

Amplituden vertreten, während den hohen Komponenten nur eine kleine Bedeutung zukommt (im Gegensatz zu modernen Instrumenten mit ihrem Reichtum an hochfrequenten Teiltönen). Es ist daher leicht zu verstehen, daß die Absorption hoher Frequenzen die Gestalt des Klangspektrums eines neuen Instrumentes und damit die Klangfarbe und die Tonfülle stark verändern kann, hingegen Klangfarbe und Fülle einer alten Geige weniger berührt.

Punkt b scheint ein Widerspruch zu sein: denn gerade auf die tiefer gelegenen Grundtöne sollte der Einfluß der Raumabsorption geringer sein als auf die höheren harmonischen Komponenten. Eine Erklärung läßt sich in der physiologischen Residuentheorie finden, die hier vorerst zusammenfassend angedeutet werden soll.

Residuentheorie. Diese Theorie von J. F. SCHOUTEN¹ entstand in dem Bestreben, verschiedene Beobachtungen aus der physiologischen Akustik zu erklären. Sie kommt zu folgenden Schlüssen: Der klassische Standpunkt, daß das Ohr von den empfangenen Klängen eine harmonische Analyse (Fourier-Analyse) durchführe, also durch Zerlegung in Teiltöne Klangfarben empfinde, ist nur teilweise richtig. Bei mittleren Frequenzen genügt das Auflösungsvermögen des Ohres nicht, um diese Zerlegung weiter als bis etwa zum achten Partialton zu treiben. Die Anzahl getrennt empfundener Partialtöne hängt ab einerseits von der Höhe des Grundtones, andererseits aber auch sehr stark von individuellen Veranlagungen und von der Übung. Auf jeden Fall bleibt oberhalb der Grenze der Auflösungsmöglichkeit noch eine Gruppe Teiltöne hoher Frequenz (im Falle der gestrichenen Saite sind diese harmonisch), die als ein Ganzes gehört werden und den Eindruck des Grundtones verleihen. Wenn in einem an höheren harmonischen Komponenten reichen Klang der Grundton objektiv unterdrückt wird (durch Kompensation mit einem gegenphasigen Sinuston), bleibt trotzdem die Grundtonempfindung erhalten. Letztere verschwindet erst dann, wenn weiterhin die hohen Teiltöne des Klangspektrums abgeschnitten werden. Wie SCHOUTEN beweist, beruht dieses Phänomen nicht darauf, daß durch die nichtlinearen Verzerrungen des Übertragungsmechanismus vom Trommelfell auf das Innenohr Differenztöne gebildet werden. Die Gruppe hochfrequenter nicht separierbarer Teiltöne wird von SCHOUTEN das «Residuum» genannt. Wir verweisen für Einzelheiten und Beweise dieser Theorie auf die Originalmitteilung¹.

Kehren wir nun zum Gegenstand unserer Notiz zurück. Es ergab sich, daß neue Geigen eine deutlichere Abschwächung der Grundtöne durch die Schallabsorption erfahren als antike Instrumente. Dies kann man an Hand der Residuentheorie folgendermaßen erklären. Da die Absorption sich vor allem auf die hohen Frequenzen auswirkt, wird sie das Residuum eines Tones, welches ja hohe Frequenzen umfaßt, stark schwächen oder sogar gänzlich unterdrücken. Dadurch wird der auf dem Residuum beruhende Anteil der Grundtonempfindung wegfallen. Der eigentliche Grundton besitzt im Klangspektrum neuer Geigen eine relativ schwache Amplitude, er bedarf also der Verstärkung durch das Residuum. Bei alten Geigen hingegen sind die Grundtöne selber schon stärker als die Partialtöne, die Unterstützung durch das Residuum ist dort weniger wichtig. Der Klang alter Geigen wird deswegen durch die Schallabsorption weniger beeinflusst, da das betroffene Residuum bei ihnen weniger ausgeprägt ist, umfaßt das Residuum doch gerade die Teiltöne desjenigen Frequenzbereiches, der

durch sein viel schwächeres Auftreten alte Geigen vor den neuen klanglich auszeichnet.

