©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Über die Beobachtung von Schlieren bei chemischen Arbeiten

(II. Mitteilung [1])

Von

Friedrich Emich,

wirkl. Mitglied d. Akad. d. Wissensch.

(Mit 20 Textfiguren und 2 Tafeln)

Aus dem Laboratorium für allgemeine Chemie an der Technischen Hochschule in Graz

(Vorgelegt in der Sitzung am 4. Juli 1929)

Einleitung.

Einige Bemerkungen über Reinigung und Reinheitsgrad im allgemeinen.

Die erste Mitteilung über vorliegenden Gegenstand hatte wesentlich den Zweck, dem Chemiker einen Einblick in die im hiesigen Institut ausgebildete Methodik der Schlierenbeobachtung zu geben. In den nun folgenden Abhandlungen sollen die noch notwendigen Einzelheiten gebracht werden.

Wie schon bemerkt, denken wir zwar in erster Linie daran, die erwähnten Methoden zu Zwecken der Identifizierung und Reinheitsprüfung der Stoffe zu benutzen, doch sind im Laufe der Untersuchung auch Beobachtungen gemacht worden, die unsere Kenntnisse in anderer Hinsicht erweitern.

Wenn hier einige allgemeine Bemerkungen gestattet sind, so ist es wohl kaum notwendig, auf die Wichtigkeit der Reinheitsprüfungen für den Chemiker hinzuweisen. Die Anforderungen, die in dieser Richtung gestellt werden, sind unter den verschiedenen Arbeitsbedingungen wohl außerordentlich verschieden: Die präparative Arbeit begnügt sich meist mit sogenannten analysenreinen Verbindungen, d. h. Verbindungen, bei denen Elementaranalyse und Molekulargewichtsbestimmung Resultate ergeben, die innerhalb gewisser Grenzen mit den berechneten Werten übereinstimmen; diese Grenzen sind wesentlich durch die Vollkommenheit der Bestimmungsmethoden gegeben, vielfach aber auch nur konventionell festgelegt. Oft wird es auf solche Weise nicht möglich sein, Verunreinigungen zu

[1] I. Mitteilung: Monatsh. Chem. *50*, 1928, S. 269, bzw. Sitzb. Ak. Wiss. Wien (II b) *137*, 1928, S. 745. Berichtigend sei bemerkt, daß beim 9. Zitat, S. 272 (der Monatshefte) anstatt *21*, 1908, S. 17 korrekt *21*, 1908, S 231 zu lesen ist. Die etwas verzerrte Zeichnung Fig. 7, S. 279, wird der aufmerksame Leser selbst verbessert haben. Bei den Zitaten 3. ist hinzuzufügen: G. Tammann, Wied. Ann. Physik *34*, 1888, S. 299.

erkennen, wenn sie z. B. in einer Menge von einem Prozent vorliegen[2]. Bei der Ermittlung von physikalischen Konstanten wird man im allgemeinen meist größere Anforderungen an den Reinheitsgrad stellen, und wieder in anderen Fällen, z. B. beim Studium katalytischer Erscheinungen, kann es sich um sehr geringe Spuren von Verunreinigungen handeln. In diesem Zusammenhang darf man wohl jede Methode als einen Fortschritt bezeichnen, wenn sie die Prüfung auf Reinheit und Identität auf einem bis dahin nicht möglichen Weg gestattet, oder wenn dieser die älteren Wege in irgendeiner Richtung, z. B. an Vollkommenheit oder Einfachheit, übertrifft.

Da der absolut reine Stoff einen im allgemeinen unerreichbaren Grenzfall bedeutet, erscheint die quantitative Angabe des Reinheitsgrades in jedem Einzelfall, in dem sie möglich ist, wünschenswert, und ich glaube, daß man zu diesem Zwecke die Vorschläge von F. Mylius[3] mehr als bisher berücksichtigen sollte. Wenn diese Vorschläge zunächst auch nur auf gereinigte Metalle Bezug haben, so steht doch einer Anwendung auf andere Stoffe kein Hindernis im Wege. Nur denke ich, daß die Darstellung an Einheitlichkeit gewinnen würde, wenn man an Stelle der Gewichtsprozente, die Mylius anwendet, Atom- bzw. Molekülprozente einführen würde. Mylius benützt den negativen Exponenten einer Zehnerpotenz zur Angabe des Reinheitsgrades und nennt z. B. Metalle vom 2. Reinheitsgrad, wenn der Nebenbestandteil (die Verunreinigung) in einer maximalen Menge von 10^{-2} (d. h. von 0·1—1%) vorhanden ist.

Wenn man an den etwas weiten Grenzen von z. B. 0·1—1% Anstoß nimmt, kann man gebrochene Exponenten anwenden. Dabei ist natürlich Rücksicht darauf zu nehmen, daß die logarithmische Unterteilung nicht mit der prozentischen parallel geht. Z. B.

Tabelle 1.

	Verunreinigung in % maximal	Reinheitsgrad nach Mylius
$10^{-2} = 0{\cdot}01$	1	2
$10^{-2{\cdot}13} \sim 0{\cdot}0075$	0·75	2·13
$10^{-2{\cdot}3} \sim 0{\cdot}005$	0·5	2·3
$10^{-2{\cdot}6} \sim 0{\cdot}0025$	0·25	2·6
$10^{-3} \sim 0{\cdot}001$	0·1	3

Vielleicht wäre es besser, bei diesen Angaben das Dezimalsystem zu verlassen und den Reinheitsgrad ähnlich, wie dies z. B. bei Verdünnungsversuchen üblich ist, nach Potenzen von 2 festzulegen. Das erscheint auch deshalb zweckmäßig, weil es sich, genau genommen, in beiden Fällen um ein und dasselbe Problem handelt.

Bei der praktischen Verwertung dieses abgeänderten Systems könnten entsprechende Abrundungen eingeführt werden, wobei sich der

[2] Monatsh. Chem. *41*, 1920, S. 243, bzw. Sitzb. Ak. Wiss. Wien (II b) *129*, 1920, S. 250.

[3] Z. anorg. Chem. *74*, 1912, 407; Chem. Centr. 1912, I, S. 2035. Siehe auch W. Böttger, Z. ang. Chem. *39*, 1926, S. 1420.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Übergang zu den Zehnerpotenzen von selbst ergäbe, weil z. B. 2^{10} rund 1000 ist. Dann hätten wir:

Tabelle 2.

Reinheitsgrad	Prozente Verunreinigung (maximal)	Verdünnung der Verunreinigung	
		genau	abgerundet
1	50	2	
2	25	4	
3	12·5	8	
4	6·25	16	
5	3·125	32	
6		64	
7		128	125
8		256	250
9		512	500
10	0·1	1024	1000
20	0·00001	1,048.576	1,000.000

Eine Umrechnung unter Berücksichtigung der Molekulargewichte (s. o.) würde die Ermittlung der betreffenden Daten natürlich nicht wesentlich komplizieren. Übrigens soll auf diese Dinge noch an anderer Stelle zurückgekommen werden.

Bei der unübersehbaren Fülle von möglichen Systemen, die im Zusammenhang mit der Schlierenmethode in Betracht kommen, mußten wir uns selbstverständlich auf eine kleine Auswahl von Beispielen beschränken; dabei war die Überlegung maßgebend, daß man für die Beurteilung einer Methode die besten Anhaltspunkte gewinnt, wenn man einige spezielle Fälle möglichst sorgfältig durcharbeitet. Wer sich für die Arbeitsweisen interessiert, wird danach leicht ermessen, ob ein Nutzen in einem gegebenen Fall erwartet werden kann und wie zu verfahren sein wird.

Im folgenden werden knappe Auszüge aus den Dissertationen meiner Mitarbeiter gebracht; dabei sollte einerseits nichts Wesentliches übergangen, anderseits bei möglichster Einheitlichkeit des Gebotenen auf die Individualität der Mitarbeiter einige Rücksicht genommen werden. Bei der Sichtung und Zusammenstellung des Materials, Anfertigung der Zeichnungen u. v. a. hat mich Herr Dr. Edgar Schally aufs eifrigste unterstützt.

Das erste Kapitel bringt noch einige Bemerkungen über die Methoden der Beobachtung.

ERSTES KAPITEL.

Über Identitäts- und Reinheitsprüfungen, Apparatives.

Von Herbert Häusler, Robert Rašin und Edgar Schally.

I. Abschnitt.

A. Über Küvetten und Kapillaren.

Wenngleich die Frage nach geeigneten Küvetten mit den von der Firma Zeiß gelieferten Küvetten (siehe erste Abhandlung [4]) als gelöst zu betrachten ist, so mag es doch für manchen Experimentator erwünscht sein, einige Anhaltspunkte für die Anfertigung dieser Gefäße zu haben.

Die Küvetten bestehen aus drei Teilen, dem Objektträger, dem Mittel- oder Formstück und der Deckplatte. Alle drei Teile können durch Zurechtschneiden von 1—3 *mm* dicken Objektträgern hergestellt werden. Bei den Rundküvetten wird das Formstück mittels eines rotierenden Kupferrohres ausgeschnitten, für den Hals der Küvette benützt man kleine Karborundscheibchen, wie sie der Zahnarzt verwendet. Das Kupferrohr wird beim Schleifen reichlich mit Terpentinöl und mittelfeinem Schmirgelpulver benetzt. Bei der Herstellung der Herzküvetten wird der Objektträger ebenfalls durchbohrt und dann mit einem Karborundscheibchen entsprechend zugeschnitten; weit einfacher gestaltet sich die Arbeit, wenn man das Mittelstück (s. Fig. 1 b) zweiteilig anordnet. Für schwerflüchtige und nicht hygroskopische, z. B. wässerige Flüssigkeiten kann man die V-Küvetten verwenden, deren Mittelstück in Fig. 1 a abgebildet ist.

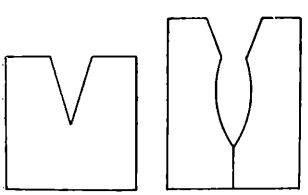


Fig. 1.

Zum Aneinanderkitten der drei Teile wurden Kanadabalsam, Kololith, Guttaperchapapier (aus der Apotheke) und Silberchlorid (Schmelzpunkt 445°) verwendet. Für Kohlenwasserstoffe gelangten auch Leimmischungen zur Anwendung [5]. Die Kittmittel wurden in dünner Schicht beiderseits auf das Formstück aufgetragen, die drei Stücke zusammengelegt und die feste und dichte Verbindung durch die dem Kittmittel entsprechende Behandlung (z. B. Erwärmen auf einem Metallblock oder im Trockenschrank) hergestellt. In vielen Fällen erweist sich ein Beschweren der zusammengelegten Teile als vorteilhaft. Bei Verwendung von Silberchlorid oder Leim ist auf Reinigung (Entfettung) der zu kittenden Glasflächen zu achten.

Von den schon erwähnten Kapillaren ist namentlich zu sagen, daß sich die Größe der Ausströmöffnung der Viskosität des betreffenden Systems anzupassen hat. Weiter unten folgen darüber nähere Angaben. Die Reinigung einer Küvette besorgt man wie die eines Spitzröhrchens [6].

---

[4] Monatsh. Chem. l. c. S. 274, bzw. Sitzb. Ak. Wiss. Wien (IIb) l. c. S. 750.
[5] Vgl. z. B. Lehner, Kitte und Klebemittel, Wien und Leipzig, 1916.
[6] F. Emich, Mikrochemisches Praktikum, S. 15, München 1924.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

B. Zur Beobachtung der Schlieren.

1. Mit dem großen Töplerschen Apparat wurde eine Reihe von Versuchen durchgeführt, über die erst später berichtet werden soll, da sie noch nicht abgeschlossen sind.

2. Das Schlierenmikroskop wurde schon in der ersten Mitteilung beschrieben.

3. Bezüglich der Dvořákschen Anordnung[7] (s. Fig. 2) sei ergänzend bemerkt, daß es möglich ist, bei einiger Übung positive und nega-

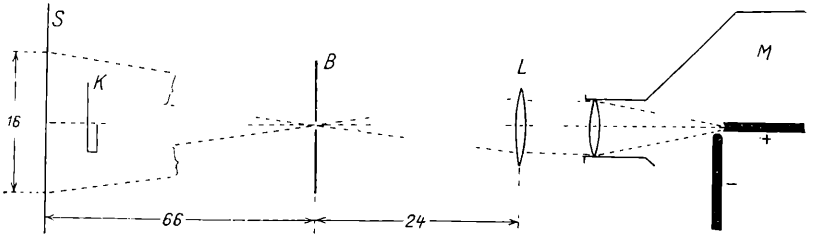


Fig. 2.

tive Schlieren zu unterscheiden. Letztere erscheinen innen dunkel und außen hell, erstere dagegen innen hell und an den Rändern von zwei dunklen Streifen begrenzt (Wirkung einer Sammellinse)[8].

Bei der Beobachtung muß auf den Abstand der Küvette vom Schirm geachtet werden; ist jener relativ groß, so kann eine Umkehrung der Schattierung eintreten. Man wird daher das Schlierenbild immer bei recht verschiedenen Schirmabständen beobachten, d. h. die Küvette im Raum zwischen *S* und *B* hin und her bewegen.

Die Vorteile der Dvořákschen Anordnung gegenüber dem Schlierenmikroskop sind bei annähernd gleicher Empfindlichkeit geringere Anschaffungskosten und die Möglichkeit der Beobachtung des gesamten Schlierenbildes. Das Schlierenmikroskop dagegen erlaubt nur die Beobachtung eines Teiles der Erscheinung, dafür können aber Feinheiten an ihr festgestellt werden, und die Entscheidung, ob die Schliere positiv oder negativ ist, gelingt leichter. Breitet sich die Schliere auf einen größeren Raum aus, so kann es vorkommen, daß sie selbst bei hinreichender Intensität im Schlierenmikroskop unsichtbar ist, wogegen sie im Dvořák-Apparat nicht der Beobachtung entgeht (z. B. die Schliere einer Sparflamme); er kann deshalb namentlich auch zu etwaigen Vor- oder Kontrollversuchen sehr empfohlen werden.

4. Über die sehr bequeme visuelle Methode wird in einer späteren Mitteilung berichtet werden.

C. Zur Messung der Schlierenstärke mittels des Schlierenmikroskops.

1. Ergänzend zur ersten Mitteilung sei noch folgendes bemerkt. Die Stärke einer Schliere ist zunächst durch den Brechungsunterschied zwischen Fließ- und Standprobe gegeben.

[7] In der Figur bedeuten: *M* eine Mikrobogenlampe, *L* eine Sammellinse von 20 *cm* Brennweite, *B* ein Blech (Blende) mit einer Bohrung von etwa 2 *mm* Ø, *S* einen weißen Papierschirm, *K* die Küvette. Die Zahlen geben Entfernungen in *cm* an. Natürlich kann auch z. B. ein Projektionsapparat benutzt werden.

[8] R. Emden, Wied. Ann. *69*, 1899, S. 264 ff.

Je größer er ist, um so stärker erscheint relativ[9] die Schliere. Feine Unterschiede in der Schlierenstärke lassen sich unmittelbar nicht festhalten; größere Unterschiede dagegen erlauben eine Klassifikation etwa in „sehr starke", „starke", „zarte" und „eben wahrnehmbare" Schlieren (Grenzschlieren). Das Bestreben, für den subjektiven Eindruck, den die Schliere hervorruft, einen Erinnerungswert zu schaffen und diesen zahlenmäßig auszudrücken, anderseits einen Schluß auf die Konzentrationsdifferenz zwischen Fließ- und Standprobe mit Hilfe der Schlierenmethode zu ziehen, führte uns zu folgenden Meßverfahren, die sich zum Teil auch bewährten.

a) Die eine Möglichkeit besteht darin, die Flüssigkeit mit der fraglichen Konzentration zu einer Reihe von Testlösungen von bekannter Zusammensetzung fließen zu lassen. Die Zusammensetzung der fraglichen Lösung entspricht dann der jener Testlösung, mit der sie keine Schlieren erzeugt. Gibt z. B. ein Benzol-Toluol-Gemisch (Fließprobe) mit der Testlösung von 20% Toluol (Standprobe) eine positive, fallende Schliere, mit der Testlösung Benzol mit 10% Toluol dagegen eine aufsteigende, negative Schliere, so weiß man, daß die Zusammensetzung der fraglichen Probe dazwischen liegt. Durch geeignete Wahl der Testlösung läßt sich in kurzer Zeit die Zusammensetzung ermitteln.

b) Ein ähnliches Verfahren verwendete G. Jaeger[10]; es besteht darin, daß die fragliche Lösung so lange mit dem Lösungsmittel verdünnt wird, bis mit einer Vergleichslösung keine Schlieren mehr entstehen.

c) Der dem weiter versuchten Meßverfahren zugrunde liegende Gedanke ist das Entfernen der Blende (vertikale Kante des Tubusspaltes) von der empfindlichen Einstellung in einer auf die optische Achse senkrechten Richtung und die Messung des von der Blende zurückgelegten Weges oder einer Größe, die von ihm abhängig ist, als Maß für die Stärke der Schliere. Von den zahlreichen Möglichkeiten, mit denen die Verschlechterung der Einstellung zu erreichen ist, wurden zunächst nur zwei verwertet. Diese sind erstens die schon erwähnte Drehung des Mikroskoptubus und zweitens die Verschiebung der Schliere selbst, wobei man bei fixem Tubus die adjustierte Küvette auf dem Objekttisch mittels eines Schlittens bewegt. Es ist dabei im Prinzip gleichgültig, ob die Schliere in den Schatten hinein oder vom Schatten weg in den hellen Teil des Gesichtsfeldes rückt. Diese Meßverfahren unterscheiden sich hinsichtlich des Meßbereiches und hinsichtlich der Empfindlichkeit, wobei zu bemerken ist, daß eine übertriebene Erhöhung der letzteren für unsere Zwecke nicht angestrebt wurde, da Dimension der Ausströmöffnung, Form der Schliere usw. die Meßresultate zu sehr beeinflussen. Unser Bestreben war, bei angemessener Empfindlichkeit eine Konstanthaltung derselben über einen möglichst großen Meßbereich zu erzielen. Daß hier bereits die sogenannte Me-

[9] Je nach der Wirkungsweise und Empfindlichkeit der Versuchsanordnung werden bei ein und demselben Brechungsunterschied verschieden starke Schlieren zu beobachten sein. (Eine im Schlierenmikroskop kaum sichtbare Schliere wird im großen Töpler-Apparat sehr stark wahrgenommen werden.)

[10] G. Jaeger, Ber. D. ch. G. *61*, 1928, S. 1654.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

thode der einfachen Messung im allgemeinen brauchbare Resultate liefert, zeigt folgende Tabelle:

Tabelle 3.

Fließprobe: Benzol Standprobe: Benzol mit Toluol	Ausströmöffnung 0·145 *mm* Fließhöhe 2 *cm* [10a] Entfernung 0 bis x in Teilstrichen des Okularmikrometers		
98·07% Benzol + 1·93% Toluol	5	5	6
96·22% + 3·78%	7	7	8
94·42% + 5·58%	9	9	9
92·7 % + 7·3 %	10	11	10
91·05% + 8·95%	11	12	12

2. Einen wesentlich größeren Anwendungsbereich als die einfache Messung besitzt die Methode der doppelten Messung [11], die noch mit einem dritten Verfahren (von H. Alber) kombiniert werden kann. Dieses dritte Verfahren besteht darin, daß man die Schliere durch Drehen des Tubus (s. o. unter 1, c) in den Schatten wandern läßt und jene Strecke als Maß für die Schlierenstärke verwendet, welche das Bild der Kapillarspitze von seiner Nullage bis zum Verschwinden der Schliere zurücklegt. Die Tabelle 4 und die ihr zugehörenden Kurvenbilder I und II der Fig. 3 zeigen den Unterschied zwischen den Meßverfahren bei Benzol-Toluol-Mischungen.

