

Substanzen, indem sie die Vermutung aussprechen, daß die Herabsetzung der Gerinnungsfähigkeit des Blutes auch die Thrombosegefahr herabsetzt.

Heparin. Diese Vermutung erwies sich als richtig. Thrombosierung der Gefäße durch mechanische oder chemische Verletzung kann durch Heparinbehandlung aufgehoben werden¹³⁹⁾. Heparin ist heute das einzige Mittel, das sich für den Zweck der Gerinnungszeitverlängerung in vivo durchgesetzt hat, da es zuverlässig wirkt und unschädlich ist¹⁴⁰⁾. Ob es seine Bedeutung in der Zukunft behalten wird, ist wegen der Schwierigkeit der Herstellung und wegen der kurzen Dauer der Wirkung zweifelhaft.

Einige bekannte gerinnungshemmende Substanzen. Die bekannten gerinnungshemmenden Mittel Novirudin, Germanin und Liquoid haben für diesen Zweck in die Klinik keinen Eingang gefunden, weil sie als Gifte erst in zweiter Linie dafür in Frage kommen. Ebenso steht es mit dem Uroselectan¹⁴¹⁾. Diesen Substanzen ist ein Erhitzungsprodukt der Glucuronsäure überlegen, weil es weniger giftig ist¹⁴²⁾. Von den in vitro gerinnungshemmenden Substanzen besitzen auch Trinatriumcitrat¹⁴³⁾ und die Ölsäuren¹⁴⁴⁾ in vivo gerinnungshemmende Kraft. Den Alkaloiden soll neben ihren sonstigen pharmakologischen Wirkungen auch die Eigenschaft der Gerinnungsverzögerung zukommen¹⁴⁵⁾.

Schwermetalle und Seltene Erden. In jüngster Zeit haben einige Forscher darauf hingewiesen, daß viele Metallionen¹⁴⁶⁾, insbesondere die der Seltenen Erden, die Blutgerinnung stark hemmen. Während Erdalkalien in Mengen, wie sie vom Magnesium bekannt sind, die Blutgerinnung in vitro hemmen, wirken die meisten Schwermetalle in gleichem Sinne schon in bedeutend schwächeren

Konzentrationen. Die Schwermetallionen sind den sogenannten calciumfällenden Mitteln sogar überlegen. Diese Wirkung der Schwermetalle beruht auf einer Ausfällung des Fibrinogens¹⁴⁷⁾. In vivo kommt den Schwermetallen keine Bedeutung zu, da ihre Wirkung nach einmaliger Injektion nur kurze Zeit andauert und bei längerer Behandlung den umgekehrten Effekt hervorruft. Dem Periodischen System abwärts folgend gelangt man zu den Seltenen Erden, deren starke gerinnungshemmende Wirkung erforscht, beschrieben und bestätigt wurde¹⁴⁸⁾. Die Seltenen Erden hemmen sowohl in vitro als auch in vivo. Für die klinische Verwendung scheint das Neodym das geeignetste dieser Ionen zu sein. Es hat gegenüber dem Heparin den Vorzug der besseren Zugänglichkeit. Das Neodym scheint für die Thromboseprophylaxe das aussichtsreichste aller bekannten gerinnungshemmenden Mittel zu sein.

Zusammenfassung¹⁴⁹⁾.

Die Betrachtung der Ergebnisse der Gerinnungsforschung in vivo deckt eine Menge von Widersprüchen auf. Die heutige Blutgerinnungsforschung weist als wesentlichen Mangel das Fehlen einer geeigneten Bestimmungsmethode der Gerinnungszeit auf. Auch die scheinbar positiven Ergebnisse werden solange nicht voll gewertet werden dürfen, als sie nicht durch exakte Messung sichergestellt worden sind. Es muß daher das Bestreben sein, die Methodik der Gerinnungszeitbestimmung zu verbessern.

Während in der Klinik heute noch trotz der Menge der vorhandenen Hämostyptica das sicher wirkende Blutstillungsmittel fehlt, ist es gelungen, geeignete Hemmstoffe der Gerinnung zu finden und ihre Bedeutung für die Thromboseprophylaxe klarzustellen.

Die Vielseitigkeit der Beeinflussbarkeit der Blutgerinnungszeit läßt vermuten, daß eine Reihe der gebräuchlichen Pharmaca die Blutung und Thrombosebildung in ungeahnter Weise beeinflussen, und es erscheint untersuchtenswerten, inwieweit die in der Chirurgie angewandten Heilmittel auf die Gerinnung des Blutes einwirken. Die Veränderung der Gerinnungszeit unter pathologischen Einflüssen sollte Anhaltspunkte liefern, die die Auffindung der Bildungsstätte der Gerinnungskomponenten ermöglichen. [A. 71.]

¹⁴⁷⁾ H. Häusler u. H. Vogel, Biochem. Z. 287, 405 [1936].

¹⁴⁸⁾ H. Dyckerhoff u. H. F. Kürten, ebenda 284, 111 [1936].

¹⁴⁹⁾ Die Abhandlung wurde von der Medizinischen Fakultät München als Dissertation angenommen.

¹³⁹⁾ D. W. Murray, L. B. Jaques, T. S. Perett u. C. H. Best, Canad. med. Ass. J. 35, 621 [1936]; Surgery, Gynecol. Obstetrics 2, 163 [1937].

¹⁴⁰⁾ C. J. Reed u. R. W. Lamson, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 23, 656 [1926]; Per. Hedenius, Acta med. scand. 88, 443 [1936]; C. J. Reed, Amer. J. Physiol. 74, 79 [1925]; J. Lab. clin. Med. 14, 243 [1928].

¹⁴¹⁾ Ravasini, Biochim. Terap. sperim. 18, 141 [1931].

¹⁴²⁾ H. J. Fuchs u. R. Merländer, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Pathol. Pharmacol. 104, 258 [1932].

¹⁴³⁾ M. Larget, J. P. Lamare, R. C. Weyl u. R. Lecocq, Bull. Sci. Pharmacol. 40, 408 [1933].

¹⁴⁴⁾ A. Rabbeno, l. c.

¹⁴⁵⁾ Klincke, Klin. Wschr. 8, 1363 [1929]; E. Hartmann u. St. Weiss, ebenda 9, 347 [1930].

¹⁴⁶⁾ H. Häusler u. H. Schnetz, Biochem. Z. 275, 187 [1935].

Über physikalische Methoden im chemischen Laboratorium. XXXVII*)

Messung von Teilchengrößen und Molekulargewichten durch Zentrifugieren

Von Dr. P. VON MUTZENBECHER, I.G. Farbenindustrie A.G., Frankfurt a. M.-Höchst, Biochem. Laboratorium
Eingeg. 28. Mai 1938

In der Kolloidchemie und Bodenkunde ist die Sedimentationsanalyse eine seit langem geübte Methode (1). Wir verstehen unter Sedimentationsanalyse die Bestimmung von Teilchengrößen aus der Geschwindigkeit des Absinkens von Teilchen einer Suspension oder aus der Verteilung nach der Schichthöhe, die sich in einem erschütterungsfrei aufgestellten Sol als Gleichgewicht zwischen der Sinkbewegung und der Diffusionsbewegung der Teilchen einstellt (2).

Die Sedimentationsanalyse hat vor anderen Methoden zur Teilchengrößenbestimmung, die immer nur Mittelwerte geben, den Vorteil, Eigenschaften des Teilchens selbst zur Messung auszunutzen. Bei Messung des Sedimentationsgleichgewichtes kann man entscheiden, ob ein System

einheitlich ist oder nicht, und im zweiten Fall die Verteilungsfunktion berechnen; bei Messung der Sedimentationsgeschwindigkeit werden die Teilchen nach Größe und Form gesondert, und man kann die Sinkgeschwindigkeit jeder Teilchengruppe für sich bestimmen.

Die Sedimentationsanalyse im Schwerfeld ist in ihrer Anwendung auf verhältnismäßig große Teilchen begrenzt. Um sie auf kleinere Teilchen anwenden zu können, bedarf es stärkerer Kraftfelder. Wie man in Laboratorium und Technik zum schnelleren und besseren „Absitzen“ von Suspensionen die Zentrifugalkraft benutzt, so mußte sich auch der Anwendungsbereich der Sedimentationsanalyse erweitern lassen, wenn es gelang, an Stelle der Schwerkraft sehr viel stärkere Zentrifugalkräfte zu verwenden. Es ist das Verdienst Svedbergs, durch die Konstruktion von

* XXXVI s. diese Ztschr. 51, 11 [1938].

„Ultrazentrifugen“ den Bereich der Sedimentationsanalyse bis zu den Dimensionen anorganischer Salzmoleküle ausgedehnt zu haben. Dadurch gewinnt die Sedimentationsanalyse Anschluß an die klassischen Methoden der Molekulargewichtsbestimmung; ihr günstigstes Anwendungsgebiet ist der Bereich der ultravisiblen Teilchen, der Bereich der Biokolloide: Proteine, Stärke, Cellulose, Vira und Phagen, sowie der synthetischen Hochpolymeren.

