

CLASSIFICATION **RESTRICTED**

CENTRAL INTELLIGENCE AGENCY
INFORMATION REPORT

REPORT NO.

COUNTRY **Germany**

DATE DISTR. **3 March 1948**

SUBJECT **Publication "Zeitschrift für Naturforschung"**

NO. OF PAGES **1**

25X1

PLACE ACQUIRED

NO. OF ENCLS. **1**
(LISTED BELOW)

DATE ACQUIRED **July-August 1947**

37906

SUPPLEMENT TO REPORT NO.

GRADING OF SOURCE						COLLECTOR'S PRELIMINARY GRADING OF CONTENT					
COMPLETELY RELIABLE	USUALLY RELIABLE	FAIRLY RELIABLE	NOT USUALLY RELIABLE	NOT RELIABLE	CANNOT BE JUDGED	CONFIRMED BY OTHER SOURCES	PROBABLY TRUE	POSSIBLY TRUE	DOUBTFUL	PROBABLY FALSE	CANNOT BE JUDGED
A.	B.	C.	D.	E.	F.	1.	2.	3.	4.	5.	6.

THIS DOCUMENT CONTAINS INFORMATION AFFECTING THE NATIONAL DEFENSE OF THE UNITED STATES WITHIN THE MEANING OF THE ESPIONAGE ACT 50 U. S. C. 31 AND 32, AS AMENDED. ITS TRANSMISSION OR THE REVELATION OF ITS CONTENTS IN ANY MANNER TO AN UNAUTHORIZED PERSON IS PROHIBITED BY LAW. REPRODUCTION OF THIS FORM IS PROHIBITED. HOWEVER INFORMATION CONTAINED IN BODY OF THE FORM MAY BE UTILIZED AS DEEMED NECESSARY BY THE RECEIVING AGENCY.

THIS IS UNEVALUATED INFORMATION FOR THE RESEARCH USE OF TRAINED INTELLIGENCE ANALYSTS

SC

SOURCE

1. Attached is one copy of the July-August 1947 issue of the "Zeitschrift für Naturforschung". It is requested that this be forwarded to the Research & Development Board, for the attention of Committee X.

CLASSIFICATION

RESTRICTED

STATE	NAVY	NSRB	DISTRIBUTION										
ARMY	AIR	ORE	X										

Extracted by F.I.R.

GUSTAV KOESTERS

Akademische Buchhandlung Paul Obermüller

Fachabteilung für Medizin und Naturwissenschaften - Gegründet 1801

Mr.
Dean Woodruff
Königsplatz 41

Nr. 2519

5.2.48

(17a) HEIDELBERG, den 194
Hauptstraße 60
Fernsprecher 2869

Auf Bestellung - zur Ansicht - zur Fortsetzung			
1	Ztschr-für Naturforschung Teil 29, Heft 7/8	Zust.ges. RM	5.20
Bank-Konto: Bezirksparkasse Heidelberg 1871 / Postscheckkonto: Karlsruhe 15721 / Eigentumsvorbehalt lt. § 455 BGB / Erfüllungsort und Gerichtsstand ist Heidelberg			

6000148 Dr. J. H. H.

att. #1

ZEITSCHRIFT
FÜR
NATURFORSCHUNG

KURATORIUM

A. SOMMERFELD · W. HEISENBERG

K. CLUSIUS · A. BUTENANDT

A. KUHN · O. RENNER

DTB

BAND 2b

JULI/AUGUST 1947

HEFT 7/8

DIETERICH'SCHE VERLAGSBUCHHANDLUNG
WIESBADEN

Band 2b

*Anorganische, organische und biologische Chemie, Botanik, Zoologie
und verwandte Gebiete*

