

kann. Eine solche Ansiedlung von Mikroorganismen wird in den sogenannten Faulräumen oder Faulkammern absichtlich herbeigeführt und scheint auch bei der »Selbstreinigung« der Flüsse eine Rolle zu spielen. Es verdient hervorgehoben zu werden, dass man vielleicht in der Sedimentirung von Bacterienemulsionen durch gewisse Sera (Vorgang der Agglutination) eine Umkehr jener Erscheinung insofern zu erblicken hat, als man in diesem Falle die zugesetzten colloidalen Sera als fällende Agentien und die Bacterien als auszufällende Substanz ansehen kann.

Göttingen und Hamburg.

270. G. Barger: Eine mikroskopische Methode der Molekulargewichtsbestimmung.

(Eingegangen am 31. März 1904.)

Gelegentlich einer Reihe von Untersuchungen an Pilzen, welche unter dem Mikroskop in hängenden Tropfen von Salzlösungen cultivirt wurden, machte Hr. Prof. L. Errera im Brüsseler botanischen Institut gewisse Beobachtungen, die er nur durch die Erniedrigung des Dampfdruckes der Salzlösungen erklären konnte. Er sah darin das Princip einer Methode zur Molekulargewichtsbestimmung, und bat mich, zu diesem Zweck Versuche anzustellen. Für diesen Vorschlag und sein anregendes Interesse an der Arbeit bin ich ihm zum grössten Dank verpflichtet.

Von der Methode, über welche schon an anderer Stelle¹⁾ ausführlich berichtet worden ist, seien hier nur die praktischen Details mitgetheilt. Sie beruht auf den Vergleich der Dampfdrucke zweier Lösungen, von denen biconcave, linsenartige Tropfen in ein Capillarrohr gebracht werden. Ein Unterschied in den Dampfdrucken verursacht eine wechselseitige Aenderung in der Grösse der Tropfen, und diese wird mit Hilfe eines Ocularmikrometers beobachtet.

Die eine Lösung enthält in bekannter Concentration die zu untersuchende Substanz, von der schon sehr kleine Mengen (etwa 0.05 g) genügen. Die andere Lösung, deren Concentration ebenfalls bekannt ist, wird mit irgend welchem Körper von bekanntem Molekulargewicht hergestellt (Rohrzucker, Benzil, Azobenzol). Das Lösungsmittel braucht

¹⁾ Journ. chem. Soc. 85. 286 [1904].

keineswegs rein zu sein; Alkohol von 90 pCt., Petroläther Sdp. 50—60° u. s. w. sind angewandt worden. Selbstverständlich müssen aber beide Lösungen mit derselben Probe des Lösungsmittels dargestellt werden.

Man kann Lösungsmittel mit den verschiedenartigsten Siedepunkten benutzen (Aether bis Xylol). Die Methode ist besonders geeignet zu Bestimmungen mit Aceton, Pyridin u. s. w. Die Capillarröhrchen fertigt man sich aus einem etwa 15 mm weiten Glasrohre an, indem man es zu längeren Capillaren auszieht, und diese mittels einer Feile in etwa 10 cm lange Stücke zerschneidet. Die Röhrchen seien 1—2 mm weit und sollen an beiden Enden einen regelmässigen Rand haben. Nun bringt man Tropfen der zwei Lösungen, deren Dampfdrucke man vergleichen will in das Röhrchen, und zwar entnimmt man sie abwechselnd jeder der beiden Lösungen.

Jeder Tropfen (oder jedes Säulchen) ist also zwischen zwei Tropfen der anderen Lösung eingeschlossen. Das Einbringen der Tropfen fordert einige Uebung, ist aber durchaus nicht schwierig und nimmt wenige Zeit in Anspruch. Man hält das Rohr zwischen Mittelfinger und Daumen und, während man das obere Ende mit dem Zeigefinger schliesst, taucht man das untere Ende in die Lösung. Weil die Luft nicht aus dem Rohre entweichen kann, steigt die Flüssigkeit nur sehr wenig empor. Nun hält man das Rohr horizontal, entfernt den Zeigefinger und bewirkt durch eine schiefe Lage, dass der Tropfen in das Rohr hinabgleitet, bis er etwa 3 mm von der Eintrittsöffnung entfernt ist. Dann schliesst man wieder mit dem Zeigefinger und taucht wie vorher ein, dieses Mal aber in die andere Lösung. So bekommt man einen zweiten Tropfen, den man wieder einfließen lässt, nimmt dann einen dritten auf (aus der ersten Lösung) u. s. w. abwechselnd aus beiden Lösungen. Wenn man etwa sieben Tropfen im Rohr hat, lässt man sie herabgleiten bis der letzte 1 cm von der Eintrittsöffnung entfernt ist, und schmilzt danu die beiden Enden im unteren Theile einer kleinen Bunsenflamme vorsichtig zu. Mit sehr flüchtigen Solventien wie Aether und Schwefelkohlenstoff benutzt man am besten Bienenwachs oder Paraffin, die man flüssig in das Rohr eintreten lässt. Sollte das so entstandene Pfröpfchen nicht hermetisch schliessen, so schmilzt man es wieder theilweise und lässt erkalten. Bisweilen, besonders mit Wasser, gleiten die Tropfen nur schwierig in das Rohr herab. Man beseitigt diesen Uebelstand durch vorheriges Benetzen des Rohres. Man kann auch, während der Zeigefinger entfernt ist, gelinde erwärmen. Während der Abkühlung schliesst man es wieder mit dem Finger, sodass die Tropfen eingesaugt werden.