Als Ultrazentrifuge bezeichnet *Svedberg* (14) jede Zentrifuge, die folgenden Bedingungen genügt: 1. soll die Sedimentation in der Zentrifuge störungsfrei verlaufen, 2. soll man die Konzentrationsverteilung des sedimentierenden Stoffes in der laufenden Zentrifuge messend verfolgen können.

Eine Reihe neuerer Veröffentlichungen zeigt Wege, auch mit einfacheren Mitteln, unter Verzicht auf eine oder beide der obengenannten Bedingungen, Teilchengrößen mit Hilfe von Zentrifugen zu bestimmen. Wenn auch keine dieser Methoden die Genauigkeit und den großen Anwendungsbereich der *Svedbergschen* Ultrazentrifugen erreicht, so sind sie doch für spezielle Zwecke sehr wertvoll, zumal sie mit viel einfacheren Hilfsmitteln auskommen. Im folgenden werden alle bekannten Methoden zur Teilchengrößenbestimmung durch Zentrifugieren geschildert.

Die Theorie der Sedimentationsanalyse mit der Zentrifuge.

(3, 4, 5, 6, 7, 8, 16, 17, 26, 27).

Sedimentationsgeschwindigkeit.

Sedimentiert in einer Zentrifuge, die mit der Winkelgeschwindigkeit ω^1 umläuft, ein Teilchen der Masse m (gleichgültig welcher Form) und vom spez. Volumen V in einem Medium der Dichte σ und im Abstand r vom Zentrum, so stellt sich unter dem Einfluß von Zentrifugalbeschleunigung, Auftrieb und Reibung eine stationäre Geschwindigkeit ein.

$$[1] \quad \frac{dr}{dt} = \frac{m(1-V\sigma)\omega^2 r}{f}$$

Hier bedeutet f den Reibungskoeffizienten des Teilchens. Formt man die Gleichung so um, daß auf der einen Seite alle Materialkonstanten stehen, so wird

$$[1a] \quad \frac{m(1-V\sigma)}{f} = \frac{dr/dt}{\omega^2 r} = s$$

Die Größe s , die Sedimentationsgeschwindigkeit bei der Beschleunigung 1 dyn., ist eine Funktion von Eigenschaften des Teilchens (Masse, Volumen, Form) und des Lösungsmittels (Dichte, Viskosität); um sie von den letzteren unabhängig zu machen, wird sie nach der Formel

$$[2] \quad s_{20} = s \cdot \frac{\eta}{\eta_{20}} \cdot \frac{(1-V\sigma_{20})}{(1-V\sigma)}$$

(wo die Indices 20 auf reines Wasser von 20° hinweisen)

auf Dichte und Viskosität reines Wassers bei 20° reduziert. Sie ist in dieser Form eine Materialkonstante des sedimentierenden Stoffes. *Svedberg* bezeichnet sie als Sedimentationskonstante.

Zur Berechnung von s kann Gleichung 1a dienen, wenn die gemessene Strecke Δr klein im Verhältnis zu r ist; sonst muß Gleichung 1a integriert werden

$$[1b] \quad s = \frac{m(1-V\sigma)}{f} = \frac{\ln \frac{r_2}{r_1}}{\omega^2 (t_2 - t_1)}$$

r_1, r_2 : Abstand des Teilchens von der Achse zu den Zeiten t_1, t_2 .

Die bisherigen Betrachtungen gelten für ein einzelnes Teilchen. Fassen wir nunmehr eine (verdünnte) Lösung

¹⁾ $\omega = U/s \cdot 2\pi$.

ins Auge, so gilt in einem sektorförmigen Gefäß, da die Zentrifugalbeschleunigung und damit die Sedimentationsgeschwindigkeit mit wachsendem Abstand von der Achse zunimmt:

$$[3] \quad c_2/c_1 = \left(\frac{r_2}{r_1}\right)^s \quad (3)$$

und durch Einsetzen in [1b]

$$[1c] \quad s = \frac{m(1-V\sigma)}{f} = \frac{\ln \sqrt{\frac{c_1}{c_2}}}{\omega^2 (t_2 - t_1)} \quad \text{oder} \quad c_2 = c_1 \cdot e^{-2s\omega^2 (t_2 - t_1)},$$

d. h., die Lösung unterhalb der Grenze sedimentierender Stoff/Lösungsmittel wird mit der Zentrifugierdauer mehr und mehr verdünnt.

Gleichung 1 kann zur Berechnung der Teilchengröße dienen, wenn man kugelförmige Teilchen voraussetzt. Es wird dann, da

$$m(1-V\sigma) = \frac{4}{3} \rho^2 \pi (\sigma_T - \sigma)$$

und, nach *Stokes*,

$$f = 6\pi\eta\rho$$

$$[1a] \quad \rho = \sqrt{\frac{9\eta s}{2(\sigma_T - \sigma)}}$$

η = Viskosität des Lösungsmittels, ρ = Radius des Teilchens, σ_T = Dichte des Teilchens in Lösung.

Zur Berechnung des Molekulargewichtes führen wir $M = m \cdot N_L$ und F (den molaren Reibungskoeffizienten) $= f \cdot N_L$ ein. (N_L = Zahl der Moleküle in 1 Mol.)

Allgemein gilt

$$F = \frac{RT}{D}$$

R = Gaskonstante, T = abs. Temperatur, D = Diffusionskonstante eingesetzt in 1

$$[1\beta] \quad M = \frac{s \cdot RT}{(1-V\sigma) D}$$

unabhängig von den Voraussetzungen des *Stokes'schen* Gesetzes²⁾. Zur Berechnung von V dient Gleichung:

$$[4] \quad V = \frac{g_{Lm} - (g_{Lsg} - g_a)}{\sigma \cdot g_a}$$

wo g_{Lm} das Gewicht eines (im Pyknometer) abgemessenen Volumens des Lösungsmittels, g_{Lsg} das Gewicht eines gleichen Volumens der Lösung, g_a die Einwaage, und σ die Dichte des Lösungsmittels bedeuten³⁾ (9).

Enthält das zentrifugierte System nur Teilchen einer Größe, so erhält man eine scharfe Grenze zwischen sedimentierendem Stoff und der überstehenden Lösung; sind die Teilchen sehr klein oder das Zentrifugalfeld schwach (so daß die Sedimentierung lange Zeit erfordert), so wird sie durch Diffusion unscharf. Beobachtet man umgekehrt eine scharfe Grenze oder gehorcht die Verteilung der Teilchen um die immer unschärfer werdende Grenze dem Diffusionsgesetz, so ist erwiesen, daß Teilchen einheitlicher Größe (und Form) sedimentieren. Das System ist monodispers⁴⁾.

Ist das System polydispers und enthält eine statistische Verteilung vieler Teilchengrößen (wie z. B. ein anorganisches Sol oder ein synthetisches Polymerisationsprodukt),

²⁾ Vgl. *Bechhold* u. *Schlesinger* (32).

³⁾ Obige Formeln gelten streng nur für unendlich verdünnte Lösungen.

⁴⁾ Die von *Svedberg* angegebenen Molekulargewichte schließen demnach Solvatationswasser nicht ein. Vgl. (24) sowie *Adair* u. *Adair*, Proc. Roy. Soc., London, Ser. A 120, 422 [1936].

⁵⁾ Siehe aber *Signer* u. *Groß* (31) über die Verhältnisse in Lösungen von Fadenmolekülen. Dazu auch *Kraemer* u. *Lansing*, J. Amer. chem. Soc. 55, 4319 [1933].

so kann man aus der Zentrifugierung die Verteilungskurve berechnen. Für kugelige Teilchen und unter Vernachlässigung der Diffusion gilt:

$$[5] \quad \frac{dc}{dr} = \frac{dc}{dx} \frac{dx}{dr} \left(\frac{x_2}{x_1} \right)^2 \quad (3)$$

Ist das System polydispers, enthält aber nur wenige stark voneinander verschiedene Teilchengrößen, wie z. B. ein Gemisch verschiedener Eiweißarten oder verschiedener Aggregationsstufen derselben Eiweißart, so beobachtet man unter günstigen Umständen (geringe Diffusion, hohe Zentrifugalkraft, langer Sedimentationsweg) für jede Teilchengröße eine eigene Grenze und kann die Sedimentationskonstante für jede gesondert bestimmen.

Sedimentationsgleichgewicht (2, 3, 4, 16, 26).

Zentrifugiert man ein System so lange, bis sich die Konzentrationsverteilung nicht mehr ändert, so hat sich ein Sedimentationsgleichgewicht eingestellt. Für eine bestimmte Teilchengröße gilt dann:

$$[6] \quad M = \frac{2RT \ln \frac{c_2}{c_1}}{(1 - v\sigma) \omega^2 (r_2^2 - r_1^2)} \quad (4)$$

oder wenn man den Teilchenradius ermitteln will:

$$[6a] \quad \rho = \sqrt{\frac{3RT \ln \frac{c_2}{c_1}}{2\pi(\sigma_T - \sigma) \omega^2 (r_2^2 - r_1^2) N_2}}$$

Man erhält also hier das Molekulargewicht unabhängig von der Diffusionskonstante.

