

c) En tant qu'hypnotiques, seuls les composés II, III, IV, V ont montré une action sédative, qualifiée de légère, qui correspond au premier stade où l'animal conserve encore la faculté de corriger sa position. Notons qu'il s'agit là de dérivés à structure asymétrique possédant des groupements éthylés et le —CONH— hypnogène.

d) En tant que spasmolytiques, tous les produits sont actifs. Vis-à-vis du chlorure de baryum, les quatre dérivés V, IX, X, XI montrent une action supérieure à celle du Bénadryle et de la Trasentine. Vis-à-vis de l'histamine, V, IX, X, XII exercent une action se situant à la limite inférieure, et XI, à la limite supérieure de l'action de la Trasentine, tandis que vis-à-vis de l'acétylcholine, XI accuse une action plus forte que les autres, mais inférieure à celle du Bénadryle et de la Trasentine.

RÉSUMÉ.

Parmi 13 nouveaux dérivés des séries des dialcoylaminoéthylamides et des esters dialcoylaminoéthyliques des acides dialcoylmaloniques, le bis-(diéthylaminoéthylamide) et le diester diéthylaminoéthylrique de l'acide diéthylmalonique se font remarquer par leurs propriétés analgésiques, tandis que l'ester diéthylaminoéthylrique de l'éthylbutylmalonate monoéthylrique se distingue par son action spasmolytique.

Institut Pharmaceutique
de l'Ecole Polytechnique Fédérale de Zurich,
Section de recherches scientifiques
de la maison Dr *A. Wander S.A.* à Berne.

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

7. Mitteilung über Elektrophorese¹⁾

von **E. Wiedemann.**

(22. XI. 51.)

Die Empfindlichkeit der allgemein bekannten und verbreiteten Aufzeichnungsmethoden von Brechungsindexgradienten in Lösungen, wie sie von *J. St. L. Philpot*²⁾, *L. G. Longsworth*³⁾ und *H. Svensson*⁴⁾ aus dem *Toepler'schen* Prinzip hergeleitet worden sind, ist durch

¹⁾ 6. Mitteilung vgl. *Helv.* **31**, 2037 (1948).

²⁾ *J. St. L. Philpot*, *Nature* **141**, 283 (1938).

³⁾ *L. G. Longsworth*, *Ann. Acad. Sci. New York* **39**, 105 (1939).

⁴⁾ *H. Svensson*, *Koll. Z.* **87**, 181 (1939); **90**, 141 (1940).

das Auftreten von Beugungserscheinungen limitiert. Nach verschiedenen Untersuchungen, von denen eine neuere von *H. J. Antweiler*¹⁾ erwähnt sei, liegt diese Grenze bei etwa 1λ oder ca. 2×10^{-5} Einheiten des Brechungsindex. Die oft erforderliche Trennung und quantitative Bestimmung sehr kleiner Substanzmengen in Lösung lässt es — nicht zuletzt im Hinblick auf die Mikromethoden der Papierchromatographie und Papierelektrophorese²⁾ — als sehr wünschenswert erscheinen, über ein von methodischen Fehlern freies Verfahren der Gradientenaufzeichnung auf optischem Wege zu verfügen. Als solches hat sich auf anderen Gebieten seit längerer Zeit die interferometrische Messung von Brechungsindexänderungen bewährt. Wie eine einfache Überlegung zeigt, kann damit die Empfindlichkeit um einen Faktor von mindestens 25 gesteigert bzw. die für die Messung erforderliche Substanzmenge entsprechend reduziert werden. Auf diese Weise kommt man den Papiermethoden bezüglich des Substanzbedarfes nahe, ohne indessen deren Unsicherheiten in Kauf nehmen zu müssen.

Interferometer-Anordnungen nach *Rayleigh* zum oben erwähnten Zwecke gehen auf *G.-L. Guy*³⁾ und *L. Thovet*⁴⁾ zurück; sie wurden später von *C. A. Coulson*, *J. T. Cox*, *A. G. Ogston* & *J. St. L. Philpot*⁵⁾ aufgegriffen und schliesslich von *J. St. L. Philpot* & *G. H. Cook*⁶⁾ in zweckmässig vereinfachter Weise zu Messungen an der *Svedberg*'schen Ultrazentrifuge verwendet.

Etwa gleichzeitig haben *H. Labhart* & *H. Staub*⁷⁾ das Prinzip des *Jamin*-Interferometers zur Messung von Brechungsindexgradienten bei Elektrophorese-Versuchen angewendet; dieses wurde in der Folge von *W. Lotmar*⁸⁾ mehrfach, unter anderem auch nach der Art eines *Michelson*-Interferometers modifiziert, während von *H. J. Antweiler*⁹⁾ die ursprüngliche *Jamin*'sche Anordnung gewählt und ebenfalls zu Elektrophorese-Messungen herangezogen wurde.

