

rückstand wurde über Aluminiumoxyd (*Merck*) chromatographiert. Mit Benzol konnten 170 mg bräunliches Öl eluiert werden. Die Substanz zeigte Säurecharakter, ist schwerlöslich in Alkohol, löslich in Benzol, leicht löslich in Äther und unlöslich in Petroläther. Sie wurde nicht weiter untersucht.

Die benzolunlösliche Säure schmolz bei 261—263°. Daraus wurde durch Acetylierung bzw. Acetylierung und nachfolgende Veresterung mit Diazomethan Acetyl-oleanolsäure bzw. Acetyl-oleanolsäure-methylester erhalten.

Herrn *H. Evelbauer*, Rio de Janeiro, danken wir für tätige Mithilfe. Die Mikroanalysen wurden in der Mikroanalytischen Abteilung der Organ.-Chem. Anstalt der Universität Basel (Leitung: Herr *E. Thommen*) ausgeführt.

Zusammenfassung.

Ausser Ursolsäure wurden aus der sogen. „Crataegussäure“ β -Sitosterin und Oleanolsäure isoliert. Die neuerdings in der Literatur beschriebenen Substanzen „Körper C“, „Crataegus- β -Sapogenin“ und „Crataegolsäure“ sind keine einheitlichen Verbindungen. „Körper A“ und „Crataegus- α -Sapogenin“ sind identisch mit Ursolsäure.

Forschungsabteilung
der Laboratorien *Hausmann AG.*,
St. Gallen.

237. Zur Kenntnis der interferometrischen Aufzeichnung von Brechungsindex-Gradienten.

8. Mitteilung über Elektrophorese¹⁾

von E. Wiedemann.

(20. VIII. 52.)

In einer vorangegangenen Arbeit über den gleichen Gegenstand war ein Überblick über die in den letzten Jahren in Anwendung gelangten Methoden zur interferometrischen Aufzeichnung des Verlaufs von Brechungsindexgradienten gegeben worden, wie sie bei Elektrophorese-, Diffusions- und Ultrazentrifugen-Messungen Verwendung finden können. Dabei war zu zeigen, dass Interferometer-Anordnungen nach *Rayleigh* aus verschiedenen Gründen solchen nach *Jamin* überlegen sind. Sie lassen sich zum Beispiel nach *H. Svensson*²⁾ mit der optischen Anordnung zur Erzeugung von Diagrammaufnahmen verwirklichen, so dass eine solche Anordnung prinzipiell auch Interferenzaufnahmen ermöglicht. Der besondere Wert dieser Kombi-

¹⁾ 7. Mitteilung, vgl. *Helv.* **35**, 82 (1952).

²⁾ *H. Svensson*, *Acta chem. Scand.* **4**, 399 (1950).

nation ist nicht nur darin zu erblicken, dass dabei die Bildgrösse dieselbe bleibt, sondern dass unter Erhaltung der x-Werte mittels des Diagramms die $dc/dx/x$ -Werte und mittels des Interferenzbildes die c/x -Werte gemessen werden können. Dieser Vorteil hat sich zuletzt auch auf kleine *Tiselius*-Apparate übertragen lassen¹⁾. Zugunsten der Interferometer-Anordnungen nach *Rayleigh* spricht weiter, dass damit nicht wie bei den *Jamin*-Anordnungen zur Zellenhöhe quer liegende Interferenzstreifen, sondern dazu parallel liegende Interferenzstreifen erhalten werden, deren seitliche Versetzung durch Gradienten mindestens über einen Bereich von 10 Ordnungen fortlaufend aufgezeichnet und mit der extrem hohen Genauigkeit von $\frac{1}{50} \lambda$ gemessen werden kann. Diese in der Literatur verschiedentlich herausgestellte Tatsache^{1) 2)} mag Veranlassung dazu geboten haben, dass die *Jamin*-Anordnungen von *H. J. Antweiler*³⁾ sowie von *H. Labhart & H. Staub*⁴⁾ bzw. *W. Lotmar*⁵⁾ neuerdings^{6) 7)} im Hinblick auf die Erzeugung von zur Zelle parallelen Interferenzstreifen modifiziert worden sind.

Die *Rayleigh*-Interferometrie, wie sie zuletzt beschrieben worden ist¹⁾, hat sich indessen unter Beibehaltung aller ihrer Vorteile und auch als Kombinationsverfahren mit der Diagrammaufzeichnung weiter ausbauen lassen, worüber im folgenden berichtet werden soll.

