

Lösungsmittel zunimmt und daß erwartungsgemäß im großen und ganzen eine gewisse Parallelität zwischen der Größe der Solvation und dem Dipolmoment des Lösungsmittels festzustellen ist.

5. Zusammenfassende Angaben über den Lösungszustand

Auf Grund der Ergebnisse der Dialyse- und Diffusionsversuche kann über den molekularen Verteilungszustand organischer Nichtelektrolyte in polaren Lösungsmitteln wie Wasser, Methanol, Äthanol, Dioxan bei Beschränkung auf verdünnte Lösungen ($c < 0,1$ molar) generell gesagt werden: Weder unpolare noch polare gelöste Substanzen zeigen eine Eigenassoziation. Ferner finden keine Solvataionen statt, und es bilden sich auch keine Mischassoziate, wenn es sich bei dem gelösten Stoff um dipolfreie Moleküle handelt. Dipolsubstanzen sind dagegen in Wasser

und in wasserfreien polaren Lösungsmitteln solvatisiert, während sie in wasserhaltigen polaren Solventien zugleich Mischassoziate mit den Wassermolekülen und Solvate bzw. Molekellaggregat aus allen drei Komponenten bilden können. Die bei polaren Substanzen in verdünnter Lösung auftretende Solvation nimmt mit steigender Konzentration ab, während bei den dipolfreien gelösten Stoffen keinerlei Konzentrations-Einfluß festzustellen ist.

Demgegenüber existieren in unpolaren Solventien wie Cyclohexan oder Benzol Assoziate, Eigenassoziate, wie auch gegebenenfalls Mischassoziate, wenn der gelöste Stoff ein Dipolmoment hat. Die Eigenassoziation nimmt in unpolaren Lösungsmitteln mit wachsender Verdünnung ab, bis bei einer bestimmten Grenzkonzentration die vollständige Entassoziation erreicht ist. Unterhalb der Grenzkonzentration tritt dann möglicherweise Solvation ein.

Eingeg. am 7. März 1950

[A 293]

Kritische Betrachtungen zur Dielektrometrie von Flüssigkeiten

Von Dr. H. H. RUST, Hamburg, Institut für Angewandte Physik der Universität Hamburg

Bei der Präzisions-Dielektrometrie mehrphasiger, flüssiger Systeme ist es wichtig, die mehr oder weniger, gelöst oder adsorbiert, auftretende Gasphase zu beachten, da sie das Meßergebnis verfälschen kann. Messungen der Dielektrizitätskonstanten von reinem CCl_4 vor und nach Entgasung mittels Ultraschall ergaben, daß nach der Gas-austreibung die Dielektrizitätskonstante um $2,27 \cdot 10^{-3}$ größer geworden war. Bei Anwendung der Ultraschall-Entgasung können möglicherweise chemische Umwandlungen eintreten.

Die Dielektrometrie dient durch Präzisionsmessung der Dielektrizitätskonstanten eines mehrphasigen Systems zur Bestimmung der Phasenanteile. Dieses Verfahren, für dessen Durchführung heute außerordentlich genaue Meßmethoden zur Verfügung stehen, setzt einen gewissen Mindestunterschied der Dielektrizitätskonstanten der einzelnen Phasen voraus. Es bietet ganz besondere Vorteile, wenn der Unterschied große Werte annimmt, wie z. B. bei momentlosen und dissozierten Phasen im Extremfall. Dies trifft z. B. bei den Phasen Kohlenwasserstoffe und Wasser zu, falls vom den Carbonsäuren abgesehen wird. Im allgem. liegt das Verhältnis der Dielektrizitätskonstanten dabei um 15, so daß bereits Spuren von einer Phase dielektrometrisch nachweisbar werden und auch quantitativ zu erfassen sind. Dieser Spurennachweis interessiert bes. die Mineralölindustrie, da für viele Verwendungszwecke von Mineralölen, vor allem in der Elektrotechnik für Isolierzwecke, der Wassergehalt von großer Bedeutung ist und in engen Grenzen zu bleiben hat. Es handelt sich hierbei um Bestimmungen von Wassergehalten, die unter 10^{-3} Wassermolenbruch liegen. Die Dielektrizitätskonstante von Mineralölen liegt bei 2,5, die von Wasser bei 80; damit besteht ein erheblicher Unterschied zwischen beiden und es sind somit beträchtliche Meßgenauigkeiten zu erzielen.

Bei derartigen Feinbestimmungen von geringfügigen Unterschieden in der Dielektrizitätskonstante, z. B. bei reinem und Spuren von Wasser enthaltendem Mineralöl, könnten sich Änderungen der Dielektrizitätskonstante ergeben, die durch in der Flüssigkeit gelöste oder adsorbierte Gase verursacht sind. Es wäre also denkbar, daß ein Spuren von Wasser enthaltendes Öl gleichzeitig gelöste und adsorbierte Gase aufweist und dadurch eine Dielektrizitätskonstante gemessen wird, die der des reinen Öls entspricht.