Tabelle 4.

Die Schlierenstärke als Funktion der Konzentrationsdifferenz zwischen Fließ- und Standprobe.

Fließprobe: Benzol Standprobe: Benzol mit Toluol	I		II		
	a	b			
98·5% Benzol mit 1·5% Toluol	38	4	1·5	2	1·5
96 + 4	28	14	2	2	2
94 + 6	26	16	3	3	3·5
92 % + 8	24	18	3	3	4
90 % + 10	21,22	21,20	4	5	5
80 + 20	17,18	25,24	8	8	9
70 + 30	15	27	10	10·5	10·5
60 + 40	12,13	30,29	13	14	14
50 + 50	9,10	33,32	16	15	16
40 + 60	7,8	35,34	17	18	18
30 + 70	5	37	18	19	19
20 + 80	4,5	38,37	20	20	21
10 + 90	3	39	22	22·5	23
100	1,2		23·5	24	23·5

[10a] Darunter ist die Höhe (der Flüssigkeitssäule) verstanden, die die Fließprobe im weiten Teil der Kapillare aufweist, „0 bis x" bezieht sich auf Fig. 11 d. I. Mitt.

[11] Monatsh. Chem. l. c. S. 280, bzw. Sitzb. Ak. Wiss. Wien (IIb) l. c. S. 756.

Analoges wurde für Benzol-*p*-Xylol-Mischungen gefunden. Kolonne I der Tabelle 4 enthält die Werte der doppelten Messung, die Reihe *a* bringt das leere Intervall, *b* die sich aus dem leeren Intervall ergebenden Werte für die Schlierenstärke. Die Kolonne II bringt die Resultate der zuletzt geschilderten Methode, die wir die „Schattenmethode" nennen, weil die Schliere durch Drehen des Tubus in den Schatten[12] gerückt wird.

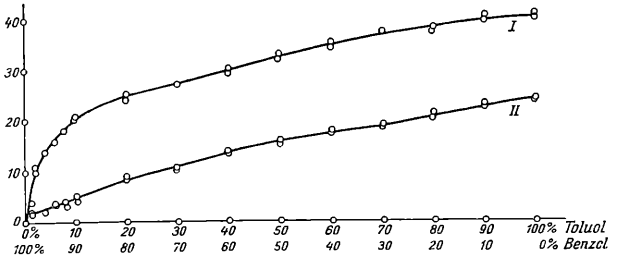


Fig. 3.

Auf der Ordinate sind die Schlierenstärken aufgetragen; der Kurve I der Fig. 3 liegt die Reihe I *b* der Tabelle 4 zugrunde, der Kurve II die Kolonne II dieser Tabelle.

3. Um in einer Meßreihe vergleichbare und reproduzierbare Resultate zu erhalten, ist es natürlich geboten, daß man jedesmal von derselben Nullstellung ausgehe. Bei Verwendung eines Okularmikrometers mit 50 Teilstrichen (= 5 *mm*; Kompensationsokular 6 von Zeiß) schnitt bei unserem Apparat der „zweite" rechte Schatten den Teilstrich 50 des Mikrometers, wenn wir den unscharfen Rand des „ersten" Schattens auf den Teilstrich 0 einstellten. Diese Stellung verwendeten wir als Nullage. (Ihre Wahl war also von der Länge des Okularmikrometers abhängig und insofern willkürlich, als man die Schatten ebensogut auf andere Teilstriche des Mikrometers hätte einstellen können.) Auf die bei der Messung erhaltenen Zahlen ist ferner das leere Intervall der Schliere Null[13] von Einfluß. Dieses leere Intervall ist, wie schon erwähnt wurde, eine Apparatkonstante und kann durch Verändern der Weite des Tubusspaltes und eventuell in geringerem Maße durch Verändern der Entfernung Objektiv—Tubusspalt variiert werden. Mit der Änderung des leeren Intervalls wird auch die Entfernung der beiden Schatten in der Nullstellung eine andere. Nach der Einstellung der Nullage des Tubus wird die adjustierte Küvette auf dem Objekttisch so verschoben, daß die Kapillarspitze bzw. deren linker Rand zugleich mit dem Rand des linken unscharfen Schattens den Teilstrich Null der Skala deckt. Unsere gewählte Nullstellung bedingt, daß der linke Rand der Kapillare etwa bei Teil-

[12] Gemeint ist Schatten *a* von Fig. 8, S. 279, der I. Mitteilung.

[13] Monatsh. Chem. *50*, S. 281, Fig. 11, und S. 282, bzw. Sitzb. Ak. Wiss. Wien (II b) *137*, S. 757, Fig. 11, und 758. Das leere Intervall der Schliere Null ist bekanntlich jene Strecke, welche die Kapillarspitze zurücklegt, wenn man sie von der Nullstellung aus durch Drehen des Tubus ins helle Feld und weiter bis zur zweiten „empfindlichen Einstellung" wandern läßt, bei welcher der linke Rand der Kapillare mit dem unscharfen Schatten, der von rechts kommt, zusammenfällt.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

strich 42 (um beim obigen Beispiel zu bleiben) mit dem ersten unscharfen Schatten, der beim Drehen des Tubus im Sinne des Uhrzeigers von rechts kommt, zusammenfällt[14]. Stellt man durch Zurückdrehen des Tubus wieder auf Null, bringt durch Auspressen der Luftblase die Fließprobe zum Austreten und dreht den Tubus, bis die Schliere nicht mehr oder nur mehr deren Kontur[15] sichtbar ist, sagen wir bei Teilstrich 9, so wird die Schliere beim Weiterdrehen des Tubus etwa beim Teilstrich 31 wieder sichtbar werden. Das leere Intervall wäre demnach 31 minus 9, das ist 22. Subtrahiert man diese Zahl noch von 42, dem leeren Intervall der Schliere Null, so erhält man 20 als Maß für die Schlierenstärke. Bei schwachen Schlieren läßt sich der Teilstrich, bei dem die Schliere verschwindet, gut ermitteln, bei stärkeren Schlieren dagegen schwieriger, da das Schlierenbild nicht mehr völlig verblaßt, sondern nur den Charakter derart ändert, daß eine beiderseitige Kontur[15] stets zu sehen ist. Dadurch wird der Meßbereich begrenzt. Der doppelten Messung wurde dieselbe Nullage zugrunde gelegt, die in Fig. 11, I, der ersten Mitteilung abgebildet ist.

4. Die Methode der doppelten Messung bietet wesentlich die folgenden zwei Vorteile gegenüber der einfachen Messung: Erstens wird die Unsicherheit, die der einfachen Messung anhaftet (1 bis 2 Teilstriche), und die bei nicht sehr exakter Einstellung auf die Nullage noch weiter erhöht werden kann, bei der doppelten Messung vermindert, weil Fehlerkompensation durch Subtraktion von der korrespondierenden zweiten Ablesung eintritt, und zweitens macht die doppelte Messung auch das Messen n i c h t lotrecht ausströmender Schlieren möglich, während die einfache Meßmethode in diesem Falle versagt. Folgende drei Versuche veranschaulichen dies:

Tabelle 5.

Fließprobe: Benzol mit 2% Thiophen; Standprobe: Benzol.

I	II	III	IV	
8	30	22	20	1. Versuch
11	33	22	20	2.
9	31	22	20	3.

Die Zahlen in der Vertikalreihe I zeigen die Resultate der einfachen Messung, d. h. die Zahlen geben jenen Teilstrich des Okularmikrometers an, bei dem die Schliere verschwindet. Die Resultate sind infolge des schiefen Ausströmens der Schliere, wie man erkennt, fast unbrauchbar. Die Zahlen der Vertikalreihe II geben den Teilstrich an, bei dem die Schliere wieder erscheint. Durch Subtraktion erhält man die Zahlen der Vertikalreihe III, sie entsprechen dem leeren Intervall der Schliere. In der IV. Vertikalreihe endlich finden wir die Schlierenstärken, die sich aus dem nach der Methode der doppelten Messung ermittelten leeren Intervall durch Subtraktion von 42 ergeben.

Handelt es sich um die Messung stärkerer Schlieren, so wird man

[14] Diese Stellung des Apparates entspricht der zweiten empfindlichen Einstellung, die erste ist die Nullstellung.

[15] Fußnote 17, S. 281 der I. Mitteilung.

mit Vorteil zur schon skizzierten Schattenmethode greifen. Die Nullstellung wird man so wählen, daß der Weg, den die Schliere im unscharfen „ersten" Schatten zurücklegt, hinreichend lang ist. Man wird z. B. jene Stellung als Nullstellung verwenden, bei der der Rand der Kapillare mit dem unscharfen Schattenrand den Teilstrich 25 der Skala des oben erwähnten Okulars 6 deckt.

5. Da die Meßbarkeit einer Schliere eine definierte Form derselben voraussetzt (bei fallenden Schlieren ist sie annähernd zylindrisch), stößt das Messen aufsteigender Schlieren auf Schwierigkeiten. Kann man Fließ- und Standprobe nicht vertauschen, so benützt man eine Kapillare mit U-förmig umgebogener Spitze.

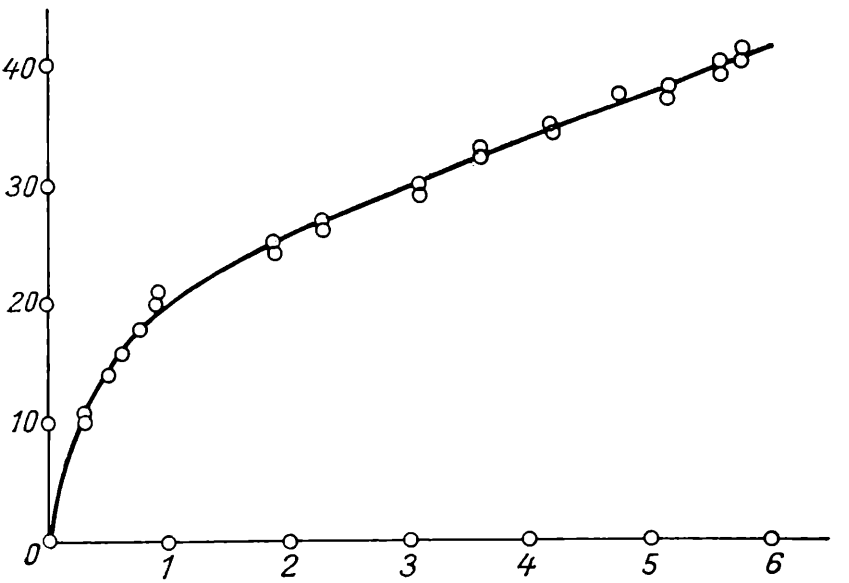


Fig. 4.

6. Die Fig. 4 zeigt die Schlierenstärke, gemessen nach der „doppelten Messung", als Funktion der Brechungsindizes-Differenz zwischen Fließ- und Standprobe, bei Benzol-Toluol-Mischungen.

Auf der Ordinate sind die Schlierenstärken aufgetragen. Die Zahlen auf der Abszisse bedeuten Δn in der 3. Dezimale ($0{\cdot}00\,a$). Analoges wurde auch für Benzol-*p*-Xylol gefunden.

Verwendet man verschiedene Okulare, so ergibt die Schlierenstärke, als Funktion der Konzentration für Salzlösungen dargestellt, die in Fig. 5 und 6 gezeichneten Kurven. Die Werte der Fig. 5 wurden bei Verwendung eines Huygens-Okulars 2 mit einem Mikrometer von 100 Teilstrichen ($= 10\,mm$), die der Fig. 6 bei Verwendung eines Huygens-Okulars 3 mit einem Mikrometer von 50 Teilstrichen ($= 5\,mm$) erhalten.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Als Ordinaten sind wieder die Schlierenstärken aufgetragen, als Abszissen die Konzentrationen der Fließproben, die zu Wasser als Stand-

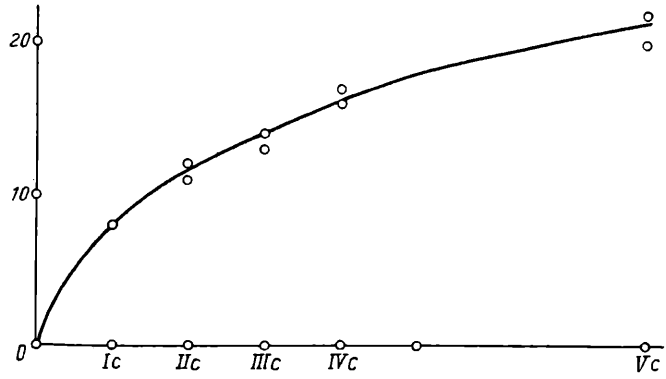


Fig. 5.

probe strömten. Die römischen Ziffern bedeuten die Konzentrationen der zur Aufstellung der Kurven verwendeten Natriumnitratlösungen, wobei be-

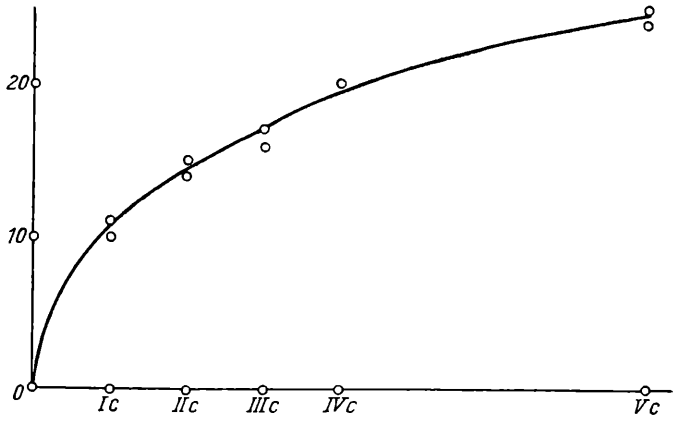


Fig. 6.

merkt sei, daß die Lösung I c in Fig. 5 gleich Lösung I c in Fig. 6 ist usw. Die Lösung V *c* enthält 1·6% Natriumnitrat mit einem $n_D^{20} = 1{\cdot}3350$, die Lösung IV *c* ist 0·8%ig usw.

D. Einfluß der Weite der Ausströmöffnung auf die Schlieren und Wahl der richtigen Kapillaren.

1. Das Resultat einer Schlierenmessung hängt natürlich nicht nur vom Brechungsunterschied zwischen Fließ- und Standprobe ab, sondern innerhalb gewisser Grenzen auch von

der Größe der Ausströmöffnung der Kapillare, von der Form der Schliere und von der Einströmgeschwindigkeit der Fließprobe. Es braucht wohl nicht betont zu werden, daß sich die Weite der Ausströmspitze in erster Linie nach der Viskosität der Flüssigkeit zu richten hat. Ist die Ausströmspitze zu groß, so können falsche Schlieren auftreten. Auch sind größere Ausströmöffnungen deshalb unvorteilhaft, weil das Einströmen der Fließprobe zu schnell erfolgt. Eine zu kleine Ausströmöffnung hingegen beeinträchtigt die Empfindlichkeit. Außer der Größe der Ausströmöffnung ist noch die Flüssigkeitshöhe in der Kapillare und unterhalb gewisser Grenzen (Einfluß der Kapillaritätserscheinungen) auch der Durchmesser des oberen Teiles der Kapillare in Betracht zu ziehen. Um den Einfluß eines dieser Faktoren auf die Schlierenstärke messend verfolgen zu können, müssen natürlich alle anderen Faktoren konstant gehalten werden. Folgende Tabelle zeigt den Einfluß der Größe der Ausströmöffnung und den der Flüssigkeitshöhe in der Kapillare auf die Schlierenstärke.

Tabelle 6.

Höhe der Fließprobe	Schlierenstärke nach der doppelten Messung bei einer Ausströmöffnung von			
	0·174 *mm*	0·145 *mm*	0·116 *mm*	0·087 *mm*
1. Fließprobe: Benzol; Standprobe: Benzol mit etwa 8·9% Toluol†				
5 *cm*	20*	24	23	18
2·5 *cm*	22*	22—23	21	17
0·5 *cm*	23	22	18	16
2. Fließprobe: Benzol; Standprobe: Benzol mit 5·6% Toluol†				
5 *cm*	16*	19	18	15
2·5 *cm*	20	18	17	12
0·5 *cm*	20	17	16	12
3. Fließprobe: Benzol; Standprobe: Benzol mit etwa 1·9% Toluol†				
5 *cm*	12	12	12	7
2·5 *cm*	11, 12	12	10, 10, 5	7
0·5 *cm*	12	11	8	7

† Über die Bedeutung der Prozentzahlen siehe Bemerkung zu Tabelle 8

Mit der Zunahme der Flüssigkeitshöhe und mit der Weite der Ausströmöffnung der Kapillaren steigt, wie die Versuche zeigen, die Schlierenintensität nicht unbegrenzt. — Die mit Sternchen markierten Zahlen sind entgegen den Erwartungen

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

niedriger als die benachbarten. Über diese Erscheinungen wird unter „falsche Schlieren" später berichtet werden [16].

2. Eine brauchbare Kapillare muß so beschaffen sein, daß falsche Schlieren nicht auftreten können, die Ausströmgeschwindigkeit aber hinreicht, ein Δn von 0·0001 deutlich anzuzeigen. Will man zwecks eingehender Beobachtung der Erscheinung ein zu rasches Ausfließen der Probe vermeiden, so kann man dies durch Wahl einer kleineren Ausströmöffnung erreichen, allerdings auf Kosten der Empfindlichkeit. Natürlich hält man eine Reihe von Kapillaren mit gemessenen, verschieden großen Ausströmspitzen [17] vorrätig.

Die Wahl der richtigen Kapillare erfolgt empirisch in der Art, daß man ein und dieselbe Lösung, für die man die geeignete Kapillare sucht, sowohl in die Küvette füllt wie auch als Fließprobe verwendet. Die Kapillare wird bis zu einer Höhe von etwa 5 *cm*, die feine Spitze nicht eingerechnet, gefüllt und das Zusammenfließen veranlaßt. Tritt hiebei keine falsche Schliere auf, so wiederholt man den Versuch mit der nächst weiteren Kapillare usw., bis die ersten falschen Schlieren auftreten. Die nächst niedrigere Kapillare (Durchmesser um 0·02 bis 0·05 *mm* kleiner) wird bei einer Flüssigkeitshöhe von 2 *cm* zu den Messungen verwendet. In vielen Fällen wird man überhaupt keine falschen Schlieren beobachten.

Handelt es sich nicht um quantitative Versuche oder legt man keinen Wert auf größtmögliche Empfindlichkeit, dann kann man rascher zum Ziele kommen, wenn man aus der vertikal gehaltenen, 5 bis 7 *cm* hoch mit der Flüssigkeit gefüllten Kapillare die Fließprobe frei austreten läßt; es sollen höchstens ein bis zwei Tropfen in etwa 20 Sekunden ausfließen.

II. Abschnitt.

Untersuchung von binären Systemen und Feststellung von Verunreinigungen in flüssigen (organischen) Stoffen.

