

Eine halbautomatische Mischbatterie zur Herstellung von Dichtegradienten

Kontinuierliche Dichtegradienten innerhalb bestimmter Volumenbereiche finden in Verbindung mit der Fraktionierung von Zellpartikeln¹ und Substanzgemischen unterschiedlicher Molekülgrösse² einen immer ausgedehnteren Anwendungsbereich. Die Forderungen, die bei der Herstellung der Dichtegradienten erhoben werden, sind: (1) eine schnelle und verlässliche Gradientenmischung; und (2) eine absolute Reproduzierbarkeit der linearen Dichteänderungen.

Es sind eine Reihe von Konstruktionen publiziert worden, die darauf beruhen, dass entweder unter Ausnutzung des hydrostatischen Eigendruckes des Lösungsmittels oder mit mechanischem Druck geeignete Lösungen unterschiedlicher Dichte gemischt und der Flüssigkeitsspiegel des Gradientengefässes manuell nachkorrigiert wird^{3,4}.

Die im Handel befindlichen Gradientenmischer arbeiten nach dem gleichen Prinzip und lassen trotz grossen technischen Aufwandes entweder jede Variationsmöglichkeit zur Programmierung der Gradienten oder die Nivellierung des Flüssigkeitsspiegels im Bezug zum Auslauf vermissen.

Die vorgeschlagene Bauweise der halbautomatischen Mischbatterie ist aus diesem Grunde so gestaltet, dass mechanisch angetriebene und mit Programmierscheiben gesteuerte Stempel die Lösungen unterschiedlicher Dichte in einem Mischteil mit meanderförmig eingeschnittenen Kanälchen treiben und deren Auslauföffnungen