Inhalt von Heft 7/8		Seite
Originalmitteilungen		
Über die Spaltung des Tabakmosaikvirus und die Wiedervereinigung der Spaltstücke zu höhermolekularen Proteinen. II. Versuche zur Wiedervereinigung der Spaltstücke	Von Gerhard Schramm	249
Über Filme und Mischfilme von langkettigen dibasischen Estern	Von Hans Joachim Trurnit	258
Ein Schubmesser für monomolekulare Filme	Von Hans Joachim Trurnit	267
Verformung und Rekristallisation bei gittergeordneten hochpolymeren Stoffen	Von Erwin Steurer	275
Über die Einwirkung von Phenolkörpern auf Faserkeratine	Von Helmut Zahn	286
Verhalten transplantierte Ringdrüsen „letaler“ Drosophila-Larven	Von Marguerite Vogt	292
Untersuchungen über basophile Plasmastrukturen	Von Angela Nolte	295
Über den Einfluß der Kopulation auf die Eiproduktion und Eiablage von Schmetterlingsweibchen	Von Herbert Brandt	301
Spontane Mutabilität bei <i>Bacterium prodigiosum</i>	Von Reinhard Kaplan	308
Über morphologische Geschlechtsunterschiede bei <i>Valeriana dioica</i>	Von Franz Moewus	313
Berichte		
Über die Struktur der bei Vögeln vorkommenden Porphyrine	Von Otto Völker	316
Buchbesprechungen		318

Gerhard Schramm, 27. 6. 1910, Yokohama; Hans Joachim Trurnit, 8. 6. 1907, Essen; Erwin Steurer, 18. 12. 1912, Kiel; Helmut Zahn, 13. 6. 1916, Erlangen; Marguerite Vogt, 19. 2. 1913, Berlin; Herbert Brandt, 31. 1. 1910, Neukloster (Mecklenburg); Reinhard Kaplan, 30. 8. 1912, Glauchau; Franz Moewus, 7. 12. 1908, Berlin; Otto Völker, 22. 9. 1907, Heidelberg; Wilhelm Simonis, 25. 9. 1909, Neubrandenburg; Georg Melchers, 7. 1. 1906, Cordingen; Hans Hermann Weber, 17. 8. 1896, Berlin-Charlottenburg; Angela Nolte, 6. 3. 1922, Wambeln, Krs. Unna.

Band 2a

enthält Arbeiten aus der Astrophysik, Physik und physikalischen Chemie

Um Beachtung der Änderungen auf der 3. Umschlagseite wird gebeten

Über die Spaltung des Tabakmosaikvirus und die Wiedervereinigung der Spaltstücke zu höhermolekularen Proteinen

II. Versuche zur Wiedervereinigung der Spaltstücke

VON GERHARD SCHRAMM

Aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für Biochemie, Abtlg. für Virusforschung, Tübingen
(Z. Naturforschg. 2b, 249—257 [1947]; eingegangen am 23. Dezember 1946)

Die Spaltprodukte des Tabakmosaikvirus lassen sich wieder zu höhermolekularen Proteinen vereinigen. Mit steigender H-Ionen-Konzentration ändert sich sprunghaft die Größe der Aggregate. Es wurden Versuche mit den verschiedenen Spaltproteinen angestellt. Aus dem kleinsten nucleinsäurefreien Bruchstück (Mol.-Gew. 120 000) entsteht zunächst ein sehr einheitliches Polymerisat mit dem dreifachen Molekulargewicht durch lineare Anlagerung. Bei höherer H-Ionen-Konzentration entstehen vier weitere Polymerisationsstufen, z. Tl. nebeneinander, die nicht sehr einheitlich sind. Das bei p_H 6,5 auftretende Aggregat ist in der Größe und Gestalt dem ursprünglichen Virus sehr ähnlich. Mit dem nucleinsäurehaltigen Bruchstück vom Molekulargewicht 360 000 werden die gleichen Aggregationsstufen erhalten. Das Spaltprotein vom Mol.-Gew. 7 000 000 aggregiert zunächst einheitlich zu Doppelmolekülen, aus denen wieder höhere Polymerisate gebildet werden können, die nicht einheitlich sind.

Es gelingt nicht, durch die Wiedervereinigung der Bruchstücke die Aktivität des ursprünglichen Virus wiederherzustellen.

Die Frage nach der Ursache der hier vorliegenden auswählenden Polymerisation wird erörtert und die Bedeutung der Versuche für die biologische Entstehung des Virus diskutiert.