Zunächst bestand ein gewisser Nachteil der Bilder darin, dass die c/x -Kurven nur durch ca. 10—15 Streifen wiedergegeben wurden. Bei der Aufzeichnung von Konzentrationsverläufen über die Breite dieses Bildes hinaus war es deshalb erforderlich, die Interferenzstreifen zur Bildauswertung anzustückeln¹⁾, wodurch Fehlern und Ungenauigkeiten Vorschub geleistet wurde. Dieser Nachteil hat sich durch die Verwendung passend gewählter Gitter an Stelle des 1., vertikalen Spaltes in der optischen Anordnung der Fig. 2¹⁾ beheben lassen⁸⁾. Man erhält damit über das ganze nutzbare Bildfeld eine ununterbrochene Folge von Interferenzstreifen, so dass c/x -Kurven theoretisch über eine beliebige Zahl von Versetzungen hinweg verfolgt werden können. Praktisch wird man sich allerdings auf ca. 100 Streifen im Bilde zu beschränken haben, wenn die Auflösung gut bleiben soll. Die Erfahrung hat gezeigt, dass diese Zahl von Streifen in sehr vielen Fällen ausreicht.

¹⁾ Vgl. *Helv.* **35**, 82 (1952).

²⁾ *H. Svensson*, *Acta chem. Scand.* **4**, 399 (1950).

³⁾ *H. J. Antweiler*, *Mikrochemie* **36/37**, 561 (1950); *Angew. Ch.* **59**, 33 (1947); *Koll. Z.* **115**, 130 (1949).

⁴⁾ *H. Labhart & H. Staub*, *Helv.* **30**, 1954 (1947).

⁵⁾ *W. Lotmar*, *Helv.* **32**, 1847 (1949).

⁶⁾ *H. J. Antweiler*, *Chemie-Ingenieur-Technik* **1952**, S. 284.

⁷⁾ *W. Lotmar*, unveröffentlichte Privatmitteilung an den Verfasser.

⁸⁾ *H. Svensson*, *Acta chem. Scand.* **5**, 1301 (1951).

Die nachfolgende Fig. 1 zeigt die mittels eines solchen Gitters aufgenommene c/x-Kurve eines Diffusionsgradienten.

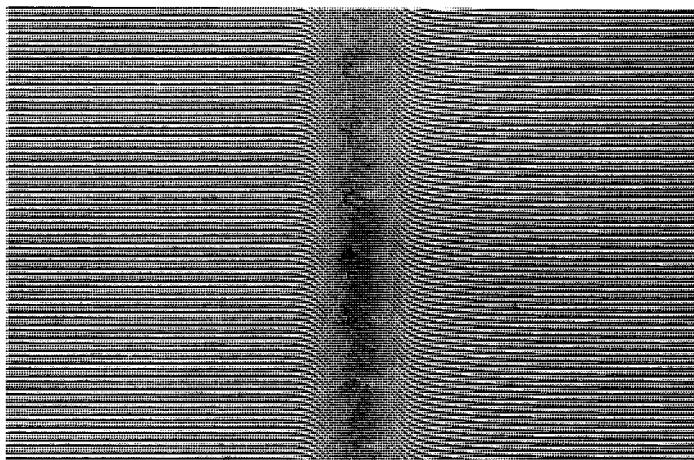


Fig. 1.

Gitteraufnahme nach *Rayleigh* eines Diffusionsgradienten: 0,5-proz. Lösung von Saccharose gegen Wasser.

Die Gitterkonstante D' ergibt sich aus der Formel:

$$D' = \frac{f\lambda}{d},$$

worin f die Brennweite der 1. Schlierenlinse, λ die Wellenlänge der benützten Lichtart und d den Mittenabstand der Blendenschlitze vor der Zelle bedeutet¹⁾. So ergibt sich beispielsweise für $f = 1200$ mm, $\lambda = 589,5$ Å (Na-Licht) und $d = 6$ mm D' zu 0,118 mm. Praktisch ist es von Vorteil, die Gitterkonstante D' wie folgt experimentell zu bestimmen: Man verschiebt einen 1., vertikalen Spalt unter den Bedingungen nachheriger Aufnahmen so lange seitlich, bis sein Bild nullter Ordnung mit dem ursprünglichen Bilde erster Ordnung koinzidiert. Dann ist das Mass der seitlichen Verschiebung gleich dem Wert der Gitterkonstante D' . Dieser Wert enthält dann zugleich alle etwa nötigen Korrekturen, wie sie durch Brennweitenabweichungen vom Sollwert u. ä. verursacht sein können. Wir haben auf diese Weise D' zu 0,110 mm bestimmt. Als optimaler Wert der Strichbreite in bezug auf Bildhelligkeit und Bildschärfe wurde ein solcher von $0,030$ mm $\pm 0,005$ mm ermittelt. Unsere Gitter, die diese Werte aufweisen, wurden durch Ritzen einer auf Glas aufgetragenen Decklackschicht in der Grösse von 12×36 mm (Breite \times Länge) hergestellt. Das nutzbare Bildfeld wird damit reichlich gedeckt. Gitter dieser Art geben sehr helle Bilder, da ihre Länge relativ gross gewählt werden kann und die Bilder höherer Ordnungen jene der nullten Ordnungen verstärken. Bei Verwendung der üblichen Natrium-Gasentladungslampen und photographischen Schichten von $17/10^0$ DIN Empfindlichkeit liegen für die heute allgemein üblichen Kleinbildaufnahmen im Format 24×36 mm die Belichtungszeiten in der Grössenordnung von 5 Sek. und entsprechen damit jenen, die für Diagrammaufnahmen mit weissem Licht (Wolframbandlampen) erforderlich sind.

Gitteraufnahmen, wie sie der Fig. 1 entsprechen, weisen damit die folgenden Vorteile auf:

¹⁾ H. Svensson, Acta chem. Scand. **5**, 1301 (1951).

1. Es können Konzentrationsverläufe (c/x -Kurven) kontinuierlich über einen wählbaren Bereich (mittlerer Wert etwa 100λ) wiedergegeben werden.

2. Unter vergleichbaren Bedingungen übertrifft die Bildhelligkeit jene einfacher Spaltaufnahmen um etwa das Doppelte.

Es kann als Nachteil dieser Bilder betrachtet werden, dass die Bestimmung der Streifenversetzungen, also die Messung der c -Werte, durch das Fehlen von Bezugslinien unsicher wird. Dies wird besonders bei Elektrophorese-Versuchen augenfällig, wenn eine Reihe von Gradienten aufeinanderfolgt. Diesem Umstand kann wie folgt begegnet werden:

Unter Verwendung von Zellen, die bei homogener Füllung praktisch keine Streifenversetzung ergeben¹⁾, kann man dem Gitterbild mit Hilfe eines dritten Blendenschlitzes vor der Zelle²⁾ ein zweites solches Bild, das keine Streifenversetzung aufweist, überlagern und gewinnt so die Bezugslinien. Bedingung ist, dass beide mittlere Schlitzabstände gleich gross sind und dass die beiden Schlitzte zur Erzeugung der Bezugslinien, die mit Strahlenbündeln ausgeleuchtet werden, die die Zelle nicht passieren, benachbart sind. Man erhält auf diese Weise zwar drei Interferenzbilder, und zwar außer den beiden beabsichtigten noch das von Schlitz 1 und 3 herrührende mit halbem Streifenabstand, doch bleibt das 3. Bild so schwach, dass es kaum stört und zudem im Laufe der photographischen Prozesse unterdrückt werden kann. Auf diese Weise ist das Bild der nachfolgenden Fig. 2 entstanden.

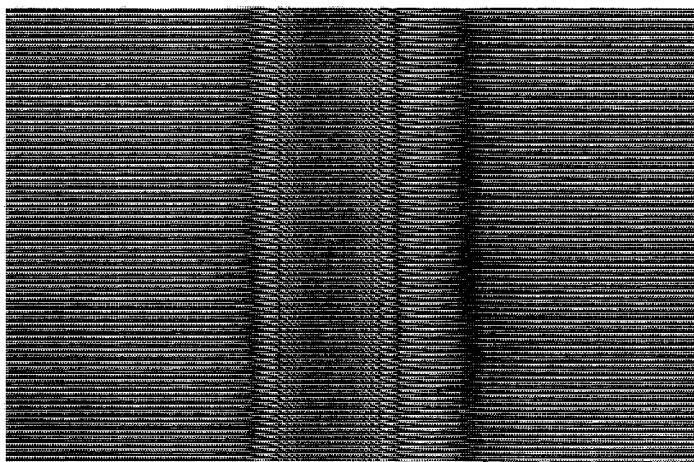


Fig. 2.

