

129. Über den Einfluss des hydrostatischen Druckes auf die Sedimentationsgeschwindigkeit in der Ultrazentrifuge

von H. Mosimann und R. Signer.

(24. VI. 44.)

Mit Hilfe der *Svedberg'schen* Ultrazentrifuge kann man die Sedimentationsgeschwindigkeit grosser Moleküle oder kolloider Teilchen in intensiven Zentrifugalfeldern bestimmen¹⁾. Eine Teilchensorte sedimentiert umso schneller, je grösser die auf sie einwirkende Zentrifugalkraft und je kleiner ihr Reibungswiderstand ist. Für die Sedimentationsgeschwindigkeit dx/dt gilt demnach folgender Ausdruck 1):

$$dx/dt = \frac{M(1 - V\varrho)\omega^2 x}{f} \quad 1)$$

Hier bedeuten M das Molekulargewicht und V das partielle spezifische Volumen der gelösten Substanz, ϱ die Dichte des Lösungsmittels, ω die Winkelgeschwindigkeit des Zentrifugenrotors, x den Abstand der Molekel vom Rotationszentrum, f den Reibungskoeffizienten für ein Mol der Substanz und t die Zeit.

Die Sedimentationsgeschwindigkeit im Felde 1 dyn wird als Sedimentationskonstante s bezeichnet (Formel 2).

$$s = \frac{dx/dt}{\omega^2 x} \quad 2)$$

Die Sedimentationskonstanten verschiedener Teilchensorten, die in ein und demselben Lösungsmittel dispergiert werden, lassen sich aber nur dann miteinander vergleichen, wenn bei ihren Bestimmungen die gleichen Temperatur- und Druckbedingungen geherrscht haben. Ändern sich diese, so variieren auch Viskosität und Dichte des Lösungsmittels und das part. spez. Vol. der gelösten Substanz. Um Sedimentationskonstanten miteinander vergleichen zu können, die bei verschiedenen Temperaturen bestimmt wurden, reduziert man sie auf die Standardbasis²⁾ von 20°. Dazu benutzt man die Formel 3):

$$s_{20^\circ} = s_t \cdot \frac{\eta_t}{\eta_{20^\circ}} \cdot \frac{(1 - V_{20^\circ}\varrho_{20^\circ})}{(1 - V_t\varrho_t)} \quad 3)$$

s_t ist die experimentell bei der Temperatur t bestimmte Sedimentationskonstante, η_t und ϱ_t sind Viskosität und Dichte des Mediums von t° (etwa einer Pufferlösung), V_t bedeutet das part. spez. Vol. des Teilchens in diesem Medium bei t° . η_{20° und ϱ_{20° sind Viskosität

¹⁾ Für alles Methodische vgl. T. Svedberg und K. O. Pedersen, Die Ultrazentrifuge, Steinopff, Dresden und Leipzig 1940.

²⁾ l. c. S. 31 uff.

und Dichte des reinen Lösungsmittels bei 20°. V_{20} bedeutet das part. spez. Vol. des Teilchens im reinen Lösungsmittel bei 20°.

Die Umrechnung von s_t auf s_{20} ergibt den Wert für die Sedimentationskonstante, den man bei 20° und in reinem Lösungsmittel (ohne Puffersubstanz) beobachten würde.

In analoger Weise kann man auch die bei dem Druck p beobachtete Sedimentationskonstante s_p auf den Wert s_1 reduzieren, den man bei einer Atmosphäre beobachten würde. Hierzu verwendet man Formel 4):

$$s_1 = s_p \frac{\eta_p}{\eta_1} \frac{(1 - V_1 \cdot \rho_1)}{(1 - V_p \cdot \rho_p)} \quad 4)$$

Darin bedeuten die mit 1 indizierten Größen die Werte bei 1 Atmosphäre, die mit p indizierten dagegen die bei p Atmosphären Druck.