Die zugeschmolzenen Röhrchen klebt man mittels dickflüssigem Kanada-Balsam auf eine Glasplatte (Objectträger). Sie haben die in Figur 1 (S. 1756) dargestellte Anordnung.

Das Ende *A* wird in die Lösungen getaucht. Das Ende *B* wird mit dem Finger verschlossen.

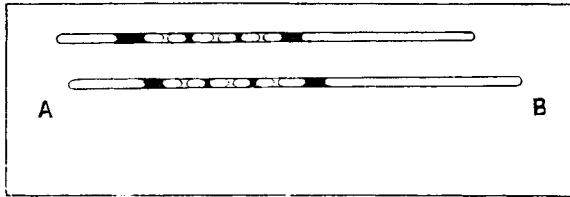


Fig. 1 ($\frac{1}{2}$ der natürlichen Grösse).

Die Tropfen der Substanz mit bekanntem Molekulargewicht sind dunkel gezeichnet. Der erste und letzte Tropfen sind besonders lang; sie werden nicht gemessen, weil sie sich meistens nicht regelmässig ändern. Die fünf anderen Tropfen dürfen eine gewisse, durch die Scala-Länge des Mikrometers und die Vergrösserung bestimmte Dicke nicht überschreiten. Zur Messung dieser fünf Tropfen legt man den Objectträger mit Röhrchen in eine (am besten quadratische) Petri'sche Schale, in welche man Wasser giesst, bis die Röhrchen bedeckt sind. Diese Einrichtung verhindert Temperaturschwankungen und vermehrt die Schärfe des optischen Bildes.

Ich benutze ein Mikroskop von Leitz mit Objectiv No. 3 (Brennweite 18 mm) und Ocular No. 4; die Vergrösserung ist ungefähr 66 Mal. Auf der Blende des Oculars befindet sich ein Zeiss'sches Mikrometer mit 50 Theilungen, deren Werth also $17\ \mu$ ist. Eine Genauigkeit von $2-3\ \mu$ wird leicht erreicht.

Man stellt das Mikroskop ein auf die Axe des Capillarrohres; nur so sind die beiden Menisci eines Tropfens gut definiert. Der Abstand zwischen ihnen wird hier zugleich am kürzesten, was die genaue Einstellung sehr leicht macht. Man misst nun diesen Abstand, also die kleinste Dicke des Tropfens, indem man die Petri'sche Schale verschiebt, bis der eine Meniscus fast mit dem Nullpunkte der Scala übereinstimmt. Ein beweglicher Objecttisch ist nicht erforderlich; um eine leichte Bewegung der Schale auf dem Tische zu erreichen, bringt man vielmehr einen Wassertropfen zwischen beide. Die genaue Uebereinstimmung des Nullpunktes mit dem einen Meniscus erreicht man schliesslich durch eine seitliche Bewegung des Oculars, das mit einiger Freiheit im Tubus passt. Gleichzeitig liest man die Stellung des anderen Meniscus in Zehnteln einer Scala-Division ab. Das Bild unter dem Mikroskop ist aus Figur 2 (S. 1757) ersichtlich.

Nach einem Zeitraum, der vom Dampfdrucke des Lösungsmittels abhängt, werden die Tropfen noch einmal gemessen. (Diese Zeit ist für Aether einige Minuten, für Alkohol eine Stunde, für Wasser ein

Tag.) Alsdann constatirt man im allgemeinen, dass die Tropfen der einen Lösung dünner, die der anderen Lösung dicker geworden sind. Die Lufträume zwischen den Tropfen sind sofort mit Dampf gesättigt worden, und, falls die Dampfdrucke der beiden Lösungen nicht gleich waren, hat eine isotherme Destillation stattgefunden von den Tropfen mit grösserem nach denjenigen mit kleinerem Dampfdrucke.

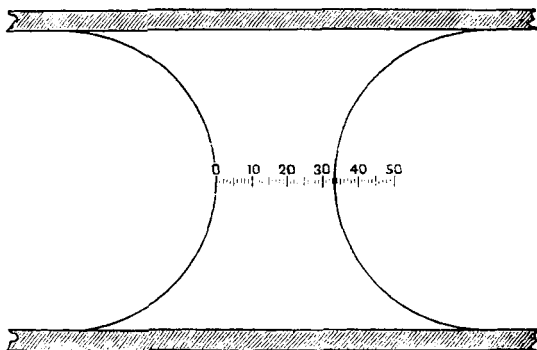


Fig. 2 (natürliche Grösse).