Um die Größe der Abweichung der Dielektrizitätskonstante zwischen gasfreier und gashaltiger Flüssigkeit zu ermitteln, wurde eine Messung mit chemisch reinem Tetrachlorkohlenstoff durchgeführt. Das benutzte Dielektrometer ist eine Präzisionsapparatur, die unter Berücksichtigung der neuesten Erkenntnisse auf dem Gebiet der Hochfrequenztechnik entwickelt wurde¹⁾. Es können mit ihr Kapazitäts-Unterschiede von 10^{-15} Farad bestimmt werden.

Das Gerät weist gegenüber dem früher auf dem Markt befindlichen „Dielkometer“²⁾ erhebliche Vorteile auf. Es wird mit Netzzanschluß an Stelle der lästigen Batteriespeisung betrieben, wobei die Konstanthalting der Betriebsspannungen, die äußerst wichtig für einwandfreies

¹⁾ Dipola-DK-Meßgerät, freundlicherweise von der Fa. H. Schoess, Hamburg, zur Verfügung gestellt.

²⁾ L. Ebert, diese Ztschr. 47, 305 [1934]; R. Heinze, M. Marder, K. H. Döring u. K. Blechstein, Öl u. Kohle 1, 8 [1941].

Arbeiten ist, mittels Zweifach-Kaskadenstabilisierung erfolgt. Die Präzisionsmessung der Kapazität geschieht nicht mehr wie früher mit dem unbequemen Überlagerungsverfahren (Einstellung eines Tonminimums mit Kopfhörer), sondern mit einem Zeigerinstrument, das die Resonanzüberhöhung eines für die zweite Harmonische der Frequenz des Meßkreises bemessenen Steuerquarzes sichtbar macht.

Die Gase werden mittels Ultraschall³⁾ ausgetrieben, der bekanntlich in Flüssigkeiten gelöste und adsorbierte Gase befreit und aggregiert, so daß die entstehenden Blasen durch Auftrieb entweichen können. Infolge der Absorption des Ultraschalls im durchstrahlten Medium - hier Tetrachlorkohlenstoff - entsteht Wärme, die wegen des Temperaturkoeffizienten der Dielektrizitätskonstanten das Meßergebnis fälschen würde. Die Untersuchung wurde deswegen bei konstanter Temperatur, schmelzendem Eis, durchgeführt. Die Versuchsanordnung geht aus Bild 1 hervor.

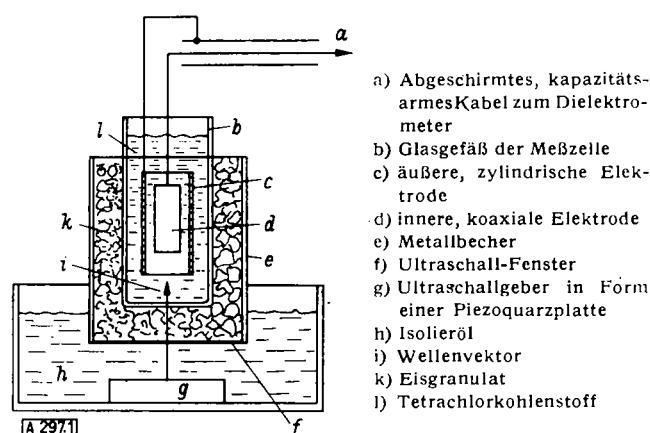


Bild 1
Anordnung zur Entgasung mit Ultraschall von dielektrometrisch zu untersuchenden Flüssigkeiten

Die zwei koaxiale Zylinder als Elektroden enthaltende Meßzelle befindet sich in einem Metallbecher, von Eisgranulat umgeben. Der Becher besitzt eine Bodenplatte in Form einer Aluminiumfolie, die einen hohen Durchlaßgrad für Ultraschall aufweist. Der Boden des Bechers taucht in ein Isolierölbad, in dem der Quarz-Ultraschallgeber⁴⁾ untergebracht ist.

Um das Temperaturgefälle zwischen Eisgefäß und Isolieröl möglichst niedrig zu halten, wurde das Öl durch Einbringen fester

³⁾ L. Bergmann: Der Ultraschall, Stuttgart 1949.