Im ersten Teil dieser Arbeit¹ wurde über die Eigenschaften der beim Zerfall des Tabakmosaikvirus (*TMV*) auftretenden Spaltkomponenten berichtet. Es war bereits früher beobachtet worden², daß bestimmte Bruchstücke, nämlich die nucleinsäurefreien und die nucleinsäurehaltigen Komponenten vom Molekulargewicht 360 000, wieder zu einem physiologisch inaktiven Protein zusammentreten können, das in seiner Größe und Gestalt dem *TMV* sehr ähnlich ist. Diese Reaktion wurde seitdem näher untersucht, die auftretenden Zwischenstufen charakterisiert und die Resynthese auch mit einigen der neu aufgefundenen Spaltkomponenten versucht.

1. Versuche mit dem nucleinsäurefreien Protein vom Mol.-Gew. 120 000

Es sollen zunächst einige Versuche mit dem kleinsten bisher aufgefundenen nucleinsäurefreien Spaltstück mit der Sedimentationskonstante $s_{20} = 5$ (Mol.-Gew. 120 000) besprochen werden. Wird die

Lösung dieses Proteins bei verschiedenem p_H in der Ultrazentrifuge untersucht, so zeigt sich, daß die Sedimentationskonstante des Proteins mit steigender H-Ionenkonzentration sprunghaft größer wird. Es entstehen also höhermolekulare Proteine. Im Gegensatz zu der langsam verlaufenden Zerfallsreaktion geht die Aggregation sehr rasch vor sich, wie man aus dem sich momentan ändernden Tyndall-Effekt schließen kann. Bei den Versuchen werden die p_H -Werte meistens durch Dialyse gegen die entsprechende Pufferlösung eingestellt, die sich hiernach ergebenden Sedimentationskonstanten sind in Tab. 1 wiedergegeben. Überraschend leicht und sehr einheitlich verläuft der Übergang der Komponente $s_{20} = 5$ zu dem dreimal größeren Spaltstück mit $s_{20} = 8,7$ (Mittelwert). Diese Synthese gelingt bereits allein durch Erhöhung der Elektrolytkonzentration ohne Veränderung des p_H , wie der Vergleich der Versuche 1—5 zeigt. Bei weiterer Erniedrigung des

¹ G. Schramm, Z. Naturforschg. 2b, 112 [1947].

² G. Schramm, Naturwiss. 31, 94 [1943].

Vers. Nr.	Präparat	Konz. in %	Puffer	p _H	Sedimentationskonstante						
					1.	2.	3.	4.	5.	6.	
1	394	0,1	m/100-Glykokoll	9,7	4,7	—	—	—	—	—	—
2	405	0,16	m/100-Glykokoll	9,6	4,7	—	—	—	—	—	—
3	405	0,16	m/100-NaHCO ₃	9,3	5,2	+	—	—	—	—	—
4	405	0,16	m/10-Glykokoll	9,5	+	9,0	—	—	—	—	—
5	403	0,4	m/10-NaHCO ₃	9,4	—	8,7	—	—	—	—	—
6	394	0,2	m/10-Phosphat	6,9	—	8,4	31	—	—	—	—
7	409	0,17	m/10-Phosphat	6,5	—	—	48	185	—	—	—
8	405	0,16	m/10-Phosphat	6,5	—	—	—	168	—	—	—
9	409	0,166	m/10-Phosphat	6,5	—	—	—	?	206	—	—
10	403	0,1	m/10-Phosphat	6,0	—	—	—	169	?	557	—
11	394	0,2	m/10-Phosphat	5,8	—	—	—	+	220	416	—
12	403	0,1	m/10-Phosphat	5,0	—	—	—	—	—	507	—
Wiederspaltung ^{a)}											
W 1	403	0,09	m/10-Glykokoll	9,3	—	—	+	93	—	—	—
W 2	403	0,09	m/10-Glykokoll	9,5	—	—	—	46	117	—	—

Tab. 1. Synthese-Versuche mit Spaltkomponente $s_{20} = 5,0$.