Sind mehrere Teilchengrößen vorhanden, so erhält man bei der Berechnung des Molekulargewichtes in verschiedenen Abständen von der Rotationsachse einen Gang in den Werten. Ist kein Gang vorhanden, so hat man ein sicheres Kriterium für Einheitlichkeit des Systems.

Die Svedbergschen Ultrazentrifugen.

Svedberg hat für die beiden Möglichkeiten der Sedimentationsauswertung zwei verschiedene Typen von Zentrifugen entwickelt, die dem besonderen Zweck angepaßt sind (11, 12, 14, 15).

Für Messungen des Sedimentationsgleichgewichtes ist es notwendig, die Umdrehungsgeschwindigkeit und die Temperatur der zentrifugierten Lösung völlig konstant zu halten. Extrem hohe Geschwindigkeiten sind dagegen nicht erforderlich, solange die zu messenden Teilchengewichte die Größenordnung 1000 nicht unterschreiten. Svedberg (10, 11, 12, 14, 15) wählte als Antrieb Dreiphasenstrommotoren, deren Umlaufgeschwindigkeit der Frequenz des Drehstroms folgt.

Auf der senkrecht angeordneten Achse des Motors M (s. Abb. 1), der mit Wasser gekühlt wird, sitzt der Rotor R, ein Stahlzylinder von 15 cm Dmr.; er trägt an 2 gegenüberliegenden Stellen zylindrische Bohrungen für die Zellen C, die zur Aufnahme der Lösung dienen. Würde der Rotor in Luft laufen, so würde er sich infolge der Reibung ungleichmäßig erwärmen, und die Folge wären Konvektionsströme in der Lösung. Svedberg läßt den Rotor in Wasserstoff von Atmosphärendruck laufen, in einer hermetisch verschlossenen Kammer, die ihrerseits in einem Wasserthermostaten T steht. Diese Anordnung genügt, um auch bei den höchsten Umlaufgeschwindigkeiten dieses Typs die Temperatur in der Zelle konstant zu halten und Konvektionen zu vermeiden. Die Höchstgeschwindigkeit liegt bei rd. 20000 U/min.

Für Sedimentationsgeschwindigkeitsmessungen ist es erwünscht, die Umdrehungsgeschwindigkeit so hoch wie möglich zu treiben, wenn man möglichst scharfe Grenzen und möglichst gute „Trennschärfe“ erzielen will.

⁹⁾ Die kinetische Ableitung von Gl. 6 gibt Svedberg (3), die thermodynamische (4, 8). Dazu auch (16, 26).

Bei maximaler Beanspruchung des Materials sind die höchsten Umlaufgeschwindigkeiten und die stärksten Zentrifugalfelder mit kleinen Rotoren zu erzielen. Je kleiner aber der Rotor wird, desto inhomogener wird das Zentrifugal-

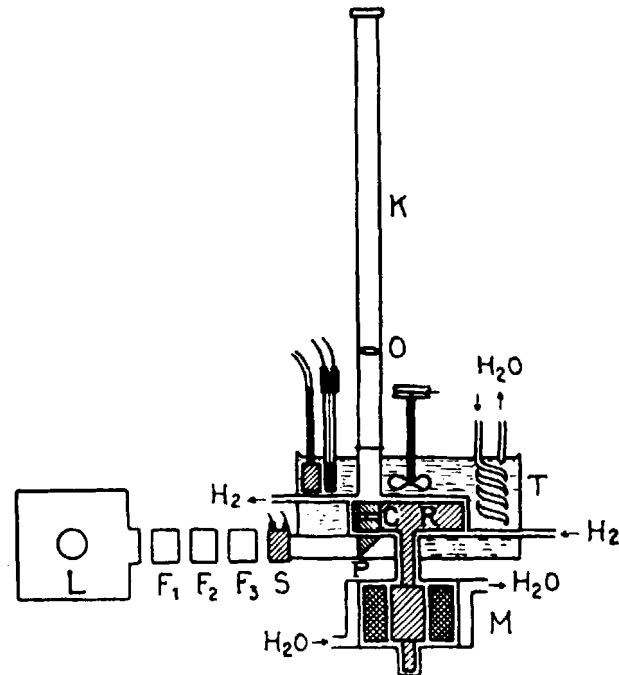


Abb. 1. Schematischer Aufbau einer Ultrazentrifuge für Messung des Sedimentationsgleichgewichts. (Zeichenerklärung im Text.)

Aus: T. Svedberg, Ber. dtsch. chem. Ges. 67, 119 [1934].

feld und desto ungenauer die Messung. Svedbergs Geschwindigkeitszentrifugen (7, 8, 11, 12, 13, 14, 15) haben Rotoren von 17–18 cm Dmr., die aus Spezialstählen gefertigt und besonders zweckmäßig geformt, Umlaufgeschwindigkeiten von 65000–75000 U/min aushalten. Bei etwas anders gebauten Typen mit kleinerem Rotor (13, 14, 15) sind sogar Umlaufgeschwindigkeiten von 155000 U/min erreicht worden. Die in der Zelle herrschenden Zentrifugalfelder betragen — in Vielfachen der Erdbeschleunigung g ausgedrückt — 250000–400000 mit dem großen, bis zu 1200000 bei dem kleineren Rotor.

Die Rotorachse liegt waagrecht (Abb. 2); sie ruht in zwei Gleitlagern B1 und B2 und trägt an beiden Enden kleine Turbinen T1 und T2, die mit hochkomprimiertem Öl angetrieben werden. Der Rotor läuft in einem vakuumdicht verschlossenen Gehäuse in einer Atmosphäre von Wasserstoff unter vermindertem Druck.

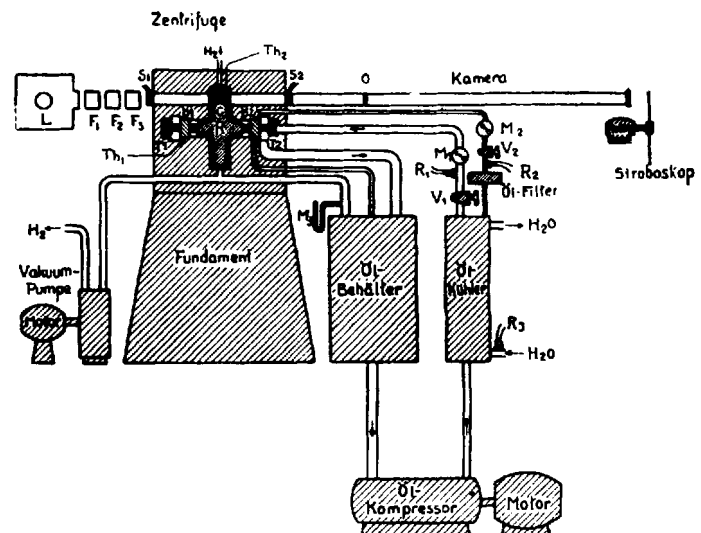


Abb. 2. Schematischer Aufbau einer Ultrazentrifuge für Messung der Sedimentationsgeschwindigkeit. (Zeichenerklärung im Text.)

Aus: Svedberg, Ber. dtsch. chem. Ges. 67, 120 [1934].

Bei dieser Anordnung verläuft die Sedimentation auch bei den höchsten Umdrehungsgeschwindigkeiten störungsfrei, obwohl die Temperatur in der Zelle erheblich (10–15°) über die Außentemperatur steigt. Die Flüssigkeit in der Zelle ist durch eine Ölschicht vor Abkühlung durch Verdampfen geschützt. Die Temperatur in der Zelle wurde durch Schmelzpunktmessungen bei bekannter Gehäusetemperatur bestimmt. Da die Zentrifuge nicht selbstbalancierend gelagert ist, muß der Rotor sowohl statisch als auch dynamisch genau ausbalanciert sein; dies geschieht in einem besonderen Apparat.

Die Messung der Umdrehungsgeschwindigkeit geschieht bei der Gleichgewichtsmethode durch Messung der Frequenz des Drehstroms, bei den Geschwindigkeitszentrifugen mit einem Stroboskop (Abb. 2), neuerdings (15) auch elektromagnetisch durch Messung der Frequenz des durch den teilweise magnetisierten Rotor erzeugten Wechselstroms. Zur Anlage gehören noch Ölkompessor, Ölkühler, ÖlfILTER, Vakuumpumpe, Thermoelemente (Th), Widerstandsthermometer (R), Ventile zur Regulierung des Treib- und Schmieröls (V_1 bzw. V_2) und Manometer (M).

Zur Messung der Konzentrationsverteilung in der Zelle bei laufender Zentrifuge dienen optische Methoden (3, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 14, 15). Daher sind bei beiden Typen die Zellen durchsichtig ausgebildet.