In diesen beiden Fällen wurde das Prinzip der interferometrischen Gradientenabbildung nach *Jamin* zur Konstruktion von kompendiösen Mikro-Elektrophorese-Apparaten verwertet, in denen die erforderliche Lösungsmenge hauptsächlich durch die Anwendung entsprechend verkleinerter Zellen erheblich reduziert ist. Wie hier gezeigt werden soll, erlaubt dieses Vorgehen die Vorteile einer interferometrischen Gradientenaufzeichnung nur teilweise auszunützen.

Während bei den Anordnungen der Figur 1 dank der Zusammenlegung der kohärenten Bündel die Interferenzen in der Horizontalebene erzeugt werden können, so dass das Zellenbild entsprechend den Brechungsindexänderungen von Querstreifen im Abstand λ durchgezogen scheint, ist bei der Anordnung nach *Rayleigh* nur eine vertikale, also zur Höhe der

1) *H. J. Antweiler*, Mikrochemie **36/37**, 561 (1950).

2) *F. Turba* & *H. J. Enenkel*, Naturwiss. **37**, 93 (1950); *H. D. Cremer* & *A. Tiselius*, Bioch. Z. **320**, 293 (1950); *W. Grassmann* & *K. Hannig*, Naturwiss. **37**, 496 (1950); *W. Grassmann*, Naturwiss. **38**, 200 (1951).

3) *G.-L. Guy*, C. r. **90**, 307 (1880).

4) *L. Thovet*, Ann. Chim. Phys. [7] **26**, 366 (1902).

5) *C. A. Coulson*, *J. T. Cox*, *A. G. Ogston* & *J. St. L. Philpot*, Proc. Roy. Soc. (London) A, **192**, 382 (1947).

6) *J. St. L. Philpot* & *G. H. Cook*, Research I, Suppl. 5, 234 (1948).

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

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

9) *H. J. Antweiler*, Angew. Ch. **59**, 33 (1947); Koll. Z. **115**, 130 (1949).

Zelle parallele Lage der Interferenzstreifen möglich, sofern die Zelle gleichzeitig in der Vertikalen abgebildet werden soll; dies folgt aus dem Umstand, dass hier die kohärenten Bündel über eine konjugierte Abbildung interferieren, die mit dem Bild der Zelle in der Vertikalen zusammenfallen muss. Die Überlegung, dass dieses Zusammenfallen durch die Mitverwendung einer Zylinderlinse ermöglicht werden kann, ist alt; wieder aufgegriffen

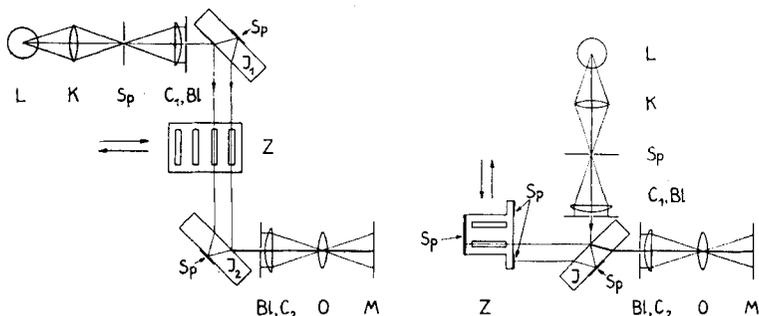


Fig. 1.

Zwei *Jamin*-Interferometer-Anordnungen für Mikro-Elektrophorese.

a) mit zwei *Jamin*-Platten
(*Antweiler, Labhart*).

b) mit einer *Jamin*-Platte
(*Lotmar*).

wurde sie nach *J. St. L. Philpot*¹⁾²⁾ auch von *H. Svensson*³⁾ und *L. G. Longsworth*⁴⁾, die sie an den von ihnen entwickelten Geräten für Diffusions-³⁾ und Elektrophorese-⁴⁾Versuche verwendeten. Es sei hier bemerkt, dass die vertikale, also zur Höhe der Zelle parallele Lage der Interferenzstreifen nicht etwa einen Nachteil gegenüber der *Jamin*'schen Anordnung und ihren Varianten bedeutet; bei den Anordnungen nach *Rayleigh* ist es vielmehr ein Vorteil, dass die hier durch Brechungsindexgradienten hervorgerufene seitliche Verschiebung der Interferenzstreifen eine kontinuierliche Wiedergabe der Brechungsindexänderung innerhalb des nutzbaren Bereiches von ca. ± 7 Ordnungen ermöglicht.

Die einfachste optische Anordnung nach *Rayleigh*, die diesem Zwecke dient, besteht nach den zuletzt genannten Autoren³⁾⁴⁾ aus einem von einer monochromatischen Lichtquelle ausgeleuchteten l., vertikalen Spalt, der mittels einer⁴⁾ oder zwei³⁾ Schlierenlinsen SK₁ und SK₂, zwischen denen sich die Zelle Z befindet, in eine Bildebene M

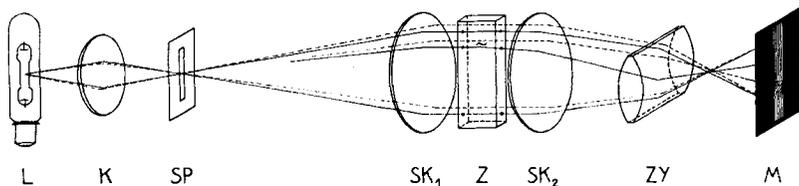


Fig. 2.