+ Komponente vorhanden, aber nicht gemessen. — Komponente nicht vorhanden. ? Vorkommen unsicher.

a) Die Versuche wurden mit dem Aggregationsprodukt von Vers. 12 durchgeführt.

p_H entsteht aus dieser Komponente ein Protein mit einer stark konzentrationsabhängigen Sedimentationskonstante von ungefähr 169. In einigen Fällen konnte hierbei in geringer Menge eine Zwischenstufe mit $s_{20} \sim 40$ beobachtet werden (Vers. Nr. 6 u. 7). Wird die Lösung noch stärker angesäuert, so treten noch höhere Aggregationsprodukte auf, deren Sedimentationskonstanten wohl ebenfalls wegen ihrer Konzentrationsabhängigkeit etwas schwankend sind (Versuch 10—12). Um den Einfluß der Salzkonzentration zu untersuchen, wurden auch einige Versuche in sehr verdünnter Pufferlösung (m/1000-Acetat) durchgeführt (Tab. 2). Es ergab sich aber hierbei kein grundsätzlicher Unterschied. Nur muß das p_H bei

Vers. Nr.	Präparat	Konz. in %	Puffer	p _H	Sedimentationskonstante						
					1.	2.	3.	4.	5.	6.	
1	405	0,16	m/100-Glykokoll	9,6	4,7	—	—	—	—	—	—
2	405	0,52	m/1000-Acetat	6,0	—	7,6	—	—	—	—	—
3	403	0,09	m/1000-Acetat	6,0	—	—	—	112	—	—	—
4	405	0,26	m/1000-Acetat	4,8	—	—	—	105	270	—	—
Wiederspaltung der Lsg. 4											
5	405	0,26	m/1000-Acetat	9,5	—	8,7	—	—	—	—	—

Tab. 2. Synthese-Versuche in m/1000-Acetat mit Spaltkomponente $s_{20} = 5,0$.

dieser geringen Salzkonzentration höher gewählt werden, um die gleiche Aggregationsstufe zu erhalten.

Über die *Einheitlichkeit* der entstehenden Aggregate geben die Sedimentationsdiagramme Abb. 1 bis 5 nähere Aufschlüsse. Auf der 1. Abb. ist zunächst das Sedimentationsdiagramm des Ausgangsstoffes wiedergegeben. Infolge der hohen Diffusionskonstanten und der langen Zentrifugierungszeit ist der Gipfel ziemlich breit. Wird diese Lösung angesäuert bzw. gegen einen Puffer mit geringerem p_H dialysiert, so erhalten wir ein vollständig einheitliches Protein mit dreimal so hohem Molekulargewicht (Abb. 2). Gleichscharfe Gradienten erhielten wir, wenn die Aggregation nicht

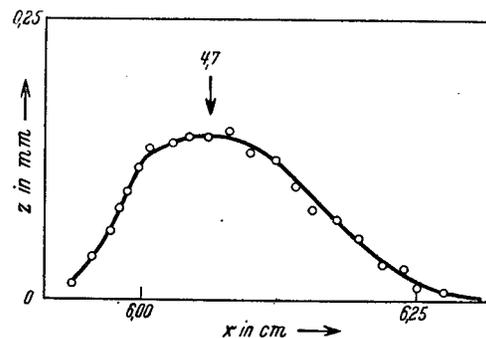


Abb. 1. Sedimentationsdiagramm der nucleinsäurefreien Komponente $s_{20} = 5$, Mol.-Gew. = 120 000, $c = 0,16\%$, Skalenabstand = 8 cm, Drehzahl = 39 000 U/min, z = Skalenstrichverschiebung, x = Abstand vom Rotationszentrum. Die Entfernung des Meniskus der Lösung vom Rotationszentrum beträgt bei allen Versuchen 5,81 cm. Die Pfeile geben den 50 %-Punkt der Konzentration an, die dazugehörige Zahl die gemessene Sedimentationskonstante.