In einem Metallrohr, das in die Bohrung des Rotors paßt, sitzt ein zylindrischer Block aus Ebonit oder Elastolith, der seiner Länge nach sektorförmig ausgeschnitten ist. Gegen die Grundflächen des Zylinders sind kreisrunde Scheiben aus Bergkristall gepreßt; darüber sind noch sektorförmige Blenden angebracht. In dem so gebildeten Hohlraum wird die Lösung durch eine Aussparung im Metallrohr eingefüllt und mit einem Tropfen Paraffinöl überschichtet (8, 11). Die Zelle läuft beim Umlauf des Rotors an entsprechenden Fenstern in den Gehäusen vorbei (vgl. Abb. 1 u. 2). Von der Lampe L fällt Licht durch eine Reihe von Lichtfiltern F durch die Zelle auf das langbrennweitige Objektiv O; dieses entwirft ein Bild der Zelle auf die photographische Platte; elektromagnetische Verschlüsse S dienen zur Belichtung.

Die angewandten optischen Methoden beruhen einerseits auf Messung der Lichtabsorption, andererseits auf der Brechung des Lichtes in einer Diffusionszone.

Absorbiert die sedimentierende Substanz Licht irgend-einer Wellenlänge im Sichtbaren oder im langwelligen Ultraviolett, das Lösungsmittel aber nicht, so wird die photographische Aufnahme des sedimentierenden Systems bei Beleuchtung mit Licht entsprechender Wellenlänge im „oberen“, achsennahen Teil geschwärzt, im „unteren“, achsenfernen Teil bleibt sie hell. Dazwischen ist eine scharfe oder mit der Zeit mehr und mehr verwaschene Grenze. Photographiert man auf die gleiche Platte eine Konzentrationskala und photometriert die Platte durch, so erhält man eine Kurve der Konzentrationsverteilung mit dem Abstand von der Achse und kann daraus die Lage der Grenze bestimmen sowie auf Gültigkeit des Diffusionsgesetzes prüfen (s. oben). Bei der Gleichgewichtsmethode wird aus der Konzentrationsverteilung nach Gleichung 5 das Molekulargewicht berechnet⁷⁾.

Während die beschriebene Methode nur für absorbierende Stoffe anwendbar ist, sind die Refraktionsmethoden unabhängig von dieser Voraussetzung.

Bekanntlich ist der Brechungsindex einer Lösung ihrer Konzentration proportional; mit dem Konzentrationsgradienten an der Grenze des sedimentierenden Stoffes gegen das reine Lösungsmittel entsteht demnach ein Gradient des Brechungsindex: ein durchfallender Strahl wird an dieser Stelle abgelenkt. Bei der Schlierenmethode (19) wird der abgelenkte Strahl weggeblendet, so daß am Ort der Grenze auf der Platte ein heller Streifen im sonst geschwärzten Felde erscheint. Bei der Skalenmethode (21, 22, 24) wird das Bild einer Skala durch die Zelle hindurch auf die Platte entworfen; am Ort der Grenze ist das Bild der Skala verzerrt. Da die Verschiebung jedes Skalenstriches dem Brechungsindex-Gradienten — und damit dem Konzentrationsgradienten — am entsprechenden Ort der Zelle proportional ist, erhält man durch Auftragen der Verschiebung jedes Skalenstriches gegen die Skala die Kurve des Verlaufs der Konzentrationsgradienten

nach dem Abstand von der Achse, sowie durch Integrieren dieser Kurven (28, 29) die Konzentration des sedimentierenden Stoffes. Die Spaltmethode (23, 24) ist aus der Schlierenmethode für den besonderen Zweck der Auswertung des Sedimentationsgleichgewichts entwickelt. Durch Kombination einer festen und einer beweglichen Spaltblende, eines Schlierenkopfes und eines Fernrohrs mit Mikrometer-Okular ist es möglich, in der Zentrifuge den Brechungsindex-Gradienten in jeder Höhe der Zelle zu messen.

Die Refraktionsmethoden sind besonders zur Untersuchung von Gemischen mit der Geschwindigkeitsmethode geeignet, denn man erhält die Lage jeder Grenze viel schärfer als mit der Absorptionsmethode und kann bei Kenntnis des Brechungsindex-Inkrementes die Konzentration jedes Anteils leicht gesondert bestimmen. — Für Gleichgewichtsmessungen kann die Spalt- und die Skalenmethode dienen. Gleichung 6 nimmt in diesem Falle folgende Form an:

$$[6x] \quad M = \frac{2RT \ln \left(\frac{\left(\frac{dn}{dx} \right)_2 \cdot x_1}{\left(\frac{dn}{dx} \right)_1 \cdot x_2} \right)}{(1 - V\sigma) \omega^2 (x_2^2 - x_1^2)}$$

Neuerdings hat Philpot (30) eine optische Methode angegeben, bei der die Kurve Brechungsindex-Gradient/Abstand von der Achse direkt auf der photographischen Platte erscheint. Sie geht aus der Schlierenmethode durch Einschalten einer Zylinderlinse hervor⁸⁾.

Für manche Zwecke ist es erwünscht, nach Abstellen der Zentrifuge Proben zur Analyse entnehmen zu können (etwa bei der Untersuchung von Antikörpern, Enzymen oder Hormonen).

Tiselius, Pedersen u. Svedberg (20) beschreiben eine Anordnung, bei der die Zelle durch ein Diaphragma (Siebplatte mit aufgelegtem Papierfilter) in zwei Hälften geteilt wird, deren Inhalt man getrennt analysieren kann. Die Sedimentationskonstante kann aus der Menge Δ , die aus der oberen in die untere Kammer der sektorförmigen Zelle sedimentiert ist, auf Grund von Gleichung 1b berechnet werden:

$$[1bb] \quad s = - \frac{1}{2\omega^2 t} \ln \left(1 - \frac{2\Delta}{qr c_0} \right),$$

wo q den Querschnitt der Zelle in Höhe des Diaphragmas, r dessen Abstand von der Achse, und c_0 die Anfangskonzentration bedeutet.

Die Svedbergschen Ultrazentrifugen sind vor allem zur Bestimmung des Molekulargewichts von Proteinen, zur Analyse von Proteingemischen und zu Untersuchungen über die Beständigkeit der Proteinmoleküle unter verschiedenen Bedingungen benutzt worden. Jedoch wurden auch andere Systeme untersucht, wie anorganische Sole, Farbstoffe, Cellulose, Stärke, synthetische Hochpolymere und anorganische Salze. Die vollständige Literatur bis 1934 ist in (12) zusammengestellt, die neueren Arbeiten in (15).

Teilchengrößenbestimmung mit Laboratoriumszentrifugen.

Die Svedbergschen Ultrazentrifugen sind so kostspielig und kompliziert, daß ihre allgemeine Anwendung nicht in Frage kommt. Es hat daher nicht an Versuchen gefehlt, Sedimentationsmessungen in der Zentrifuge auch mit einfacheren Mitteln auszuführen.

Beckhold u. Schlesinger (32, 33) zeigten, daß es möglich ist, auch unter Verzicht auf beide von Svedberg gestellten Forderungen — ungestörte Sedimentation und Beobachtung während der Zentrifugierung — bei gröberen Teilchen recht genaue Größenbestimmungen durchzuführen. Genügend starke Konvektion vorausgesetzt, wird sich bei der „ideal gestörten“ Sedimentation keine Grenze ausbilden, sondern die Konzentration der Lösung im ganzen Zentrifugegefäß zu jeder Zeit gleichmäßig sein, da ja die Lösung immer wieder durchgerührt wird. Sorgt man nun dafür,

⁷⁾ Über Anwendung der gleichen Methode zur Diffusionsmessung s. Tiselius u. Groß (18).

⁸⁾ Über Anwendung der Refraktionsmethoden zur Messung von Diffusionskonstanten siehe Lamm (24), Lamm u. Polson (25).

daß die einmal am Boden abgesetzten Teilchen nicht mehr aufgerührt werden, so wird die Konzentration der Lösung mit der Zentrifugierzeit abnehmen.

Beschränkt man sich auf kugelförmige Teilchen, also auf Anwendung der Gleichung 1a, und setzt

$$K = \frac{2\rho^2(\sigma_T - \sigma)\omega^2}{9\eta}$$

so gilt

$$dr = K r dt \quad (r = \text{Abstand des Gefäßbodens von der Achse}).$$

Die Menge, die in der Zeit dt die Grenze zwischen Sediment und überstehender Lösung durchwandert, ist $= c q dr$, wenn c die Konzentration der überstehenden Lösung und q den Querschnitt des Gefäßes bedeutet. Sei h die Höhe der Flüssigkeitsschicht im Gefäß, dann ist unter obigen Voraussetzungen die differentiale Konzentrationsabnahme

$$[7] \quad -dc = \frac{c \cdot q \cdot K \cdot r \cdot dt}{q \cdot h} = c K \frac{r}{h} dt, \text{ integriert}$$

$$[7a] \quad \ln \frac{c_0}{c} = K t \frac{r}{h}$$

Die Formel wurde an Goldsolen geprüft, deren Teilchengrößen bei größeren Solen durch Sedimentation im Schwerfeld bestimmt waren, während bei den feineren Solen wenigstens das Verhältnis der Teilchengrößen aus der Menge des zur Herstellung verwendeten Keimsols zu berechnen war; die Übereinstimmung war befriedigend. Auch diese Methode erlaubt eine Entscheidung darüber, ob das System monodispers ist oder nicht. In polydispersen Systemen ist Gleichung 6a nicht erfüllt, die Konzentration nimmt vielmehr mit steigender Zentrifugierdauer oder fallender Schichthöhe langsamer ab, als der Gleichung entspricht*).