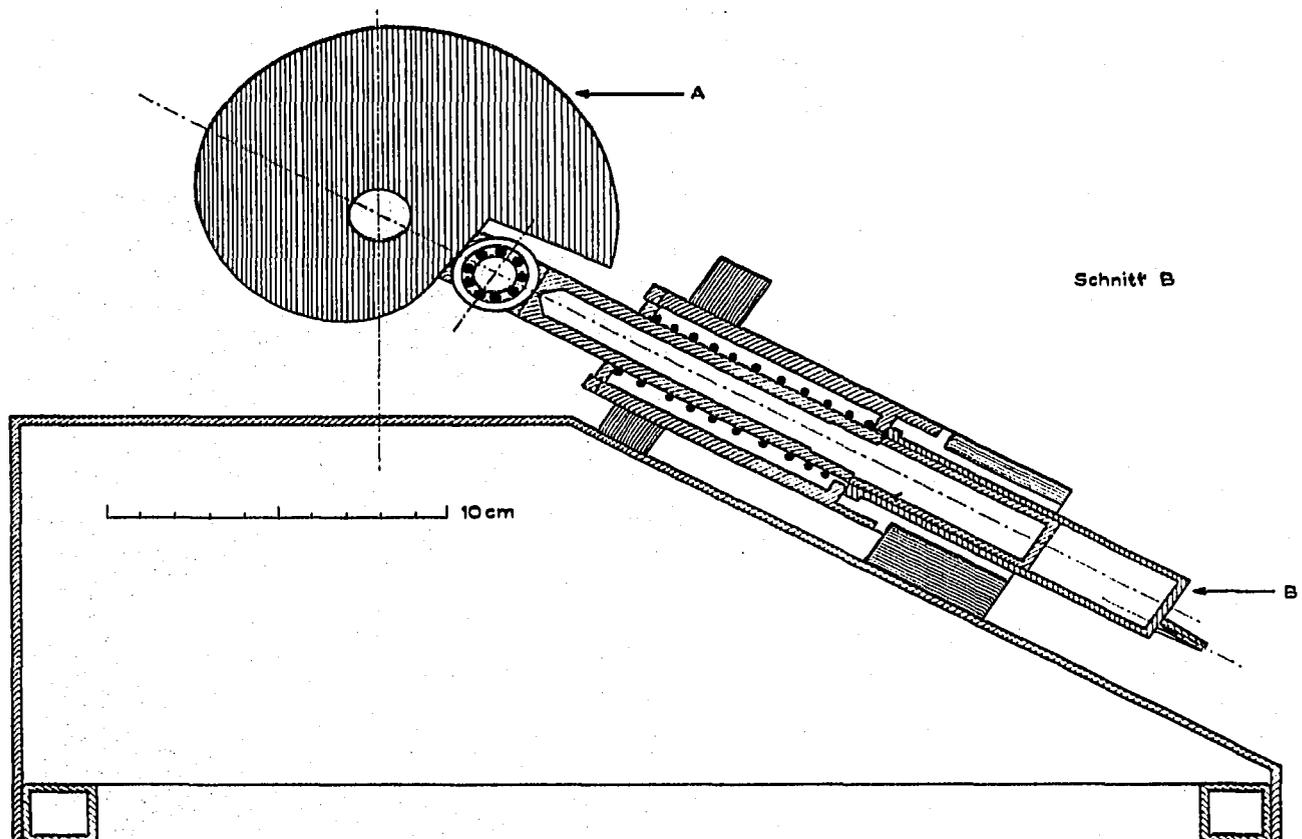


Fig. 1. Querschnittszeichnung zur Demonstration der Anwendung von Programmierscheibe und Spritze. A = Programmierscheibe; B = Nylon-Spritze.

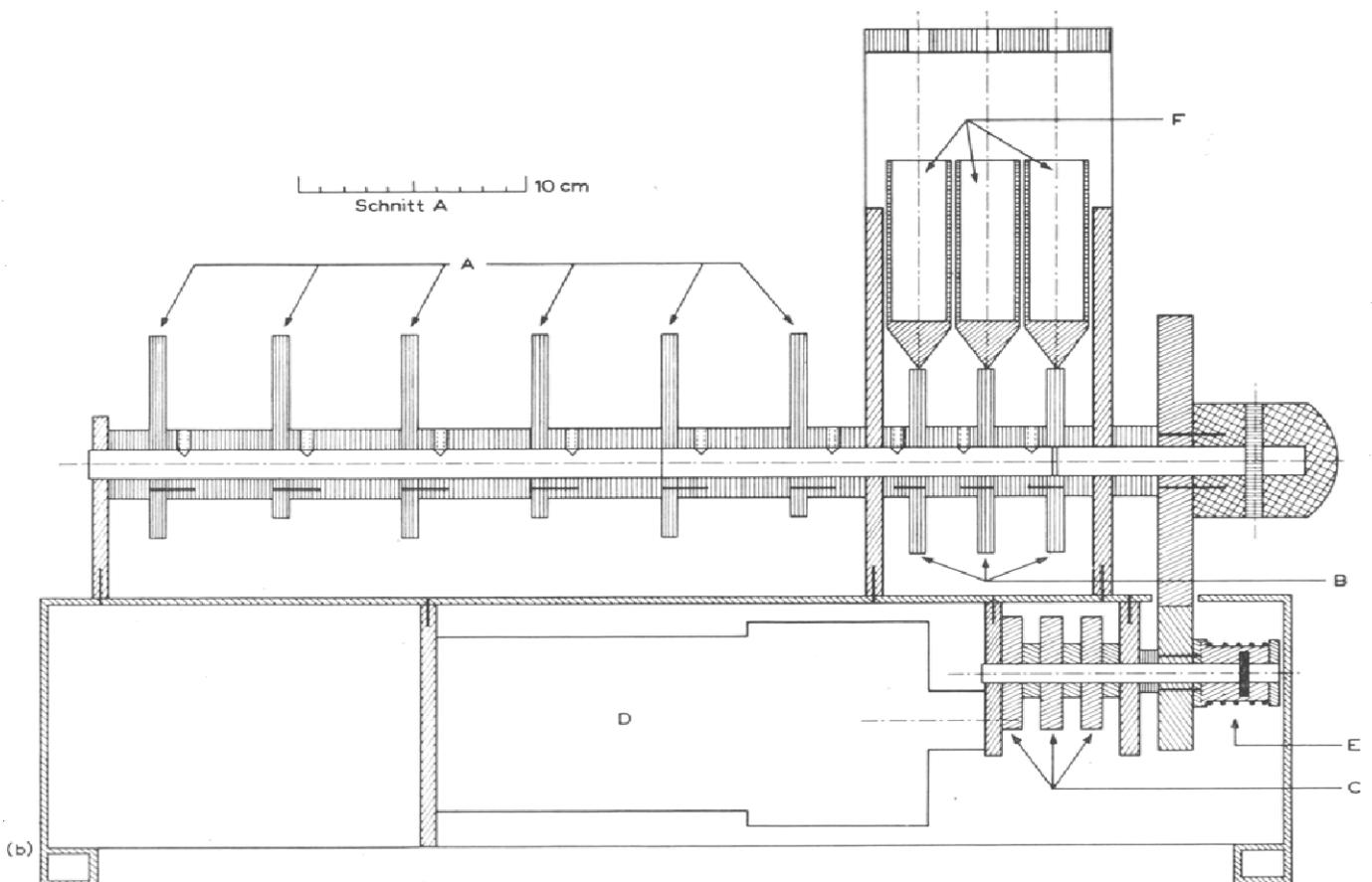
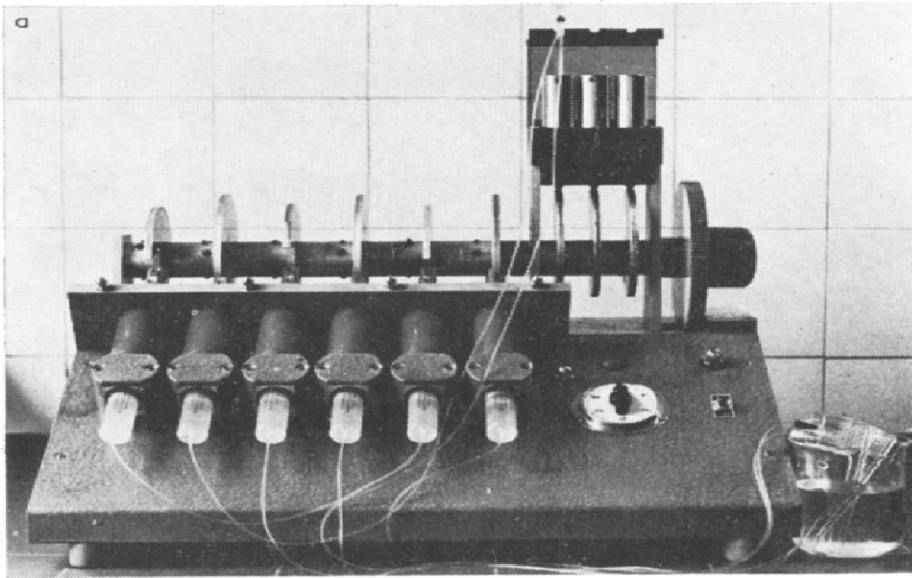