⁴⁾ Betriebsfrequenz 570 kHz, Quarzplatten-Ø 30 mm, abgestrahlte Gesamtleistung 18 Watt, Wechselanodenspannungsbetrieb. Die Ultraschalleistung beträgt in der Meßzelle, roh geschätzt, ca. 5 Watt, da infolge Reflexion am Becherboden und bes. an der Wandung des aus relativ dickem Glas hergestellten Meßzellengefäßes der resultierende Durchlaßgrad klein ist.

Kohlensäure entsprechend gekühlt. Der für die Untersuchung verwendete Tetrachlorkohlenstoff hatte etwa 50 Tage ruhig im Regal gestanden und wurde vorsichtig zwecks weitgehender Verhinderung einer Luftaufnahme in ein Vorkühlgefäß gegossen und danach in die Meßzelle gefüllt. Hierauf wurde so lange gewartet, bis sich die Dielektrizitätskonstante nicht mehr änderte, demnach zwischen Zelle und Kühlbecher kein Temperaturgefälle mehr vorhanden war. Danach wurde die Dielektrizitätskonstante ermittelt, 2 min beschalt und sofort wieder gemessen. Die durch Ultraschall-Absorption im Tetrachlorkohlenstoff bewirkte, wenn auch geringfügige Erwärmung rief einen kleinen Gang der Dielektrizitätskonstanten hervor, der ca. 5 min nach der Beschallung beendet war. Der nach dieser Zeit gemessene Wert änderte sich nicht mehr. Mehrfach wiederholte Beschallungen bewirkten keine Änderung der Dielektrizitätskonstanten, ein Zeichen, daß die Dauer der ersten Beschallung für eine weitgehende Entgasung ausreichte. Dieser Befund deckt sich auch mit Entgasungs-Beobachtungen. Im allgem. genügt bereits 1 min Ultraschall-Einwirkung bei mäßiger Intensität, um eine weitreichende Gasaustreibung zu erzielen.

Die Dielektrizitätskonstante des Tetrachlorkohlenstoffs änderte sich durch die Entgasung um $+2,27 \cdot 10^{-3}$, ein bemerkenswerter Betrag, der zeigt, daß dann, wenn die Gasphase unberücksichtigt bleibt, beträchtliche Fehler bei dielektrometrischen Bestimmungen die Folge sein können.

Bei Anwendung von Ultraschall als Entgasungsmittel muß berücksichtigt werden, daß u. U. nicht unbedenklich beliebige Ultraschall-Energien bei mehrphasigen Systemen angewandt werden dürfen. Während es scheint, daß viele reine Kohlenwasserstoffe – vor allem dipolfreie – von Ultraschall beliebiger Intensität überhaupt nicht tangiert werden, tritt bei Wasser oberhalb des

Kavitations-Schwellwertes Abspaltung von Sauerstoff durch Glimmelektrolyse⁵⁾ ein. Die Glimmentladung wird durch die hohen Wandbeladungen, die infolge Abhebelektrizität (Lenard-Effekt) in den Gaskügelchen entstehen, bewirkt. Der Kavitations-Schwellwert liegt bei einer bereits recht hohen Schallintensität. Besonders zu beachten ist, daß bei Anwesenheit von Spuren von Kohlenwasserstoffen in Wasser durch Ultraschall chemische Wirkungen bei Intensitäten, die weit unter dem Kavitations-Schwellwert liegen, zustande kommen können. Wie *Haut, Studt und Rust*⁶⁾ in anderem Zusammenhang festgestellt haben, findet bei Anwesenheit von Spuren von Tetrachlorkohlenstoff sowie von anderen aliphatischen Polyhalogeniden in Wasser schon bei sehr kleinen Ultraschall-Intensitäten Halogenabgabe statt. Wie schon erwähnt, reichen selbst sehr große Intensitäten nicht aus, um reinen Tetrachlorkohlenstoff irgendwie chemisch zu beeinflussen. Der Wirkungsmechanismus könnte im vorbeschriebenen Falle darin begründet sein, daß sich Tetrachlorkohlenstoffmolekel-Aggregate, etwa in Form von Solvaten, in Wasser bilden, von denen einige Eigenfrequenzen besitzen, die mit der Ultraschall-Frequenz übereinstimmen. Es sind dann Wahrscheinlichkeiten dafür, daß in den Aggregaten Moleküle zerbrechen, denkbar.

Es empfiehlt sich daher, bei der Präzisions-Dielektrometric mehrphasiger, flüssiger Systeme zu prüfen, ob durch die gegebenenfalls angewendete Ultraschall-Gasaustreibung eine chemische Umsetzung im System zustande kommt. Bei den aromatischen Polyhalogeniden z. B. wurde eine chemische Veränderung im vorbeschriebenen Sinne nicht beobachtet⁶⁾.

Eingeg. am 15. August 1950

[A 297]

⁵⁾ A. Klemenc u. T. Kantor, Z. phys. Chemie B 27, 359 [1934].