A. Allgemeines.

1. Der Brechungsexponent, welcher bekanntlich ein sehr präzises Charakteristikum für einen Stoff darstellt, kann durch

[16] Indem man die eine Probe fließen läßt, während sich die andere in Ruhe befindet, bringt man eine Asymmetrie in das System, denn die fließende Probe ist als energiereicher mit der stehenden als energieärmer nicht strenge vergleichbar. Wir haben in der bisherigen Versuchstechnik diesen Übelstand mit in Kauf genommen, weil sich die experimentelle Behandlung des Gebietes auf diese Weise am einfachsten durchführen ließ, und weil sich die Fehler, die durch diese Asymmetrie verschuldet werden, durch Wahl entsprechender Versuchsbedingungen ausschalten haben lassen. (Prüfung durch Vertauschen von Fließ- und Standprobe.) Es ist anzunehmen, daß jene Fälle, in denen falsche Schlieren beobachtet worden sind, auf diese Asymmetrie zurückzuführen sein dürften. Auch sind schon Versuche im Gang, bei denen wir den gedachten Übelstand ausschalten werden; wie weit sich diese Art von Versuchen auf kleine Substanzmengen anwenden lassen wird, ist derzeit noch nicht entschieden.

[17] Die Kapillaren wurden in vertikaler Stellung im Mikroskop ausgemessen. Zum Festhalten der Kapillaren verwenden wir die federnde Zange, welche im Mikrochem. Praktikum, S. 96, erwähnt wird.

einfache refraktometrische oder interferometrische Messung ermittelt werden. Verfolgt man aber die Literaturangaben über den Brechungsexponenten, z. B. von Benzol, so zeigen sich Unstimmigkeiten bei den Angaben der einzelnen Autoren.

Tabelle 7.

Benzol n_D^{20}	
Knops (Liebigs Ann. *248*, 1888, S. 206)	1·50111
Weegmann (Z. physikal. Chem. *2*, 1888, S. 216) . .	1·50144
Mitsukuri u. Nakatsuchi (Chem. Centr. 1926, II, S. 545)	1·50153
Pawlow (Chem. Centr. 1927, II, S. 1126)	1·5010

Ähnliche Differenzen findet man auch bei anderen Stoffen, z. B. bei Toluol[18] usw.

Diese Differenzen dürften weniger auf ungenaue Messung als vielmehr auf den nicht gleichen Reinheitsgrad der verwendeten Substanzen zurückzuführen sein.

2. Da Stoffe (bzw. Stoffgemische) von ungleichem Brechungsindex u. a. beim Zusammenfließen Schlieren geben, bestand die erste Aufgabe immer darin, die geringsten Mengen eines Nebenstoffes *B* (der Verunreinigung von *A*) zu ermitteln, die eben wahrnehmbare Schlieren erzeugen, wenn z. B. $A + B$ zu *A* fließt. Die zu einer solchen Schlierenbildung erforderliche Menge der Verunreinigung wird um so geringer sein, je größer der Brechungsunterschied zwischen den beiden Stoffen *A* und *B* ist, und im übrigen durch den Verlauf der Brechungsindexkurve des betreffenden Flüssigkeitssystems bestimmt werden. An den Reinheitsgrad der zu diesen und den folgenden Destillations- und Ausfrierversuchen verwendeten Stoffe wurden ziemlich große Anforderungen gestellt.

Die im Handel erhältlichen Produkte entsprachen in dieser Hinsicht vielfach nicht, sie wurden daher durch sorgfältige Fraktionierung, wo diese versagte durch Ausfrieren oder chemisch nach bekannten Vorschriften gereinigt, wobei der Reinigungsverlauf bereits mit der Schlierenmethode kontrolliert wurde; sie erwies sich als empfindlicher und vor allem einfacher als andere Kontrollmethoden. Der Gang eines Versuches war kurz folgender.

Entsprechend dem Brechungsunterschied der beiden Flüssigkeiten stellte man zunächst eine z. B. 1%ige Lösung von *B* in *A* her, so daß man, nach der Mischungsregel berechnet, noch hinreichend starke Schlieren erwarten konnte, wenn man diese Lösung zu reinem *A* fließen ließ. Traten sie auf, so wiederholte man in gleicher Weise den Versuch mit einer 0·8%-, 0·5%igen Lösung usw. und markierte jene Lösung als Grenze, bei der eben noch deutliche Schlieren auftraten.

[18] Landoldt-Börnstein, Tabellen 1924, Mitsukuri, Chem. Centr. 1926, II, S. 545.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Die folgende Übersicht zeigt die bei den einzelnen Systemen gefundenen Grenzzahlen und die Ausmaße der verwendeten Kapillaren.

Tabelle 8.

Grenzschlieren geben:		Durchmesser der Ausströmspitze
Benzol + 1% bis 1·5% Toluol*	gegen Benzol	0·145 *mm* [1]
Toluol + 2% Benzol	Toluol	0·145
Benzol + 0·3% Thiophen	Benzol	0·145
Thiophen + 0·3% Benzol	Thiophen	0·145
Benzol + 0·25% *p*-Xylol	Benzol	0·145
p-Xylol + 2% Benzol.	*p*-Xylol.	0·145
p-Xylol + 15% *m*-Xylol.	*p*-Xylol.	0·145
m-Xylol + 15% *p*-Xylol.	*m*-Xylol	0·145
p-Xylol + 25% Äthylbenzol	*p*-Xylol.	0·145
Äthylbenzol + 25% *p*-Xylol	Äthylbenzol.	0·145
m-Xylol + 10% Äthylbenzol.	*m*-Xylol	0·145
Äthylbenzol + 15% *m*-Xylol.	Äthylbenzol	0·145
Methylalkohol + 0·25% Azeton	Methylalkohol.	0·145
Azeton + 2% Methylalkohol.	Azeton.	0·05—0·09 *mm*
Äthylidenchlorid + 0·1% Äthylenchlorid	gegen Äthylidenchlorid [3]	0·14 *mm*
Äthylenbromid + 0·2% Äthylidenchlorid	gegen Äthylenbromid	0·20 *mm*
Chloroform + 0·5% Tetrachlorkohlenstoff	gegen Chloroform	0·16 *mm*
Tetrachlorkohlenstoff + 0·5% Chloroform	gegen Tetrachlorkohlenstoff	0·16 *mm*
Wasser + 0·06% Glyzerin	gegen Wasser	0·13 *mm* [4]

[1] Beobachter: Rašin.
[2] Schally.
[3] Häusler.
[4] Alber.

3. Da sich die Brechungsexponenten dieser Gemische gewöhnlich nicht nach der Mischungsregel ändern, der Zusammenhang mit den Resultaten der Schlierenmethode aber doch dargetan werden sollte, wurden die Brechungsquotienten der Gemische für jene Systeme, für die in der Literatur keine entsprechenden Angaben gefunden werden konnten, mittels eines Abbeschen Refraktometers mit heizbaren Prismen bestimmt. Die hier gefundenen Zusammenhänge und die daraus gezogenen Folgerungen, die wesentlich für alle untersuchten Systeme gelten, sollen am Beispiel Benzol-Toluol erläutert werden. Die Kurve verläuft konvex zur Abszisse. Siehe Fig. 7. Bei Systemen, in denen die Kurve konkav zur Abszisse verläuft, z. B. Methylalkohol-Azeton, gilt Analoges.

Das Maximum der Abweichung von der Geraden $\overline{M\,N}$, die n_D^{20} Toluol mit n_D^{20} Benzol verbindet und den nach der Mischungsregel errechneten Werten entspricht, liegt bei etwa

* Hier und in allen folgenden Tabellen beziehen sich die Prozentangaben auf 100 Teile des Gemisches.

60 bis 70% Toluol, dem Gebiet, in dem ein Maximum an Volumvermehrung anzunehmen ist. Es liegt in der Natur der Sache, daß dort, wo die Kurve steil zur Abszisse verläuft, kleinere Mengen von Verunreinigungen entdeckt werden können, als dort, wo die Kurve flach verläuft.

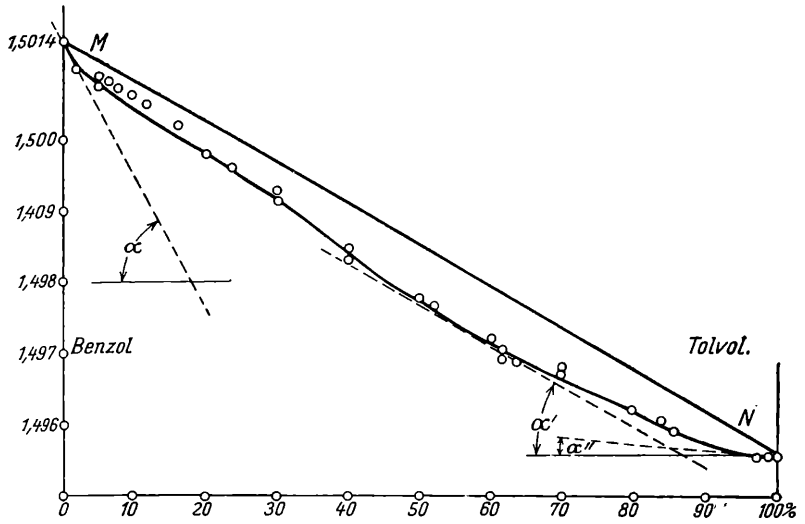


Fig. 7.

Wir glauben, daß es nicht notwendig ist, die weiteren Konsequenzen, die sich bei der Betrachtung der Brechungsindexkurve und der Schlierenmethode als Differenzmethode in einfacher Weise ergeben, besonders diskutieren zu müssen, sondern beschränken uns auf folgende Angaben:

a) Die Empfindlichkeit des Schlierenmikroskops bestimmten wir in Anlehnung an die Mischungsregel bei den verschiedenen Systemen in jenen Konzentrationsbereichen, in denen die Tangente an die Brechungsindexkurven annähernd parallel der Verbindungsgeraden von n_D^{20} für Stoff A und n_D^{20} für Stoff B verläuft.

Eine Mischung von A und B der Konzentration C_1 wurde zu einer Mischung von A und B der Zusammensetzung C_2 fließen gelassen. Lösung C_1 und Lösung C_2 wurden aus A und B hergestellt und ihre Zusammensetzung war bekannt. Lieferten die Lösungen C_1 und C_2 beim Zusammenfließen Grenzschlieren, so gab der nach der Mischungsregel aus C_1 und C_2 errechenbare Brechungsunterschied zwischen beiden die Empfindlichkeit des Schlierenapparates, wenn C_1 und C_2 im geforderten Bereich lagen.

Für alle untersuchten Systeme ergab sich auf diese Weise ein übereinstimmender Wert der Empfindlichkeit.

b) Weiters zeigen diese Versuche, daß die Angaben des

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Schlierenapparates hier mit den Refraktometerangaben symbat gehen. Die Bestimmung der Grenzschlieren und das Messen von Schlieren, die beim Zusammenfließen von Gemischen bekannter Zusammensetzung erhalten werden, gibt somit einen Hinweis auf den Verlauf einer Refraktometerkurve. Es braucht wohl nicht besonders hervorgehoben zu werden, daß sich daraus und aus dem bei der Besprechung der Meßverfahren Gebrachten die Möglichkeit ergibt, die Zusammensetzung eines Gemisches zweier bekannter Komponenten zu ermitteln.

Die Bildung von falschen Schlieren, die auf eine Temperaturdifferenz zwischen Fließ- und Standproben zurückzuführen wären, kann man bei dieser Versuchsanordnung leicht vermeiden, wenn man Fließkapillare und Küvette vor der Beobachtung fünf Minuten lang auf einer Metallunterlage (Aluminiumwellblech) temperieren läßt.

4. Ist eine homogene Flüssigkeit auf ihre Reinheit zu prüfen und steht keine Testlösung zur Verfügung, so hat man unter anderem die Möglichkeit, die Probe entweder durch fraktionierte Destillation oder durch Kristallisation zu zerlegen, die erhaltenen Komponenten (Destillat-Phlegma[19], Kristallisat-Mutterlauge) auf Identität zu prüfen und aus dem Resultat einen Schluß auf die Reinheit der untersuchten Probe zu ziehen.

Die Möglichkeit, die binären Flüssigkeitssysteme auf ihr Verhalten beim Verdampfen und Erstarren zu untersuchen, besteht aus den oben dargelegten Gründen; welche besonderen Vorteile hier durch Anwendung der Schlierenmethode erwachsen, werden wir später zeigen.

B. Destillation und Schlierenmethode.

1. In rein qualitativer Hinsicht kommen zuerst die folgenden zwei Fälle in Betracht:

a) Ständige, einfache und rasche Kontrolle des Destillationsvorganges. Etwa ein bis zwei Tropfen des fortwährend aus dem Liebigschen Kühler fließenden Destillates werden in eine Küvette gebracht und der nächste oder übernächste, eventuell erst der 10. oder 20. Tropfen wird in eine Kapillare gesaugt. Je nach der Reinheit der destillierenden Substanz wird schon der nächste oder erst ein später folgender Tropfen gegen die früher in die Küvette gebrachten (nach dem Temperaturausgleich) eine Schliere geben. Vollkommen reine Stoffe, die ein einheitliches Destillat liefern, geben dabei natürlich keine Schlieren. Bei im Handel erhältlichen Äthylenchlorid und Bromoform, die über einem Hempelaufsatz destilliert wurden, erwies sich diese Kontrolle empfindlicher als die mittels des Fraktionierthermometers.

[19] Wir benützen die bequeme Bezeichnung „Phlegma" für den im Destillationskölbchen zurückbleibenden Teil der fraktionierten Probe, u. zw. auch dann, wenn er nur um ein geringes schwerer flüchtig ist als das Destillat.

b) Die Destillation mit geringen Flüssigkeitsmengen, wobei das Destillat z. B. als Standprobe, das Phlegma als Fließprobe bzw. umgekehrt dienten, erfolgte in Apparaten, wie sie die Fig. 8 zeigt. Die Verwendung einer mit Porzellanschrot beschickten Kolonne ist oft zweckmäßig, doch nicht in allen Fällen erforderlich. Siehe dazu:

Tabelle 9.

Probe	Schlierenstärke, dopp. Messung: Destillat zu Phlegma	
	Kleiner Apparat	Kolonnenapparat
Benzol + 8·95% Toluol[20] (ca. 20% Destillat)	15	20
Benzol + 7·3% Toluol (20% Destillat) ..	12	19
Benzol + 5·6% Toluol (10% Destillat) ...	11	15
Benzol + 3·8% Toluol (10% Destillat) ...	10	12
Benzol + 1·93% Toluol (10% Destillat)	8	10, 11

Für das Arbeiten mit dem kleinen Apparat I, Fig. 8, sind, wenn man die Schliere außerdem messen will, etwa 0·1 cm^3, für die größeren Apparate II und III mit Kolonne unter den

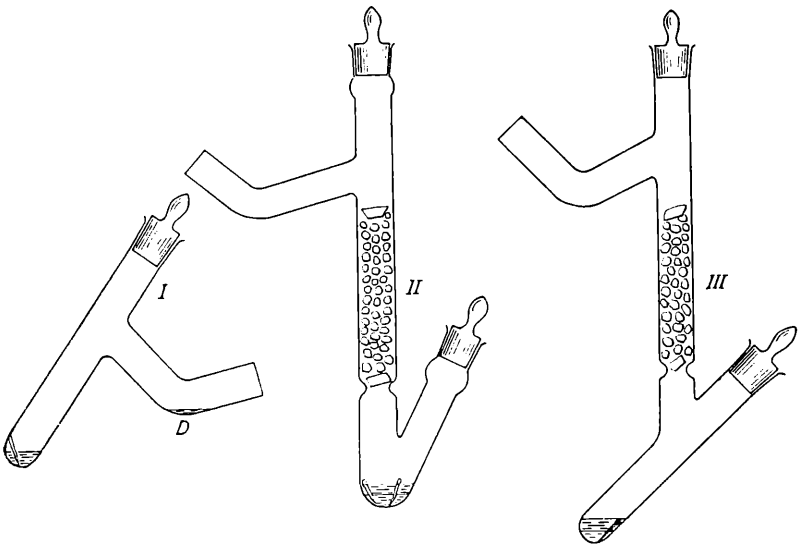


Fig. 8.

gleichen Bedingungen etwa 0·1 bis 0·3 cm^3 der zu untersuchenden Flüssigkeit nötig.

[20] Vergleiche die Bemerkung zu Tabelle 8.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Mit Hilfe der aus Fig. 9 ersichtlichen Kapillarpipettchen wird der Destillationsapparat beschickt; um das Stoßen zu verhindern, werden noch einige „Siedekapillaren" dazugegeben[21]. Das Erhitzen erfolgt je nach dem Siedepunkt der Flüssigkeit über dem Mikroflämmchen oder auf dem Wasserbad. Will man das Destillat z. B. als Fließprobe verwenden, so kann man es gleich in die Fließkapillare aufsaugen, oder, wenn man Veränderung beim Abkühlen durch partielles Verdampfen befürchtet, rasch in eine Kapillare einschmelzen. Erst nach erfolgter Abkühlung saugt man dann die Lösung in die Fließkapillare. Das gleiche kann mit dem Phlegma geschehen, welches mittels eines Kapillarpipettchens in die Küvette übergefüllt wird.

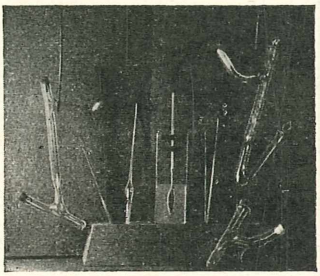


Fig. 9.

Die Öffnung der Vorlage kann während der Destillation mit einem Bäuschchen entfetteter Watte, mit einem $CaCl_2$- oder Kalkröhrchen verschlossen werden.

2. Handelt es sich nicht um rein qualitative, sondern um annähernd quantitative Versuche, z. B. um Ermittlung einer Destillationskurve, so wird man nicht Destillat zum Phlegma bzw. umgekehrt fließen lassen, sondern das Destillat, eventuell das Phlegma zu einer Probe der nicht destillierten Lösung. Die Stärke der Schlieren, die man nach einer Destillation durch Zusammenfließenlassen der erhaltenen Teillösungen bekommen kann, hängt von verschiedenen Faktoren ab, deren Konstanthaltung für reproduzierbare Resultate Grundbedingung ist. Beim Studium der Destillationsvorgänge ist es oft bekanntlich notwendig, daß man von einer gegebenen Flüssigkeitsmenge nur so viel abdestilliert, daß die Zusammensetzung derselben durch die Destillation praktisch nicht geändert wird. Bei Verwendung kleiner Mengen ist diese Forderung natürlich schwer zu erfüllen. Immerhin lassen sich brauchbare Resultate erzielen, wenn man das Verhältnis (Destillat zur verwendeten Flüssigkeitsmenge) annähernd konstant hält. Der Charakter der Schlieren ändert sich bei Änderung dieses Verhältnisses nicht, wohl aber ihre Stärke. Weiters ist selbstredend die Wirksamkeit der Destillationseinrichtung von Einfluß auf das Resultat. Daß endlich der Unterschied der Siedepunkte sowie jener der Brechungsindizes der das System aufbauenden Komponenten ins Gewicht fällt, braucht nicht hervorgehoben zu werden. Die Zusammenhänge zwischen Schlierenstärke und Destillatmenge können mit Hilfe der schematischen Zeichnung, Fig. 10, klargelegt werden.

[21] Unsere Siedekapillaren sind ½ bis 1 *cm* lang, am oberen Ende zugeschmolzen, unten fein ausgezogen. Äußerer Durchmesser etwa 1 *mm*.

