

chance occurrence, and obviously the most probable place to look for the origin of the tetraploid number is in the fertilised egg, for it is too great a strain on one's credulity to assume that in both these independent cases the union happened to be between a diploid egg and a diploid male cell. It might be assumed that only tetraploid seedlings germinated, but this is certainly contrary to the probabilities when we consider that, in other crosses, both *P. floribunda*  $\times$  *P. verticillata* and the reciprocal cross gave hybrids agreeing with the female parent and having the regular diploid number of chromosomes. The further fact is of interest, that though *P. floribunda*  $\times$  *P. verticillata* and its reciprocal have both given matroclinous hybrids, they have also, in other crosses, both given rise to races of *P. kewensis*.

(Schluss folgt.)

## Mikrokryoskopische Versuche.

Von Carl Drucker und Erling Schreiner.

Die Veranlassung zur Ausarbeitung einer mikrokryoskopischen Methode gab der Umstand, dass oft, insbesondere bei biologischen Aufgaben, nur eine kleine Flüssigkeitsmenge zur Verfügung steht. Diejenigen Verfahren zur Bestimmung osmotischer Konzentrationen<sup>1)</sup>, die bisher die geringsten Substanzmengen beanspruchten, sind erstens die vortreffliche Dampfdruckmethode von Barger<sup>2)</sup> und zweitens die spezielle Form der Beckmann'schen Gefrierpunktmessung, die von Guye und Bogdan<sup>3)</sup> angegeben und von Burian und Drucker<sup>4)</sup> modifiziert worden ist. In dieser Gestalt verlangt der Apparat noch ca. 1 resp. 1.5 ccm Lösung, aber auch das ist in vielen Fällen noch erheblich mehr als vorhanden ist.

Die Anwendung eines kleinen elektrischen Thermometers in der eben erwähnten Anordnung war das erste Mittel, durch das wir den Substanzbedarf zu vermindern versuchten. Nach einigen Versuchen haben wir aber darauf verzichtet und uns entschlossen, die Temperaturmessung außerhalb des Versuchsobjektes vorzunehmen. Dadurch bekommt die Arbeitsweise Ähnlichkeit mit der allgemein gebräuchlichen Schmelzpunktsbestimmung reiner Stoffe, wie sie der Chemiker täglich ausführt; sie unterscheidet sich von ihr durch größere Feinheit der Temperaturmessung, eine andere Indexerscheinung und andere Eigentümlichkeiten, die wesentlich

1) Dieser Ausdruck bedarf wohl keiner Erläuterung, da er nicht nur in der physikochemischen Literatur schon lange bekannt, sondern auch später von Hamburger nochmals ausdrücklich definiert worden ist.

2) Journ. Chem. Soc. 85, 286 (1904).

3) Journ. chim. phys. 1, 385 (1903).

4) Centralbl. f. Physiol. 23, Nr. 22 (1910).

dadurch verursacht sind, dass eine Lösung und nicht ein reiner Stoff<sup>5)</sup> zu untersuchen ist.

Anordnung<sup>6)</sup>. Die bisher von uns als zweckmäßigste benutzte, zweifellos noch verbesserungsfähige Anordnung ist relativ einfach. Ein Weinhold'sches Gefäß von etwa 10 cm lichter Weite und etwa 18 cm innerer Höhe wird mit einer wäßrigen Glycerinlösung von ca. 20% Gehalt gefüllt. In ihm steht frei ein Kühlrohr von der Form einer zu einem Zylinder gebogenen Maeanderschlange, durch welches man mittels einfacher Hilfsvorrichtungen eine Kühlflüssigkeit<sup>7)</sup> strömen lassen kann. In das Gefäß wird ferner ein Thermometer eingesenkt — wir haben vorläufig ein Beckmann-Thermometer mit  $\frac{1}{50}$  Teilung benutzt — und zwar so, dass sich dessen Kugel immer zentral in der unteren Hälfte des Gefäßes befindet; an diesem ist mit kleinen Kautschukringen das Versuchsröhrchen befestigt. Endlich läuft noch im Gefäß ein ringförmiger Rührer aus Glasrohr, der an sicherer Vertikalführung mit zwei verschiedenen Geschwindigkeiten mechanisch<sup>8)</sup> betrieben werden kann.

Das Versuchsröhrchen — von der Form der gewöhnlichen Schmelzpunktkapillaren — soll möglichst dünnwandig sein, unten etwa 1 mm lichte Weite und passende Länge (7—10 cm) haben.