Bei den *Svedberg'schen* Ultrazentrifugen arbeitet man meistens mit Zentrifugalfeldern von etwa der 400 000-fachen Erdschwere. Wenn die Dichte des Lösungsmittels 1 ist, kommen in der Lösungszelle des Rotors hydrostatische Drücke von 500 kg/cm² und mehr vor. Hierbei können die Viskosität, in geringem Mass auch die Dichte des Lösungsmittels und das part. spez. Vol. des gelösten Stoffes Werte annehmen, die von den bei 1 kg/cm² gemessenen merklich abweichen. Die Viskosität des Lösungsmittels wächst mit steigendem Druck, dadurch wird die Sedimentationsgeschwindigkeit verlangsamt, da der Reibungsfaktor grösser wird. Durch die Kompression wächst auch die Dichte des Lösungsmittels, wodurch die Sedimentation ebenfalls verzögert wird. Das part. spez. Vol. wird durch Druckerhöhung zweifelsohne verkleinert. Dies erhöht die Sedimentationsgeschwindigkeit. Es heben sich also die Einflüsse des hydrostatischen Druckes auf die Dichte des Lösungsmittels und das part. spez. Vol. der gelösten Teilchen bei der Messung der Sedimentationsgeschwindigkeit teilweise auf.

Beim Wasser, das in der Ultrazentrifuge meist als Lösungsmittel verwendet wird, sind die Veränderungen von Viskosität und Dichte mit dem Druck so gering, dass von einer Korrektur abgesehen werden kann¹⁾. Nach den Daten im *Landolt-Börnstein*, variiert die Viskosität des Wassers bei 30° unter Kompression auf 500 kg/cm² um nur 3 %. Rechnet man mit einem mittleren Kompressibilitätskoeffizienten von 43×10^{-6} bei 20° für das Druckintervall von 1 bis 500 kg/cm², so ergibt sich eine Dichteänderung von 2,1 %. Wie weit sie durch eine Änderung des part. spez. Vol. der Substanz kompensiert wird, lässt sich nicht genau sagen, da bisher keine Kompressibilitätsmessungen an Lösungen hochpolymerer Stoffe vorliegen. An niedermolekularen organischen Stoffen liegen dagegen einige Messungen vor, welche hier herangezogen werden können. Das part.

¹⁾ l. e. S. 34.

spez. Vol. von Essigsäure¹⁾ wird beispielsweise bei einer Kompression auf 100 kg/cm² um etwa 2% kleiner (Temperatur 25°). Der Einfluss des hydrostatischen Druckes auf die Dichte des Wassers ist also grösser als der Einfluss auf das part. spez. Vol. der gelösten Substanz. Bei hochmolekularen organischen Substanzen wird das part. spez. Vol. vom Druck noch weniger abhängig sein. Man wird also in erster Näherung nur den Einfluss des hydrostatischen Druckes auf die Viskosität und die Dichte des Lösungsmittels zu berücksichtigen haben. Zusammenfassend kann man für wässrige Lösungen sagen, dass die durch die Gleichung 4) gegebene Korrektur höchstens einige Prozent betragen kann. Die Sedimentationsgeschwindigkeit am Boden der Zelle müsste etwa um 5% geringer sein als am Meniskus. So geringe Differenzen in der Sedimentationsgeschwindigkeit kann man aber nur bei ganz speziellen Präzisionsmessungen beobachten.

Ganz anders liegen die Verhältnisse bei den organischen Lösungsmitteln. Als Beispiel sei die Zentrifugierung einer Nitrocellulose in dem oft verwendeten Aceton gewählt. Nach den im *Landolt-Börnstein* zitierten Daten von *Bridgman* steigt die Viskosität des Acetons bei einer Druckerhöhung von 1 auf 500 kg/cm² um 37% (Temperatur 30°). Für den Kompressibilitätskoeffizienten findet man 93×10^{-6} als Mittelwert für dieses Druckintervall. Die Dichte des Acetons steigt also im obigen Druckintervall um 4,7%. Über die Änderung des part. spez. Vol. der Nitrocellulose mit dem Druck ist nichts Genaues bekannt. Man wird aber nur einen ganz kleinen Fehler begehen, wenn man V_1 und V_p gleichsetzt.