Die Kurve $K_p K'_p$ stellt die Siedepunkte des Systems $(100-n)\%$ $A + n\%$ B dar. Der Teil des Diagrammes unterhalb der Konzentrationsachse 0% B bis 100% B gibt die jeweiligen Mengen Destillat und Phlegma an in der Weise, daß der schraffierte Teil dem Destillat, der nicht schraffierte

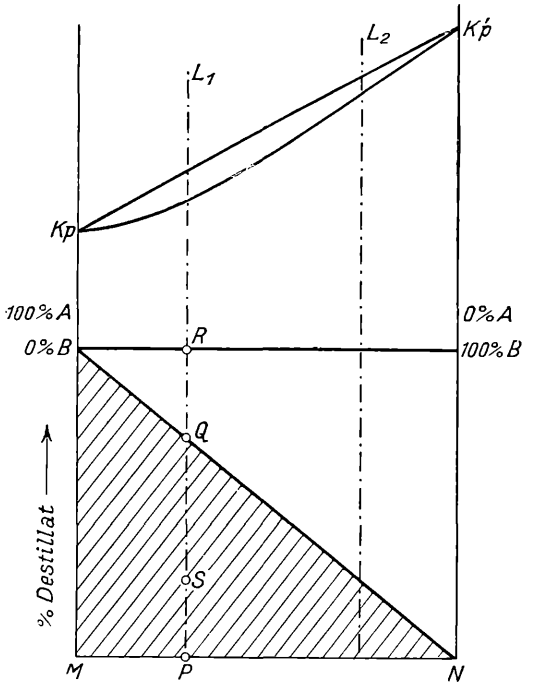


Fig. 10.

Teil dem Phlegma entspräche. Bei einer idealen Trennung (die man auf dem Wege der Destillation selbstverständlich niemals erreichen kann) müßte die Lösung L_1 beispielsweise in das Destillat von der Menge $\overline{PQ}$ und in das Phlegma von der Menge $\overline{QR}$ zerlegt werden. Um also die Lösung L_1 möglichst ideal in ihre Komponenten zu zerlegen, sollte man die Destillation d a n n unterbrechen, wenn sich in der Vorlage die Menge $\overline{PQ}$ des Destillats angesammelt hat. Würde man z. B. weniger abdestillieren, als die Überlegung verlangt, etwa nur bis $\overline{PS}$, so hätte zwar das Destillat annähernd die verlangte Zusammensetzung, doch das Phlegma würde noch beträchtliche Mengen von A enthalten.

Die Schlieren Destillat-Phlegma sind daher im zweiten Falle s c h w ä c h e r als im ersten, wo mehr abdestilliert wurde. Umgekehrt liegt die Sache bei einer Mischung L_2, bei der man die stärksten Schlieren erhält, wenn man nur wenig abdestilliert. Könnte man bei den verschiedenen Gemischen eines binären Systems die Destillation stets so führen, daß man der idealen Trennung möglichst nahekommt (Variation der Destillatmenge), dann könnte man wohl bei allen Gemischen eines Systems ziemlich gleich starke Schlieren erhalten.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

3. Unterbrochene Destillation. a) Um also bei Reinheitsprüfungen möglichste Empfindlichkeit zu erreichen, soll man die Menge des Destillates der vermuteten Zusammensetzung der zu fraktionierenden Lösung anpassen. Systematische Versuche mit einer Mischung von Chloroform und 1% Tetrachlorkohlenstoff und mit anderen Systemen ergaben, daß es zur Auffindung von Verunreinigungen in vielen Fällen angezeigt ist, z. B. folgendermaßen zu destillieren. Ein ganz geringer Teil wird abdestilliert und das Destillat in die Fließkapillare aufgenommen, hernach wird der Hauptteil abdestilliert und verworfen, erst der letzte Rest des Rückstandes dient als Standprobe. Die nach diesem Destillationsverfahren erhaltenen Schlieren sind in vielen Fällen stärker als die nach der einfachen Destillation beobachteten. So hat man sich also von der Zusammensetzung der zu fraktionierenden Lösung insofern unabhängig gemacht, als man die Menge des Destillates konstant halten kann und trotzdem die besterreichbare Empfindlichkeit (wieder im Sinne der Reinheitsprüfung) gewährleistet ist. Die gleiche Überlegung ergibt sich aus Fig. 10.

Tabelle 10 zeigt die mittels Destillation und Schlierenbeobachtung eben noch auffindbaren Mengen der Nebenstoffe, wenn man Destillat zu Phlegma bzw. umgekehrt fließen läßt.

Tabelle 10.

Benzol + 2% Toluol[1]	
Toluol + 1·5% Benzol[1]	
Benzol + 1% *p*-Xylol[1]	
p-Xylol + 1% Benzol[1]	
m-Xylol + 50% *p*-Xylol[1]	
p-Xylol + 50% *m*-Xylol[1]	
Benzol + 1% Thiophen[1]	
Thiophen + 1% Benzol[1]	
Äthylenbromid + 0·1% Äthylidenchlorid[2]	
Tetrachlorkohlenstoff + 0·25% Chloroform[2]	
Äthylidenchlorid + 0·1% Äthylenchlorid[2]	
Äthylenbromid + 0·01% Äthylenchlorid[2]	
Etwa 1% Azeton in Methylalkohol[3]	
15—16% Methylalkohol in Azeton[3]	

[1] Beobachter: Rašin.
[2] Häusler.
[3] Schally.

b) Eine kleine Abänderung des eben besprochenen Destillationsverfahrens, die bei Anwesenheit sehr geringer Mengen schwer flüchtiger Verunreinigungen zweckmäßig ist, besteht darin, daß man, wie vorhin beschrieben wurde, verfährt, nur mit dem Unterschied, daß man je nach Erfordernis erneut ursprüngliche Flüssigkeit der Destillation zuführt und wieder einen

letzten verbleibenden Rückstand gegen das erste abgenommene Destillat prüft (Schally).

4. Nun soll noch kurz auf jene Beobachtungen eingegangen werden, die man macht, wenn Hoch- oder Tiefsiedegemische im System vorliegen.

a) Als Hochsiedegemisch wurde das System Ameisensäure-Wasser[22] verwendet. Das Hochsiedegemisch verhält sich wie ein einheitlicher Stoff und gibt nach dem Destillationsverfahren keine Schliere. Bei einem Gemisch mit weniger Ameisensäure wird diese bei der Destillation im Phlegma angereichert, welches sich damit der Zusammensetzung des Hochsiedegemisches nähert. Destillat zu Phlegma gibt in diesem Bereich — ↑ Schlieren. Phlegma zur ursprünglichen Probe gibt + ↓ Schlieren (Anreicherung der Ameisensäure). Bei einem Gemisch mit mehr Ameisensäure, als dem Hochsiedegemisch entspricht, wird sich Ameisensäure im Destillat anreichern, die erhaltenen Schlieren sind entgegengesetzt den früheren orientiert. Tritt eine solche Umkehrung der Orientierung der Schlieren auf, so kann man schließen, daß die Siedepunktskurve des Systems ein Maximum oder Minimum aufweist, da bei normalem Verhalten die Orientierung der Schlieren im gesamten Konzentrationsgebiet der Mischungen gleichbleibt. Während also bei normalem Verhalten die Schlierenstärke z. B. von Destillat gegen Phlegma (oder gegen die ursprüngliche Probe) bei Mischungen von *A* mit *B* mit steigendem Gehalt an *B* bis zu einem gewissen Bereich stetig zunimmt, um dann wieder abzunehmen und beim reinen Stoff *B* Null zu werden, nimmt, wenn ein Hoch- oder Tiefsiedegemisch vorliegt, die Schlierenstärke wie oben zu, dann wieder ab, wird beim Hochsiedegemisch Null, um beim weiteren Ansteigen des Gehaltes an *B* wieder Schlieren zu geben, jedoch solche mit entgegengesetzter Orientierung.

b) Das Tiefsiedegemisch Äthylalkohol-Benzol[23]. Alkoholreichere Gemische geben starke + ↓ Schlieren, wenn das Destillat zum Phlegma oder zur ursprünglichen Lösung fließt. Benzolreichere Gemische liefern dagegen — ↑ Schlieren. In der Nähe des Tiefsiedegemisches sind die Schlieren sehr schwach, jedoch ist es schwierig, den Fall der Schlierenfreiheit zu verwirklichen. Es sei noch bemerkt, daß die schwere Mischbarkeit zwischen Benzol und Alkohol eigenartige Schlierenphänomene zur Folge hat, über die vielleicht an anderer Stelle genauer berichtet werden wird. Vgl. übrigens das dritte Kapitel.

---

[22] Roscoe, Liebigs Ann. *125*, 1863, S. 320. Siedepunkt der Ameisensäure 100·8° C Siedepunkt des Hochsiedegemisches 107·1° C. Zusammensetzung 22·5 Gewichtsprozent Wasser und 77·5% Ameisensäure.

[23] Zit. nach Beilstein, 4. Aufl., *5*, S. 183. Benzol Kp. 80·4° C, Äthylalkohol Kp. 78·3° C. Siedepunkt des Tiefsiedegemisches 63·24° C, die Zusammensetzung desselben ist 67·64% Benzol und 32·36% Alkohol.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

5. Zusammenfassend ist zu sagen: Unterwirft man eine Flüssigkeit der eben geschilderten Destillation und prüft Destillat gegen Phlegma im Schlierenapparat, so beweisen auftretende Schlieren, daß die untersuchte Substanz nicht einheitlich war; Schlierenorientierung und Fließrichtung geben wertvolle Anhaltspunkte. Steigt die Schlierenstärke bei zunehmender Menge an Destillat, dann ist der leichter flüchtige Stoff in der Regel Hauptbestandteil, sinkt dagegen die Schlierenstärke, dann besteht die Mischung hauptsächlich aus dem schwerer flüchtigen Anteil.

Treten bei der Destillation keine Schlieren auf, dann kann, abgesehen von Konstantsiedegemischen, der reine Stoff vorliegen, oder die Empfindlichkeit der Methode reicht nicht hin, vorhandene Verunreinigungen nachzuweisen. Im Falle von gleicher Lichtbrechung versagt natürlich jede derartige Methode, vorausgesetzt, daß es sich wirklich, wie wir angenommen haben, um nur zwei Bestandteile handelt. Liefert die Destillation negative Resultate und liegt doch der Verdacht auf Verunreinigung vor, so kann die fraktionierte Kristallisation zum Ziele führen.

C. Fraktionierte Kristallisation und Schlierenmethode.

1. Prinzip. Läßt man ein binäres Gemisch teilweise erstarren und trennt die Kristalle von der Mutterlauge, so werden die Kristalle an dem Stoff mit höherem Schmelzpunkt reicher sein, wogegen sich in der Mutterlauge der Stoff mit niedrigerem Schmelzpunkt anhäuft. Läßt man die geschmolzenen Kristalle nach dem Temperaturausgleich zur Mutterlauge fließen, so wird, von besonderen Fällen abgesehen, Schlierenbildung eintreten, wenn der ursprüngliche Stoff nicht einheitlich war.

2. Ausführung. Als Versuchsflüssigkeit diente Äthylenbromid. Da dasselbe, durch fraktionierte Destillation gereinigt, für die Ausfrierversuche noch nicht hinreichend rein war, behandelten wir größere Mengen auf folgende Weise:

a) Etwa 100 cm^3 werden in einem Becherglas in einer Eis-Kochsalzmischung zum Erstarren gebracht. Durch nachheriges gelindes Erwärmen wird ein kleiner Teil auftauen gelassen, hierauf der Kristallkuchen zerstoßen und eventuell unter eifrigem Rühren wieder in die Kältemischung gebracht. Hernach saugt man mittels eines größeren Filterstäbchens (Tauchfilter) die „Mutterlauge“ von den Kristallen ab. Bringt man z. B. von der Mutterlauge etwas in eine Kapillare, von den aufgetauten Kristallen in eine Küvette und beobachtet nach genügendem Temperaturausgleich im Schlierenapparat, so zeigt eine auftretende Schliere an, daß der erwünschte Reinheitsgrad noch nicht vorliegt. Erst nach neunmaligem Ausfrieren des schon vorher durch sorgfältige Fraktionierung gereinigten Präparates wurde er erreicht.

b) Ist nun ein Stoff auf seine Reinheit zu prüfen, so kann das Verfahren in einer Eprouvette durchgeführt werden. Das Absaugen der Mutterlauge erfolgt mittels eines Pipettchens mit Asbestfilter. Die auftretende Schliere zeigt eine Verunreinigung an. Daß hier das Mengenverhältnis von Kristallen und Mutterlauge auf die Schlierenstärke von Einfluß ist, versteht sich. Selbst die einzelnen Kristalle scheinen gelegentlich verschiedene Mengen eingeschlossener Mutterlauge zu enthalten, denn sie geben aufgetaut untereinander noch immer zwar zarte, aber doch merkbare Schlieren.

c) Mikrogefriermethode (H. Häusler). Das Arbeiten in der eben beschriebenen Art erfordert mindestens 250 mm^3 Ausgangsmaterial. Für kleinere Substanzmengen erwies sich eine 7 bis 8 cm lange Kapillare sehr geeignet, die an einer verengten Stelle ein Asbestbäuschchen trägt [23a]. (Siehe Fig. 11.)

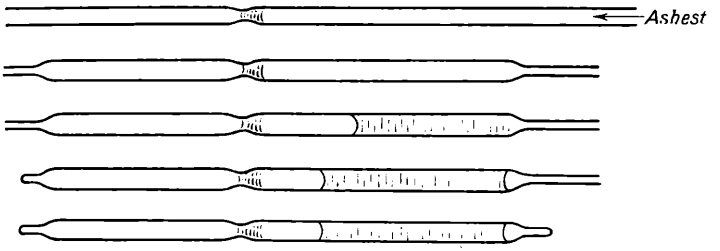


Fig. 11.

Durch das eine, zu einer Spitze ausgezogene Ende saugt man die zu untersuchende Flüssigkeit (z.B. 30 bis 50 mm^3) ein, das andere Ende wird zugeschmolzen. Das Asbestbäuschchen darf nicht benetzt werden. Nach dem Abkühlen des zugeschmolzenen Endes entsteht ein leichtes Vakuum, das ein Nachziehen der eingesaugten Flüssigkeit und damit ein Entfernen derselben aus der Spitze zur Folge hat, so daß nun auch diese zugeschmolzen werden kann [24]. Die Stärke der Kapillare kann je nach der Flüssigkeitsmenge von 1 bis 3 mm äußerem Durchmesser gewählt werden. Mit 6 mm^3 konnten noch Versuche ausgeführt werden. Der mit der Flüssigkeit beschickte Teil des Röhrchens wird in die Kältemischung gebracht. Ist die Masse erstarrt, dann wird das Röhrchen (Fig. 12) in einem Spitzröhrchen zentrifugiert. Die Mutterlauge tritt durch den Pfropfen, die Kristalle backen an der verengten Stelle der Kapillare über dem Asbestbäuschchen zusammen. Nach dem Auftauen läßt man einige Zeit auf

[23a] Vgl. Lehrbuch d. Mikrochemie, S. 46, 50.

[24] Beim Zuschmelzen ist darauf zu achten, daß nicht infolge der Überhitzung nennenswerte Mengen von Verunreinigung in die Proben gelangen.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

einem Blech temperieren. Die Kapillare wird dann bei *a* (Fig. 12) abgeschnitten und die Mutterlauge mittels einer Kapillarpipette in die Küvette überfüllt. Nun wird der zweite Teil des Röhrchens bei *b* abgeschnitten und dessen Inhalt als Fließprobe in die Kapillare gesaugt. Wenn man das „Ausfrierröhrchen" an beiden Enden vor dem Abschmelzen zu einer Spitze auszieht, kann man sich das Überfüllen in die Kapillar-

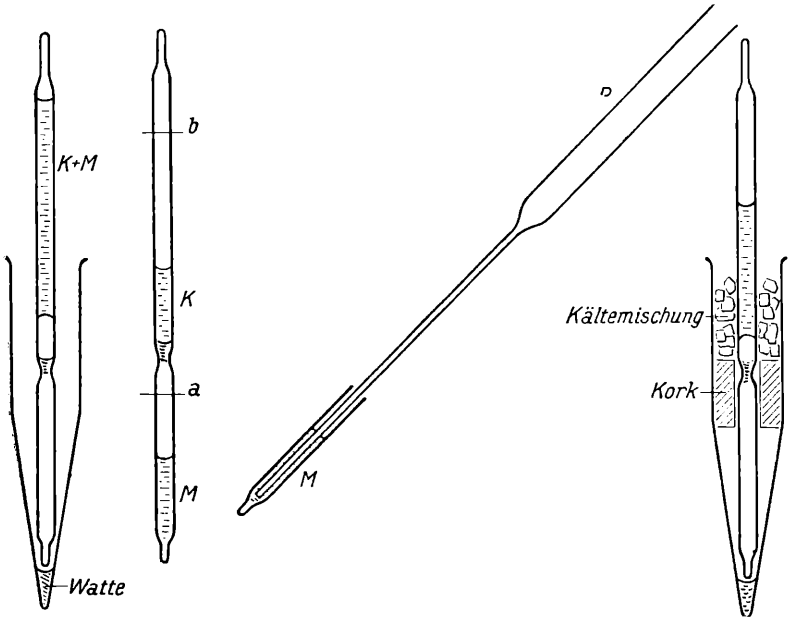


Fig. 12.

pipette ersparen, da man den Inhalt des einen Teiles sogleich in die Küvette blasen kann. Dabei ist es allerdings ratsam, beim Zentrifugieren eine geeignete Korkführung im Spitzröhrchen zu verwenden, um das Abbrechen der Spitze zu vermeiden. Ist während des Zentrifugierens ein Auftauen der gesamten Kristallmasse zu befürchten, so kann man sich in der in Fig. 12 rechts ersichtlichen Art helfen.

3. Die Faktoren, die bei diesem Verfahren die Stärke der zwischen Kristallisat und Mutterlauge auftretenden Schlieren bestimmen, sind: a) das Erstarrungsdiagramm; b) die Menge der abgeschleuderten Mutterlauge im Verhältnis zur Gesamtlösung; c) die Wirksamkeit der Fraktioniervorrichtung und selbstverständlich der Brechungsunterschied zwischen den Komponenten. An der Grenze der Nachweisbarkeit liegen die im folgenden angegebenen Mengen der Verunreinigungen:

Tabelle 11.

Benzol mit 0·5% Toluol[1]
Benzol mit 0·5% *p*-Xylol[1]
p-Xylol mit 1% Benzol[1]
p-Xylol mit 15% *m*-Xylol[1]
m-Xylol mit 15% *p*-Xylol[1]
m-Xylol mit 10% Äthylbenzol[1]
p-Xylol mit 25% Äthylbenzol[1]
Benzol mit 1% Tiophen, s. u.[1]
Tiophen mit 1% Benzol, s. u.[1]
Äthylenbromid mit 0·05% Äthylidenchlorid[2]
Äthylenbromid mit 0·25% Äthylenchlorid[2]
Bromoform mit 0·1% Chloroform[2]

Beobachter: Rašin.
Häusler.

4. Liegt ein eutektisches Gemisch vor, so fallen natürlich Ausfrierversuche negativ aus. Bei Systemen, wie z. B. Benzol-Tiophen[25], die eine ununterbrochene Reihe isomorpher Mischkristalle bilden, tritt indes in der Mischungslücke des Diagrammes vorübergehende Entmischung auf. Die Kristalle haben eine andere Zusammensetzung als die Mutterlauge, und es gelang einem von uns (Rašin), dies zu fassen. Ließ er die aufgetauten Kristalle zur Mutterlauge fließen, so erhielt er negative aufsteigende Schlieren. Rasches Arbeiten ist erforderlich, um den Ausgleich zwischen Kristallen und Mutterlauge zu verhindern[26].