Verfahren. Unten in das Röhrchen bringt man, ohne die Wand oben zu benetzen, mittels einer Kapillarpipette einige Kubikmillimeter Wasser, befestigt es am Thermometer so, dass das untere Ende an der Thermometerkugel anliegt, und taucht dann dieses in eine starke Kältemischung (wenigstens —10°). Ist das Wasser im Röhrchen erstarrt, so beobachtet man mit einer kleinen Lupe, ob etwa kleine Eismengen an der Wand oberhalb des kleinen Eiszylinders sitzen, bringt solche durch Berühren mit dem Finger zum Schmelzen und Hinablaufen und lässt nochmals erstarren. Das Eis soll nicht klar, sondern trüb sein. Nunmehr setzt man Thermometer und Röhrchen in die unter 0° vorgekühlte Badflüssigkeit des Weinhold-Gefäßes ein — natürlich ohne die obere Öff-

5) Gelegentlich eines Vortrages in der Deutschen Chemischen Gesellschaft wies Herr Beckmann darauf hin, dass schon Fabinyi (Z. phys. Chem. 3, 38, 1889) versucht habe, Kryoskopie in Kapillarröhrchen auszuführen. Fabinyi hat keine befriedigenden Ergebnisse erhalten und nur wenige Versuche gemacht. Er hat, wie es scheint, den Fehler begangen, den Schmelzungsbeginn zu beobachten, also den unteren Endpunkt des Schmelztrajektes, anstatt den oberen, den eigentlichen Gefrierpunkt.

6) Die Apparate kann jeder Glasbläser liefern; wir haben die unseren von R. Götz in Leipzig herstellen lassen.

7) Am besten, um Zeit zu sparen, von nicht höherer Temperatur als —10°. Das gewöhnliche rote Viehsalz ist wegen der Trübung der durch Mischen mit Eis entstehenden Lösung mit Vorteil verwendbar.

8) Am besten benutzt man einen Elektromotor mit zwei Widerständen und Umschalter. Wir haben so eingestellt, dass entweder ca. 60 Hübe pro Minute erfolgten („schnell“) oder 20 („langsam“).

nung des Röhrchens mit unterzutauchen — und lässt sodann den Rührer arbeiten, erst schnell, dann von  $-0.2^{\circ}$  ab langsam. Die Temperatur steigt langsam; diese Langsamkeit ist notwendig, weil anderenfalls die Temperaturidentität von Thermometer und Röhrchen nicht besteht, besonders dann, wenn das Schmelzen<sup>9)</sup> beginnt. Dabei beobachtet man, eventuell mit Hilfe einer Lupe (von 5–10 cm Brennweite), das Röhrchen im — wenn nötig, etwas abgeblendeten — Lichte einer hinter dem Gefäße passend aufgestellten kleinen Glühlampe. Den Beginn des Schmelzens erkennt man bei engen Röhrchen an einer plötzlichen Änderung der Eisoberfläche, indem sich der konkave Meniscus wieder herstellt, bei weiteren am Abschmelzen an der Wand, wobei in der Mitte ein kleiner Eisberg stehen bleibt<sup>10)</sup>.