In der Tabelle 1 sind die Korrekturfaktoren zur Berechnung der Sedimentationsgeschwindigkeit einer Nitrocellulose beim hydrostatischen Druck 1 kg/cm² zusammengestellt. Die Umdrehungsgeschwindigkeit des Rotors betrage 69000 Umdr./Min. Die Zentrifugenzelle wird bis zur üblichen Höhe mit Acetonlösung gefüllt. Der Meniskus der Lösung liegt dann 5,9 cm vom Rotationszentrum entfernt. Der Zellboden befindet sich in 7,3 cm Distanz von der Rotationsachse. Die Flüssigkeitssäule ist also 1,4 cm hoch. Die erste Kolonne der Tabelle 1 gibt die Entfernung des Ortes in der Flüssigkeitszelle vom Rotationszentrum an, für den die Korrektur berechnet wird. In der zweiten Kolonne findet man für die entsprechenden Orte die Zentrifugalfelder in dyn, die dritte enthält die hydrostatischen Drücke in kg/cm², die vierte die Lösungsmitteldichten. Die nächste Kolonne enthält die Werte

$$\frac{1 - V_1 \varrho_1}{1 - V_1 \varrho_p}$$

Der Wert von V_1 in Aceton wurde von *Scholten*²⁾ zu $0,52 \pm 0,01$ bestimmt. Die sechste Kolonne gibt das Verhältnis η_p/η_1 an (aus den Werten von *Bridgman* für die in der dritten Kolonne angegebenen Drücke linear interpoliert). In der letzten Kolonne sind die Korrektionsfaktoren

$$\frac{\eta_p}{\eta_1} \cdot \frac{(1 - V_1 \varrho_1)}{(1 - V_1 \varrho_p)}$$

¹⁾ K. Drucker, Z. physikal. Ch. 52, 641 (1905).

²⁾ E. A. H. Scholten, Diss. Bern 1942.

zusammengestellt. In der Figur 1 findet man eine graphische Darstellung der Abhängigkeit des Korrektionsfaktors von der Lage in der Zelle. Aus dieser Kurve kann bei der praktischen Arbeit der Korrektionsfaktor für jede beliebige Lage in der Zelle abgelesen werden.

Tabelle 1.

x	Feld 10^{-8}	kg/cm^2	ϱ_p	$\frac{1 - V_1 \varrho_1}{1 - V_1 \varrho_p}$	η_p/η_1	Korr.faktor
5,9	3,08	00,0	0,792	1,000	1,000	1,000
6,1	3,18	50,4	0,796	1,003	1,037	1,040
6,3	3,29	102,8	0,799	1,005	1,075	1,080
6,5	3,39	157,0	0,803	1,010	1,115	1,126
6,7	3,50	213,3	0,807	1,014	1,156	1,172
6,9	3,60	271,3	0,811	1,017	1,197	1,217
7,1	3,71	331,5	0,815	1,021	1,240	1,266
7,3	3,81	393,6	0,820	1,024	1,284	1,315

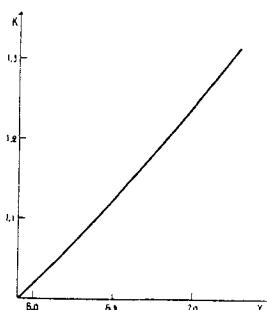


Fig. 1.

In der Tabelle 2 ist ein Beispiel aus dem umfangreichen experimentellen Material¹⁾ für die Bestimmung der korrigierten Sedimentationskonstanten festgehalten. Eine Nitrocellulose wurde bei 69000 Umdr./Min. zentrifugiert. Die erste Kolonne enthält die Abstände der sedimentierenden Moleküle vom Rotationszentrum und in den beiden folgenden Kolonnen sind die experimentell bestimmten und die korrigierten Werte der Sedimentationskonstanten eingetragen. Man sieht deutlich den Gang der „Konstanten“, wenn die Druckkorrektion nicht berücksichtigt wird.