Einfachste Anordnung eines *Rayleigh*-Interferometers für Diffusions- und Elektrophoresemessungen.

¹⁾ *C. A. Coulson, J. T. Cox, A. G. Ogston & J. St. L. Philpot*, Proc. Roy. Soc. (London) A, **192**, 382 (1947).

²⁾ *J. St. L. Philpot & G. H. Cook*, Research **1**, Suppl. 5, 234 (1948).

³⁾ *H. Svensson*, Acta Chem. Scand. **3**, 1170 (1949).

⁴⁾ *L. G. Longsworth*, Anal. Chem. **23**, 346 (1951).

zur Abbildung gebracht wird. An der Zelle Z befindet sich eine Blende, die zwei kohärente Bündel, eines durch die Zelle und eines daneben, durchtreten lässt. Weiter befindet sich zwischen der Zelle Z und der Bildebene M eine Zylinderlinse ZY mit horizontaler Achse, die die zusätzliche Abbildung der Zelle der Höhe nach auf die Bildebene M übernimmt, ohne das Zusammenfallen der kohärenten Bündel in der Horizontalen zu beeinträchtigen.

Die Praxis hat indessen gelehrt, dass es vorteilhafter ist, sich einer etwas komplizierteren Anordnung zu bedienen. In grösseren Untersuchungsreihen wird nämlich bald eine der vom *Toepler'schen* Prinzip hergeleiteten Abbildungen, z. B. das direkte Diagramm, bald ein Interferenzbild benötigt, da man teils den Verlauf der Änderung des Brechungsindex, teils dessen Verlauf selbst zu kennen wünscht, worin sich diese beiden Methoden vorteilhaft ergänzen. Es ist also praktisch wichtig, rasch von der einen zur anderen Methode übergehen oder sogar vom gleichen Versuch sowohl das direkte Diagramm, als auch das Interferenzbild erhalten zu können. Eine Möglichkeit hierzu, die sehr befriedigt, da dabei sogar der vertikale Vergrößerungsmaßstab erhalten bleibt, ist von *H. Svensson*¹⁾ vor kurzem beschrieben worden. Es wird dabei im Prinzip der Strahlengang der direkten Diagrammaufzeichnung (vgl. Fig. 3) benützt, der ohne jede Änderung an seinen brechenden Elementen auf sehr einfache Weise in eine Interferometer-Anordnung nach *Rayleigh* mit Zwischenabbildung verwandelt werden kann.

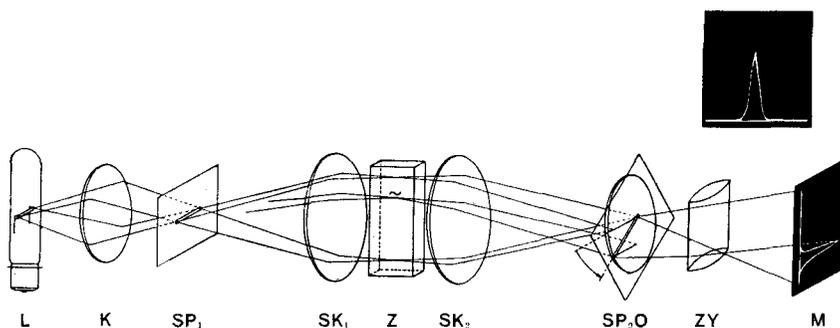


Fig. 3.

Strahlengang und Bildaufzeichnung bei dem Verfahren der direkten Diagrammaufzeichnung nach *Philpot-Svensson*.

Um von der Anordnung der Fig. 3 zur Interferenzmessung nach *Rayleigh* überzugehen, bedarf es lediglich der folgenden Änderungen:

1. Die Lichtquelle mit waagrechttem Leuchtkörper wird durch eine Gasentladungslampe mit vertikalem Lichtband ersetzt.

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

2. Der 1. Spalt SP_1 wird vertikal gestellt¹⁾.
3. Der 2., schräge Spalt SP_2 wird entweder entfernt oder ebenfalls vertikal gestellt und so weit geöffnet, dass er als Gesichtsfeldblende dient.

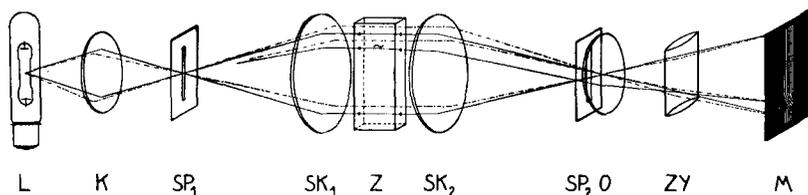


Fig. 4.

