permanent link:

https://www.lederpedia.de/lederpruefung_lederbeurteilung/bestimmung_von_hydroxyprolin_in_leder

Last update: **2019/04/27 15:21**