5. Endlich sei noch auf die unterbrochene Kristallisation hingewiesen, die sich in vielen Fällen als wirksamer erweist als die einfache Kristallisation. Die dazu von Rašin verwendeten Kapillaren zeigt Fig. 13.

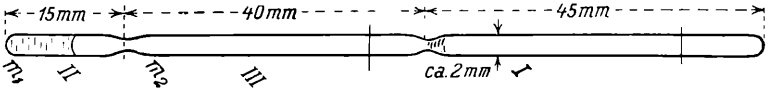


Fig. 13.

Man läßt die Probe (75 bis 100 mm^3) in I erstarren und schleudert die erste Mutterlauge nach II. II mit der Mutterlauge m_1 wird abgeschmolzen. Hierauf bringt man I wieder in das Kältebad, schleudert den größten Teil der schmelzenden Lösung nach III, so daß nur mehr wenig Kristallisat in I zurückbleibt. Dieses wird nun gegen die zuerst erhaltene, im zugeschmolzenen Röhrchen aufbewahrte Mutterlauge fließen gelassen.

Die stärkere Wirkung dieser Fraktionierung zeigt Tabelle 12. Die 2. und 3. Kolonne enthalten die Schlierenstärken.

[25] Zit. nach Landolt-Börnstein, Physikal.-chem. Tabellen, 5. Aufl., S. 693, 704. (Guye und Tsakalotos, J. chim. phys. *8*, 1910, S. 340.)

[26] Da es sich dabei wahrscheinlich um ein Übersättigungsphänomen handelt, kann man für die Reproduzierbarkeit der Versuche wohl kaum garantieren. F. E.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Tabelle 12.

Benzol + % *p*-Xylol	Gewöhnliche Kristallisation	Unterbrochene Kristallisation
0·025	0	+ 2, 3 fallend
0·5	+ 6, 7 fallend	+ 7, 8
1	+ 7, 8	+ 9, 10
2	+10	+13, 14
6	+12	+16
10	+14	+15
20	+14	+17
30	+12, 13	+15
40	+10	+ 7
42	+ 3	+ 4
Eutektikum bei 44·8%		
48	0	— 4 aufsteigend
50	— 4 aufsteigend	— 6
56	— 6	—10
60	—15	—15
70	—15, 16	—16
80	—17	—16, 17
90	—15	—15, 16
94	—11	—11, 12
98	— 3, 4	— 4
99	— 2, ?	—2, Grenze

Ausströmöffnung der Kapillare: 0·145 *mm*; Fließhöhe: 1 *cm*; Mengenverhältnis: etwa 15% Kristalle und etwa 30% Mutterlauge.

D. Schlußbemerkung und Zusammenfassung zum ersten Kapitel.

1. Abschließend sei gesagt, daß sich die Schlierenmethode auch mit anderen Verfahren zur Zerlegung von Flüssigkeitsgemischen, ähnlich wie mit der Destillation und fraktionierten Kristallisation, kombinieren läßt. Man kann hier zunächst an die Zerlegung mittels Absorptionsmittel denken, wobei es für die Anwendung der Schlierenmethode gleichgültig ist, ob die Einwirkung des Adsorbens auf die Flüssigkeit oder auf deren Dampf erfolgt. Aussichtsvoll scheinen nach einigen vorläufigen Beobachtungen namentlich Diffussionsversuche zu sein.

Die Schlierenbeobachtung erweist sich auch als bequeme Methode, um in kurzer Zeit mit verhältnismäßig einfachen Hilfsmitteln durch tastende Versuche unter anderem festzustellen, ob irgendein Agens auf ein Flüssigkeitsgemisch einwirkt und in welchem Mengenverhältnis die Stoffe für eine Reaktion den günstigsten Verlauf geben.

Werden z. B. Mischungen von gleichen Volumteilen Azeton und Methylalkohol oder von 1 Volumteil Azeton mit 2 Volumteilen Methanol in Uviolglasröhren eingeschmolzen und 4 bis 5 Stunden dem Licht einer Quarzlampe oder 2 bis 3 Monate hindurch dem Sonnenlicht ausgesetzt, so geben die belichteten gegen die im Dunklen aufbewahrten Proben positive fallende Schlieren. Bei kürzerer Belichtungszeit geben nur jene Proben Schlieren, welche die Bestandteile im günstigen Verhältnis enthalten. Im obigen Beispiel sind dies jene Gemische, die auf 1 Teil Azeton 2 Teile Methanol enthalten.

Endlich sei auf die außerordentliche Einfachheit aufmerksam gemacht, mit der sich bei Anwendung der Dvořákschen oder gar der visuellen Methode der Schlierenbeobachtung die Reinheitsprüfung von flüssigen und löslichen Stoffen gestaltet. Sowohl bei Anwendung von Testlösungen als auch in Kombination mit der Destillation und fraktionierten Kristallisation findet man eventuell mit einem gebogenen Glasröhrchen als Fraktionierapparat, mit einer Küvette und einer Kapillare das Auslangen.

2. Das vorstehende Kapitel befaßt sich vor allem mit der Schlierenmethode als Hilfsmittel bei Reinheits- und Identitätsprüfungen; daher wird einleitend kurz auf den Begriff „Reinheit einer Substanz" und auf die Zweckmäßigkeit des Gebrauches und einer Erweiterung des Myliusschen Systems der Angabe des Reinheitsgrades hingewiesen.

Bei der Ausarbeitung der Arbeitsweisen wurde auf das Operieren mit kleinen Flüssigkeitsmengen hingezielt (Mikromethode). Als Beobachtungsinstrument diente daher fast ausschließlich das horizontale Schlierenmikroskop, dessen Empfindlichkeit etwas größer als die des Abbeschen Refraktometers ist. Auf die anderen Beobachtungsmöglichkeiten, vor allem auf die Dvořáksche Anordnung, zu Vor- und Kontrollversuchen wird hingewiesen.

Nach ergänzenden Bemerkungen über Küvetten und Kapillaren wird auf die verschiedenen Möglichkeiten der Messung der Schlierenstärke aufmerksam gemacht und die meist verwendete Methode der doppelten Messung nach R. Rašin genau beschrieben.

Um vergleichbare Versuchsresultate zu erhalten, sind die Kapillaren, aus denen sich die Fließprobe in die Standprobe ergießt, in bestimmter Größe zu verwenden, z. B. richtet sich die Weite der Auslauföffnung nach der Viskosität der Fließprobe. Der Durchmesser der Auslauföffnung für verschiedene Fließproben beträgt etwa 0·08 bis gegen 0·2 *mm*.

Ist zur Reinheitsprüfung eine Standardprobe vorhanden, so läßt man diese einfach mit der zu prüfenden Probe zusammenfließen. Tritt dabei keine Schliere auf, so kann eine Zerlegung der zu prüfenden Probe mittels fraktionierter Destillation oder Kristallisation und Prüfung der erhaltenen Teillösungen auf Identität zum Ziele führen. Diese Versuche lassen sich in wenigen Minuten mit einigen Zehntelkubikzentimetern, nötigenfalls

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

noch mit viel weniger Substanz ausführen. In diesem Zusammenhang wird auch eine einfache und empfindliche Kontrolle des Verlaufes der Makrodestillation, die speziell dem Organiker gute Dienste leisten kann, beschrieben.

Die Versuche wurden vorwiegend mit Gemischen zweier organischer Flüssigkeiten ausgeführt.

ZWEITES KAPITEL.

Über die Anwendbarkeit der Schlierenmethode beim Studium von Fermentprozessen; Versuche mit Pepsin.

Von Herbert Alber.

I. Allgemeiner Teil.

Fermentprozesse lassen sich bekanntlich häufig an Hand der Änderung des Brechungsindex verfolgen. Mehrere Forscher haben sich mit dieser Frage beschäftigt, wobei besonders die Gruppe der Proteasen und ihre Einwirkung auf Proteine studiert worden sind[27]. Als Maß für die gelösten Substanzmengen kann die Zunahme des Brechungsindex (Δn) gewählt werden, welche in diesem Falle z. B. der Konzentrationszunahme proportional ist[28].

In der vorliegenden Arbeit wird der Versuch gemacht, die in dieser Weise zustande gekommenen Unterschiede der Brechungsindizes mittels der Schlierenmethode zu verfolgen.

Wir wählten als Ferment Pepsin, als Substrat Fibrin, teilweise auch koaguliertes Hühnereiweiß. Die gedachte Aufgabe kann auf verschiedene Weise gelöst werden.

Man kann erstens die Auflösung des Substrates (Fibrinflocke) unmittelbar in der Küvette beobachten oder zweitens die Fermentlösung in zwei Teile teilen: in den einen bringt man das Substrat, den anderen bewahrt man unverändert auf; nachdem die Fermentwirkung im ersten Teil eine Weile im Gang gewesen ist, werden die beiden Teile gegeneinander im Schlierenapparat geprüft, welche Prüfung wieder rein qualitativ oder quantitativ möglich ist. So ergeben sich die Verfahren, die unter a), b) und c) beschrieben werden.

Falsche Schlieren wurden bei dieser Art von Versuchen niemals beobachtet.

---

[27] E. Kupelwieser, Biochem. Ztschr. *131*, 1922, S. 413; E. Kupelwieser und O. Rösler, daselbst *136*, 1923, S. 38; P. Rostock, Ztschr. f. d. ges. experiment. Medizin, *39*, 1924, S. 385, und *42*, 1924, S. 132. Weitere Literaturangaben finden sich an diesen Stellen und bei F. Löwe, Techn. Fortschrittsberichte, VI., Optische Messungen des Chemikers und Mediziners, Leipzig-Dresden 1925, S. 119.

[28] E. Kupelwieser, Biochem. Ztschr. *131*, 1922, S. 467.

a) Erste qualitative Methode. Die Durchführung des Versuches sei an Hand eines Beispieles gezeigt. Eine Küvette (s. S. 274 der I. Mitteilung) wird mit einer z. B. 5%igen Lösung von käuflichem Azidolpepsin in 0·1%iger Salzsäure gefüllt. Eine 1 bis 2 *mg* schwere Fibrinflocke (z. B. Blutfibrin Merck) wird in 0·1%iger Salzsäure eine halbe Stunde quellen gelassen, dann mit der Fermentlösung zweimal gewaschen, mit Filtrierpapier möglichst von der Benetzungsflüssigkeit befreit und mittels eines Glashäkchens oder Platindrahtes in die Fermentlösung eingehängt. Nach wenigen Minuten gehen positive, fallende Schlieren von der Fibrinflocke aus. Dieser Vorgang, der im Schlierenmikroskop sehr hübsch zu verfolgen ist, läuft auch bei Zimmertemperatur genügend rasch ab und kann daher einem kleinen Zuhörerkreis, z. B. mittels der Dvořákschen Anordnung, sichtbar gemacht werden [29].

Zur Demonstration für ein größeres Auditorium ist eine Projektionsanordnung geeigneter, die eine Anwendung der bekannten Mikroprojektion auf das horizontale Schlierenmikroskop darstellt. Vgl. Fig. *a* und *b*, Taf. I.

Diese Methodik versagt bei Versuchen mit wesentlich geringeren Fermentmengen, da die Schlieren dann zu schwach sind. Die zwei folgenden Methoden sind aus dem Bestreben entstanden, die gesamte Fermentwirkung auf einmal in einer Schliere zur Geltung zu bringen.

b) Zweite qualitative Methode. Fermentlösung und Substrat wirken in einer (mittels Gummikappe) verschließbaren Kapillare in einem Bad von 37° C aufeinander ein; die durch den Auflösungsvorgang konzentrierter gewordene Flüssigkeit wird als Fließprobe zur ursprünglichen Fermentlösung als Standprobe fließen gelassen. Nicht verdaute Fibrinfäserchen werden vorher aus der Lösung durch Zentrifugieren entfernt. Man kann von einer Fermententwicklung sprechen, sobald eine mittelstarke Schliere [30] zu beobachten ist.

Der Vorteil dieser Methode liegt in ihrer großen Einfachheit, jedes Filtrieren und Überführen der Reaktionsflüssigkeit erübrigt sich. Dient Fibrin als Substrat, dann treten allerdings zwei Übelstände auf, welche diese Arbeitweise erschweren.

1. Wenn das verwendete Substrat die Eigenschaft hat, stark zu quellen, so wird infolge des verhältnismäßig kleinen Querschnittes der Kapillare nicht mehr die ganze Oberfläche des Substrates in genügendem Maße mit der Fermentlösung in Wechselwirkung treten.

2. Von dem Substrat geht bei Fibrin durch das Lösungs-

[29] Der Versuch gelingt auch z. B. sehr gut mit einem winzigen Stückchen verkleisterter Stärke (Oblate), das man in verdünnten Speichel oder in Diastaselösung einhängt. F. E.

[30] Siehe nächste Fußnote.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

mittel allein, d. h. ohne Ferment, schon so viel in Lösung, daß schwache Schlieren entstehen[31]. Von diesem Übelstand ist koaguliertes Hühnereiweiß praktisch frei.

c) Quantitative Methode. Dem zweiten der eben erwähnten Übelstände kann man aus dem Wege gehen, wenn man im Parallelversuch die Intensität der Schliere mißt, die durch das Lösungsmittel allein zustande kommt, und den Wert von dem abzieht, welchen die schließliche Messung ergibt; in dieser Weise wird nur der fermentative Lösungsvorgang des Substrates erfaßt. Den Verdauungsvorgang läßt man in einem Proberöhrchen vor sich gehen, wodurch gleichzeitig der erste Übelstand vermieden wird; die zentrifugierte Flüssigkeit nimmt man in die Fließkapillare auf und läßt sie in die unveränderte Fermentlösung strömen.

Über die Gewinnung der Zahlenwerte folgt unten Näheres. Im Prinzip ist es selbstverständlich einerlei, ob man die erhaltenen Werte in Schlierenstärken oder in Δn angibt; wir führen in dieser Arbeit beides an, um eine Vergleichsmöglichkeit mit den Resultaten zu bieten, welche man mit anderen optischen Instrumenten erhält.

Die genaue Durchführung der Fermentversuche, von denen nur die nach der quantitativen Methode ausgeführten angegeben werden sollen, wird im Versuchsteil besprochen. Hier seien noch einige allgemeine Bemerkungen vorausgeschickt.

1. Die Schlierenmethode kann darüber aussagen, ob in der zu untersuchenden Flüssigkeit ein z. B. proteinabbauendes Ferment (Pepsin) vorhanden ist oder nicht. Wenn Δn gleich oder größer ist als 0·0001, wird eine Fermentwirkung anzunehmen sein. Durch eine deutliche Schliere können noch 0·1 *mg* Azidolpepsin, 0·01 *mg* unseres käuflichen Pepsinpräparates und 0·02 μg Pepsin abs. Merck bei einer Versuchsdauer von 30 Minuten nachgewiesen werden (s. Tabelle 16, 17, 18).

Weiters kann aus den Versuchsergebnissen berechnet werden, wieviel ungefähr von einem Substrat unter bestimmten Bedingungen abgebaut worden ist. Bei der Einwirkung von Pepsin auf z. B. Fibrin wurden 0·2 *mg* Pepton, welches bei Anwendung von 0·2 cm^3 (s. Versuchsteil) in Lösung ging, deutlich als Schliere beobachtet (s. Tabelle 16, 17, 18 und Fig. 18).

2. Die folgenden Angaben sollen die Anwendbarkeit und einige Vorteile der Schlierenmethode beim quantitativen Verfolgen von Fermentwirkungen dartun.

a) Die Schlierenmethode ist eine Differenzmethode, welche die Unterschiede im Brechungsindex direkt angibt. Man kann sich infolgedessen die erste Messung (z. B. beim Eintauch-

[31] Bei einiger Übung in der Schlierenbeobachtung kann man die schwachen Schlieren, die durch die Auflösung des Fibrins in Salzsäure entstehen, von den mittelstarken und starken Schlieren unterscheiden, die sich bilden, wenn tatsächlich eine fermentative Lösung des Fibrins erfolgt.

refraktometer) ersparen, weil die unveränderte, ursprüngliche Fermentlösung als Standprobe dient. In jede Versuchsreihe soll aber ein Kontrollversuch eingeschaltet werden, der eine eventuelle Auflösung des Proteins durch die Salzsäure anzeigt und messen läßt [32].

b) Die Temperaturschwankungen, welche die Messungen mit den üblichen optischen Instrumenten stark beeinflussen — sie werden durch exakte Temperierung und entsprechend lange Wartezeit vor jeder Ablesung kompensiert —, spielen hier keine so bedeutende Rolle; eine Wartezeit von 2—3 Minuten genügt für den Temperaturausgleich.

c) Aussagen über eine fermentative Lösung des Substrates können nach E. Kupelwieser [33] von einem $\Delta n_D = 0{\cdot}0001$ an gemacht werden; die Empfindlichkeit des Schlierenmikroskopes gestattet, diese Differenz sicher nachzuweisen.

d) Nach dem genannten Forscher [34] ist eine n_D-Zunahme bis 0·0015 nur von der Menge des gelösten Substrates abhängig. Ein weiterer Abbau der Peptonlösung erfolgt nicht. Bei der Bestimmung der Schlierenstärke sind Messungen innerhalb eines Bereiches von $\Delta n = 0{\cdot}0001$—$0{\cdot}0015$ mit einem Ablesefehler, der einem $\Delta n = \pm 0{\cdot}00005$ bis $\pm 0{\cdot}0001$ entspricht, durchführbar.

e) Nicht zu vergessen ist die Einfachheit des Apparates und seine leichte Handhabung.

II. Versuchsteil.

A. Allgemeines.

Es gelangten folgende Präparate zur Anwendung:

a) Ferment:

1. Pepsinum absolutum Merck nach Prof. Payr, im folgenden mit „P. M." bezeichnet;

2. Azidolpepsin, schwach sauer, Stärke II, Agfa „P. A.";

3. ein aus einer Apotheke bezogenes Pepsin „P. R.".

b) Substrat:

1. Fibrin (Blutfibrin) Merck;

2. koaguliertes Hühnereiweiß, hergestellt nach E. Kupelwieser und O. Rösler [35].

---

[32] Über die Auflösung herrschen eine Reihe von Vorstellungen: z. B. versteht P. Rostock (l. c.) darunter ein Herauslösen von Salzen, Gerüstbestandteilen usw.; E. Voit und F. Schuldenzucker (Ztschr. f. Biol. *87*, 1928, S. 269—291) halten eine teilweise Umwandlung des Fibrins in Azidalbumin für möglich, welches sich dann in der Salzsäure löst. Schließlich darf nicht vergessen werden, daß die bei der Ausfällung des Fibrins mitgerissenen Fermente unter den späteren Bedingungen (günstiges p_H) wieder in Tätigkeit treten können. Es sind hier nur einige Beispiele aus der sehr umfangreichen Literatur erwähnt. Für die folgenden Operationen mit dem Fibrin waren die Überlegungen des Herauslösens von Salzen und der möglichen Wirkung von Fermenten maßgebend. Wir sprechen aber stets von einer „Auflösung des Fibrins".

[33] Biochem. Ztschr. *131*, 1922, S. 462.

[34] E. Kupelwieser, l. c. S. 466.

[35] Biochem. Ztschr. *136*, 1923, S. 40.

 ©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Für das Zustandekommen der unten beschriebenen Arbeitsweise, deren Prinzip schon angegeben wurde, waren zahlreiche Vorversuche notwendig, welche im besonderen die folgenden Fragen betrafen:

1. Vorbereitung des Substrates und Notwendigkeit eines Blindversuches. Da das verwendete Fibrin, wie gesagt, nach Behandlung mit 0·1%iger Salzsäure schon eine deutliche, meßbare Schliere hervorruft, versuchten wir, diesen Übelstand durch vorhergehendes Behandeln mit Salzsäure zu umgehen, was auch teilweise gelungen ist. Das in der folgenden Art vorbereitete Fibrin erweist sich besonders geeignet.