Strahlengang und Bildaufzeichnung bei der Interferenzmethode nach *Rayleigh* mit Zwischenabbildung nach *H. Svensson*.

Bei dieser Umstellung sind die folgenden Einzelheiten zu beachten: Bei Diagrammaufnahmen ist vor der Zelle eine Blende mit drei Schlitzen von 2, 1 und 2 mm Breite üblich. Die breiteren Schlitze geben den Durchtritt des Lichtes durch die beiden Schenkel der Zelle frei, während der schmalere Mittelschlitz zur Erzeugung der Basislinie der Diagramme dient. Für Interferenzaufnahmen wird diese Blende durch eine solche mit 2mal zwei Schlitzen von je 0,5—1 mm Breite ersetzt²⁾. Die gleiche Breite aller Schlitze entspricht bei den sehr verdünnten Lösungen besser der Bedingung des Durchtritts gleicher Lichtmengen; die Anordnung von 2mal zwei Schlitzen trägt dem Umstand Rechnung, dass der Abstand der Interferenzstreifen von einander dem Abstand dieser Schlitze umgekehrt proportional ist. Um einen genügenden Abstand der Interferenzstreifen zu erhalten, muss also der Abstand je zweier Schlitze (vor einem Zellschenkel und daneben) entsprechend klein gehalten werden, und das kann er, wenn der ursprüngliche „Basislinien-Schlitz“ in zwei Schlitze aufgespalten wird. Sodann ist es besonders bei fein auskorrigierten Zylindersystemen³⁾ unerlässlich, dass deren Achse sehr genau mit jener des 1. Spaltes bzw. seines Bildes zusammenfällt, da man sonst nur ein schlechtes oder gar kein Interferenzbild erhält. Es wird also stets eine sorgfältige Justierung der Achsenlage des Zylindersystems erforderlich sein, die durch eine entsprechende Feinbewegung⁴⁾ erleichtert wird. Dagegen ist es bei entsprechend korrigierten optischen Systemen zunächst nicht von Belang, ob kurz-, mittel- oder langwelliges monochromatisches Licht verwendet wird. Im praktischen Gebrauch hat sich sowohl filtriertes Hg-Licht, als auch Na-Licht bewährt, bei welchem die Belichtungszeiten mit einem Faktor von 5—10 zu multiplizieren sind.

Wie bereits angedeutet, kommt beim Strahlengang der Fig. 4 das Interferenzbild über eine Zwischenabbildung zustande; das Objektiv O bildet hier die Zelle Z in der Vertikalen ab, während die Zylinderlinse ZY, deren Achse hier senkrecht steht, das Bild des 1. Spaltes und damit das eigentliche Interferenzbild auf die Bildebene M überträgt.

¹⁾ Die Elektrophorese-Apparaturen nach Angaben des Verfassers (vgl. z. B. *E. Wiedemann*, *Scientia pharm.* **17**, 45 (1949)) werden deshalb mit drehbaren 1. Spalten mit Rasten bei 0°, 90° und 180° ausgerüstet.

²⁾ Derartige Blenden werden mit allen Zellsätzen nach Angaben des Verfassers (vgl. *E. Wiedemann*, *Helv.* **31**, 2037 (1948)) geliefert.

³⁾ Vgl. *E. Wiedemann*, *Scientia pharm.* **17**, 45 (1949).

⁴⁾ Die Zylindersysteme der Elektrophorese-Apparaturen nach den Angaben des Verfassers werden damit ausgerüstet.

Die Gleichheit der optischen Anordnungen der Fig. 3 und Fig. 4 hat *H. Svensson* Veranlassung geboten, das Diagrammbild simultan mit dem Interferenzbild nach *Rayleigh* zu kombinieren¹⁾; es ist denkbar, dass die damit gebotenen Vorteile einer gleichzeitigen Aufnahme der Änderung des Brechungsindexverlaufs und des Brechungsindexverlaufs selbst den erhöhten apparativen Aufwand dafür rechtfertigen werden.