Die geschilderten einfachen Zusammenhänge können durch die in einem geschlossenen Raum sich bildenden stehenden Wellen etwas verwischt werden. Je nach Sitzplatz kann sich eine verschiedene Klangfarbe ergeben, denn Stellen maximaler Amplitude für die einen Komponenten können mit denjenigen minimaler Intensität für andere Komponenten zusammenfallen. Nach einer Formel von Lord RAYLEIGH läßt sich die Anzahl stehender Wellen für den Bereich unterhalb bestimmter Frequenzen ausrechnen. Es ergeben sich für einen mittelgroßen Konzertsaal von 10000 m³ in der Oktave zwischen 3300 und 6600 Hz zehnmal mehr Eigenfrequenzen als im gesamten Bereich unterhalb 3300 Hz. Die Formel gilt allerdings für völlig reflektierende Wände. Bei Absorption werden die Resonanzen weniger zahlreich, aber sie liegen trotzdem bei hohen Frequenzen so dicht, daß sie nicht selektiv auf die einzelnen Teiltöne wirken. Außerdem nehmen die Amplituden der stehenden Wellen bei steigender Frequenz rapid ab. Dies bedeutet, daß die Residuen durch die Bildung stehender Wellen in ihrer spektralen Zusammensetzung wenig beeinflusst werden, ein Umstand, der die Verstärkung einzelner Töne in tiefer Lage durch die Raumresonanzen etwas ausgleicht.

Abschließend muß noch gesagt werden, daß die verschiedenen Effekte, welche in einem Saale guter Akustik für die tiefen und mittleren Frequenzen (Grundtöne!) wirkungsvoll sind (Eigenfrequenzen des Raumes, Mitschwingen des Podiums, des Bodens und der Wände, Diffusion durch die Hörer und die Bestuhlung), nur effektiv vorhandene und nicht die durch das Residuum subjektiv empfundenen Grundtöne verstärken können.

Die Gründe für die Bevorzugung alter Meistergeigen sind sehr zahlreich. In diesem Fragenkomplex wollen die vorliegenden physikalischen Betrachtungen über die Bedeutung des Residuums für die Bildung der Klangfarbe und die Tonfülle nichts weiteres sein als ein bescheidener Hinweis.

Herrn G. PASQUALINI vom Consiglio Nazionale delle Ricerche und von der Accademia di Santa Cecilia in Rom danke ich für die anregenden Diskussionen, aus denen diese Notiz hervorging.

H. BRINER

Physikalisches Institut der Universität Freiburg (Schweiz), den 3. Mai 1950.

Summary

The "Theory of Residue" explains how the absorption of high frequency harmonics changes the tone quality and loudness of old violins less than that of modern ones. Indeed, following this theory, the high frequency harmonic components directly contribute to the sensation of fundamental sound. Therefore in new violins, rich in high partial components, the room absorption makes itself felt not only in these, but also in the fundamental component sensation.

Polarographic Behavior of Vitamin B₁₂ in Potassium Cyanide Supporting Electrolyte

That vitamin B₁₂ undergoes a two-electron reduction with half-wave potential at -1.12 V toward the saturated calomel electrode has already been reported¹. That

¹ J. F. SCHOUTEN, Philips' techn. Rdsch. 5, 204 (1940).

¹ H. DIEHL, R. R. SEALOCK, and JOHN I. MORRISON, Iowa State College J. Sci., 24 433 (1950).

vitamin B_{12} unites with the cyanide ion forming a one to one compound has also been reported¹. In as much as a large excess of cyanide ion is required to convert B_{12} to $B_{12}CN^-$ it appeared advantageous to use a cyanide supporting electrolyte in investigating the polarographic behavior of the B_{12} -cyanide compound.

Experimental Work

Solutions of potassium cyanide were prepared from reagent grade potassium cyanide and also by neutralizing aqueous solutions of the requisite amount of anhydrous, liquid hydrogen cyanide² with potassium hydroxide to p_H 11.

The crystalline B_{12} used was obtained from E. R. SQUIBB and Sons of New Brunswick, N. J.