9) Wir müssen hier einige Betrachtungen theoretischer Art einfügen. Um auf  $0.01^{\circ}$  genau zu arbeiten, muss man dafür sorgen, dass das Schmelzen einer gewissen kleinen Eismenge — bei einer Lösung das Verschwinden der letzten Kriställchen — so schnell vor sich geht, dass währenddessen das Thermometer um höchstens  $0.01^{\circ}$  ansteigt. Für diesen Anstieg braucht ein Thermometer von 2 cm Volum des Quecksilbergefäßes rund 0.01 cal. Angenommen, die Wärmezufuhr erfolge bei Thermometer und Röhrchen gleich schnell, so darf die zu schmelzende Eismenge nur 0.01 cal. verbrauchen, also nur rund 0.1 mm groß sein. (Tatsächlich ist aber das Röhrchen dem Thermometer gegenüber wegen dessen viel größerer Oberfläche im Nachteil.) Man muss also mit möglichst geringer Eismenge arbeiten. — Andererseits friert, wenn man die Lösung  $a^{\circ}$  unterhalb ihres wahren Gefrierpunktes zum Erstarren bringt (s. u.), so viel Eis aus, dass dessen Menge sich zur Gesamtwassermenge der Lösung verhält wie  $a$  zu  $(a + \text{Gefrierdepression})$ . Je höher die Lösung verdünnt ist, desto größer ist also die Konzentrationsänderung durch Ausfrieren bei einer  $a^{\circ}$  unter dem Gefrierpunkte liegenden Temperatur. Diese Konzentrationszunahme geht allerdings zurück, wenn die Lösung sich dann bis auf ihren Gefrierpunkt erwärmt; damit das aber hinreichend rasch im Verhältnis zum Ansteigen des Thermometers geschieht, darf die für beide Teile nötige Wärme nur langsam zugeführt werden. — Ein Zahlenbeispiel erläutere diese Sache. Gegeben sei eine Lösung von der Gefrierdepression  $0.4^{\circ}$ ; diese werde  $0.1^{\circ}$  unter ihrem Gefrierpunkte eingefüllt, so dass  $0.1 : 0.5 = 20\%$  ihres Wassers als Eis ausfrieren. Hat man 5 mm genommen, so entsteht 1 mm Eis. Beim folgenden langsamen Steigen der Temperatur schmilzt dieses wieder, im günstigsten Falle so schnell, dass immer der Thermometerstand den Gefrierpunkt der jeweils vorhandenen Konzentration anzeigt  $0.01^{\circ}$  unter dem richtigen Gefrierpunkt sind noch  $2\%$  Eis vorhanden, eine Menge, wie sie beim Beckmann'schen Verfahren durch Gefrieren bei Aufhebung einer Unterkühlung von  $1.6^{\circ}$  entstehen würde. Diese  $2\%$  machen bei 5 mm Gesamtmenge 0.1 mm aus; sie schmelzen weg, während das Thermometer gerade auf den richtigen Punkt steigt. Dies ist der ideale Fall für gerade diese Zahlenverhältnisse. — Es folgt aus dieser Betrachtung, dass man mit tunlichst wenig Flüssigkeit arbeiten soll, so wenig, als die Beobachtungsmöglichkeit erlaubt; weil dann diese relativen Mengen ausgeschiedenen Eises absolut nur geringfügig sind, und dadurch der oben besprochenen Notwendigkeit eines geringen Schmelzwärmeverbrauches entsprochen werden kann; und zwar soll dies besonders dann beachtet werden, wenn die Gefrierdepression selbst klein ist.

10) Der Unterschied beider Erscheinungen ist natürlich in der Verschiedenheit ihrer Wärmeleitung im Röhrchen begründet, je nach dem Verhältnis von Wandstärke und Durchmesser.

Danach kühlt man unter Rühren auf ca.  $0.4^{\circ}$  unter den gefundenen Temperaturpunkt ab, lässt wie vorher die Temperatur unter Rühren steigen und stellt, wenn das Thermometer ca.  $\frac{1}{20}$  unter dem gefundenen dem richtigen wahrscheinlich sehr nahe liegenden Punkte zeigt, den Rührer ganz ab<sup>11)</sup>. Das Thermometer steigt erst noch ein wenig, bleibt dann Minutenlang  $0.01^{\circ}$  bis  $0.02^{\circ}$  höher stehen und steigt dann wieder langsam an. War der Schmelzpunkt vorher nahezu richtig gefunden worden, so erhält man ihn jetzt innerhalb  $0.01^{\circ}$  genau, anderenfalls wiederholt man die Operation, was in wenigen Minuten geschehen ist.

Ohne das Röhrchen herauszunehmen, bestimmt man nunmehr den Gefrierpunkt der Lösung. Es wird zunächst wieder um ungefähr  $0.3^{\circ}$  unter den erwarteten Punkt<sup>12)</sup> abgekühlt; dann rührt man langsam, stellt den Rührer ab und bringt noch ca.  $0.1^{\circ}$  unterhalb des vermuteten Punktes mit Hilfe einer Kapillarpipette eine etwa 3 mm hohe Schicht Lösung direkt auf das Eis, jedoch erst, nachdem man der Lösung im Pipettenröhrchen etwa 10 Sekunden lang Zeit zum Abkühlen gelassen hat. Treten Kriställchen an der Wand<sup>13)</sup> auf, so beobachtet man dann während des langsamen Steigens der Temperatur (ohne Rühren) das Wiederschmelzen. Hat man bei der vorläufigen Bestimmung (Anm. 12) den Punkt auf etwa  $0.05^{\circ}$  genau gefunden, so wird man jetzt keine größere Differenz als  $0.02^{\circ}$ — $0.03^{\circ}$  zwischen Beginn und Ende des Schmelzens finden.