Es sei nun darauf eingegangen, welche Vorteile die interferometrischen Methoden gemäss Fig. 1 (*Jamin*-Anordnung) und Fig. 2 bzw. Fig. 4 (*Rayleigh*-Anordnung) bieten können und wodurch sie sich unterscheiden. Beiden gemeinsam ist zunächst, dass mit ihnen — im Gegensatz zu den Diagramm-Methoden — der Brechungsindexverlauf selbst (nicht: dessen Änderung) registriert wird. Ferner ist im Vergleich mit den Diagramm-Methoden das Auflösungsvermögen mindestens 25mal höher, der Substanzbedarf für eine Messung also um denselben Faktor kleiner. Bei näherem Zusehen ergeben sich aber doch merkliche Unterschiede in der Ausnützbarkeit des hohen Auflösungsvermögens zugunsten des *Rayleigh*-Bildes. Sie sind zum Teil in der optischen Anordnung und zum Teil in der Konstruktion der entsprechenden Geräte begründet. Bereits erwähnt wurde, dass die Anordnungen nach Fig. 1 Messpunkte im Abstand λ ergeben, deren Definition der Schwerpunktslage der Querstreifen entspricht, während die Anordnungen nach Fig. 2 bzw. nach Fig. 4 die Änderung des Brechungsindex fortlaufend aufzeichnen. *H. Svensson*²⁾ weist deshalb darauf hin, dass nur das *Rayleigh*-Bild in einer Aufnahme alle Brechungsindexänderungen in Bruchteilen von Wellenlängen zu erfassen gestatte, während aus der Konstruktion der Apparate von *Labhart-Staub-Lotmar*, wie *Antweiler* folge, dass mit dem ersteren Gerät zwar die momentane Aufnahme des ganzen Bildes, aber nur in ganzen Einheiten der Wellenlänge und mit dem letzteren Gerät, das mit weissem Licht die Messung von Wellenlängen-Bruchteilen gestattet, keine momentane Aufnahme des ganzen Bildes möglich sei.

Hierzu kommt, dass die letztgenannten Apparate relativ kleine Zellen aufweisen, die eine Einrichtung zur Konstanthaltung ihrer Temperatur entbehren. Dies führt dazu, dass man mit ihnen mit nur wenig verdünnteren Lösungen als bei der direkten Diagramm-Methode arbeitet, ohne aber eine den normalen Zellen entsprechende Weglänge s für die Wanderung zur Verfügung zu haben. Dadurch wird zwar an Lösung gespart, aber gleichzeitig das durch die Weglänge s massgeblich mitbestimmte Separationsvermögen herabgedrückt. Auch bleiben dabei die Bildanomalien erhalten. Dies erklärt die oft als merkwürdig angesehene Tatsache, dass die mit den er-

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

²⁾ *H. Svensson*, Acta Chem. Scand. **5**, 72 (1951).

wähnten Apparaten erzielten Ergebnisse praktisch nur den mit den älteren Methoden erreichbaren Resultaten nahekomen¹⁾.

Die Interferenzmessung nach *Rayleigh* ist mit diesen Nachteilen nicht belastet. Es war deshalb *H. Svensson*²⁾ möglich, damit in Diffusionsmessungen eine ganz ausgezeichnete Übereinstimmung der einzelnen Messwerte bis auf 0,5% zu belegen. Da ferner bei Elektrophorese-Messungen nach *Rayleigh* normal grosse Zellen verwendet und nur die Konzentrationen der Lösungen an Untersuchungssubstanz entsprechend herabgesetzt werden, bleibt das durch die Weglänge s massgeblich mitbestimmte Separationsvermögen erhalten, während gleichzeitig die Bildanomalien, der Theorie von *V. P. Dole*³⁾ und *H. Svensson*⁴⁾ entsprechend, stark abnehmen bis unmerklich werden. Dies aber sind die besten Voraussetzungen für Feinmessungen. Man kann sie durch praktisch identische Bilder der rising und descending boundaries bei Elektrophorese-Versuchen belegen.

Diese und weitere Argumente bestimmten uns, der Interferenzmessung nach *Rayleigh* den Vorzug zu geben und die nach unseren Angaben von der Fa. *Strübin* in Basel hergestellten Elektrophorese-Apparaturen FOKAL B⁵⁾ und FOKAL F (vgl. Fig. 5) fakultativ dafür ausrüsten zu lassen.

Es ist bereits darauf hingewiesen worden, dass sich für die Interferenzmessung nach *Rayleigh* mit der praktisch wichtigen Anordnung gemäss Fig. 4 die Verwendung speziell gerechneter und fein korrigierter optischer Systeme⁵⁾ empfiehlt, um das theoretisch mögliche Auflösungsvermögen von $\frac{1}{50} \lambda$ zu erreichen. Vorausgesetzt ist dabei, dass durch Verwendung entsprechend guter Planscheiben (am Thermostaten) und Zellen⁶⁾ keine merkliche Bildverschlechterung eingeführt wird. Bei grossen Apparaturen von etwa 4,50 bis 5,50 m Baulänge erhält man dann ohne weiteres, auch bei Anwendung des vom Verfasser eingeführten⁷⁾ und seither allgemein angewendeten Kleinbildaufnahmeverfahrens, die erforderliche Auflösung im Bilde. Bei kleineren Geräten mit entsprechend verkürzten Brennweiten, wie dem in Fig. 5 dargestellten, genügt indessen die übliche Lateralvergrösserung der Zylinderoptik von 1 : 1 bis 1 : 2 hierzu nicht mehr, da man den Schlitzabstand vor der Zelle nicht im gleichen Masse wie die Brennweiten verkleinern kann. Für die erforderliche Lateralvergrösserung von 1 : 4 bis 1 : 5, die dank der vorzüglichen Korrektur des verwendeten Zylindersystems ohne Einbusse an Bildschärfe ge-

¹⁾ *H. Labhart & H. Staub*, *Helv.* **30**, 1954 (1947).