Bechhold u. Schlesinger benutzten für ihre Versuche eine „Ecco-Super-Rapid“-Zentrifuge mit 10000 U/min; die Umlaufgeschwindigkeit wurde mit dem angebrachten Tourenzähler bestimmt. Der Abstand des Bodens der Zentrifugiergefäße von der Achse war $r = 8,0-9,0$ cm, das Zentrifugalfeld demnach etwa 9000—10000 g. Die in dieser Zentrifuge auftretenden Störungen schienen ausreichend. Das Aufrühren des Bodensatzes wurde dadurch verhindert, daß auf den flachen Boden des Gefäßes ein passend geschnittenes Stück Filterpapier gelegt wurde. Teilchengrößen bis zu 5 μ herunter konnten gemessen werden. Untersucht wurden vor allem Vira und Bakteriophagen.

Die Methode von Elford (34), ebenfalls für Virusuntersuchungen ausgearbeitet, verwirklicht störungsfreie Sedimentation in einer Handelszentrifuge.

Die experimentelle Anordnung ist folgende: In einen Zentrifugenbecher (zylindrisch mit flachem Boden), Abb. 3, ist ein Metallstab d mit seinem oberen verbreiterten Ende so eingepaßt, daß der Stab frei, ohne den Boden zu berühren, im Becher hängt. Das untere Ende des Stabes trägt eine Bohrung von 0,5 cm oder weniger Durchmesser und 1 cm Tiefe, die nach unten offen ist. Füllt man den Zentrifugenbecher mit so viel Lösung, daß die Flüssigkeitsoberfläche mit dem — nach oben gerichteten — Boden der so gebildeten Zelle abschneidet, füllt die Zelle mit der gleichen Lösung und setzt sie ein, so ist das Flüssigkeitsvolumen, das von der Zelle eingeschlossen ist, praktisch unempfindlich gegen Erschütterungen,

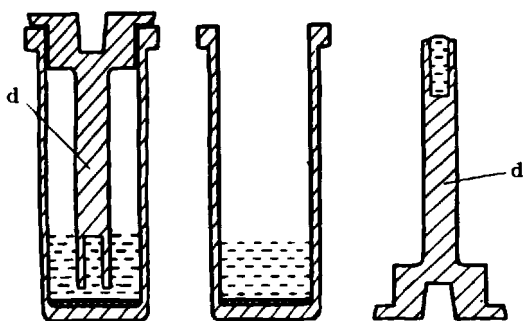


Abb. 3. Zentrifugenbecher und Zelle nach Elford.
Aus Elford, Brit. J. Exp. Pathol. 17, 404 [1936].

* Man kann natürlich statt des Radius eines als kugelförmig gedachten Teilchens auch die Sedimentationskonstante berechnen, da zufolge Gleichung [1a] $K = s\omega^2$ ist.

und die Sedimentation verläuft darin ungestört. (Ein auf den Boden des Zentrifugenbeckers gelegtes Stück Filterpapier verhindert ein Aufrühren des Sedimentes.) Nach beendeter Zentrifugierung kann man die Zelle herausnehmen, auspipettieren und ihren Inhalt darauf untersuchen, wieviel vom untersuchten Stoff durch Sedimentation herausgewandert ist. Um größere Mengen Lösung zur Analyse zu erhalten, hat Elford einen dickeren Stab mit 7 solcher Bohrungen versehen. Durch Benutzung zweier solcher „Zellbündel“ erhält er 0,6 cm³ Lösung zur Analyse.

Die aus der Zelle fortsedimentierte Substanzmenge setzt sich aus zwei Anteilen zusammen: 1. bildet sich ja bei ungestörter Sedimentation eine Schicht reinen Lösungsmittels, 2. nimmt die Konzentration im übrigen Teil des Gefäßes mit der Zentrifugierzeit ab.

Zu 1: Nach Gleichung 1b verhält sich r_t (der Abstand der Grenze Lösung/Lösungsmittel vom Zentrum zur Zeit p) zu r_0 (hier: Abstand des oberen Zellbodens vom Zentrum) wie e^{Kt} , wo K wieder definiert ist durch

$$K = \frac{2\rho^2(\sigma_T - \sigma)\omega^2}{9\eta}$$

Die Höhe der Schicht reinen Lösungsmittels ist demnach

$$r_t - r_0 = r_0(e^{Kt} - 1).$$

Zu 2: Die Verdünnung der Lösung im Raum unterhalb der Grenze beträgt, analog Gleichung [1c], aber für ein zylindrisches Gefäß,

$$[8] \quad c_t = c_0 e^{-Kt} \quad (32)$$

Die mittlere Konzentration im Gesamtvolumen der Zelle nach der Zentrifugierzeit t ist demnach, wenn h die Länge der Zelle ist:

$$[9] \quad \frac{c_t}{c_0} = \frac{e^{-Kt} \cdot q \cdot [h - (r_t - r_0)]}{q \cdot h} = \frac{e^{-Kt} (h + r_0) - r_0}{h},$$

woraus sich der Teilchenradius oder die Sedimentationskonstante berechnen läßt.

Elford hat zur Kontrolle der Methode unter anderem den Radius von Helix-Hämocyaninmolekülen nach seiner Methode sowie nach der Methode von Bechhold u. Schlesinger bestimmt. Unter Zugrundelegung des Wertes für die Dichte: $\sigma_T = 1,36$ (Reziprokwert des von Svedberg u. Chirnoaga (9) bestimmten spezifischen Volumens) findet er nach seiner Methode für den Durchmesser 22 μ , nach Bechhold u. Schlesingers Methode 20 μ , während Svedberg u. Chirnoaga 24 μ angeben. Die Übereinstimmung kann als befriedigend bezeichnet werden. Sie war um so besser, je kürzer die Säule reinen Lösungsmittels nach Beendigung der Zentrifugierung war; das war zu erwarten, denn je näher die Grenze dem offenen Ende der Zelle kommt, desto stärker müssen sich auch geringe Störungen auswirken. Die untere Grenze der Teilchendurchmesser, die sich mit der zur Verfügung stehenden Umdrehungszahl noch bestimmen ließen, war bei gut analysierbaren Stoffen etwa 8 μ ; ist man zur Bestimmung der Substanz auf Tierversuche angewiesen, so rückt die Grenze erheblich höher; sie ist für Virus etwa 40 μ . Die Umdrehungszahl wurde bei diesen Versuchen stroboskopisch gemessen.

Eine sehr einfache Anordnung beschreibt Schlesinger (35). Ihr Prinzip ist: Ausbreitung des zu untersuchenden Systems als dünner Film auf der Oberfläche eines um seine vertikal gestellte Achse rotierenden Hohlzylinders (z. B. der Sharples-Superzentrifuge) und Unterteilung dieses Films in eine flüssige und eine gelförmige Schicht.

Man erhält so nach beendeter Zentrifugierung eine saubere Trennung von überstehender Lösung und Sediment und kann aus der Konzentrationsabnahme der ersteren nach Gleichung [1bb] die Sedimentationsgeschwindigkeit berechnen. Hat sich ein Sedimentationsgleichgewicht ausgebildet, so kann man aus der Konzentration der flüssigen Schicht C_3 und der mittleren Konzentration des ganzen Systems C_w , vorausgesetzt, daß die Dicke des Films sehr klein gegenüber dem Radius des Zylinders ist, nach Gleichung

$$[6\beta] \quad \frac{M(1 - V\sigma)\omega^2 r}{RT} = \frac{1}{x_1} \ln \frac{(x_1 + x_2)C_w}{x_1 C_3}$$

x_1, x_2 : Dicken der flüssigen bzw. der Gel-Schicht.

mit genügender Annäherung das Molekulargewicht berechnen.

Molekulargewichtsbestimmungen unter Verwendung des Luftkreisels.

Während bei Benutzung von Handelszentrifugen die erzielten Zentrifugalfelder bei weitem unter den von *Svedberg* erreichten bleiben und demnach nur verhältnismäßig große Teilchen der Messung zugänglich sind, kann man mit dem Luftkreisel von *Henriot* u. *Huquenard* (36) die höchsten bisher erhaltenen Umlaufzahlen erreichen.

Läßt man Druckluft durch schräge Bohrungen *t* (Abb. 4) in einen nach oben geöffneten Hohlkegel A strömen, so bildet sich ein Luftwirbel; setzt man einen Vollkegel B darauf, so wird er angesaugt und in einer Entfernung von weniger als 1 mm von der Wand des Hohlkegels in Schwebe gehalten, während er zugleich in schnelle Umdrehung gerät. Da der Kreisel keinerlei Reibung auf festen oder flüssigen Oberflächen ausübt, sondern frei auf einem Luftkissen rotiert, kann man mit geringen Energien außerordentlich hohe Geschwindigkeiten erzielen, und mit kleinen Rotoren wurden Zentrifugalfelder von 2,4 Millionen der Erdbeschleunigung erreicht.