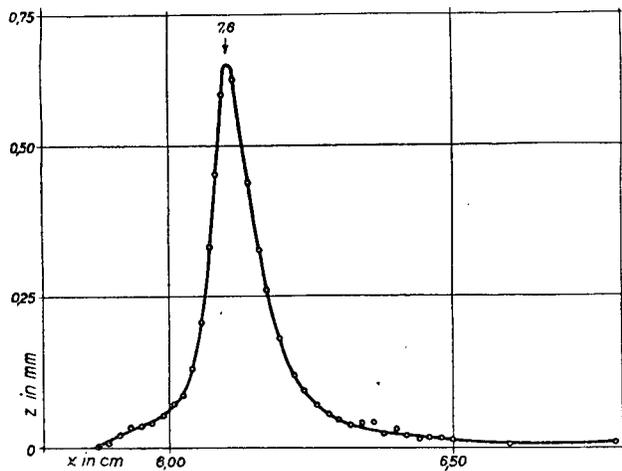


Abb. 2. Aggregat aus der Ausgangslösung (Abb. 1) vom Mol.-Gew. 360 000 in 0,001-m. Acetat (p_H 6). $c = 0,5\%$, Skalenabstand 3 cm, 39 000 U/min.

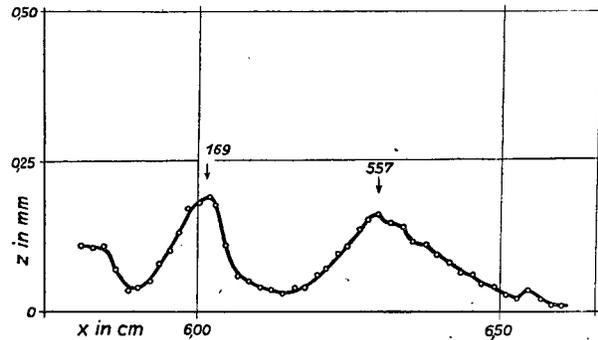


Abb. 5. Aggregationsproteine aus dem nucleinsäurefreien Protein $s_{20} = 5$ in 0,1-m. Phosphat (p_H 6,0). $c = 0,1\%$, Skalenabstand 10 cm, 20 400 U/min.

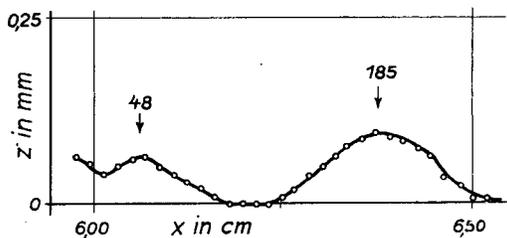


Abb. 3. Aggregationsproteine mit $s_{20} = 48$ und 185 aus dem nucleinsäurefreien Protein $s_{20} = 5$ in 0,1-m. Phosphat (p_H 6,5). $c = 0,17\%$, Skalenabstand 10 cm, 20 000 U/min.

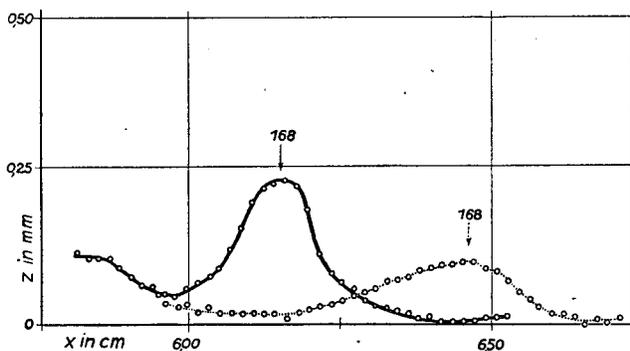


Abb. 4. Aggregationsprotein mit $s_{20} = 195$ (für $c = 0$) aus dem nucleinsäurefreien Protein $s_{20} = 0$ in 0,1-m. Phosphat (p_H 6,5). $c = 0,16\%$, Skalenabstand 10 cm, 24 900 U/min. Zeitraum zwischen den beiden Aufnahmen 15 min.

durch Änderung des p_H , sondern durch Erhöhung der Salzkonzentration bewirkt wurde. Im Gegensatz zu dem ersten Aggregationsschritt sind

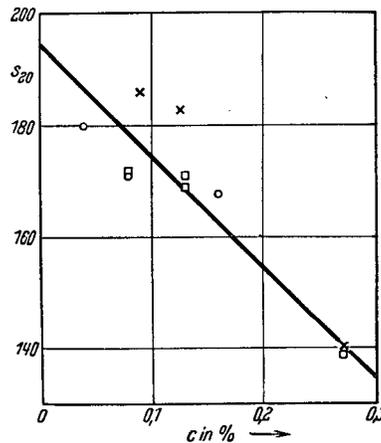


Abb. 6. Konzentrationsabhängigkeit der Sedimentationskonstante des synthetischen Proteins $s_{20} = 195$ (bei $c = 0$).