²⁾ *H. Svensson*, *Acta Chem. Scand.* **5**, 72 (1951).

³⁾ *V. P. Dole*, *Am. Soc.* **67**, 1119 (1945).

⁴⁾ *H. Svensson*, *Ark. Kem.* **22**, A, 10, 1 (1946).

⁵⁾ Vgl. *E. Wiedemann*, *Scientia pharm.* **17**, 45 (1949).

⁶⁾ *E. Wiedemann*, *Exper.* **3**, 341 (1947).

⁷⁾ *E. Wiedemann*, *Helv.* **30**, 639 (1947).

wählt werden konnte, ergab sich eine Änderung des Strahlengangs der Fig. 4, derart, dass die Zylinderoptik ZY dem etwas zurückversetzten Objektiv O unmittelbar voransteht. Auf diese Weise ist es erstmals möglich geworden, ein kleines und entsprechend preiswertes Gerät zusätzlich für die empfindlichste und genaueste optische Methode zur Wiedergabe von Brechungsindexänderungen in Lösungen auszurüsten. Die in allen Teilen gleich hohe Korrektur der optischen Systeme wie an unserer grossen Elektrophorese-Apparatur FOKAL B¹⁾ verbürgt dabei die erforderliche Bildschärfe. Aus der gesteigerten Lateralvergrösserung ergibt sich für die normalen Diagramm- usw. Aufnahmen eine entsprechende Reduktion des Winkels des 2., schrägen Spaltes mit der Vertikalen, was jedoch praktisch bedeutungslos ist.

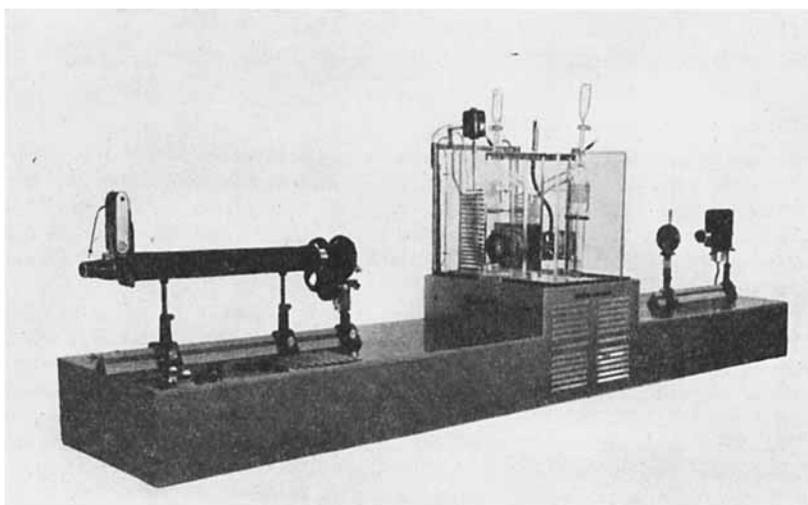


Fig. 5.

Analytische Elektrophorese-Apparatur FOKAL F nach Angaben des Verfassers in Ganzstahlausführung, Gesamtlänge 2,60 m, optische Ausrüstung gemäss nachfolgender Beschreibung, in Gebrauchsstellung für Interferenzaufnahmen nach *Rayleigh*. Hersteller: *Strübin & Co.*, Basel.

Im Vorstehenden wurde gezeigt, dass es heute auch mit kleinen Elektrophorese-Apparaten möglich ist, ausser den Aufnahmen nach *Philpot* (Schattendiagramm) und *Philpot-Svensson* (Linien- bzw. Drahtdiagramm) auch Interferenzaufnahmen nach *Rayleigh-Svensson* unter Beibehaltung derselben optischen Anordnung herzustellen. Damit erhebt sich die Frage, wann welchem dieser Aufnahmeverfahren der Vorzug zu geben ist. Sie kann im Hinblick auf Elektrophorese-Versuche etwa wie folgt beantwortet werden:

Ist genügend Untersuchungsmaterial vorhanden, so wird eine der üblichen Diagramm-Methoden das gewünschte Resultat ergeben.

¹⁾ Vgl. *E. Wiedemann*, *Scientia pharm.* **17**, 45 (1949).

Das Bild besitzt den Vorzug einer gewissen Anschaulichkeit und Abschätzbarkeit der vorhandenen relativen Substanzmengen, deren Bestimmung heute zumeist im Vordergrund steht. Man hat indessen zu bedenken, dass man zwei nicht ganz identische Teilbilder erhält; die Auswertung hat bei genauen Messungen diesen Umstand zu berücksichtigen¹⁾²⁾.

Steht nur sehr wenig Untersuchungsmaterial zur Verfügung, so wird man von einer ca. 10mal oder noch mehr verdünnten Lösung immer noch ein gutes Interferenzbild nach *Rayleigh* erhalten. Bei diesen Verdünnungen verschwinden die Bildanomalien fast völlig, so dass zwei praktisch identische Teilbilder resultieren und es nur in speziellen Fällen erforderlich sein wird, noch vorhandene Reste der Extragradiënten δ und ε zu eliminieren.