Das Schmelzen des aus der Lösung abgeschiedenen Eises ist leichter zu beobachten als das Schmelzen des Eiszylinders. Man wird deswegen in der Praxis gut tun, anstatt des Eispunktes den Gefrierpunkt einer Lösung von bekannter Depression zu bestimmen und dann den Eispunkt des Thermometers durch Addieren dieser Depression zu berechnen<sup>14)</sup>. Z. B. kann man immer von einer 0.3 molaren Harnstofflösung ausgehen, deren Gefrierpunkt bei  $-0.56$  liegt, oder von einer entsprechend konzentrierten Chlorkaliumlösung.

11) Er soll ganz oben stehen bleiben. Denn die langsame Temperatursteigerung, die ja durch Leitung von oben her erfolgt, könnte sonst beschleunigt werden. Deshalb soll der Rührer auch nicht aus Metall bestehen.

12) Am bequemsten bestimmt man diesen annähernd in einem Vorversuche, indem man die Lösung genau so behandelt wie vorher das Wasser und das Verschwinden der letzten Eisspuren beobachtet. Wird nur eine Genauigkeit von etwa  $0.05^{\circ}$  verlangt, so genügt dieses Verfahren, und man braucht das oben beschriebene genauere gar nicht anzuwenden.

13) Auch auf der Fläche des bereits unten befindlichen Eises können Kristalle entstehen. Deren Verschwinden ist aber weniger leicht zu beobachten.

14) Das ist auch prinzipiell richtiger, wenn man kein hochreines Wasser verwendet. Denn wenn wir sehr viel von dem Wasser gefrieren lassen, so konzentrieren sich die verunreinigenden Stoffe, und der Schmelzungsbeginn entspricht dann dem Gefrierpunkte einer wenn auch verdünnten Lösung.

Wir geben nun einige Resultate wieder und verzeichnen:

1. Den gelösten Stoff (Stoff).
2. Die nach unserer Methode gefundenen Gefrierpunktserniedrigungen ( $\Delta$ ).
3. Die stets nachträglich im Beckmann'schen Apparate gefundene Depression ( $\Delta_B$ ), auf  $0.01^\circ$  abgerundet.

Stoff	$\Delta$	$\Delta_B$
NaCl	0.44	0.45
CuSO <sub>4</sub>	0.32	0.30
K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	0.34	0.34
BaCl <sub>2</sub>	0.14	0.14
KMnO <sub>4</sub>	0.12	0.11
NH <sub>4</sub> Br	0.38	0.39
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	0.69	0.70
ZnSO <sub>4</sub>	0.20	0.20
C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	0.14	0.14
Zn(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	0.62	0.63
AgNO <sub>3</sub>	0.32	0.32
CO(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	0.19	0.19
Kaninchenblutserum <sup>15)</sup>	0.58	0.59
Pferdeblutserum	0.57	0.59

Die für einen Versuch nötige Zeit wird, wenn der Apparat gebrauchsfertig vorbereitet und der Beobachter eingeübt ist, nicht länger sein als etwa eine halbe Stunde. Die für ein Röhrchen nötige Flüssigkeitsmenge beträgt ca. 0.005 ccm; begnügt man sich mit der Genauigkeit des vorläufigen Versuches (S. 102, Anm. 12), so kommt man mit ca. 0.002 ccm aus.

Wir hoffen, dass die Methode sich für biologische Zwecke eignet, und werden uns freuen, wenn eine brauchbare Vereinfachung und eine erhöhte Genauigkeit von anderer Seite erreicht werden sollte. Unsere eigenen Verbesserungsbestrebungen werden sich zunächst auf Konstruktion eines anderen Thermometers von größerer Wärmekapazität sowie auf noch größere Langsamkeit der Temperaturänderung erstrecken.

Leipzig und Trondhjem, November 1912.

15) Diese Körperflüssigkeiten haben uns die Herren Dr. Gros vom Pharmakologischen und Prof. Schmidt vom Hygienischen Institut Leipzig freundlichst zur Verfügung gestellt. Unverändertes frisches Blut lässt sich gleichfalls ohne Schwierigkeit untersuchen.

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Biologisches Zentralblatt](#)

Jahr/Year: 1913

Band/Volume: [33](#)

Autor(en)/Author(s): Drucker Carl, Schreiner Erling

Artikel/Article: [Mikrokryoskopische Versuche. 99-103](#)