Gitteraufnahme nach Rayleigh eines Diffusionsgradienten: 0,5-proz. Lösung von Saccharose gegen Wasser.

Hinzunahme von Bezugstreifen durch dritten Blendenschlitz.

Eingangs wurde erwähnt, dass es ein besonderer Vorteil der benutzten optischen Anordnung³⁾⁴⁾ ist, von Brechungsindexgradienten

¹⁾ Wir haben solche Zellen mit Hilfe der Fa. Wild, Heerbrugg (Schweiz), hergestellt.

²⁾ Zweckmässiger Weise halber Breite.

³⁾ Vgl. Helv. **35**, 82 (1952).

⁴⁾ H. Svensson, Acta chem. Scand. **4**, 399 (1950).

ohne Änderung an den brechenden Elementen mit Hilfe der Diagramm-Methoden die $dc/dx/x$ -Kurven und mit Hilfe der Rayleigh-Interferometrie die c/x -Kurven unter Erhaltung der Bildgrösse und des x -Masstabes zu ergeben. Es lag daher nahe, diese optische Anordnung gleichzeitig für beide Zwecke zu benützen, wobei das Postulat der Gleichzeitigkeit im Hinblick auf die Veränderung der hier in Frage kommenden Brechungsindexgradienten mit der Zeit zu stellen war. Die Möglichkeit von Simultanaufnahmen der $dc/dx/x$ - und c/x -Kurven ist denn auch versucht und in der Literatur beschrieben worden¹⁾. Zur gleichzeitigen Erzeugung beider Bilder können am Ort des 1. Spaltes Kreuzspalte oder Gitter mit horizontalen Querstrichen (innerhalb oder ausserhalb des Gitters) und insbesondere horizontale Punktgitter dienen, wie sie durch Kombination eines vertikalen Gitters mit einem horizontalen Spalt entstehen. Belässt man zugleich am Ort des 2. Spaltes Spalt, Schneide oder Draht, so erhält man die entsprechenden Simultanbilder¹⁾.

Leider erweisen sich diese Bilder in bezug auf die Diagrammwiedergabe als mangelhaft, in bezug auf das Interferenzbild als schlecht lesbar (weil die Interferenzstreifen unterbrochen werden) und insbesondere bei der Verwendung eines Punktgitters als viel zu lichtschwach. Ersteres deshalb, weil mit einfachen Schrägspalten relativ grosser Breite gearbeitet werden muss, und letzteres deshalb, weil im Falle des Punktgitters der mit dem Gitter allein erzielte Fortschritt einer grossen Apertur in der Vertikalen vollkommen preisgegeben werden muss.

Alle diese unerwünschten Einschränkungen, die in irgendeiner Form auch für hier nicht angeführte Anordnungen zur Erzeugung von Simultanbildern bestehen — wenn man von erheblichen Komplikationen der Strahlenführung absieht —, lassen sich indessen glatt eliminieren, wenn man Einrichtungen vorsieht, die die beiden Teibilder unmittelbar aufeinanderfolgend durch Doppelexposition aufzunehmen erlauben. Wir haben deshalb diesem Prinzip den Vorzug gegeben und unsere Apparaturen mit einer Einrichtung versehen, die die Lichtquellen, den 1. Spalt und den 2. Spalt sinngemäss, fokussiert und gegebenenfalls auch simultan umzustellen gestattet. Hierzu haben sich mit entsprechenden Einsätzen versehene Revolverscheiben, die nötigenfalls untereinander gekuppelt werden können, bewährt.

Wechselt man so eine Natrium-Gasentladungslampe, ein oben beschriebenes Gitter und eine freie Öffnung, wie sie für die Interferenzaufnahme in Reihenfolge des Strahlengangs gebraucht werden, gegen eine Bandlampe, einen Horizontalspalt und einen Schrägschlitz mit Basisreduktion²⁾ durch Drehen der Revolverscheiben fokussiert gegeneinander aus, so kann man mit einem Zeitabstand von etwa einer Sek. zum Interferenzbild ein

¹⁾ H. Svensson, Acta chem. Scand. **5**, 1301 (1951).

²⁾ E. Wiedemann, Helv. **30**, 648 (1947); **31**, 40 (1948).

direktes Diagrammbild hinzunehmen, das, ebenso wie das Interferenzbild, keinerlei Einschränkungen unterliegt und bei entsprechend präziser Ausführung der Wechseleinrichtungen das Interferenzbild mit grösster Genauigkeit deckt. Auf diese Weise ist die in Fig. 3 wiedergegebene Aufnahme entstanden, die die $dc/dx/x$ -Kurve und die c/x -Kurve eines Diffusionsgradienten zeigt.