Fig. 2. (a) Vorderansicht der Mischbatterie; (b) Schnitt durch die Längsachse des Gerätes. A = Programmierscheiben in Form positiver und negativer logarithmischer Spiralen; B = Programmierscheiben mit linearem Abfall; C = Zwischengetriebe; D = Motor; E = Zahnkupplung zur Rückstellung; F = Gefäßhalterungen.

durch eine gleichfalls gesteuerte Gefäßhalterung so nivelliert werden, dass sie sich immer direkt über dem Flüssigkeitsspiegel befinden. Der gesamte Aufbau enthält die Mischvorrichtungen für gleichzeitig drei Gradientengefäße und gestattet deren reproduzierbare Herstellung innerhalb von 30 Min. Dadurch ist gewährleistet, dass sich vergleichbare kontinuierliche Gradienten herstellen lassen, die durch Änderung der Ausgangsdichten der zu mischenden Lösungen variiert werden können und jederzeit zu reproduzieren sind. Die gleichzeitige Anpassung der Auslauföffnungen im Bezug zum Flüssigkeitsspiegel mit derselben Antriebseinheit schaltet jeden Fehler aus, der durch eine manuelle Korrektur auftreten muss.

Beschreibung und Funktion der Bauteile

Zur Aufnahme der zu mischenden Lösungen dienen 6 Nylonspritzen der Fa. Delvenne (Mannheim) mit einem Fassungsvermögen von 20 ml, die mit einer Neigung von ungefähr 30° auf einem Pult montiert sind. Die Stempel werden in Kunststoffhalterungen geführt, die gleichzeitig die Rückstellfedern aufnehmen. Der Vorschub der Stempel wird durch Programmierscheiben gewährleistet, die auf einer gemeinsamen Achse befestigt sind und paarweise je einen Stempel mit abnehmender (konzentrierte Lösung) und zunehmender (verdünnte Lösung) Vorschubgeschwindigkeit antreiben. Die Scheiben wurden aus 6 mm starken Aluminium hergestellt und zur Steuerung des Vorschubes von insgesamt 40 mm bei einem Umlauf in Form positiver und negativer logarithmischer Spiralen geschnitten. Die Stempelhalterungen sind mit kugelgelagerten Rollen versehen, so dass die Übertragung der sich stetig ändernden Vorschubgeschwindigkeit einwandfrei gewährleistet ist (Fig. 1). Die Programmierscheiben sind auf einer gemeinsamen zentralen und ebenfalls kugelgelagerten Achse montiert, die durch einen Motor, Typ SK, der Fa. Siemens, Berlin (220 V, 3 U/Min.)