Da man beim Diagrammbild die Änderung des Verlaufs einer Brechungsindexänderung, beim Interferenzbild aber diesen Verlauf selbst erhält, sei an der nachfolgenden Fig. 6 deren unterschiedliche Auswertung veranschaulicht.

Von einer gegebenen, etwa 0,2-proz. Lösung eines Globulingemisches wurde im nämlichen Versuch nach erfolgter Wanderung eine direkte Diagrammaufnahme und ein Interferenzbild nach *Rayleigh* erhalten. Aus der Aufnahme ganz oben (Diagrammbild³⁾) wurde die Figur ganz unten durch Ausziehen der Mittellinie und Eintragen der Extrapolationen erhalten. Eine Auswertung nach dem Vorgang des Verfassers⁴⁾ ergab die folgenden relativen Mengenwerte:

Komponente A 36,7%; Komponente B 48,6%; Komponente C 14,7%.

Beim Interferenzbild nach *Rayleigh* (zweites von oben) kann man hierzu wie folgt vorgehen: Man überträgt die Mittellinie eines Interferenzstreifens auf einen Raster mit dem Abstand λ , wobei man einen verschwindenden Streifen mit Hilfe eines weiter oben liegenden weiterführt, bis man die gesamte Brechungsindexänderung, die im vorliegenden Beispiel 17λ beträgt, aufgezeichnet hat. Dann setzt man die gesamte Höhe der Fig. gleich 100%. Da Stellen größter Neigung eines Interferenzstreifens den Scheiteln von Gradienten, Stellen geringster Neigung den Übergängen zwischen Gradienten entsprechen, so ergibt sich aus der Lage dieser Punkte die Lage der Gipfel und der Extrapolationen des korrespondierenden direkten Diagramms. Zieht man von den letztgenannten Punkten die Horizontale zur Prozentteilung (in Fig. 6 nicht eingetragen), so erhält man damit direkt die relativen Prozentwerte der Komponenten. Im Beispiel der Fig. 6 ergab sich auf diese Weise:

Komponente A 36,8%; Komponente B 48,7%; Komponente C 14,5%.

Die Übertragung eines *Rayleigh*-Interferenzbildes in ein Diagrammbild ist ähnlich einfach und bereits von *L. G. Longworth*⁵⁾ beschrieben worden.

Eine Voraussetzung für alle Auswertungen ist, dass die spezifischen Brechwerte der anwesenden Komponenten einander praktisch gleich sind und deshalb die relativen Konzentrationswerte den relativen Brechwerten gleichgesetzt werden dürfen. Erfahrungsgemäss trifft dies in sehr vielen Fällen zu.

¹⁾ *L. G. Longworth & D. A. McInnes*, Am. Soc. **62**, 705 (1940).

²⁾ *E. Wiedemann*, Helv. **30**, 168 (1947).

³⁾ Man beachte, dass dieses Bild zufolge der relativ niederen Lösungskonzentration bereits gewisse Störungen durch Beugungseffekte zeigt, während das Interferenzbild darunter keinerlei Verzerrungen aufweist. ⁴⁾ *E. Wiedemann*, Helv. **30**, 892 (1947).

⁵⁾ *L. G. Longworth*, Anal. Chem. **23**, 346 (1951).

Die Fig. 6 gibt gleichzeitig ein Beispiel für die ungefähre untere Konzentrationsgrenze beim direkten Diagrammverfahren, die einer mittleren Konzentration beim Interferenzverfahren entspricht. Deren