Zeichenerklärung:

- Messung an dem nucleinsäurefreien Protein (Skalenmethode).
- × Messung an dem nucleinsäurefreien Protein (Schlierenmethode).
- Messung an dem nucleinsäurehaltigen Protein (Schlierenmethode).

die nun folgenden Aggregationsstufen wesentlich uneinheitlicher (Abb. 3—5).

Die in Phosphatpuffer bei p_H 6,5 zuerst auftretende Aggregationsstufe (Abb. 4) hat eine mittlere Sedimentationskonstante, die der des TMV bei gleicher Konzentration sehr nahe kommt. Diese Übereinstimmung wird noch deutlicher, wenn man die Sedimentationskonstante dieses synthetischen Proteins auf $c = 0$ extrapoliert (Abb. 6). Wenn die Messungen auch wegen der geringen Konzentrationen und der Unschärfe der Bande recht schwierig sind, so sieht man doch, daß der Grenzwert für $s_{20}, c = 0$, sehr nahe bei

dem des *TMV* liegt, für das (bei $c = 0$) $s_{20} = 198$ Svedberg³ gefunden wurde. Der Verlauf der Kurve bei höheren Konzentrationen ist allerdings etwas verschieden, da die Änderung der Sedimentationskonstante mit der Konzentration bei dem synthetischen Protein stärker ist als beim *TMV*.

Das bei der Synthese entstehende Protein hat nicht nur die gleiche Sedimentationskonstante wie das Virus, sondern muß auch eine ähnliche *Gestalt* besitzen. Ein wichtiges Argument hierfür ist die Tatsache, daß das synthetische Produkt in ganz ähnlicher Form kristallisiert wie das Virus. *Fällt man bei p_H 4,8 mit Ammonsulfat, so erhält man in beiden Fällen parakristalline Nadeln.*

Zur *Darstellung* der Kristalle werden etwa 50 mg des elektrophoretisch dargestellten nucleinsäurefreien Proteins gegen *m/10*-Phosphat vom p_H 8 dialysiert. Dann wird durch Zugabe des gleichen Volumens gesättigter Ammonsulfatlösung gefällt und der Niederschlag in 2 ccm *m/10*-Phosphat (p_H 7) aufgenommen. Unlösliche Flocken werden abzentrifugiert, die überstehende klare Lösung mit 1-*n*. Essigsäure auf p_H 4,8 gebracht und tropfenweise mit gesättigter Ammonsulfatlösung bis zur beginnenden Trübung versetzt. Es bilden sich sofort kristalline Nadeln, die im Mikroskop das gleiche Aussehen zeigen wie die Kristalle des Virus, mitunter jedoch etwas kleiner sind.

Um die Übereinstimmung zwischen synthetischem und natürlichem Protein weiter zu prüfen, haben wir das Molekulargewicht und die Formfaktoren eines synthetischen Proteins mit dem eines polymerisierten Virus unter ähnlichen Bedingungen verglichen. Es handelt sich hierbei um ein Polymerisat aus einem älteren Viruspräparat, über dessen Darstellung in anderem Zusammenhang bereits berichtet wurde³. Tab. 3 zeigt, daß nicht nur die mittleren Molekulargewichte recht gut übereinstimmen, sondern auch die Reibungskoeffizienten von gleicher Größenordnung sind. Das hier gemessene Aggregationsprodukt entspricht in seiner Größe und Gestalt etwa einem trimeren *TMV*. Der hohe Wert von $f:f_0$ beweist, daß das synthetische Protein, ebenso wie das Virus selbst, eine stark asymmetrische stäbchenförmige Gestalt besitzen muß.

Diese Molekülform wurde auch unmittelbar durch elektronenmikroskopische Aufnahmen sichtbar gemacht, die früher veröffentlicht wurden². Allerdings ergibt sich auch hier wieder ein gewisser Unterschied gegenüber den ursprünglichen Virusteilchen. Die Konturen sind bei dem synthe-

³ G. Schramm u. G. Bergold, Z. Naturforschg. 2b, 110 [1947].