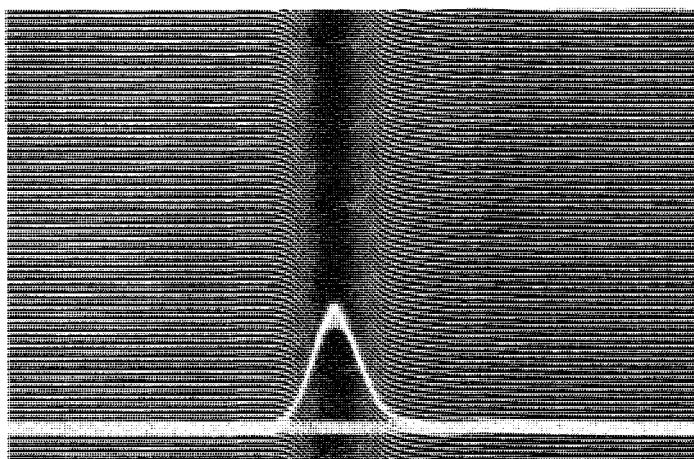


Fig. 3.

Kombinationsaufnahme der $dc/dx/x$ -Kurve und der c/x -Kurve nach *Rayleigh* und *Svensson* eines Diffusionsgradienten. 0,5-proz. Lösung von Saccharose gegen Wasser.
Aufnahme nach dem oben beschriebenen Verfahren.

Die Vorteile dieses Aufnahmeverfahrens sind:

1. Jedes Teilbild kann unter optimalen Bedingungen und frei von irgendwelchen Einschränkungen erzeugt werden.
2. Die Belichtungszeiten sind die kürzest möglichen.
3. Prinzipiell ist eine Kombination aller bekannten Interferenz- und Diagramm-Verfahren möglich.
4. Die scharfe Basislinie des Diagrammbildes dient zugleich als Bezugslinie des Interferenzbildes.

Der einzige Nachteil dieses Aufnahmeverfahrens könnte die Nichtgleichzeitigkeit der Aufnahmen sein. Die Forderung nach Gleichzeitigkeit solcher Aufnahmen röhrt daher, dass die diesen Aufnahmen zugrunde liegenden Gradienten einer Änderung mit der Zeit unterliegen. Ein Bild, wie das in Fig. 3 wiedergegebene, kann also nur dann kongruente Teilbilder aufweisen und damit korrekt sein, wenn die beiden Aufnahmen innerhalb einer Zeitspanne erfolgen, während welcher diese Änderung noch unmerklich klein bleibt.

Nun beträgt die Messgenauigkeit interferometrischer Aufnahmen nach *Rayleigh* nach übereinstimmenden Angaben von *H. Svensson*¹⁾,

¹⁾ *H. Svensson*, Acta chem. Scand. **4**, 399 (1950).

*H. J. Antweiler*¹⁾ und dem Verfasser²⁾ rund $1/_{50} \lambda$, die Belichtungszeit eines solchen Bildes unter günstigen Umständen etwa 4 Sek. Ein Gradient wird also noch mit maximaler Schärfe abgebildet werden können, wenn er sich während dieser Zeit um weniger als $1/_{50} \lambda$ verändert. Die Messgenauigkeit einer direkten Diagrammaufnahme beträgt nach *H. J. Antweiler*³⁾, der diese Verhältnisse einer genauen Untersuchung unterzogen hat, rund 50mal weniger, also etwa 1λ , die Belichtungszeit eines solchen Bildes ca. 10 Sek. (bei Verwendung weissen Lichtes). Für den gleichen, veränderlichen Brechungsindexgradienten steht also zur Aufnahme eines noch maximal scharfen Bildes nach dem Diagrammverfahren 50mal mehr Zeit als für jene des entsprechenden Interferenzbildes, nämlich $4 \times 50 = 200$ Sekunden Zeit, zur Verfügung. Ein innerhalb dieser Zeit hergestelltes Doppelbild kann also, unbeschadet seiner Überlegenheit in anderer Hinsicht, nicht von einer Simultanaufnahme unterschieden werden und muss dieser in bezug auf die korrekte Gradienten-Wiedergabe gleichwertig sein. Die tatsächlich erforderliche Zeit beträgt im gewählten Beispiel $4 + 1 + 10 = 15$ Sekunden, also nur den 13. Teil der zur Verfügung stehenden Zeit, und es folgt als interessantes Ergebnis, dass nicht etwa der Zeitabstand zwischen den Aufnahmen, sondern die Belichtungszeit des Interferenzbildes den limitierenden Faktor bildet. Dies würde auch dann noch der Fall sein, wenn sich die Belichtungszeiten weiter verkürzen liessen, da die 50mal geringere Empfindlichkeit des Diagrammverfahrens eben diesen Spielraum lässt.