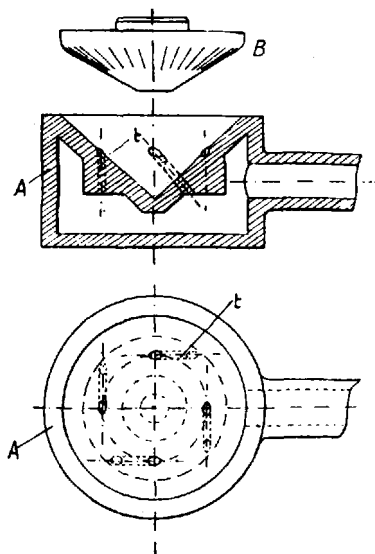


Abb. 4. Luftkreisel nach *Henriot* u. *Huquenard*.

A Stator, B Rotor.

Aus C. R. hebdom. Séances Acad. Sci. **190**, 1390 [1925].

Von verschiedenen Seiten ist versucht worden, dieses Instrument der Molekulargewichtsbestimmung dienstbar zu machen. *Mc Intosh* (37) legte in radiale Aussparungen des Rotors enge Reagenströhrchen mit der Lösung ein und analysierte nach Abstellen der Zentrifuge ein definiertes Volumen der überstehenden Lösung. Er erhielt empirisch mit Systemen von Bakteriengröße bis herunter zum Oxyhämoglobin Gültigkeit einer Gleichung von der Form

$$\rho \approx \sqrt{\log \frac{c_0}{c_t}}.$$

Mehrere Möglichkeiten hat *Mc Bain* verfolgt.

Er berichtet mit *Stüwer* (38) und *Alvarez-Tostado* (40) über Anwendungsmöglichkeiten eines einfachen ausgehöhlten Luftkreisels, beschreibt Versuche an Gelen, insbes. über ihren Quellungsdruck (38) und zeigt, daß es möglich ist, bei Sedimentation innerhalb eines Gels ein ungestörtes Sedimentationsgleichgewicht zu erhalten. Mit dieser Anordnung wurde das Molekulargewicht des Rohrzuckers mit nur 10% Fehler bestimmt (40).

Eine kompliziertere Anordnung zur Ausschaltung von Konvektionen und Ermöglichung der Probenentnahme nach Abstellen der Zentrifuge beschreibt er mit *Alvarez-Tostado* (40): In die Aussparung eines zweiteiligen Luftkreisels (Abb. 5) wird ein Paket ringförmiger Scheiben eingelegt; ihre äußeren Durchmesser sind gleich, ihre inneren aber abwechselnd weit und eng, so daß ringförmige Zwischenräume entstehen (0,07 mm dick), in denen ein Teil der Lösung immobilisiert wird. Durch Vergleich der Anfangs- und Endkonzentrationen der über-

stehenden Lösung, z. B. mit Hilfe des Eintauchrefraktometers, kann man das Sedimentationsgleichgewicht auswerten. Die Berechnung ist hier komplizierter als bei der Anordnung von *Schlesinger*, da das Zentrifugalfeld sehr inhomogen und das

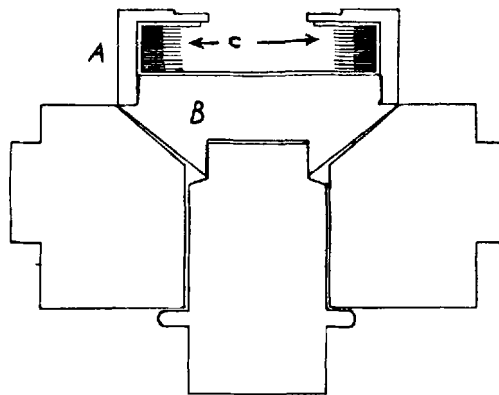


Abb. 5. Luftkreisel mit Scheibensatz nach *McBain* u. *Alvarez-Tostado*. (Der Rotor ist in einen Halter eingeschraubt. A Oberteil, B Unterteil des Rotors, C Scheibensatz.)

Aus J. Amer. chem. Soc. **59**, 2492 [1937].

Volumen außerhalb und innerhalb der Ringe verschieden ist. *Mc Bain* gibt folgende Gleichung:

$$[6\gamma] \quad e^{MK(r_2^2 - r_1^2)} - \frac{c_0}{c_t} MK (r_2^2 - r_1^2) - 1 = 0$$

(wo r_2 bzw. r_1 die Innendurchmesser der weiten bzw. engen Ringe bedeuten)

$$K = \frac{(1 - V\sigma) \omega^2}{2RT}$$

Die Auswertung nach *M* geschieht graphisch oder näherungsweise durch Reihenentwicklung. Mit dieser Methode wurde bei 108 000 U/min und 1,2 cm mittlerem Radius, das entspricht einer Zentrifugalbeschleunigung = 190 000 $\cdot g$, das Molekulargewicht von Rohrzucker auf 3% genau bestimmt.

McBain u. *O'Sullivan* (39) berichten über die Konstruktion einer Luftkreisel-Ultrazentrifuge für optische Auswertung.

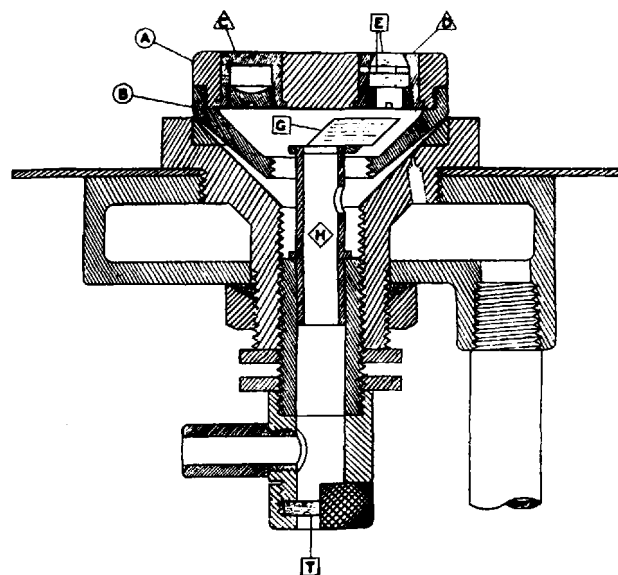


Abb. 6. Luftkreisel-Ultrazentrifuge nach *McBain* u. *O'Sullivan*. (Zeichenerklärung im Text.)

Aus J. Amer. chem. Soc. **57**, 2635 [1935].

Die Kreisel bestehen hier aus zwei Hälften A und B (Abb. 6), deren untere konische B so weit ausgehöhlt ist, daß ein „Sehrohr“ H eingeführt werden kann; dieses trägt ein Prisma G, das den in der Rotationsachse durch das Fenster T einfallenden Lichtstrahl

parallel zu sich selbst um 9,5 mm versetzt, so daß die in dieser Entfernung von der Achse angebrachte Zelle durchleuchtet wird. Der obere Teil des Rotors A enthält die Zellen CD entweder als Aussparungen in einem den hohlen Rotor ausfüllenden und von zwei kreisrunden Quarzscheiben bedeckten Ebonitblock, oder wie in Abb. 6 als besondere Küvetten nach dem Muster von Svedberg, die in Bohrungen des massiven Oberteils eingesetzt werden. Die letztere Form hält viel höhere Zentrifugalkräfte aus, da die Bergkristallfenster E hier viel kleiner sind als bei der ersten Anordnung. Die Sedimentationshöhe beträgt nur wenige Millimeter.

Die mechanischen Störungen in der Kreiselbewegung: Präzession, vertikale Stampfbewegungen und seitliches Stoßen, wurden nach mühevollen Versuchen so weit beseitigt, daß die Kreiselachse auch bei langer Zentrifugierung praktisch unbewegt war.

Die Temperaturstörungen sind bei einem Luftkreisel besonders zu fürchten. Zwischen Kreiselinnerem (Thermoelement am Sechrohr) und Kreiseloberfläche wurden Temperaturunterschiede von mehreren Graden gemessen. Durch Anordnung eines wärmeisolierenden Mantels um die Zentrifuge und Vorwärmung der Treibluft durch einen Thermostaten konnte erreicht werden, daß diese Differenz auf weniger als $0,1^\circ$ absank. Trotzdem scheint es noch nicht gelungen zu sein, Konvektionen mit Sicherheit auszuschalten. Die Verfasser halten weitere Arbeit für notwendig.

In längerer Entwicklungsarbeit haben Beams u. Mitarb. (41) den Luftkreisel zu einer Ultrazentrifuge auszubilden versucht. Auch sie begegnen vor allem der Schwierigkeit, Temperaturkonvektionen zu unterdrücken. Beams u. Pickels (41, 42, 43) haben daraufhin Zentrifugen konstruiert, bei denen der Luftkreisel nur als Antrieb dient, während der eigentliche Zentrifugenrotor, mit dem Luftkreisel durch eine elastische Achse gekuppelt, in einer Vakuumkammer läuft. Wir beschreiben im folgenden die Ausführung, die Biscoe, Pickels u. Wyckoff (45) angeben.