	C	s_{20}	D_{20}	M	f/f_0	L/d
Polymeres <i>TMV</i>	0,2	218	0,209	99	3,32	65
Polymerisat aus $s_{20} = 5,0$	0,16	206	0,173	113	3,84	90
Ber. für trimeres <i>TMV</i>				122	3,0	$750/15 = 50$

Tab. 3. Vergleich eines polymeren *TMV* mit dem Polymerisat aus $s_{20} = 5$. Die Messungen wurden in 0,1-*m*. Phosphat durchgeführt. C = Konzentration, D_{20} = Diffusionskonstante, M = Mol.-Gew., f/f_0 = Reibungsverhältnis, L/d = Länge: Dicke.

tischen Produkt unscharf und es ist schwer, eine für die Reproduktion geeignete Aufnahme zu erhalten. Auf den Kontrollaufnahmen des niedermolekularen Ausgangsmaterials sind stäbchenförmige Teilchen niemals sichtbar geworden. Ob die auf dem früher veröffentlichten Bild sichtbaren Pünktchen allerdings dem niedermolekularen Protein entsprechen, erscheint heute zweifelhaft. Die Versuche sollen wiederholt werden, sobald hierfür die Möglichkeiten gegeben sind.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß trotz aller Ähnlichkeit die Übereinstimmung zwischen dem nucleinsäurefreien synthetischen Protein und dem Virus doch nicht vollständig ist. Am auffallendsten ist wohl der Unterschied in der Einheitlichkeit dieser Proteine. In der ersten Mitteilung² (1943) konnte keine genaue Aussage über die Homogenität des synthetischen Proteins gemacht werden, da zur Beobachtung der Sedimentation nur die Toeplersche Schlierenmethode zur Verfügung stand. Mit dieser Anordnung konnten wir damals keinen deutlichen Unterschied gegenüber dem Originalvirus feststellen. Dieser Schluß ist auch heute noch in gewisser Beziehung berechtigt, da das *TMV* unter den damals angewendeten Bedingungen recht uneinheitlich ist, besonders wenn es sich um ältere Präparate handelt. Vergleichen wir aber das Sedimentationsdiagramm des synthetischen Proteins $s_{20} = 195$ ($c = 0$) mit dem einer einwandfreien Viruslösung, so ist zweifellos das synthetische Protein sehr viel uneinheitlicher.

Das synthetische Protein scheint auch in seiner inneren Struktur nicht ganz dem *TMV* zu entsprechen. Dies zeigt sich bei dem Versuch, es wieder in seine Grundeinheiten zu zerlegen. Die Beständigkeit gegenüber der Einwirkung der Hydroxylionen scheint bei den in Phosphat aggregierten

gierten Produkten etwas größer zu sein als bei den in $m/1000$ -Acetat erhaltenen (siehe Tab. 1 u. 2, Wiederspaltung). Soweit sich bisher feststellen ließ, treten in keinem Falle die bei der Virusspaltung beobachteten Bruchstücke auf. Ziemlich regelmäßig finden wir dagegen bei der Wiederspaltung eine Komponente mit $s_{20} \sim 40$ (siehe Tab. 1, Vers. W 2), die bei der Spaltung des Virusmoleküls nicht beobachtet wurde.

Ein wichtiger Unterschied gegenüber dem Originalvirus ist ferner das Fehlen der Vermehrungsfähigkeit bei dem Aggregationsprodukt. Diese ist allerdings in dem bisher besprochenen Fall kaum zu erwarten, da ja die Nucleinsäure fehlt.