Tabelle 2.

x	$s_{\text{exp.}} \times 10^{13}$	$s_{\text{korr.}} \times 10^{13}$
6,19	6,64	7,10
6,39	6,48	7,19
6,53	6,26	7,06
6,74	6,18	7,28
		Mittel 7,16

¹⁾ H. Mosimann, Helv. 26, 61 (1943).

Es wird für alle Zentrifugierungen in organischen Lösungsmitteln nötig sein, entsprechende Korrekturen anzubringen, da die Viskositäts- und Dichteänderungen mit dem Druck von der gleichen Grössenordnung sind wie beim Aceton.

Diese Arbeit wurde am physikalisch-chemischen Institut der Universität Uppsala ausgeführt. Dem Vorsteher des Instituts, Herrn Prof. *The Svedberg* danken wir für die uns gebotene Gelegenheit, diese Arbeit in Uppsala ausführen zu können. Die *Rockefeller-Stiftung* gewährte Mittel zur Durchführung dieser Untersuchung, die wir ebenfalls bestens verdanken.

Fysikalisk-kemiska Institutionen, Uppsala.

130. Über die Spaltung der *Tröger'schen* Base in optische Antipoden,
ein Beitrag zur Stereochemie des dreiwertigen Stickstoffs

von V. Prelog und P. Wieland.

(24. VI. 44.)

Sowohl chemische wie physikalische Erfahrungen führen zum Schluss, dass die mit dem dreiwertigen Stickstoff verbundenen Atome mit diesem nicht in einer Ebene liegen. Trotz zahlreicher, mit viel Mühe und Scharfsinn durchgeführter Versuche ist es aber bisher nicht gelungen, Verbindungen mit asymmetrischem dreifach gebundenem Stickstoff in optische Antipoden zu spalten¹⁾. Dieser Widerspruch wurde von *Meisenheimer*²⁾ so gedeutet, dass die Stickstoff-Atome durch die Ebene der Substituenten hindurchschwingen können, wodurch die Spiegelbildisomeren ineinander übergehen.

Die zuerst hypothetische Annahme *Meisenheimer's* fand ihre experimentelle Stütze durch die Untersuchungen des Absorptionsspektrums von Ammoniak. Die Schwingungen des Stickstoffs durch die von den Wasserstoff-Atomen gebildete Ebene werden als Ursache der Dublett-Strukturen vieler Linien betrachtet³⁾.

Man kann sich nun vorstellen, dass die Schwingungen des Stickstoffs durch die Substituenten-Ebene durch verschiedene Umstände, z. B. Ring-Spannungen, bedeutend erschwert oder verunmöglicht werden. Solchen Erwägungen ist es zu verdanken, dass trotz so vielen negativen Erfahrungen immer wieder neue Spaltungsversuche mit verschiedenartigen Verbindungen des asymmetrischen dreiwertigen Stickstoffs unternommen werden⁴⁾.

¹⁾ Vgl. die Darstellungen von *J. Meisenheimer* und *W. Theilacker* in *Freudenberg, Stereochemie*, Leipzig und Wien 1933, S. 1149, von *R. L. Shriner, R. Adams* und *C. S. Marvel* in *Gilman, Organic Chemistry*, New York 1938, S. 328, sowie *P. Maitland* in *Annual Reports* **36**, 239 (1940).

²⁾ *J. Meisenheimer, L. Angermann, O. Finn* und *E. Vieweg*, B. **57**, 1747 (1924).

³⁾ *E. F. Barker*, Phys. Rev. **33**, 684 (1929); *R. M. Badger*, Phys. Rev., **35**, 1038 (1930).

⁴⁾ Vgl. z. B. neuere Versuche von *E. L. Buhle, A. M. Moore* und *F. Y. Wiselogle*, Am. Soc. **65**, 29 (1943); *H. H. Hatt* und *E. F. H. Stephenson*, Soc. **1943**, 659; Am. Soc. **65**, 1785 (1943); *R. W. G. Preston* and *S. H. Tucker*, Soc. **1943**, 659.