Fibrin Merck „F" wird mit Wasser gewaschen, in 0·1%iger Salzsäure 10 Stunden quellen gelassen, mit destilliertem Wasser drei- bis viermal abgespült; jedesmal abgesaugt und bei 50 bis 60° C getrocknet (Fibrin „F. v."). Wenn die Quellungszeit auf 20 Stunden verlängert und die Salzsäure öfters gewechselt wird, tritt das Gegenteil des erstrebten Zieles ein, d. h. ein solches Produkt (mit „F. v.$_2$" bezeichnet) zeigt eine größere Löslichkeit als das nicht vorbehandelte Fibrin „F".

Beim Digerieren bei 42° C mit 0·1%iger Salzsäure ergaben die drei Fibrinsorten folgende Schlierenstärken:

Tabelle 13.

Fibrinsorten	„F."	„F. v."	„F. v.$_2$"
Schlierenstärke bei 30 Minuten langem Digerieren	13, 13 12, 12	8, 9 10, 9	14, 14 15, 15
Schlierenstärke bei 60 Minuten langem Digerieren	13, 14 14, 14	10, 10 11, 10	15, 15 16, 15

Wir haben versucht, die Löslichkeit des Fibrins durch Anwendung des von P. Rostock empfohlenen Jodonascins[36] zu vermindern, doch sind die Resultate nicht befriedigend gewesen; man ist deshalb genötigt, in jeder Versuchsreihe einen Kontrollversuch mit Fibrin und Salzsäure ohne Ferment anzustellen; dabei tritt bei einer Versuchsdauer von 30 Minuten eine Schliere von der Intensität 10 ($\Delta n = 0{\cdot}0001$), höchstens 11 auf.

Für den Fermentversuch selbst verwendet man „F. v.", und zwar a) entweder in der Menge von 10 *mg* (auf ± 1 *mg* genau gewogen) mit 1 cm^3 der Fermentlösung oder b) 2 *mg*[37] mit 0·2 cm^3 Fermentlösung. Das Fibrin wird im Falle a) 30 Minuten, im Falle b) 10—15 Minuten in 0·1%iger Salzsäure quellen gelassen.

2. Die Herstellung der Fermentlösung. Die Fermentlösung wird mittels 0·1%iger Salzsäure für jede Versuchsreihe frisch hergestellt und in der Zwischenzeit (maximal 8 Stunden) bei Temperaturen von 0° bis 6° C aufbewahrt. Die Anfangsbedingungen des Versuches liegen bei einem $p_H = 1{\cdot}56$ bis

[36] Ztschr. f. d. ges. experiment. Medizin 42, 1924, S. 132.

[37] Bequem ist die Torsionswaage von Hartmann & Braun A.-G., Gesamtbelastung 6 *mg*.

1·6. Der durch das Altern entstehende Verlust an Aktivität kann mit der Schlierenmethode leicht festgestellt werden.

3. Bedingungen des Fermentversuches. Als Reaktionsgefäße dienen Eprouvettchen mit einem Fassungsraum von 2 cm^3 oder ½ cm^3; erstere benützten wir für 10 *mg*, letztere für 2 *mg* Substrat; das kleinere Röhrchen besitzt 40 *mm* Länge und 4 *mm* Lumen. Beide Röhrchen sind mittels jedesmal frisch ausgekochten Gummistopfens zu verschließen, so daß kein Verdunstungsfehler auftreten kann. Die Versuchstemperatur beträgt, dem Normierungsvorschlag von Rostock entsprechend, 42° C (± 0·5°), die Dauer der Einwirkung, wie schon erwähnt, 30 Minuten.

4. Bestimmung der Zunahme des Brechungsindex durch Messen der Schlierenstärke. Die fermentative Lösung des Substrates wurde durch Bestimmung der Schlierenintensität nach der Methode der doppelten Messung [38] festgestellt. Bei diesen Versuchen war das leere Intervall der Schliere Null 40 und nicht 42 wie bei der R. Rašinschen Anordnung.

Die Schlierenstärke J ist daher 40 minus λ, wobei λ das leere Intervall der Schliere bedeutet. Diese Abweichung ist auf eine andere Breite des Beleuchtungsspaltes zurückzuführen, sie betrug 0·50 *mm*. Die Tubusspaltbreite betrug 2·28 *mm*.

Bei der Messung wurde das Kompensationsokular 6 von Zeiß verwendet. Schlierenstärken von 10 bis etwa 30 ($\Delta n = 0{\cdot}0001$—$0{\cdot}0015$) können eindeutig festgestellt werden. Bei sehr schwachen Schlieren ($J < 10$) ist die Messung schwierig, ebenso wie bei starken Schlieren ($J > 30$—40). Bei letzteren verschwindet bekanntlich zwar die Schattierung der Schliere, doch bleibt eine Doppellinie erhalten, wenn man durch Schwenken des Tubus die Kapillare ins helle Feld wandern läßt.

Die günstigsten Dimensionen der Fließkapillare für diese Versuche wurden empirisch ermittelt. Die exakte Einhaltung der einmal festgelegten Bedingungen ist wichtig. Zu den Versuchen wird am besten stets dieselbe Kapillare verwendet. Sie war (vgl. Fig. 16) folgendermaßen dimensioniert: Der innere Durchmesser a der Ausströmungsöffnung betrug 0·21 *mm*, der innere Durchmesser d der Kapillare im oberen Teil 2·3 *mm*. Die Höhe h der Flüssigkeitssäule war 18—23 *mm*, die Menge der Fließprobe demnach 80—100 mm^3. Die Länge der Verjüngung der Kapillare betrug 20 *mm*. Im übrigen wurden die Kapillaren mit großer Wandstärke (0·6 *mm*) hergestellt.

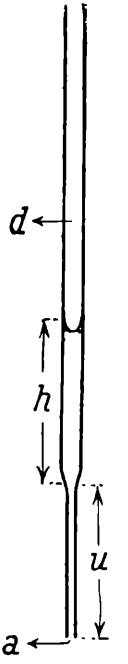


Fig. 16.

[38] Vgl. die I. Mitteilung und das erste Kapitel dieser Mitteilung.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Zu den Versuchen wurden unter anderen mit Kanadabalsam gekittete Küvetten mit einem Fassungsraum von 0·6 bis zu 1 cm^3 verwendet. Diese größeren Küvetten hatten gegenüber den kleineren den Vorteil, daß bei ihrer Verwendung die Messung exakter ausfällt; es kann jedoch auch mit bedeutend geringeren Mengen an Standprobe gearbeitet werden.

Folgende Arbeitsweise wurde für alle Versuche beibehalten.

2 *mg* Fibrin „F. v." werden 10—15 Minuten quellen gelassen, mit Fermentlösung ein- bis zweimal gewaschen und die anhaftende Flüssigkeit mittels Filtrierpapiers entfernt. Es werden 0·2 cm^3 der Fermentlösung mit Hilfe einer geeichten Pipette in das Eprouvettchen (s. oben unter II, 3) zum Substrat gebracht; man zentrifugiert schwach, um die an der Wand haftenden Tröpfchen mit der Hauptmenge der Flüssigkeit zu vereinigen, und verschließt mit dem Gummistopfen. Die anfängliche Säurekonzentration entspricht einem p_H von 1·56—1·6. Die Probe wird 30 Minuten bei 42° C (± 0·5°) belassen. Nachher wird mit einem kräftigen Wasserstrahl schnell abgekühlt, um die Fermenttätigkeit zu hemmen und kräftig zentrifugiert. Die mit der ursprünglichen Fermentlösung gefüllte Küvette wird auf den Objekttisch des Schlierenmikroskopes gebracht. In die geeichte Kapillare, die einen ca. ½ *m* langen Ventilschlauch trägt, werden nun 80—100 mm^3 der Verdauungsflüssigkeit aufgesaugt, u. zw. so, daß ein kleines Luftbläschen die Verjüngung der Kapillare absperrt. Nach dem Einsenken der Kapillare in die Küvette wird zwecks Temperaturausgleiches 2—3 Minuten gewartet, inzwischen kann die Einstellung auf die Nullage im Mikroskop vorgenommen werden. Da die Kapillaren eine große Wandstärke besaßen, wurde der linke innere Rand derselben und der unscharfe linke Schatten auf Teilstrich Null eingestellt. Damit sich die Kapillare während der Messung nicht verschieben kann, wird sie mit Klebwachs an der Küvette befestigt. Unter gleichzeitigem Beobachten drückt man die Luftblase aus der Kapillare mit Hilfe des Ventilschlauches heraus und wartet das Auftreten der Schliere ab. Erscheint sie, so wird sie durch Schwenken des Tubus um die Vertikalachse im Sinne des Uhrzeigers (von oben betrachtet) zum Verschwinden gebracht und im übrigen verfahren, wie oben im ersten Kapitel unter C, 3, ausgeführt wurde. Meist wird die zweite Hälfte der Verdauungsflüssigkeit noch vorhanden sein, die dann eine zweite Messung ermöglicht.

B. Spezielles.

1. Aufstellung einer Eichkurve. Um die mittels der Schlierenmethode erhaltenen Resultate allgemein verwertbar zu machen, ist es notwendig, an Hand einer Eichkurve den Zusammenhang mit den gebräuchlichen Größen (Brechungsindex) darzutun. Die Versuchsresultate selbst können dann natürlich auch in Schlierenstärken angegeben werden.

Zur Bestimmung der Schlierenstärke J (Kolonne 3 der Tabelle 14) wurden als Fließproben die Verdauungsflüssigkeiten verwendet, von denen auch ein Teil mit 0·1%iger Salzsäure verdünnt wurde, als Standprobe diente 0·1%ige Salzsäure oder die reine Fermentlösung. Als Resultat wird der Mittelwert aus einer größeren Anzahl von Einzelbestimmungen (s. Kolonne 2 der

Tabelle 14) genommen. Die Brechungsindizes der Probeflüssigkeiten wurden in einem Abbe-Refraktometer mit heizbaren Prismen bei 20° C bestimmt. In Kolonne 1 sind die Δn_D^{20} zwischen Fließ- und Standprobe angegeben.

Tabelle 14.

Δn_D^{20}	Anzahl d. Bestimmungen	J	Δn_D^{20}	Anzahl d. Bestimmungen	J	Δn_D^{20}	Anzahl d. Bestimmungen	J
0·0001	13	10·3	0·0007	8	21	0·0013	5	28
0·0002	13	14·4	0·0008	8	22·8	0·0014	7	28·9
0·0003	10	16	0·0009	5	24	0·0015	5	30
0·0004	5	17·9	0·0010	8	24·9	0·0016	3	30
0·0005	3	20	0·0011	3	25	0·0017	5	32·1
0·0006	3	21	0·0012	3	27	0·0018	7	33·2

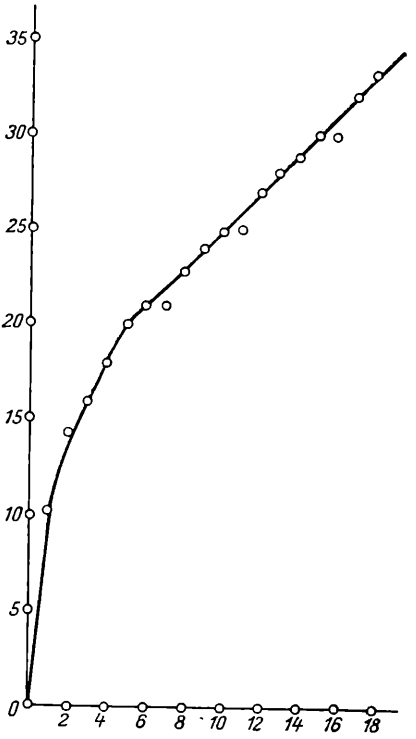


Fig. 17.

Um die Schwankung um den angeführten Mittelwert zu zeigen, seien von zwei Meßreihen die Einzelbeobachtungen angeführt. Die Fehler sind jedenfalls auf die Refraktometerablesung zurückzuführen, da hiebei die

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Zehntausendstel nur mehr geschätzt werden können: $\Delta n_D^{20} = 0{\cdot}0002$, Anzahl der Bestimmungen 13, Einzelablesungen: 15, 14, 16, 14, 14, 14, 14, 13, 12, 16, 16, 16, 15; Mittelwert: 14, 35. $\Delta n_D^{20} = 0{\cdot}0014$, Anzahl der Bestimmungen 7, Einzelablesungen: 29, 30, 28, 29, 29, 27, 29; Mittelwert: 28, 9.

In der Eichkurve, Fig. 17, sind auf der Ordinate die Schlierenstärken in Teilstrichen des Okularmikrometers, auf der Abszisse die Brechungsindexunterschiede in Einheiten der 4. Dezimale aufgetragen.

2. Zusammenhang zwischen Schlierenstärke und Konzentration von Peptonlösungen.

Nach E. Kupelwieser[39] ruft die Auflösung von 0·1% Pepton (e carne, Merck) eine n_D-Zunahme von 0·00017—0·00019 hervor. Eine aus käuflichem Pepton siccum hergestellte Lösung von 1 *g* in 100 cm^3 0·1%iger Salzsäure ergab einen Unterschied im Brechungsindex von 0·0018 gegenüber dem Lösungsmittel. Die Verdünnung der Lösung geschah gleichfalls mit 0·1%iger Salzsäure, die bei der Messung der Schlierenstärke als Standprobe diente. Der Brechungsexponent der Fließproben wurde im schon oben erwähnten Abbe-Refraktometer bestimmt. (Kolonne 2 der Tabelle 15). Der Unterschied in den Brechungsexponenten zwischen Fließ- und Standprobe ist in Kolonne 3 der Tabelle 15 ersichtlich. Die mit „×" bezeichneten Werte sind die errechneten Kurvenpunkte, entnommen der Kolonne 5, 6 und 7 und der Eichkurve (Fig. 17). Die experimentell bestimmten Werte sind mit ○ bezeichnet (Kolonne 2, 3, 4). Die Schlierenstärke *J* ist der Mittelwert aus vier Bestimmungen, welche untereinander eine maximale Abweichung von ± 1 Teilstrich aufweisen. S. Fig. 18.

Tabelle 15.

Lösung[40]	Beobachtete Werte ○			Berechnete Werte ×		
	n_D^{20}	Δn_D	*J*	n_D^{20}	Δn_D	*J*
0·1% HCl	1·3331	—	—	—	—	—
0·05 Pepton	1·3332	0·0001	11	1·33319	0·00009	10
0·1	1·3333	0·0002	14·4	1·33328	0·00018	13·6
0·2	1·3335	0·0004	18	1·33346	0·00036	17·3
0·25	1·3336	0·0005	20	1·33355	0·00045	19
0·3	1·3337	0·0006	21	1·33364	0·00054	20·5
0·4	1·3339	0·0008	22·5	1·33382	0·00072	22·2
0·5	1·3340	0·0009	24	1·3340	0·0009	24
0·6	1·3341	0·0010	25	1·33418	0·00108	25·8
0·7	1·3343	0·0012	27	1·33436	0·00126	27·6
0·8	1·3345	0·0014	28·3	1·33454	0·00144	29·5
0·9	1·3347	0·0016	30	1·33472	0·00162	31·2
1	1·3349	0·0018	33	1·3349	0·0018	33

[39] Biochem. Ztschr. *131*, 1922, S. 471.

[40] Die Angabe des Peptongehaltes erfolgt in *gr* Pepton in 100 cm^3 Lösung.

Auf der Ordinate sind die Schlierenstärken aufgetragen, die Schlierenstärke J ist gleich 40 minus λ. Auf der Abszisse sind die Konzentrationen der Peptonlösungen (in Grammen Pepton in 100 cm^3 Lösung) aufgetragen.

Aus den Tabellen und Kurven ist ersichtlich, daß sich die Resultate der Schlieren- und die der Refraktometermethoden decken.

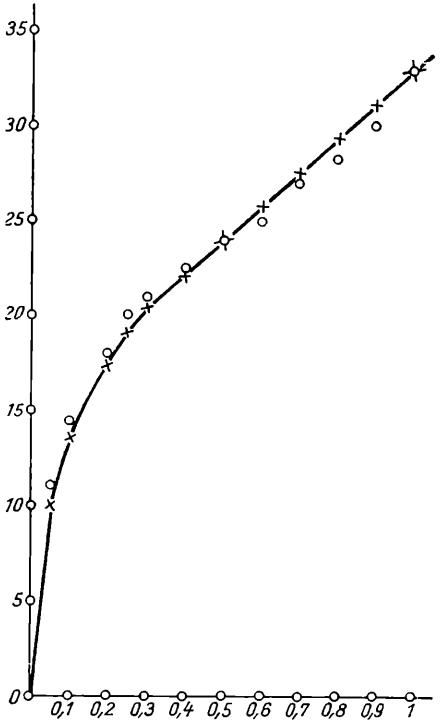


Fig. 18.

3. Vergleich der Wirksamkeit von drei verschiedenen Pepsinsorten.

a) Azidolpepsin „P. A.“, b) Pepsin aus einer Apotheke „P. R.“, c) Pepsinum abs. Merck „P. M.“.

Für diese drei Pepsine wurden die Pepsineinheiten nach der Methode Groß[41] bestimmt, bei welcher folgende Werte gefunden wurden: „P. A.“ = 67, „P. R.“ = 500, „P. M.“ = 16·700.

In den Tabellen 16, 17 und 18 erfolgt die Konzentrationsangabe des Pepsins in g Fermentpräparat in 100 cm^3 Lösung, J ist der aus 6 Werten entnommene abgerundete Mittelwert der Schlierenstärke, Δn der folgenden Tabellen wurde der Eichkurve (Fig. 17) entnommen.

[41] O. Groß, Berl. klin. Wochenschr. Nr. 13, 1903, S. 643; zit. nach P. Rona, Praktikum der physiolog. Chemie, I. Fermentmethoden, Berlin 1926, S. 222; siehe auch O. Groß, Über den Wert der käuflichen Pepsinpräparate. Dtsch. med. Wchschr. 45, 1919, S. 823. Als Pepsineinheit wird diejenige Menge Pepsinlösung oder Magensaft

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Tabelle 16.
Azidolpepsin

Pepsin-konzentration	J	Δn
1	21	0·0006
0·1	17	0·00035
0·05*	14	0·0002
0·01	10	0·0001
Kontrollversuch	9 10	0·0001

Tabelle 17.
Gewöhnliches Pepsin (a. d. Apotheke)

Pepsin-konzentration	J	Δn
1	26	0·0011
0·1	23	0·0008
0·01	18	0·0004
0·005*	14	0·0002
0·001	10	0·0001
Kontrollversuch	10	0·0001

Anmerkung: Der Wert des Kontrollversuches (die Stärke jener Schliere, die nicht mehr als Ausdruck einer fermentativen Wirkung anzusehen ist) ist von den jeweils beobachteten Werten in Abzug zu bringen. Die Grenze der Fermentwirkung wird in den Tabellen durch ein Sternchen erkenntlich gemacht.

Tabelle 18.
Pepsin Merck

Pepsin-konzentration	J	Δn
1	30	0·0015
0·1	27	0·0012
0·01	25	0·0010
0·001	22	0·0007
0·0001	17	0·00035
0·00001	14	0·00020
0·000001	11	0·00012
Kontrollversuch	9	0·0001

Man kann also mit Hilfe der Schlierenmethode die verschiedenen Fermentpräparate charakterisieren.