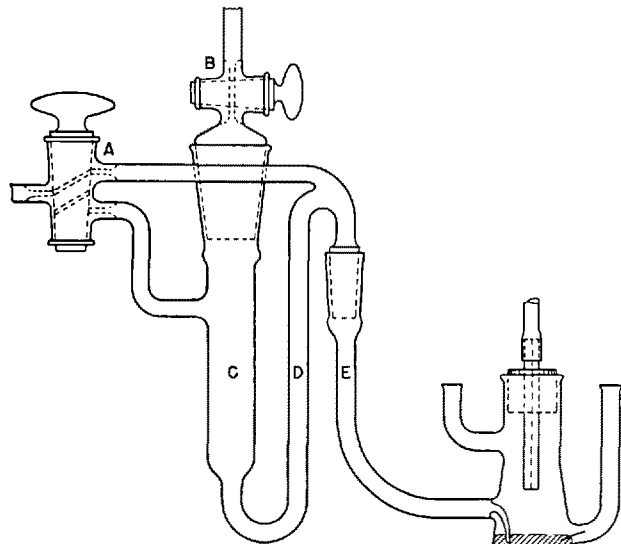


Fig. 1. – Apparatus for deaerating supporting electrolyte out of contact with mercury. Mercury head is sufficient so that nitrogen entering with stopcock *A* in position shown passes through *D*, the solution in *C*, and out at *B*. Later by turning *A* and closing *B* the solution is forced through *D* and *E* into the polarograph cell.

An automatic recording polarograph, Sargent Model XXI, was used. To avoid contact of the cyanide solutions with mercury, the deaeration of the solutions was carried out in a separate vessel, Fig. 1, transferred to the polarograph cell by nitrogen pressure, and the polarogram taken immediately.

The nitrogen was freed of oxygen by passage through a vanadous sulfate-sulfuric acid solution and then passed through a tower of ascarite.

The concentration of B_{12} in the cyanide solutions was determined spectrophotometrically at $368\text{ m}\mu$ (phosphate buffer, p_H 11.0) using the BECKMAN spectrophotometer and employing the value reported earlier³ for the molecular extinction coefficient, 36,500, which assumes the molecular weight of B_{12} to be 1500.

Results: Polarograms of 0.1 and 1.0 M potassium cyanide prepared from reagent grade potassium cyanide showed a wave having a half-wave potential -0.4 V toward the mercury anode. This wave, probably due to ammonium formate produced by the hydrolysis of cyanide, rendered such solutions unsuitable as supporting electrolytes. The polarogram of 0.1 M potassium cyanide, freshly prepared from anhydrous, liquid hydro-

gen cyanide, was horizontal from zero to -1.3 V toward the mercury anode indicating a considerable useful range for such a solution as supporting electrolyte. The mercury pool in contact with this solution was negative to the saturated calomel electrode by 0.56 V .

Polarograms of cyanide solutions alone showed that potassium cyanide solutions are not stable in contact with mercury. Two changes occurred on standing. The initial rise in current preceding the horizontal, residual current portion of the curve increased with time. This increase was appreciable in an hour but had only a minor effect on an individual polarogram which required about 13 minutes for execution. The second change was marked by the appearance of a wave having a half-wave potential -0.45 V toward the saturated calomel electrode. The wave appeared in potassium cyanide solutions which had stood for some days but increased far more rapidly when the solution was brought in contact with mercury. Presumably this wave is due to the formate produced by the hydrolysis of cyanide. The addition of sodium formate to a cyanide solution produced a wave in the same position. In any event the change in the polarogram of sodium cyanide in contact with mercury is so rapid that it was possible to obtain significant results on B_{12} only by using fresh solutions of potassium cyanide and keeping them out of contact with mercury until immediately before taking the polarogram.

The polarogram of B_{12} obtained in a 0.1 M potassium cyanide solution, freshly prepared from liquid hydrogen cyanide and deaerated out of contact with mercury, is shown in Fig. 2. A reduction wave appeared at a half-wave potential of -0.77 V toward the mercury anode or -1.33 V toward the saturated calomel electrode. The plot of E against $\log \left[\frac{i_d - i}{i} \right]$ gave a slope of 0.103 indicating that the reaction is irreversible. Application of the ILKOVIC equation, assuming the value of the diffusion constant to be the same as that found for B_{12} ($4.44 \times 10^{-6}\text{ cm}^2/\text{s}$), gave a value of 2.08 for the number of electrons involved in the reduction.