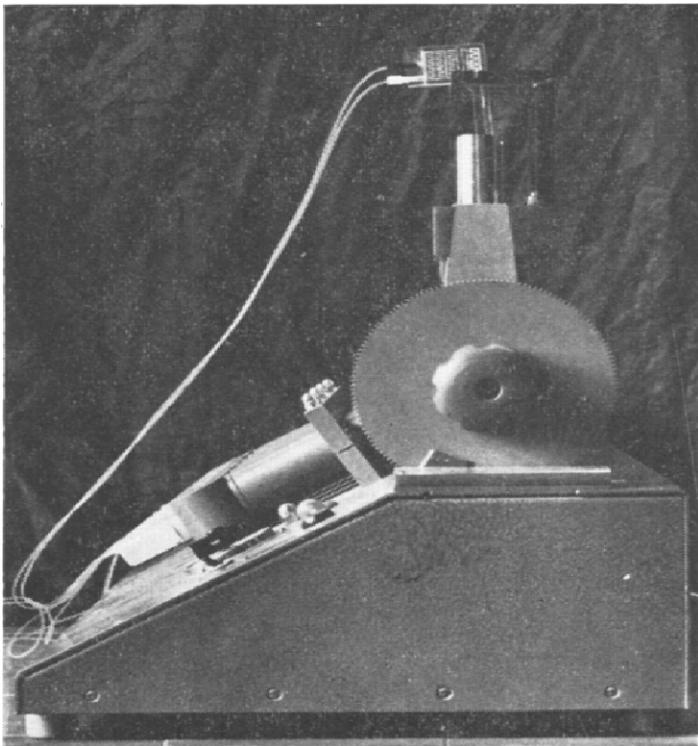


Fig. 3. Seitenansicht der Mischbatterie mit angeschlossenem Auslauf- und Mischteil.

und ein Zwischengetriebe von 4 U/Min. auf 1 U/Std. angetrieben wird. Die Rückstellung zur Gewinnung der Ausgangsposition erfolgt über eine Zahnkuppelung (Figs. 2a und 2b).

Zur Nivellierung des Flüssigkeitsspiegels im Zentrifugengefäß im Bezug zur Auslauföffnung wird die Kunststoffhalterung der Gefäße bei gleitender Führung durch ihr Eigengewicht gegen die Programmierscheibe mit linearem Abfall des Durchmessers gedrückt und entsprechend des Flüssigkeitszuflusses so gesenkt, dass sich die Auslauföffnung des Mischteiles immer über dem Flüssigkeitsspiegel befindet. Die Programmierscheiben zum Nivellieren der Gefäßhalterungen sind auf die gleiche zentrale Achse montiert. Die Mischteile sind beweglich auf Stifte gelagert und enthalten meanderförmig eingefräste Kanäle, die die Mischung der spezifisch schwereren und leichteren Lösung gewährleisten. Ihr Eigengewicht drückt deren Auslauföffnung gegen die Wandung des Zentrifugenröhrchens, wodurch die Bildung von Flüssigkeitswirbeln vermieden werden soll (Fig. 3). Durch Anschluss einer Kontaktuhr kann nach vorgewählter Zeit der Antriebsmotor abgeschaltet werden.

*Physiologisch-Chemisches Institut der Universität Würzburg,
Würzburg (Deutschland)*

E. ZIMMERMANN*
D. D. SCHMIDT*

1 D. A. YPHANTIS UND D. F. WANGH, *J. Phys. Chem.*, 60 (1956) 630.

2 R. G. MARTIN UND B. N. AMES, *J. Biol. Chem.*, 236 (1961) 1372.

3 D. F. H. WALLACH UND V. B. KAMAT, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, 52 (1964) 721.

4 S. SAMUELS, *Anal. Biochem.*, 7 (1964) 164.

Eingegangen den 17. Januar 1966

* Unter technischer Mitarbeit von H. FEINEIS.

J. Chromatog., 23 (1966) 471-474

Preparation of deproteinised tissue extracts for chromatography and assay of compounds related to glutathione

When extracting tissue for assay of glutathione and other thiols, the chief problem is to prevent losses either by oxidation of the thiol to disulphide or by binding to protein in thiol-disulphide exchanges. The extractants recommended for high recovery are salt-saturated 4% (w/v) metaphosphoric acid or 3% (w/v) sulphosalicylic acid¹. Such extracts are not immediately suitable for chromatography because of the content of salts and involatile acids. Also direct colorimetric assays of thiol in extracts from brain or slightly fatty livers are ruined by opacity introduced by dispersed lipid material.

During studies on the metabolism of some foreign compounds in the rat, I wished to measure the effect of doses of these compounds on liver GSH and also to separate derivatives of GSH which had been formed *in vivo*. Extraction of components from tissues with ethanol is quite common and this paper describes the modifications of the technique needed to obtain good recoveries of GSH and its derivatives

J. Chromatog., 23 (1966) 474-475