⁶⁾ R. Haut, H. J. Studt u. H. H. Rust, diese Ztschr. 62, 186 [1950].

Über die Trennung von Enzymgemischen durch Elektrophorese in Filtrierpapier

Von Doz. Dr. K. WALLENFELS und Dr. E. v. PECHMANN

Aus dem biochemicalen Laboratorium Tutzing der C. F. Boehringer & Soehne, G. m. b. H., Mannheim-Waldhof

Nach elektrophoretischer Trennung von Extrakt aus Pilzkulturen gelingt es Amylase, Proteinase, Lipase und Phosphatase getrennt nachzuweisen.

Der wäßrige Extrakt aus einer Pilzkultur, wie sie für die Herstellung technischer Enzympräparate nach Art der Takadiastase oder von therapeutisch anwendbaren Fermentpräparaten benutzt wird, stellt ein Gemisch zahlreicher Fermente dar, welches nur mit großen Schwierigkeiten in die einzelnen Komponenten zu trennen ist. Es gelingt weder durch fraktionierte Alkohol- oder Aceton-Fällung noch durch Ammonsulfat-Fraktionierung Präparate zu erhalten, in welchen einzelne Wirkungen fehlen oder auch nur erheblich vermindert bzw. vermehrt sind. Wir führen dieses Verhalten darauf zurück, daß in diesen Extrakten die verschiedenen Fermente nicht frei vorliegen, sondern in einer an gewisse Kolloide der zerfallenen Zellen gebundenen Form. Durch die genannten Fällungsmittel werden die Fermente in einem an die Kolloide adsorbierten Zustand zusammen mit diesen niedergeschlagen.

Unterwirft man nun einen Extrakt aus geeigneten Pilzkulturen der Elektrophorese, so gelingt es, die Gemische in einzelne Komponenten aufzutrennen und Amylase, Proteinase, Lipase und Phosphatase getrennt nachzuweisen. Wir haben zu diesem Zweck die einfache Anordnung der Elektrophorese in Filtrierpapier nach *Th. Wieland* und *E. Fischer*¹⁾ benutzt.

Beschreibung der Versuche

Elektrophorese:

Auf einen Streifen Filtrierpapier Whatman No. 4 von 10 cm Breite und 40 cm Länge werden entlang einem in der Mitte gezogenen Bleistiftstrich 25 mm³ Fermentlösung gleichmäßig aufgetragen derart, daß ein gleich breiter Streifen von etwa 3 mm Breite quer zur Streifenrichtung entsteht. Das Papier wird dann mittels

eines Fixativzerstübers vorsichtig mit Pufferlösung von p_H 6.8 besprüht, so daß es gleichmäßig angefeuchtet ist, ohne daß die aufgebrachte Fermentlösung zerfließt. Man spannt das Papier so dann in eine feuchte Kammer von den Ausmaßen 150×150 mm taucht die herausstehenden Papierenden in je eine Petrischale mit Pufferlösung (Phosphatpuffer, p_H 6.8, m/30) und legt durch Eintauchen zweier mit einem Diaphragma verschlossenen Rohre, in welchem sich Pufferlösung und Kohleelektroden befinden, eine Gleichspannung von ca. 120 Volt an. Unter diesen Verhältnissen beträgt der Stromdurchgang etwa 3 mA. Nach 12 h wird das Papier aus der Kammer genommen, und die nassen Enden werden mit Filtrierpapier abgetrocknet.

Nachweis der Fermente auf dem Papier:

Das vorsichtig abgetrocknete Papier wird in der Längsrichtung in Streifen von 2 cm Breite zerschnitten. Nach der Markierung der Polrichtung wird je 1 Streifen für den Nachweis eines Fermentes benutzt.

Nachweis der Proteinase: Ein Filmstreifen von 150 mm Länge (unentwickelter Kinofilm) wird mit einer Phosphatpufferlösung von p_H 6.8 befeuchtet, so daß die Gelatineschicht aufquillt. Dann wird einer der Filtrierpapierstreifen auf die Gelatineschicht aufgelegt und ebenfalls mit m/15 Phosphatpuffer durch Besprühen befeuchtet. Der Film mit dem Filtrierpapier wird nun in die Elektrophoresekammer eingespannt und diese in einen Brutschrank von 30° gelegt. Gegebenenfalls muß man nach kurzer Zeit das Filtrierpapier nochmals mit Pufferlösung anfeuchten. Je nach der Aktivität des Fermentes beobachtet man nach 20–60 min, daß das Papier an einer Stelle eine größere Feuchtigkeit aufweist, weil hier die Gelatineschicht des Films

¹⁾ Naturwiss. 35, 29 [1948].