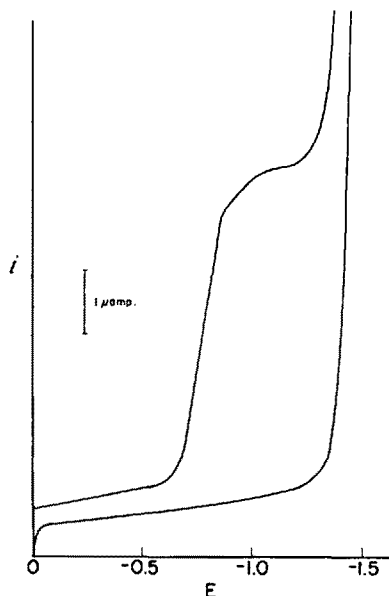


Fig. 2. – Polarogram of vitamin B_{12} in 0.1 M potassium cyanide; $7.62 \times 10^{-4}\text{ M } B_{12}$; $i = 4.65\text{ }\mu\text{A}$; $t = 3.83\text{ s per drop}$; $m = 2.13\text{ mg/s}$; $E_{1/2} = -0.77\text{ V}$; toward the mercury anode.

¹ R. R. SEALOCK and H. DIEHL, *The Cyanide Complex of Vitamin B_{12}* (in press).

² K. ZIEGLER, *Organic Syntheses*, Coll. Vol. I, 2nd edition, p. 314.

³ R. R. SEALOCK and H. DIEHL, *The Cyanide Complex of Vitamin B_{12}* (in press).

As deduced in our earlier papers¹, the valence of cobalt in vitamin B₁₂ is probably three or possibly two with attached molecular oxygen. The two-electron reductions observed in the polarograms of B₁₂ and B₁₂CN⁻ then probably involve the reduction of the cobalt from the trivalent to the univalent stage.

The shift of the half-wave potential of B₁₂ from -1.12 to -1.33 V toward the saturated calomel electrode on formation of the cyanide compound is in the direction expected as the result of more extensive complex formation by the oxidized than by the reduced form of the couple.

Acknowledgement

The authors wish to express their appreciation to E. R. SQUIBB and Sons, of New Brunswick, N. J., for their generous support of this work.

HARVEY DIEHL, JOHN I. MORRISON, and R. R. SEALOCK

Department of Chemistry, Iowa State College, Ames, Iowa, August 28, 1950.

Zusammenfassung

Das Halbwellenpotential der polarographischen Reduktion des B₁₂CN⁻-Anions an der Hg-Tropfelektrode beträgt -1,33 Volt (gemessen gegen eine gesättigte Kalomelektrode); bei der Reduktion sind zwei Elektronen beteiligt. Die als Lösungsmittel verwendete KCN-Lösung muß jeweils frisch bereitet werden. Sie darf insbesondere mit Quecksilber erst bei der Messung in Berührung kommen.

¹ H. DIEHL, R. R. SEALOCK, and JOHN I. MORRISON, Iowa State College J. Sci., July 1950. – R. R. SEALOCK and H. DIEHL, *The Cyanide Complex of Vitamin B₁₂* (in press). – H. DIEHL, R. VANDER HAAR, and R. R. SEALOCK, J. Amer. Chem. Soc. 52, 5312 (1950).

Cytological Analysis of Bacteria in Growing Cultures

A number of observations have been published in recent years on the morphology of chromatinic bodies within the bacterial cell. The whole topic of bacterial cytology has been recently reviewed by BISSET¹. The general conclusion is that several chromatic structures can be observed in the same strain.

We have tried to develop a simple quantitative technique to ascertain whether the different cytological patterns, as described by ROBINOW², are present with different frequencies in the successive growth phases of the bacterial cultures.