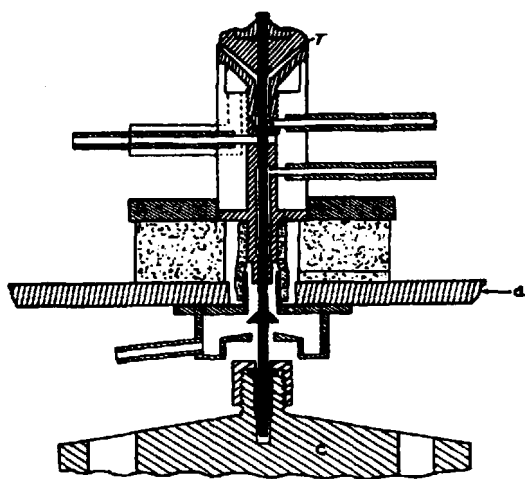


Abb. 7. Antriebsvorrichtung der Ultrazentrifuge nach Biscoe, Pickels u. Wyckoff. (Zeichenerklärung im Text.)
Aus J. exp. Medicine 64, 41 [1936].

Der Apparat besteht aus der Antriebsvorrichtung, dem Rotor und der Vakuumkammer. Die Antriebsvorrichtung ist eine Luftturbine T (Abb. 7), die von einem vertikalen Luftstrom getragen und von einem tangentialen in Umdrehung versetzt wird. Antriebs- und Tragluft sind also getrennt, können auf verschiedenen Druck eingestellt werden, und beim Abstellen kann der Tragdruck aufrechterhalten werden, wenn der Treibdruck aufgehoben und durch andere Düsen ein bremsender Luftstrom zur Wirkung gebracht wird. Die Achse der Turbine ist ein Klaviersaitendraht, der durch ein Druckkollager vakuumdicht in die Kammer eingeführt ist. An ihm hängt der Rotor c, ein Duraluminiumblock von der Form eines Doppelkegels, Dmr. 17,7 cm; er trägt im Abstand von 6,5 cm von der Achse zwei Bohrungen zur Aufnahme Svedbergscher Zellen. Die Vakuumkammer besteht aus einer Stahltrommel mit Boden- und Deckplatte. Auf der Deckplatte (d in Abb. 7) ist die Antriebsvorrichtung elastisch befestigt. Boden- und Deckplatte tragen Fenster aus Quarzglas. Die optische Ausrüstung ist

der bei den Svedbergschen Ultrazentrifugen verwendeten nachgebildet; es kann sowohl die Absorptionsmethode als auch die Skalenmethode benutzt werden.

Mit dieser Zentrifuge lassen sich leicht sehr hohe Umdrehungsgeschwindigkeiten erzielen. Mit einem massiven Rotor von 9 cm Dmr. wurde die Umdrehungszahl so weit gesteigert, daß an der Peripherie des Rotors ein Zentrifugalfeld von 1,4 Mill. g herrschte, wobei der Rotor explodierte. Die Höchstgeschwindigkeit der beschriebenen Zentrifuge ist also nur durch die Zerreißfestigkeit des Rotormaterials begrenzt. Versuche mit Leichtmetallrotoren (44), die mit Bohrungen und Blindzellen vom Gewicht der Versuchszellen versehen waren, zeigten, daß ein Rotor aus Duraluminium gefahrlos längere Zeit bei 48000 U/min, kürzere Zeit auch bis zu 50000 U/min beansprucht werden kann. Im Zentrum der Zelle herrschen dabei Zentrifugalfelder von 170000 bzw. 185000 g. Mit einer anderen Legierung kann man 54000 U/min, entsprechend 210000 g, erreichen. Die Temperatur steigt im Rotor auch bei längerem Laufen auf Höchstgeschwindigkeit nur um höchstens 2° . — Diese Zentrifuge hat sich bisher für Virusuntersuchungen gut bewährt.

Statt des beschriebenen Rotors kann ohne weiteres ein Rotor für größere Flüssigkeitsmengen angebracht werden, so daß man die hohe Zentrifugalbeschleunigung für präparative Zwecke ausnützen kann (46, 52)¹⁰⁾.

Beams u. Snoddy (50) beschreiben neuerdings eine ähnlich gebaute Ultrazentrifuge mit elektrischem Antrieb: An die Stelle der Luftturbine tritt der Rotor eines Wechselstrommotors, dessen Umdrehungszahl gleich der Frequenz des Stromes ist. Die erreichbare Höchstgeschwindigkeit ist hier kleiner als bei Turbinenantrieb; dafür ist die Umlaufgeschwindigkeit sehr gleichmäßig. Beams u. Link (45) beschreiben eine Anordnung, bei der sich die Luftturbine unterhalb des Rotors befindet. Hoxton u. Beams (51) schlagen Dampftrieb vor. Beams u. Haynes (47) beschreiben eine nach demselben Prinzip gebaute Zentrifuge zur Trennung von Dämpfen und Gasen verschiedener Dichten.

Ein Überblick über die zurzeit bekannten Methoden zur Bestimmung von Molekulargewichten und Teilchengrößen durch Zentrifugieren zeigt, daß sie sehr verschieden zu bewerten sind. Den höchsten Ansprüchen genügt die Methode Svedbergs. Sie umfaßt Molekulargewichte von rund 50 (anorganische Salze) bis zu 20 Millionen (Virusproteine), also einen Bereich von 5 Zehnerpotenzen. Ihre Genauigkeit ist von der Teilchengröße nahezu unabhängig und sehr hoch. Die Ultrazentrifugen nach Beams u. Pickels haben zurzeit noch einen geringeren Bereich, stehen aber wohl noch am Anfang ihrer Entwicklung. Die Ultrazentrifuge für optische Messungen von McBain ist, selbst wenn es gelänge, die Störungsquellen völlig zu beseitigen, wegen ihres kleinen Durchmessers weniger genau und wegen ihrer geringen Sedimentationshöhe für die Analyse polydisperser Systeme ungeeignet.

Alle diese Methoden erfordern hohe Kosten und verhältnismäßig umständliche Anlagen, wobei auch hier die Svedbergschen Ultrazentrifugen weitaus an der Spitze stehen. Begnügt man sich aber mit geringerer Genauigkeit, so lassen sich auch mit einfachen und billigen Ausrüstungen Teilchengrößen recht gut bestimmen.

¹⁰⁾ Anwendung der Ultrazentrifuge nach Biscoe, Pickels u. Wyckoff: Biscoe, Herik u. Wyckoff, Science, New York, 83, 602 [1936]; Wyckoff, ebenda 84, 292 [1936]; Naturwiss. 25, 481 [1937]; J. biol. Chemistry 121, 219 [1937]; Proc. Soc. exp. Biol. Med. 36, 771 [1937]; Wyckoff u. Corey, Science, New York, 84, 513 [1936]; Stanley, J. biol. Chemistry 117, 325, 755 [1937]; 121, 205 [1937]; Amer. J. Bot. 24, 59 [1937]; Stanley u. Wyckoff, Science, New York, 85, 181 [1937]; Wyckoff, Biscoe, Stanley, J. biol. Chemistry 117, 57 [1937]; Loring u. Stanley, ebenda 117, 733 [1937]; Loring u. Wyckoff, ebenda 121, 225 [1937]; Beard u. Wyckoff, Science, New York, 85, 201 [1937]; Beard, Finkelstein, Sealy u. Wyckoff, ebenda 87, 89 [1938]; Price u. Wyckoff, Nature 141, 685 [1938]; Stern u. Wyckoff, Science, New York, 87, 18 [1938].

Schrifttum.