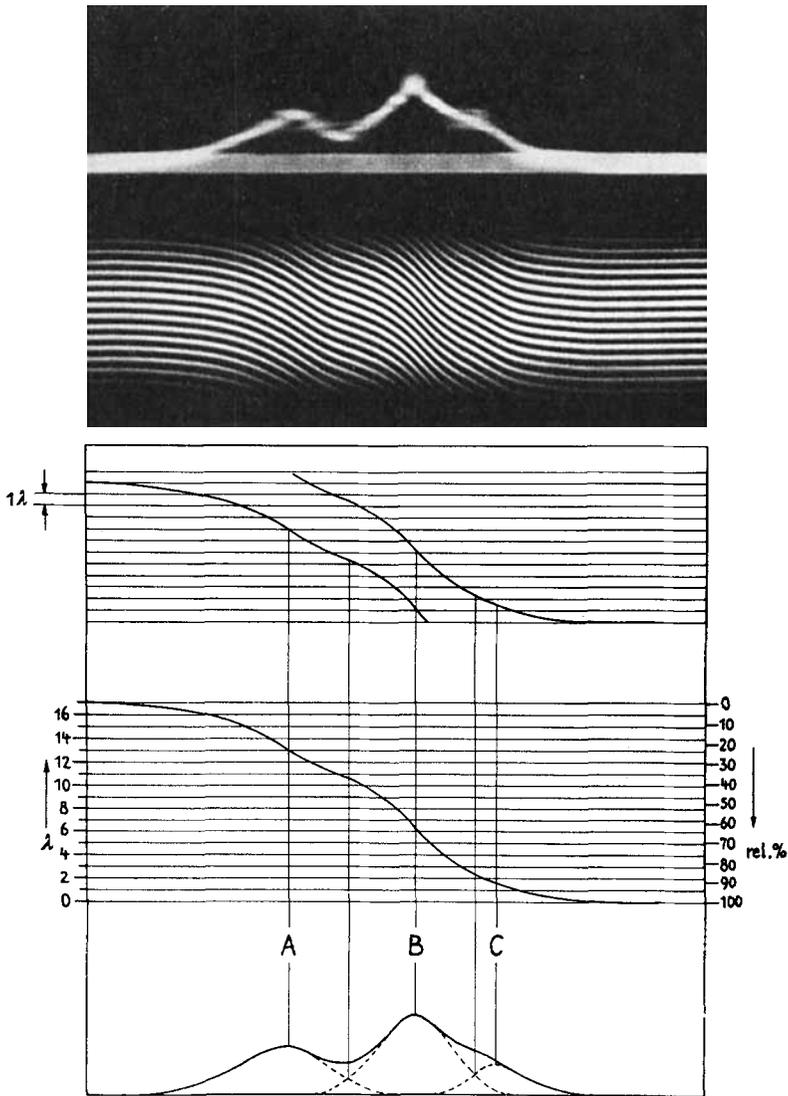


Fig. 6.

Die Auswertung von *Rayleigh*-Interferenz-Diagrammen.

Wert von 0,2% gilt für die Standard-Schichtdicke von 25 mm und ändert mit dieser entsprechend.

Unter der gleichen Voraussetzung lässt sich der praktisch nutzbare Konzentrationsbereich für Interferenzaufnahmen nach *Rayleigh*

von 0,01 bis 1% schätzen, womit er jenen der Diagrammverfahren noch übertrifft.

Für den Fall von Diffusionsmessungen hat zuletzt *H. Svensson*¹⁾ die Überlegenheit von Interferenzaufnahmen nach *Rayleigh* belegt, und es unterliegt keinem Zweifel, dass diese auch für Messungen mit der Ultrazentrifuge besteht.

Da die Definition der Linien eines direkten Diagramms, wie ebenfalls aus Fig. 6 hervorgeht, mit fallender Konzentration schlechter (durch Beugungserscheinungen gestört) wird, andererseits aber damit die Bildanomalien bei der Elektrophorese ebenfalls abnehmen, wäre es in mehrfacher Hinsicht von Vorteil, wenn es gelänge, das direkte Diagramm, also den Verlauf der Änderung des Brechungsindex, interferometrisch aufzuzeichnen. Wie *H. Svensson*²⁾ gezeigt hat, ist dies bei Diffusionsversuchen durch die Verwendung einer Doppelzelle möglich, wobei die Differentiation eine rein optische ist. Eine universelle, also auch für Elektrophorese-Versuche in Frage kommende Methode dieser Art ist vom selben Autor³⁾ zunächst theoretisch behandelt worden. Ihre praktische Durchführung erfordert indessen einen nicht unerheblichen apparativen Mehraufwand, der sich möglicherweise nur in besonderen Fällen als lohnend erweisen wird. Die Bildhöhe ist auch hier durch die Zahl der erfassbaren Ordnungen limitiert, so dass Gradienten, deren Höhe diese Zahl übersteigt, durch Aneinandersetzen der betreffenden Kurvenabschnitte aufgebaut werden müssen. Da aber der Vorteil kleinsten Substanzbedarfs mit dem eines von allen Störungen praktisch freien Bildes zusammentrifft, bleibt eine Realisierung dieser Methode doch ein erstrebenswertes Ziel.

Zusammenfassung.

Die vorliegende Mitteilung gibt einen Überblick über die bei der Elektrophorese neuerdings in Anwendung gelangenden interferometrischen Methoden zur Aufzeichnung von Brechungsindex-Verläufen in Lösungen und beschreibt im besonderen die nach dem Prinzip von *Rayleigh* hierzu in Frage kommenden optischen Anordnungen. Es wird eine Modifikation bekanntgegeben, welche die Anwendung der *Rayleigh*-Interferometrie und damit die Ausnützung ihrer Vorteile erstmals an kleineren Geräten nach *Tiselius* ermöglicht und eine neue, einfache Methode der Auswertung der Interferogramme beschrieben. Es werden Hinweise dafür gegeben, wie und wann diese Messmethode mit Vorteil anzuwenden ist.

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

¹⁾ *H. Svensson*, Acta Chem. Scand. **5**, 72 (1951).

²⁾ *H. Svensson*, Acta Chem. Scand. **3**, 1170 (1949).

³⁾ *H. Svensson*, Acta Chem. Scand. **4**, 1329 (1950).