Es zeigt sich also, dass das hier beschriebene Doppelbildaufnahmeverfahren in bezug auf die Wiedergabe-Genauigkeit dem Simultanbildverfahren durchaus entspricht. Da es darüber hinaus die Vorteile der optimalen Einzelbilderzeugung, der besten Bildhelligkeiten, der freien Wahl der Belichtungszeiten und der beliebigen Wahl der Bildkombination aufweist, geben wir ihm den Vorzug vor dem Simultanbildverfahren⁴⁾.

Als weiteres Anwendungsbeispiel unserer Arbeitsweise sei in der nachfolgenden Fig. 4 noch die Kombinationsaufnahme der $dc/dx/x$ -Kurven und der c/x -Kurven eines Elektrophorese-Versuches wiedergegeben, aus der im besonderen zu ersehen ist, dass das Interferenzbild an den durch Beugungseffekte mangelhaft werdenden Stellen der $dc/dx/x$ -Kurve deren Definition erleichtert, während umgekehrt die

¹⁾ *H. J. Antweiler*, Mikrochemie **36/37**, 561 (1950); Angew. Ch. **59**, 33 (1947); Koll. Z. **115**, 130 (1949).

²⁾ Vgl. Helv. **35**, 82 (1952).

³⁾ *H. J. Antweiler*, Mikroch. **36/37**, 561 (1950).

⁴⁾ Die Elektrophorese-Apparaturen FOKAL B und FOKAL F nach den Angaben des Verfassers (Hersteller: *Strübin & Co.*, Basel) werden dafür eingerichtet werden (Modelle 1953).

Wendepunkte der c/x -Kurve mit Hilfe des überlagerten Diagramms erheblich leichter als bisher zu erfassen sind.

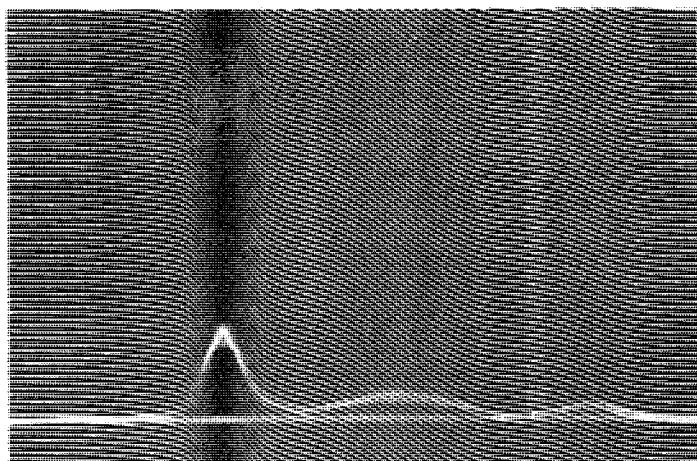


Fig. 4.

Zusammenfassung.

Die vorliegende Mitteilung beschreibt die weitere Durchbildung der *Rayleigh*-Interferometrie für die Zwecke der Gradienten-Aufzeichnung bei Elektrophorese-, Ultrazentrifugen- und Diffusions-Messungen mit Hilfe von Gittern und geht im besonderen auf Doppelbildaufnahmen nach dem Prinzip der simultanen und nicht simultanen Bildüberlagerung von Interferenz- und Interferenz/Diagramm-Kurven ein. Es wird ein neues Doppelbildaufnahmeverfahren beschrieben und illustriert, das unter Erhaltung der Kongruenz der Bilder der $dc/dx/x$ -Kurven und der c/x -Kurven von den Nachteilen entsprechender Simultanaufnahmen frei ist und sich für den täglichen Gebrauch im Laboratorium besonders eignet.

Pharmazeutisch-chemisches Laboratorium „Sandoz“
(Leitung Prof. Dr. A. Stoll), Basel.