- (1) H. Geßner: Die Schlämmanalyse. Leipzig 1931. — (2) J. Perrin, C. R. hebd. Séances Acad. Sci. **147**, 530 [1908]. Die Atome, Leipzig 1923. — (3) T. Svedberg u. H. Rinde, J. Amer. chem. Soc. **46**, 2677 [1924]. — (4) T. Svedberg, Kolloid-Z. **36**, (Ergänzungsband), 53 [1925]. — (5) T. Svedberg, Z. physik. Chem. **121**, 65 [1926]. — (6) T. Svedberg, ebenda **127**, 51 [1927]. — (7) T. Svedberg, Kolloid-Beih. **26**, 230 [1927]. — (8) T. Svedberg, Abderh. Hdb. d. biol. Arbeitsmethoden, Teil III B, 1929, S. 679. — (9) T. Svedberg u. E. Chirnoaga, J. Amer. chem. Soc. **50**, 1399 [1928]. — (10) T. Svedberg u. B. Sjögren, ebenda **51**, 3594 [1929]. — (11) T. Svedberg, Kolloid-Z. **67**, 1 [1934]. — (12) T. Svedberg, Naturwiss. **22**, 225 [1934]. — (13) T. Svedberg, G. Boestad u. I. B. Eriksson, Nature **123**, 870 [1934]. — (14) T. Svedberg, Ber. dtsch. chem. Ges. **67**, 117 [1934]. — (15) T. Svedberg, Nature **139**, 1091 [1937]. — (16) A. Tiselius, Z. physik. Chem. **124**, 449 [1926]. — (17) A. Tiselius, Kolloid-Z. **59**, 306 [1932]. — (18) A. Tiselius u. D. Groß, Kolloid-Z. **66**, 11 [1933]. — (19) A. Tiselius, K. O. Pedersen u. I. B. Eriksson-Quensel, Nature **139**, 546 [1937]. — (20) A. Tiselius, K. O. Pedersen u. T. Svedberg, ebenda **140**, 848 [1937]. — (21) O. Lamm, Z. physik. Chem. Abt. A. **138**, 313 [1928]. — (22) O. Lamm, ebenda **143**, 177 [1929]. — (23) O. Lamm, Nature **132**, 820 [1933]. — (24) O. Lamm, Nova Acta Reg. Soc. Sci. Upsaliensis IV, Vol. 10, 6 [1937]. — (25) O. Lamm u. A. Polson, Biochemical J. **30**, 528 [1936]. — (26) K. O. Pedersen, Z. physik. Chem. Abt. A. **170**, 41 [1934]. — (27) C. Drucker, ebenda **180**, 359, 378 [1937]. — (28) P. v. Mutzenbecher, Biochem. Z. **266**, 226 [1933]. — (29) A. S. McFarlane, Biochemical J. **29**, 407 [1935]. — (30) J. St. Philpot, Nature **141**, 283 [1938]. — (31) R. Signer u. W. Groß, Helv. chim. Acta **17**, 726 [1934]. — (32) H. Bechhold u. M. Schlesinger, Biochem. Z. **236**, 392 [1931]. — (33) M. Schlesinger, Kolloid-Z. **67**, 135 [1934]. — (34) W. J. Elford, Brit. J. exp. Pathol. **17**, 399 [1936]. — (35) W. J. Elford u. Andrewes, ebenda **17**, 422 [1936]. — (36) W. J. Elford u. Galloway, ebenda **18**, 155 [1937]. — (37) Tang, Elford u. Galloway, ebenda **18**, 269 [1937]. — (38) M. Schlesinger, Nature **138**, 549 [1936]. — (39) M. Schlesinger u. I. A. Galloway, J. of Hyg. **37**, 463 [1937]. — (40) E. Henriot u. E. Huguenard, C. R. hebd. Séances Acad. Sci. **190**, 1389 [1925]. — (41) J. Physique Radium **8**, 433 [1927]. — (42) J. McIntosh, J. Pathol. Bacteriology **41**, 215 [1935]. — (43) J. McIntosh u. F. R. Selbie, Brit. J. exp. Pathol. **18**, 162 [1937]. — (44) J. W. McBain u. R. F. Stiwer, Kolloid-Z. **74**, 10 [1936]. — (45) J. W. McBain u. C. O'Sullivan, J. Amer. chem. Soc. **57**, 780, 2631 [1935]. — (46) J. W. McBain u. C. Alvarez-Tostado, ebenda **59**, 2489 [1937]. — (47) Nature, **139**, 1066 [1937]. — (48) J. W. Beams u. E. G. Pickels, Rev. sci. Instruments **6**, 299 [1935]. — (49) E. G. Pickels u. J. W. Beams, Science, New York, **81**, 342 [1935]. — (50) E. G. Pickels, Physic. Rev. (2) **47**, 797 [1935]. — (51) J. Biscoe, E. G. Pickels u. R. Wyckoff, Rev. sci. Instruments **7**, 246 [1936]. — (52) J. Biscoe, E. G. Pickels u. R. Wyckoff, J. exp. Medicine **64**, 29 [1936]. — (53) J. H. Bauer u. E. G. Pickels, ebenda **64**, 503 [1936]. — (54) J. W. Beams u. F. B. Haynes, Physic. Rev. (2) **49**, 644 [1936]. — (55) R. W. G. Wyckoff u. J. B. Lagodin, Rev. sci. Instruments **8**, 74 [1937]. — (56) J. W. Beams u. F. W. Link, Physic. Rev. **51**, 689 [1937]. — (57) Bull. Amer. Phys. Soc. **12**, 16 [1937]. — (58) Rev. sci. Instruments **8**, 160 [1937]. — (59) J. W. Beams u. L. B. Snoddy, Science, New York, **85**, 185 [1937]. — (60) L. G. Hoxton u. J. W. Beams, Physic. Rev. **51**, 690 [1937]. — (61) R. W. G. Wyckoff, Science, New York, **85**, 390 [1937]. [A. 62.]

Die Bedeutung der Nebenvalenzkräfte für die elastischen Eigenschaften hochmolekularer Stoffe

Von Prof. WERNER KUHN

Institut für Physikalische Chemie
und Elektrochemie der Universität Kiel

Eingeg. 7. September 1938

Inhalt: 1. Konstitutions- oder Gestaltisomerie. — 2. Molekülform bei Fadenmolekülen. — 3. Vorgänge beim Dehnen. — 4. Beziehung zum elastisch-thermischen Verhalten von Kautschuk. — 5. Bedeutung der Nebenvalenzkräfte; Makro- und Mikro-Brownsche Bewegung. — 6. Zusätzliche Effekte.

1. Konstitutions- oder Gestaltisomerie bei organischen Verbindungen.

Es ist bekannt, daß wir auf Grund der Strukturformel einer chemischen Verbindung einen großen Teil der chemischen Eigenschaften, so z. B. das Verhalten gegen Oxydations- und Reduktionsmittel, genau überblicken können. Bereits bei einigen chemischen Eigenschaften, so z. B. bei der Frage nach den Ringschlußmöglichkeiten, zeigt es sich indessen, daß wir zum Verständnis der Eigenschaften nicht nur auf die chemische Strukturformel, sondern außerdem noch auf die Möglichkeit besonderer räumlicher Anordnung der Molekülteile gegeneinander achten müssen. (Beispiel: Ringform und Zickzackform von Hexan.)

Beim Beispiel der Ringform und Zickzackform des Hexans können wir feststellen, daß solche, äußerlich sehr verschiedenen Formen des Moleküls ohne Lösung von Hauptvalenzen auseinander hervorgehen. Die Überführung der Moleküle mit Zickzackform in solche mit Ringform kann ja schon durch Ausnutzung der Drehbarkeit der im Molekül vorhandenen Bindungen vorgenommen werden. Diese Isomerie, bei welcher die verschiedenen Formen ohne Lösung von Hauptvalenzen auseinander hervorgebracht werden können, hat man als Konstitutionsisomerie¹⁾ bezeichnet.

Die Konstitutionsisomerie unterscheidet sich wesentlich von der Strukturisomerie und der Spiegelbildisomerie. Bei den Struktur- und Spiegelbildisomeren müssen wir nämlich Hauptvalenzen auflösen, wenn wir ein Isomeres in ein anderes verwandeln wollen.

Zu den konstitutionsisomeren Verbindungen gehören außer den genannten Formen des Hexans beispielsweise die cis- und die trans-Form des Dichloräthylens. Gegenüber dem Hexan ist das Dichloräthylen dadurch ausgezeichnet, daß die Konstitutionsisomeren (cis- und trans-Form) im Energiegehalt merklich voneinander verschieden sind und daß die beiden

Isomeren sich bei einer Temperatur von z. B. 300° abs. praktisch genommen nicht ineinander umwandeln.

Es gibt also Fälle, bei welchen die Konstitutionsisomeren sich im Energieinhalt voneinander unterscheiden, und andere Fälle (Beispiel des Hexans), bei welchen die Energieunterschiede unmerklich klein sind. Es gibt Fälle, bei welchen die Konstellation sich leicht und rasch, und andere Fälle, bei welchen sie sich schwer oder praktisch gar nicht ändert.

Bei den nachstehend zu betrachtenden elastischen Eigenschaften hochpolymerer Verbindungen, insbesondere bei der Kautschukelastizität, werden wir fast ausschließlich die im freien Molekül rasch und leicht sich einstellenden Konstellungsunterschiede zu betrachten haben. Es handelt sich, ähnlich wie im vorstehenden Beispiel des Hexans, um die Unterschiede, welche von der Winkelung und der freien Drehbarkeit der C—C-Einfachbindungen herrühren. Die kautschukelastischen Stoffe erhalten also einen Teil ihrer Eigenart durch die Konstitutions- oder Molekülformisomerie, und zwar durch eine Molekülformisomerie, welche an den freien Molekülen dauernd zu raschen Änderungen der Molekülform führt.

Außer durch die Eigenschaften der freien (im Gasraum oder in verdünnter Lösung suspendierten) Moleküle werden indessen die Eigenschaften der kautschukelastischen Stoffe im kompakten (lösungsmittelfreien) Zustande auch wesentlich durch die Nebenvalenzkräfte beeinflusst, welche in der lösungsmittelfreien Substanz zwischen Teilen eines hervorgehobenen Moleküls sowie zwischen dem hervorgehobenen Molekül und seinen Nachbarn wirken. Erst durch das Zusammentreffen bestimmter Eigenschaften des isolierten Moleküls mit geeigneten zwischenmolekularen Kräften kommen die elastischen Eigenschaften des Kautschuks und anderer hochpolymerer Substanzen zustande. Mit der besonderen Bedeutung dieser zwischenmolekularen Kräfte für die elastischen Eigenschaften werden wir uns im nachstehenden ganz besonders befassen.

¹⁾ F. Ebel in Freudenberg's Stereochemie 1932, S. 535, 825.