Eine annähernde Beziehung zwischen den Resultaten der Schlierenmethode und denen der Methode Groß kann man erhalten, wenn man nach der einen und anderen Methode die geringsten Mengen des Fermentpräparates, die noch wirksam sind, ermittelt und miteinander vergleicht.

Nach der Schlierenmethode (Versuchsdauer 30 Minuten, mit 2 *mg* Fibrin als Substrat) wird eine Schliere von der Stärke 14 ($\Delta n_D = 0{\cdot}0002$) durch 100 μg „P. A.“, 10 μg „P. R.“ oder 0·02 μg „P. M.“ hervorgerufen. Die Wirkungen stehen im Verhältnis: **1 : 10 : 5000.**

Nach der Methode Groß (Versuchsdauer: 15 Minuten, 10 *mg* Kasein als Substrat) wird das Substrat durch 15.000 μg

angenommen, die gerade noch 10 cm^3 einer 1 %igen, sauren Kaseinlösung so zu verdauen imstande ist, daß nach Zusatz einer 20%igen Lösung von Natriumazetat keine Trübung mehr auftritt; die Abbauprodukte des Kaseins bleiben in Lösung.

„P. A.“, 2000 μg „P. R.“ oder 60 μg „P. M.“ vollständig abgebaut. Die Wirkungen stehen im Verhältnis: **1 : 7 : 250.**

Eine Anzahl von Versuchen, über die im einzelnen nicht berichtet werden soll, hatte das Studium des zeitlichen Verlaufes der Verdauung zum Gegenstand; es sei zusammenfassend bemerkt, daß sie befriedigend verliefen und die Brauchbarkeit der Schlierenmethode auch für diese Zwecke erwiesen.

Bei weiteren Versuchsreihen wurde mit koaguliertem Hühnereiweiß gearbeitet. Die Versuche wurden dadurch erleichtert, daß (in Übereinstimmung mit E. Kupelwieser und O. Rösler, l. c.) Salzsäure allein als nicht auf das Substrat wirkend befunden wurde. Die gewonnenen Erfahrungen lassen auch in bezug auf koaguliertes Hühnereiweiß erkennen, daß der Einfluß verschiedener Milieubedingungen, welche die Aktivität eines Fermentes verändern, z. B. ($H^{\cdot}$)-Konzentration, Gegenwart von Salzen, Temperatur, Giftwirkungen, in einfacher Weise mittels der Schlierenmethode studiert werden kann.

Zusammenfassung zum zweiten Kapitel.

Die Schlierenmethode bietet ein einfaches Hilfsmittel beim Studium von solchen Fermentprozessen, bei welchen ein an sich schwer lösliches Substrat, z. B. Fibrin oder koaguliertes Hühnereiweiß, in lösliche Stoffe übergeführt wird.

Im einfachsten Fall kann man bei kräftig wirkenden Fermenten die Schlieren direkt vom Substrat ausgehen sehen; ist die Fermentwirkung weniger kräftig, so wird die Fermentlösung längere Zeit mit dem Substrat in Berührung gebracht und die gewonnene Lösung gegen die ursprüngliche Fermentlösung fließen gelassen; es treten positive fallende Schlieren auf, die gegebenenfalls gemessen werden können. Dieses letztere Verfahren ist namentlich dann anzuwenden, wenn, wie im Falle Fibrin, das Substrat auch ohne eigentliches Ferment angegriffen wird.

DRITTES KAPITEL.

Über Schlieren, die beim Mischen von Flüssigkeiten gleichen Brechungsvermögens entstehen (D-Schlieren).

Von Edgar Schally.

Einleitung.

Außer den Schlieren, die infolge eines Brechungsunterschieds zwischen Fließ- und Standprobe entstehen, beschäftigten uns in der letzten Zeit namentlich auch Schlieren, die beim Zusammenfließen gleichbrechender Flüssigkeiten zustande kommen. Tritt beim Zusammentreffen solcher Flüssigkeiten ein Konzentrationsausgleich, eine Wärmetönung usw. auf, dann wird natürlich die Mischungszone eine Änderung des Brechungsvermögens aufweisen und eine Schliere wird sichtbar werden.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Auf diese Weise lassen sich mit Hilfe des Schlierenmikroskopes Vorgänge verfolgen, und wir glauben, daß die Schlierenmethode auch in dieser Hinsicht eine Ergänzung der refraktometrischen und interferometrischen Methoden bilden kann.

Es darf nicht vergessen werden, daß eine Schliere in der Regel nicht als Folge einer einzigen Ursache aufzufassen ist, man wird sie vielmehr als Resultierende einer Reihe von Faktoren zu betrachten haben, die sich gewissermaßen in einem Kräftespiel befinden. Der Experimentator hat es in der Hand, durch Wahl der entsprechenden Versuchsbedingungen etwa unerwünschte Einflüsse (z. B. mechanische Vorgänge, die sich beim Ausströmen aus der Kapillare abspielen und Schlieren auslösen können, Brechungsunterschied zwischen Fließ- und Standprobe oder eine Wechselwirkung zwischen beiden) so weit abzuschwächen, daß sie zu vernachlässigen sind.

Bei unseren bisherigen Untersuchungen dienten die Schlieren als Kriterium für den Konzentrationsunterschied bzw. Brechungsunterschied zwischen Fließ- und Standprobe. Es galt daher, unter Versuchsbedingungen zu arbeiten, bei welchen keine falschen Schlieren beobachtet wurden. Da die in Betracht kommenden Flüssigkeiten außerdem nicht merkbar aufeinander wirkten, wurden die Schlieren in der Tat nur durch den Brechungsunterschied zwischen Fließ- und Standprobe verursacht. In manchen anderen Fällen mag es schwierig sein, aus einer Schliere Rückschlüsse auf die Ursache zu ziehen. Daß man unter diesen Umständen bisher eine gewisse Scheu hatte, die Schlierenmethode analytisch auszuwerten, erscheint begreiflich.

I. Beobachtung von Schlieren gleichbrechender Lösungen.

A. Lösungen anorganischer Salze, Harnstofflösungen.

1. Fließen gleichbrechende Lösungen verschiedener Salze zusammen, so beobachtet man im allgemeinen eigenartige Schlieren, die vermutlich auf Diffusionserscheinungen zurückzuführen sind. Die Versuche wurden so angestellt, daß man zuerst ziemlich konzentrierte wässerige Lösungen bereitete und diese durch Verdünnen auf einen Brechungsindex von etwa 1·338 brachte. Zur Ermittlung des n_D diente das Abbe-Refraktometer. Die konzentriertere von den beiden Lösungen wurde hierauf so lange verdünnt, bis die Brechungsindizes auf 1—2 Einheiten der vierten Dezimale übereinstimmten. (Die Konzentrationen der gleichbrechenden Lösungen sind natürlich verschieden.) Dem gewählten Brechungsindex entsprechen 2·5—4·5%ige Lösungen, die erstere Zahl bezieht sich z. B. auf Mangansulfat, die zweite auf Natriumnitrat. Um völlig sicher zu sein, daß Fließ- und Standprobe so weit gleichbrechend waren, daß der Brechungsunterschied für sich allein keine Schlieren hervorrufen konnte, wurden die Lösungen noch weiter unter Zuhilfenahme des Flüssigkeitsinterferometers gleichgestellt.

Befinden sich in der linken und rechten Kammerhälfte der 40-*mm*-Interferometerkammer Lösungen desselben Salzes, so sind beim Zusammenfließen einer Probe aus der rechten und linken Kammerhälfte im Schlierenmikroskop bei einer Konzentrationsdifferenz, die etwa 200 Trommelteilen des Interferometers entspricht, noch keine Schlieren zu sehen. Erst bei etwa 240 *TT* tauchen die Schlieren auf, doch sind sie selbst bei 500 *TT* immer noch schwach. Gleicht man also mittels des Interferometers in der 40-*mm*-Kammer auf etwa 100 *TT* an, so ist eine Beobachtung von Schlieren infolge eines Brechungsunterschiedes zwischen beiden Proben ausgeschlossen. Das Angleichen auf wenigstens 100 *TT* war bei allen betrachteten Salzlösungen möglich, und an Hand des Refraktometers wurde kontrolliert, ob bei Verwendung von Lösungen verschiedener Salze Interferometer- und Refraktometerangaben gleichsinnig waren. Da die Bildung falscher Schlieren durch Einhaltung der schon beschriebenen Arbeitsweisen ausgeschaltet wurde, konnten die beim Zusammenfließen gleichbrechender Lösungen erhaltenen Schlieren lediglich durch Vorgänge zustande kommen, die sich in den Mischungszonen der beiden Flüssigkeiten abspielten.

Wir nennen diese Art von Schlieren **„D-Schlieren“** [42]. Ihr Auftreten beweist, daß die Schlierenmethode (in optischer Beziehung) Aufschlüsse gelegentlich noch dort geben kann, wo das refraktometrische Verfahren versagt [43].

2. Von den einfachen positiven und negativen Schlieren unterscheiden sich die D-Schlieren deutlich, wie der Vergleich von Fig. *c* mit Fig. *d*, Taf. I, lehrt.

Während die Kontur bei der einfachen positiven und negativen Schliere dadurch entsteht, daß sich die Schliere einerseits hell, anderseits dunkel vom Hintergrund abhebt, macht die Kontur einer D-Schliere beiderseits den Eindruck einer selbständigen Schliere mit negativer oder positiver Schattierung. Beim Vertauschen von Fließ- und Standprobe verändert sich erstens, wie zu erwarten ist, die Fließrichtung der Schliere, indem z. B. aus einer fallenden Schliere eine steigende wird, zweitens aber auch die Schattierung, die sich umkehrt.

Das ständige Ineinanderströmen der Flüssigkeiten und die damit verbundene ständige Erneuerung des Materials an den Grenzzonen beider Flüssigkeiten ist, wie Versuche unter anderen Bedingungen lehrten, zwar für den Habitus dieser Schlieren, aber nicht für ihr Zustandekommen wesentlich.

Derartige Erscheinungen konnten wir beim Zusammenfließen folgender gleichbrechender Lösungen beobachten, wobei bemerkt sei, daß zunächst nur die Fließrichtung, die Schattenverteilung der Konturen, die sich vom linken und rechten Kapillarrand abheben, und endlich gröbere Unterschiede in der Schlierenstärke berücksichtigt wurden (vgl. die Tabelle).

[42] Es ist vorläufig unwesentlich, ob das „D“ den Zusammenhang mit der Erscheinung (Doppelschliere) oder den Zusammenhang mit der nach unserer Meinung wichtigsten Ursache (Diffusion) andeuten soll. In Wirklichkeit mag auch hier eine ganze Reihe von Vorgängen mitspielen, wie Hydrolyse, Änderung in der Dissoziation usw.

[43] Vgl. die I. Mitteilung, S. 272.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Tabelle 19.

Fließprobe Lsg. von	Standprobe Lsg. von	Brechungsindex der Lösungen	Fließrichtung	Schattierung[44]	Stärke
$NaNO_3$	KCl	(n_D^{18} 1·3391)	fallend	H, D — H, D	stark
KCl	$NaNO_3$	(n_D^{18} 1·3391)	steigend	D, H — D, H	
NaCl	$MgCl_2$	(n_D^{18} 1·3391)	fallend	D, H — D, H	sehr stark
$MgCl_2$	NaCl	(n_D^{18} 1·3391)	steigend	H, D — H, D	
KCl	$MgCl_2$	(n_D^{18} 1·3375)	fallend	D, H — D, H	mittel
$MgCl_2$	KCl	(n_D^{18} 1·3375)	steigend	H, D — H, D	
KCl	$MnSO_4$	(n_D^{18} 1·3361)	steigend	D, H — D, H	sehr stark
$MnSO_4$	KCl	(n_D^{18} 1·3361)	fallend	H, D — H, D	
NaCl	$MnSO_4$	(n_D^{20} 1·3360)	steigend	D, H — D, H	sehr stark
$MnSO_4$	NaCl	(n_D^{20} 1·3360)	fallend	H, D — H, D	
K_2SO_4	$MgCl_2$	(n_D^{19} 1·3364)	fallend	D, H — D, H	schwach
$MgCl_2$	K_2SO_4	(n_D^{19} 1·3364)	steigend	H, D — H, D	
KCl	K_2SO_4	(n_D^{18} 1·3370)	steigend	D, H — D, H	mittel
K_2SO_4	KCl	(n_D^{18} 1·3370)	fallend	H, D — H, D	
NaCl	K_2SO_4	(n_D^{18} 1·3366)	steigend	D, H — D, H	mittel
K_2SO_4	NaCl	(n_D^{18} 1·3366)	fallend	H, D — H, D	
NaCl	KCl	(n_D^{23} 1·3379)	steigend	H, D — H, D	schwach
KCl	NaCl	(n_D^{26} 1·3379)	fallend	D, H — D, H	
NaCl	$NaNO_3$	(n_D^{16} 1·3386)	kaum wahrnehmbare Schlieren		
$NaNO_3$	NaCl	(n_D^{16} 1·3386)			
$Al_2(SO_4)_3$	$MnSO_4$	(n_D^{18} 1·3361)	steigend	H, D — H, D	schwach
$MnSO_4$	$Al_2(SO_4)_3$	(n_D^{18} 1·3361)	fallend	D, H — D, H	
$NaNO_3$	$MnSO_4$	(n_D^{18} 1·3358)	fallend, dann steigend	D, H — D, H	stark
$MnSO_4$	$NaNO_3$	(n_D^{18} 1·3358)	steigend, dann fallend	H, D — H, D	
NaCl	Harnstoff	(n_D^{23} 1·3362)	fallend	kaum wahrnehmbare Schlieren	
Harnstoff	NaCl	(n_D^{29} 1·3362)	steigend		
KCl	Harnstoff	(n_D^{17} 1·3365)	fallend	D, H — D, H	mittel
Harnstoff	KCl	(n_D^{17} 1·3365)	steigend	H, D — H, D	
$NaNO_3$	Harnstoff	(n_D^{18} 1·3365)	fallend	sehr schwache Schlieren	
Harnstoff	$NaNO_3$	(n_D^{18} 1·3365)	steigend		
$MgCl_2$	Harnstoff	(n_D^{19} 1·3360)	fallend	H, D — H, D	mittel
Harnstoff	$MgCl_2$	(n_D^{19} 1·3360)	steigend	D, H — D, H	
$MnSO_4$	Harnstoff	(n_D^{17} 1·3362)	fallend	H, D — H, D	stark
Harnstoff	$MnSO_4$	(n_D^{17} 1·3362)	steigend	D, H — D, H	
$Al_2(SO_4)_3$	Harnstoff	(n_D^{19} 1·3361)	fallend	H, D — H, D	stark
Harnstoff	$Al_2(SO_4)_3$	(n_D^{19} 1·3361)	steigend	D, H — D, H	

[44] D bedeutet dunkel, H bedeutet hell. Die Verteilung hell—dunkel wird stet auf den unscharfen Schatten bezogen. Der zweite Schatten ist im Gesichtsfeld nich sichtbar, zur Ablenkung diente bei diesen Versuchen kein Tubusspalt, sondern ein einseitig vorzuschiebende Blende nach W. Krämer. Vgl. Anm. 3 d. I. Mitt.

Aus der Tabelle erkennt man erstens, daß bei den D-Schlieren eine Regelmäßigkeit in der Weise vorhanden ist, daß die beiden Konturen einer Schliere stets im gleichen Sinne schattiert sind und zweitens, daß eine Umkehrung in der Schattenfolge auftritt, wenn Fließ- und Standprobe vertauscht werden. — Zu weiteren Schlußfolgerungen allgemeiner Art reicht das vorhandene Material wohl nicht hin; es ist aber ersichtlich, daß individuelle Verschiedenheiten bei den einzelnen Stoffpaaren für das Schlierenphänomen maßgebend sind, und wir hoffen, daß man diese Verschiedenheiten noch weiter verwerten können wird.

B. Schlieren beim Neutralisationsvorgang.

Anders geartete Schlieren wie oben erhält man beim Zusammenfließen von Säure und Lauge. Die Versuche (Fig. *e*, *f*, *g*, *h*, Taf. I, II) wurden mit etwa normaler Salzsäure und der gleichbrechenden etwa 0·7 normalen Natronlauge ausgeführt.

Um die beiden Schlieren, Fig. *e* und *f*, mit verschiedener Fließrichtung in vergleichbarer Gestalt zu haben (Bewegung der Schliere entlang der Kapillare oder weg von ihr), wurden in Fig. *g* und *h* U-förmig gebogene Kapillarspitzen verwendet. Beim Betrachten von Fig. *e* hat man den Eindruck, als ob eine positive Schliere von einer negativen umhüllt wäre. Vertauscht man Fließ- und Standprobe, so ändert sich zwar die Fließrichtung, aber die Schattenverteilung der Schliere bleibt dieselbe, wieder scheint eine positive Schliere von einer negativen umhüllt zu sein. Diese Erscheinung läßt sich wesentlich auf Grund der Neutralisationswärme erklären, da der Salzbildung an sich kaum ein größerer Einfluß zukommen dürfte.

1. Wenn die Säure zu Lauge fließt, so werden die stark erwärmten Schichten, da sie schwächer als die Umgebung brechen, zu einer negativen Schliere Anlaß geben; die Erwärmung kann jedoch nicht bis ins Innerste vordringen, da stets neue Probelösung zufließt, die mit der umgebenden Standprobe gleichbrechend ist. Dieser noch nicht erwärmte Teil der Fließprobe wird sich von dem erwärmten Mantel positiv abheben, so daß als Gesamterscheinung eine negative Schliere resultiert, die eine positive umhüllt. Ein ähnliches Bild wie Fig. *g* liefert die Schliere einer Sparflamme, die man im großen Toepler-Apparat beobachtet.

2. Wenn umgekehrt Lauge zu Säure fließt, so tritt wesentlich dieselbe Erscheinung auf, d. h. Erwärmung des äußeren Teiles des zufließenden Strahles bei der Neutralisation mit der Standprobe und Sinken des Brechungsindex an diesen Stellen. Die Schattenverteilung kann sich also hier beim Vertauschen von Fließ- und Standprobe nicht umkehren. Daß die Form der Schliere Fig. *e* nicht gleich jener von Fig. *h* und jene von Fig. *f* nicht ähnlich der Schliere Fig. *g* ist, darf nicht wundernehmen, wenn man die verschiedene Zähigkeit von Lauge und Säure u. a. in Erwägung zieht.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Vom Zustandekommen dieser D-Schlieren kann man sich mit Hilfe folgender Überlegungen ein Bild verschaffen. 1. Denken wir uns durch eine Schliere, wie man sie beim Neutralisieren beobachtet, einen (Horizontal-)Schnitt, so werden wir im wesentlichen folgende Zonen unterscheiden können. Siehe Fig. 19.

Der innerste Kreis umschließt die noch unveränderte Fließprobe, die mit der Standprobe, welche der äußerste Kreisring darstellen mag, gleichbrechend ist. Der mittlere schraffierte Ring stellt die schwächer brechende erwärmte Mischungszone dar. Unter diesen Umständen erscheint

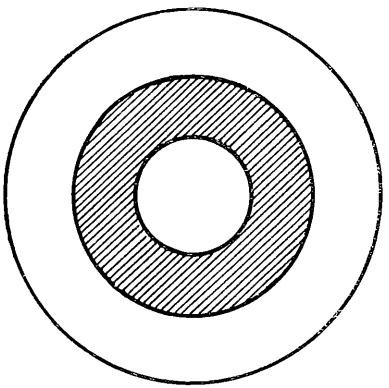


Fig. 19.