Auf diesem Wege kann man nach mehreren Versuchen zwei Lösungen der Normalsubstanz finden, zwischen deren Molekularconcentrationen die der unbekanntten Lösung liegen muss. Man bekommt also zwei Grenzen für das zu bestimmende Molekulargewicht.

Fast alle bisherigen Versuche fanden bei Zimmertemperatur statt, doch wird eine Anpassung der Methode für höhere Temperaturen den Gebrauch hochsiedender Flüssigkeiten wahrscheinlich ermöglichen.

Von den Fehlerquellen soll hier nur eine einzige erwähnt werden, und diese ist eine scheinbare. Während des Einfüllens fliessen die Tropfen durch einen Theil des Rohres, der schon von ihren Vorgängern, also von Tropfen der anderen Lösung, benetzt worden ist, und es findet eine Mischung statt. Der Unterschied zwischen den Tropfen wird also kleiner sein als zwischen den ursprünglichen Lösungen, er verschwindet aber nicht und kann um so weniger umgekehrt werden. Ein Tropfen der einen Lösung würde sogar eine unendliche Menge der anderen Lösung verlangen, um ihr gleich zu werden. Da man nur wissen will, welche Lösung die grösste Molekularconcentration hat, nicht wie gross der Unterschied ist, so ist die Mischung der Tropfen keine Fehlerquelle; sie macht die Methode nur weniger empfindlich.

Die mikroskopische Methode ist besonders geeignet zur Arbeit mit Gemischen von Lösungsmitteln; sie wird zur Zeit angewandt beim Studium der Association von Phenolen, Säuren u. s. w. in Alkohol-Benzol, Aceton-Chloroform und ähnlichen Gemischen.

Die Art der Aenderungen der Tropfen wird durch folgendes Beispiel deutlich gemacht:

Zeit in Minuten	Dicke der Tropfen						
	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.
0	—	222	209	491	314	478	—
10	—	220	210	488	316	476	—
60	—	216	220	478	321	471	—

Die beiden Lösungen waren Benzil in Aceton; die Tropfen I, III, V und VII waren gleich 0.10 Mole, II, IV und VI gleich 0.09 Mole. Wie schon gesagt, werden die Tropfen I und VII nicht gemessen.

Von den zahlreichen Bestimmungen seien hier nur zwei Beispiele mitgeteilt:

I. Bestimmung des Molekulargewichtes von Traubenzucker, wenn das von Rohrzucker = 342 bekannt ist.

Traubenzucker in Wasser gelöst, 25.02 g pro L.								
		II.	III.	IV.	V.	VI.		
Rohrzucker	0.05 Mole	18 Stdn.	+ 230	- 97	+ 71	- 79	+ 71	+ 548
»	0.10 »	18 »	+ 26	- 18	+ 25	- 31	+ 30	+ 130
»	0.12 »	21 »	+ 6	- 4	+ 9	- 4	+ 4	+ 27
»	0.13 »	22 »	+ 8	+ 3	+ 5	- 1	+ 5	+ 16
»	0.14 »	22 »	- 1	0	- 2	+ 2	- 2	- 7
»	0.15 »	18 »	- 3	+ 8	0	+ 9	- 4	- 24
»	0.20 »	18 »	- 41	+ 55	- 57	+ 53	- 45	- 251
»	0.25 »	18 »	- 75	+ 85	- 81	+ 65	- 78	- 384

Die Dicke der Tropfen selber ist nicht angegeben, sondern ihre Aenderung in den Zeiträumen der zweiten Spalte. Von den fünf gemessenen Tropfen sind II, IV und VI der Traubenzuckerlösung entnommen, III und V (sowie die nicht gemessenen I und VII) der zum Vergleich benutzten Rohrzuckerlösung. Die letzte Spalte zeigt die Summe der Aenderungen der fünf Tropfen eines Rohres.

Man findet also, dass die Traubenzuckerlösung zwischen 0.13 und 0.14 Mole stark ist. Demgemäss ist

$$M. \text{ zwischen } \frac{25.02}{0.14} \text{ und } \frac{25.02}{0.13} \text{ oder } 179-192$$

$$M. \text{ berechnet für } C_6H_{12}O_6 \quad 180.$$

II. Bestimmung des Molekulargewichtes von Salicylsäure, wenn das von α -Naphtol = 144 bekannt ist.

Salicylsäure in Alkohol (99.5 pCt.), 24.84 g pro L.								
α -Naphtol	0.17 Mole	45 Minuten	+ 5	- 3	+ 5	- 1	+ 2	
»	0.19 »	90 »	- 10	+ 10	- 12	+ 12	- 14	
M. zwischen			$\frac{24.84}{0.19}$	und	$\frac{24.84}{0.17}$	oder 131-146		
M. berechnet für			$C_7H_6O_3$			138.		

London, im März 1904.