The present investigation was made on a strain of *Escherichia coli* of rather large size³. The technique used for the quantitative study of the growth curve, as well as for detecting the structural details, has been the following.

Agar plates were inoculated with suspension of bacteria from a 24 hour culture on agar slant. After plating, Petri dishes were kept at 35°, and every thirty minutes the bacteria were examined by means of the impression

technique, osmic acid fixation, HCl hydrolysis, and Giemsa staining. The increase in the number of cells was controlled by washing the plates with physiological solution, and by counting the living bacteria by dilution and plate insemination.

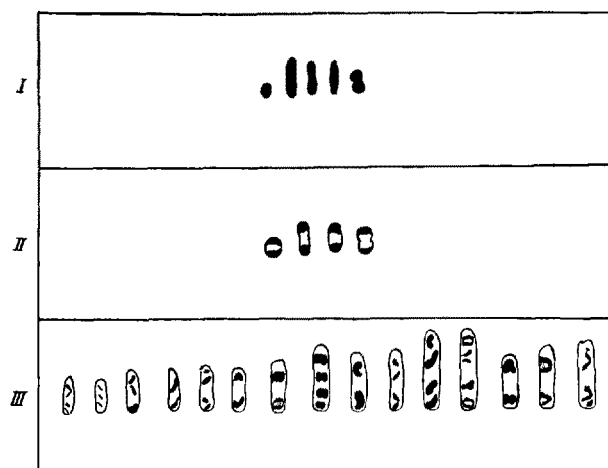


Fig. 1. – Patterns of different bacteria belonging to the three forms described.

The various cell patterns can be grouped in three forms, according to the chromatic microscopical structure:

(1) *Undifferentiated form*. Bacterial cells appear uniformly and rather intensely stained; no nuclear area is differentiated.

(2) *Intermediate form*. Chromatin appears condensed into two small masses at the cell poles. As compared with the first form, the cell volume is slightly larger.

(3) *Differentiated form*. Chromatin appears differentiated into 2 or 4 short, thick rods. The three forms (fig. 1) can be easily distinguished. Counting of their frequencies repeated on the same slide by different observers gave very similar results.

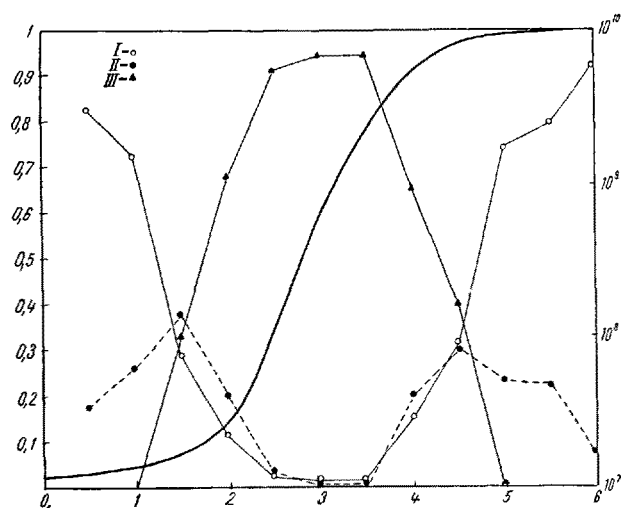


Fig. 2. – Distribution of the different chromatin structures against the time. Abscissa: time in hours. Ordinates: on the left, frequency in decimals of the three forms of cells. On the right, no. of bacteria per cm³ after washing the plate with 5 cm³ of physiological solution: ○ undifferentiated form; • intermediate form; ▲ differentiated form. The sigmoid curve is the growth curve of the culture, from which the samples were taken for the cytological examination.

¹ K. A. BISSET, *The Cytology and Life-history of Bacteria* (E. and S. Livingstone Edinburgh, 1950).

² C. F. ROBINOW, Proc. Roy. Soc. [B] 30, 299 (1942); and addendum in: R. J. DUBOS, *The bacterial cell* (Harvard University Press, 1947), p. 355.

³ Kindly provided by Dr. J. HEDÉN of the Karolinska Institute for Cell Research, Stockholm, to whom we express our gratitude.