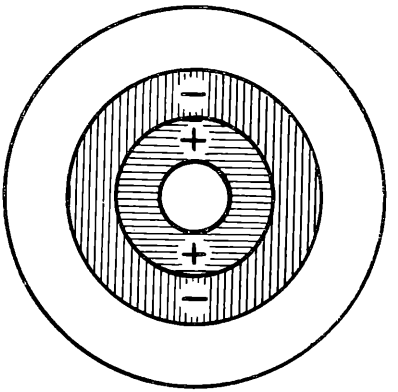


Fig. 20.

natürlich, im Einklang mit dem Versuchsergebnis, eine Umkehrung der Schattierung der Schliere beim Vertauschen von Fließ- und Standprobe nicht möglich.

2. Eine Umkehrung in der Schattierung beim Vertauschen von Fließ- und Standprobe ist nur denkbar, wenn der mittlere Ring aus wenigstens z w e i voneinander verschieden brechenden Zonen besteht. Das Schema einer solchen Schliere zeigt Fig. 20.

Der kleinste Kreis umschließt wieder den noch unveränderten Teil der Fließprobe, der äußerste (weiße) Kreisring stellt die Standprobe dar. Die innere Zone des schraffierten Ringes breche beispielsweise das Licht stärker, die äußere desselben schwächer als die Fließ- und Standprobe, die, wie gesagt, als gleichbrechend angenommen sind. Dementsprechend sind in der Fig. 20 die fraglichen Zonen mit + und — bezeichnet.

Es ist sehr wahrscheinlich, daß derartige Zonen dadurch entstehen, daß ein schwächer brechender Bestandteil rascher in die Umgebung wandert als ein stärker brechender oder umgekehrt. Vertauscht man hier Fließ- und Standprobe, so muß selbstverständlich (vgl. die Versuche mit Salzlösungen) eine Umkehrung der Schattierung erfolgen. Genaueres später.

C. Versuche mit gleichbrechenden organischen Flüssigkeiten.

Es war schließlich von Interesse, noch zu erfahren, wie sich gleichbrechende organische Flüssigkeiten beim Zusammenfließen verhalten.

1. Gleichbrechende Lösungen stereoisomerer Weinsäuren geben beim Zusammenfließen keine im Schlierenmikroskop wahrnehmbare Schlieren.

2. Bei den übrigen organischen Flüssigkeiten, die wir untersuchten, wurde zunächst von einem Stoff *A* und einem Stoff *B* jene Mischung hergestellt, die mit einem dritten Stoff *C* möglichst gleichbrechend war. Beim Angleichen des Brechungsvermögens mußte man sich hier mit dem Abbe-Refraktometer begnügen, da die Dispersion der Lösungen so verschieden war, daß man das Interferometer nicht mehr zum Gleichstellen verwenden konnte.

Infolge dieser Umstände besitzen die Schlieren farbige Ränder. Die Schlieren sind durchwegs sehr stark und haben manchmal Ähnlichkeit mit den schon beschriebenen D-Schlieren. Wenn beim Zusammenfließen Entmischungserscheinungen auftreten, zeigen sich manchmal eigentümliche Turbulenzphänomene, wie z. B. periodisches Zucken und Pulsieren (s. u.).

In Fig. *i*, *k* (Taf. II) sind Schlieren abgebildet, die man beim Zusammenfließen von Chloroform und einer gleichbrechenden Mischung von Toluol und Essigester erhält. Die Figuren sind nicht imstande, ein völlig richtiges Bild der Schlieren zu geben, da diese, wie gesagt, stark gefärbt sind (links rot, rechts blau). Eingehendere Versuche mit homogenem Licht sind geplant.

Der Versuch Fig. *i* hat, wie bemerkt, dieselbe Fließprobe und dieselbe Standprobe wie jener von Fig. *k*. Die Ausströmöffnungen der Kapillaren sind jedoch verschieden groß. In Fig. *k* fließt das Chloroform viel rascher zu als in Fig. *i*. (Die Flecken in den Figuren *i* und *k* sind Flüssigkeitströpfchen an der Küvettenwand, die sich infolge einer Entmischung absondern.) Das Auftreten der beiden seitlichen Schlierenäste, die, von unten kommend, sich nach außen biegen (Fig. *k*), ist vielfach bei schwer mischbaren Flüssigkeiten zu bemerken und wurde schon von R. Rašin bei den Versuchen mit dem Konstantsiedegemisch Benzol-Alkohol beobachtet. Da das Angleichen des Brechungsvermögens nur im Refraktometer erfolgen konnte, war zu befürchten, daß die Ursache der Schlieren nicht allein die Wechselwirkung zwischen Fließ- und Standprobe, sondern auch ein geringer Brechungsunterschied zwischen beiden sein könnte. Der Brechungsunterschied kann aber höchstens 1×10^{-4} bis 2×10^{-4} betragen. Dadurch verursachte Schlieren sind so schwach, daß sie nicht imstande sind, die in den Figuren *i* bis *m* gezeigten Schlieren in ihrem Charakter zu beeinflussen.

Ähnliche Beobachtungen wurden beim Mischen von *m*-Xylol mit einem refraktometergleichen Gemisch von Benzol und Toluol gemacht. (Fig. *l* und *m*.) Die Schlieren sind gleichfalls stark farbig (rotblau).

Ferner wurden folgende refraktometergleiche Flüssigkeiten untersucht:

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Tabelle 20.

Fließprobe	Standprobe	Befund
Toluol	Benzol mit Essigester	steigende H-, D- — H-, D-Schliere
Benzol mit Essigester	Toluol	fallende H-, D—H-, D-Schliere
Chloroform Azeton mit Benzol	Azeton mit Benzol Chloroform	starke, sehr turbulente Schlieren, dann Trübung der Flüssigkeit infolge Entmischung
Chloroform Toluol mit Azeton	Toluol mit Azeton Chloroform	fallende } sehr starke Schliere steigende } Entmischung des Systems beim Zusammenfließen
Toluol mit Essigester	Chloroform	steigende, sehr starke Schliere

II. Identitätsprüfung bei gleichbrechenden Flüssigkeiten, die keine Schlieren geben.

Im folgenden möchten wir zeigen, wie man unsere Beobachtungsmethode zur Identitätsbestimmung für solche Flüssigkeiten verwenden kann, die beim Zusammenfließen keine Schlieren mehr geben. Dabei wird vorausgesetzt, daß noch hinreichende Unterschiede im spezifischen Gewicht der beiden Proben vorhanden sind. Gleichbrechende Flüssigkeiten müssen, wenn sie identisch sind, natürlich auch gleiches spezifisches Gewicht haben. Geben Fließ- und Standprobe keine Schlieren, so läßt sich natürlich auch eine Differenz in der Dichte zwischen beiden Flüssigkeiten (die als farblos angenommen werden) nicht erkennen, da eine derartige Beobachtung eben Schlieren voraussetzt. Verändert man das Brechungsvermögen von Fließ- oder Standprobe durch Zusatz eines dritten Stoffes, der zwar das Brechungsvermögen stark beeinflußt, aber nur in geringem Maße die Dichte der Proben verändert, so kann ein ursprünglich vorhandener Dichteunterschied zwischen den fraglichen Lösungen an den nunmehr entstehenden Schlieren erkannt werden. Die durch die Änderung des Brechungsindex verursachte, nur ganz geringe Dichteänderung darf nicht größer sein als die ursprünglich vorhandene Differenz in den Dichten.

Die verschiedene Fließrichtung der optisch gleich orientierten und gleich starken Schlieren ist hier das Kriterium für die Verschiedenheit von Fließ- und Standprobe.

Die Fließrichtung (und damit ein Unterschied des spezifischen Gewichtes) läßt sich auch mit Hilfe schwebender Teilchen in der Flüssigkeit feststellen, wie sie sich häufig in nicht zentrifugierten Lösungen als kleine Unreinheiten vorfinden. Diese schwebenden Teilchen sieht man im Schlierenapparat sehr schön.

Endlich könnte man an eine Erweiterung dieser Art von Identitätsprüfung auf feste Stoffe denken. Stellt man von den fraglichen Substanzen mittels des gleichen Lösungsmittels Lösungen her, die dasselbe spezifische Gewicht haben, so dürfen bei identischen Lösungen keine Schlieren beim Zusammenfließen entstehen. Stellt man unter Kontrolle des Refraktometers oder Interferometers gleichbrechende Lösungen her, so müssen diese bei Identität gleiche Dichte besitzen, was unter anderem auch in der eben beschriebenen Weise im Schlierenmikroskop festgestellt werden kann.

Für verdünnte wässerige Lösungen eignet sich z. B. Pyridin als Zusatz, da es infolge seines starken Brechungsvermögens ($n = 1{\cdot}50$) nur in ganz geringen Mengen zugesetzt werden muß und in dieser geringen Menge die Dichte des Wassers oder der wässerigen Lösung nur unbedeutend beeinflußt. Man wird natürlich nur so viel Pyridin zusetzen, daß es eben zu einer Schlierenbildung ausreicht.

In unserem Schlierenmikroskop sieht man z. B. keine Schlieren, wenn destilliertes Wasser zu Grazer Leitungswasser fließt. Versetzt man destilliertes Wasser mit so viel Pyridin, daß diese Lösung gegen reines destilliertes Wasser eben Schlieren gibt, so entfalten sich diese nur langsam und sind unverkennbar f a l l e n d. Nimmt man die Kapillare, die noch mit genügender Menge Fließprobe gefüllt ist, heraus, bringt sie an eine Küvette, die mit Leitungswasser gefüllt ist (oder saugt die eben verwendete Küvette rasch aus und füllt diese mit Leitungswasser), so beobachtet man im Schlierenapparat eine gleich starke und gleich schattierte Schliere wie früher, die sich ebenfalls nur langsam entfaltet, sich allmählich an der Stirnseite verbreitert und dann a u f s t e i g t.

Da der Pyridinzusatz im vorliegenden Fall eine Erhöhung des spezifischen Gewichtes zur Folge hat, wäre man nicht zum Ziel gekommen, wenn man Leitungswasser, mit etwas Pyridin versetzt, als Prüflösung verwendet hätte. In beiden Fällen wären die Schlieren fallend. Die mit Pyridin versetzte Probe kann natürlich ebensogut als Standprobe verwendet werden. Das (farblose) Pyridin ersetzt hier gewissermaßen einen Farbstoff, durch dessen Zusatz man den Effekt ohne Schlierenapparat erzielen könnte.

Ein sehr langsames Ausströmen der Fließprobe erleichtert die Feststellung der Fließrichtung der Schlieren. Es sollen daher die Auslauföffnungen der Kapillaren eng sein (für den beschriebenen Versuch 0·07 bis 0·11 *mm* Durchmesser). Ferner soll das Flüssigkeitsniveau in der Kapillare während der Beobachtung nicht um mehr als 1—2 *cm* sinken.

Zusammenfassung zum dritten Kapitel.

Es werden jene Schlieren beschrieben, die beim Zusammenfließen gleichbrechender Lösungen erhalten werden können und die wir D-Schlieren nennen. Zur Untersuchung gelangten einerseits Lösungen starker Elektrolyte (Salzlösungen, gleichbrechende Säure und Lauge), anderseits organische Flüssigkeiten. Da zwischen Fließ- und Standprobe kein Brechungsunterschied besteht, kann man sich das Zustandekommen dieser Schlieren

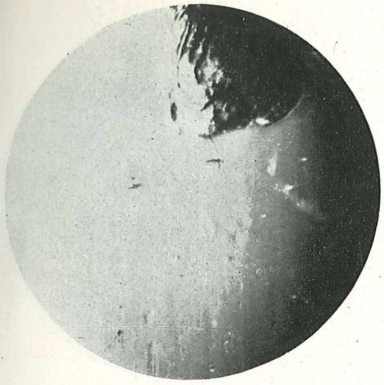
©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

nur so erklären, daß zwischen den beiden Proben irgendeine Wechselwirkung stattfindet, die zu einer Änderung des Brechungsindex der Mischungszonen führt. Die dieser Mischungszone eigene Form bedingt eine besondere Schattierung der Schlieren. An Hand des gebrachten Versuchsmaterials zeigen sich bereits gewisse Gesetzmäßigkeiten, aus denen hervorgeht, daß auch auf diesem Gebiet die Schlierenmethode eine Ergänzung der refraktometrischen und interferometrischen Methoden bilden kann.

Endlich wird in einem zweiten Teil dieses Kapitels auf die Möglichkeit aufmerksam gemacht, Identitätsprüfungen mit Hilfe der Schlierenmethode auch dort vorzunehmen, wo die Proben untereinander keine Schlieren mehr geben.

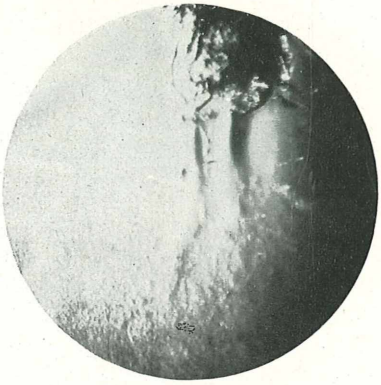
Die Untersuchungen werden fortgesetzt.

TAFEL I.



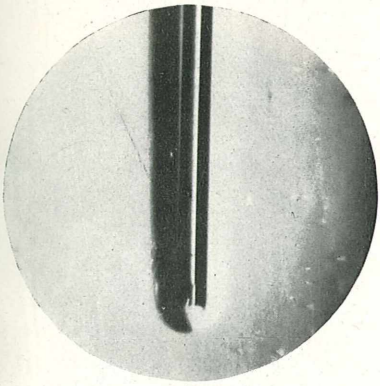
a

Fibrinflocke, die eine halbe Stunde in Salzsäure gequollen ist.



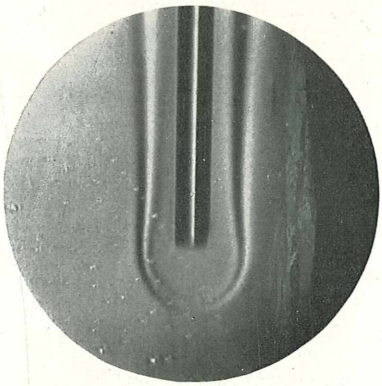
b

Etwa 15 Minuten nach erfolgtem Pepsinzusatz.



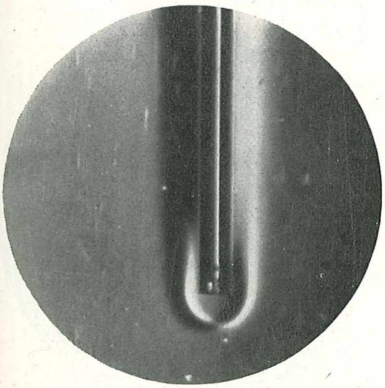
c

Starke, einfache negative Schliere.
Fließprobe: Dest. Wasser.
Standprobe: $NaNO_3$. n_D^{18} 1·3391.

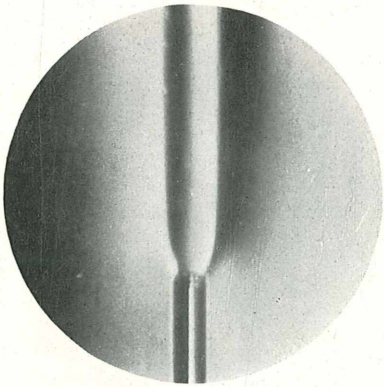


d

Steigende D-Schliere gleichbrechender Lösungen von:
Standprobe: Natriumchlorid.
Fließprobe: Magnesiumchlorid $\left(n_D^{18}\ 1{\cdot}3391\right)$.



e



f

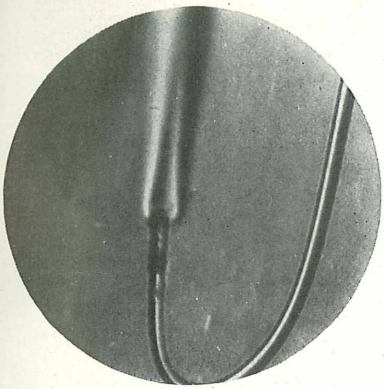
Gleichbrechende Lösungen von:

Fließprobe: Säure.
Standprobe: Lauge.

Fließprobe: Lauge.
Standprobe: Säure.

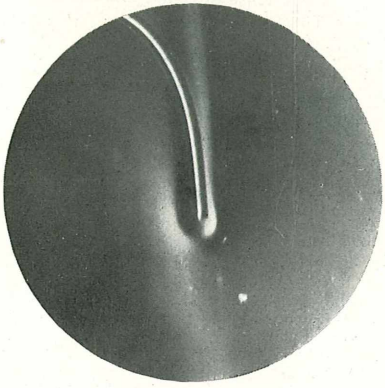
©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

TAFEL II.



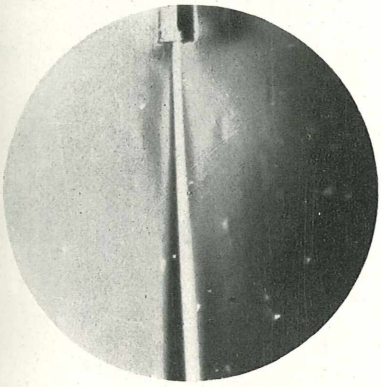
g

Gleichbrechende Lösungen von:
Fließprobe: Säure.
Standprobe: Lauge.



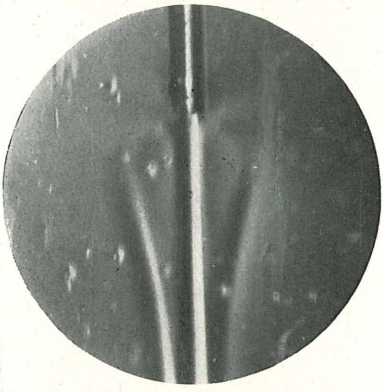
h

Fließprobe: Lauge.
Standprobe: Säure.



i

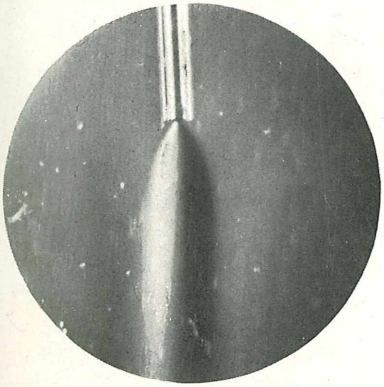
Fließprobe: Chloroform.
Standprobe: Toluol-Essigester.



k

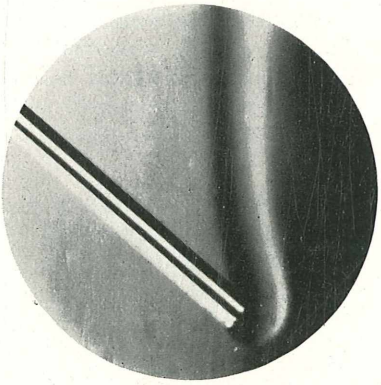
Fließprobe: Chloroform.
Standprobe: Toluol-Essigester.

Durchmesser der Ausströmöffnung:
0·04 *mm*. 0·12 *mm*.
Fließ- und Standprobe sind refraktometergleich.



l

Fließprobe: Benzol-Toluol.
Standprobe: *m*-Xylol.



m

Fließprobe: *m*-Xylol.
Standprobe: Benzol-Toluol.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Sitzungsberichte der Akademie der Wissenschaften mathematisch-naturwissenschaftliche Klasse

Jahr/Year: 1929

Band/Volume: 138_2b_Supp

Autor(en)/Author(s): Emich Friedrich

Artikel/Article: Über die Beobachtung von Schlieren bei chemischen Arbeiten. 312-360