2. Aggregationsversuche mit den nucleinsäurehaltigen Spaltkomponenten

In derselben Weise wie mit der nucleinsäurefreien Komponente wurde eine Reihe von Sedimentationsmessungen mit dem kleinsten *nucleinsäurehaltigen Spaltstück vom Mol.-Gew. 360 000* durchgeführt. Tab. 4 zeigt, daß sich hierbei die gleichen Aggregationsstufen ausbilden. Die Sedi-

Vers. Nr.	Präparat	Konz. in %	Puffer	p_H	Sedimentationskonstante			
					1.	2.	3.	4.
1	401	0,3	$m/100$ -Glykokoll	9,6	9,4	—	—	—
2	386	0,47	$m/100$ -Glykokoll	9	9,0	—	—	—
3	268	0,35	$m/10$ -Phosphat	7,8	8,5	—	—	—
4	273	0,7	$m/100$ -Glykokoll	7	—	39	91	—
5	386	0,47	$m/10$ -Phosphat	7,0	—	—	124	—
6	386	0,47	$m/10$ -Phosphat	6,8	—	—	118	—
7	386	0,47	$m/10$ -Acetat	5,9	—	—	115	—
8	386	0,47	$m/10$ -Acetat	6,1	—	—	121	—
9	386	0,47	$m/10$ -Phosphat	6,1	—	—	139	—
10	386	0,47	$m/10$ -Acetat	5,0	—	?	189	345

Tab. 4. Synthese-Versuche mit Nucleoprotein $s_{20} = 8,7$ (Mol.-Gew. 360 000). Die Versuche wurden z. Tl. mit der Schlierenmethode beobachtet, so daß uns möglicherweise in einigen Fällen Komponenten, die in geringer Konzentration anwesend waren, entgangen sind.

mentationskonstante der bei p_H 6,5 auftretenden Komponente konnte auf $c = 0$ extrapoliert werden (Abb. 6). Es ergab sich ebenfalls ein Wert, der nahe bei dem des *TMV* liegt. Auch die Einheitlichkeit der gebildeten Proteine unterscheidet sich in keiner Weise von den entsprechenden nucleinsäurefreien Eiweißstoffen. Auf eine Wiedergabe der Sedimentationsdiagramme kann daher verzichtet werden.

Der gleichartige Verlauf der Aggregationen gestattet gewisse Rückschlüsse auf die *Funktion der Nucleinsäure im Virusmolekül* zu ziehen. Da mit und ohne Nucleinsäure die gleichen Aggregationsstufen ausgebildet werden, ist anzunehmen, daß diese für den Zusammenhalt der Teilchen im Virusmolekül nicht von maßgebender Bedeutung ist, wahrscheinlich ist sie an der Oberfläche des Moleküls angeordnet.

Es war zu hoffen, daß bei Verwendung der größeren Spaltstücke ein einheitlicheres Endprodukt entstehen würde als bei Verwendung niedrigmolekularer Bruchstücke, da hier die Kombinationsmöglichkeiten beschränkter sind.

Da von den höheren Spaltstücken nur das Nucleoprotein mit $s_{20} = 97$ (Mol.-Gew. 7 000 000) in annähernd reiner Form isoliert werden kann, haben wir uns hauptsächlich mit diesem beschäftigt. Es ergeben sich hierbei recht ähnliche Verhältnisse wie bei dem nucleinsäurefreien Bruchstück mit dem Mol.-Gew. 120 000. Der erste Aggregationsschritt zur nächsthöheren Stufe verläuft nämlich wieder außerordentlich glatt und einheitlich. Es handelt sich in diesem Fall um eine Verdoppelung des Molekulargewichtes. Wiederum genügt bereits eine Erhöhung der Salzkonzentration, um die Vereinigung zu bewirken. Diese Versuche sind in Tab. 5 zusammengestellt.

Vers. Nr.	Puffer	p_H	Sedimentationskonstante				
			1.	2.	3.	4.	5.
1	$m/50$ -Veronal	7,9	92	+	(134)	(147)	—
2	$m/10$ -Phosphat	8,4	96,5	125	(129)	+	—
3	$m/10$ - $NaHCO_3$	8,1	+	122	(132)	+	—
4	$m/10$ -Phosphat	6,9	+	128	+	+	—
5	$m/10$ -Phosphat	5,7	—	—	—	—	212

Tab. 5. Synthese-Versuche mit Spaltkomponente $s_{20} = 97$, $c = 0,22\%$. Die eingeklammerten Werte beziehen sich auf Komponenten, die nur in Spuren vorhanden waren. Siehe hierzu die entsprechenden Sedimentationsdiagramme.

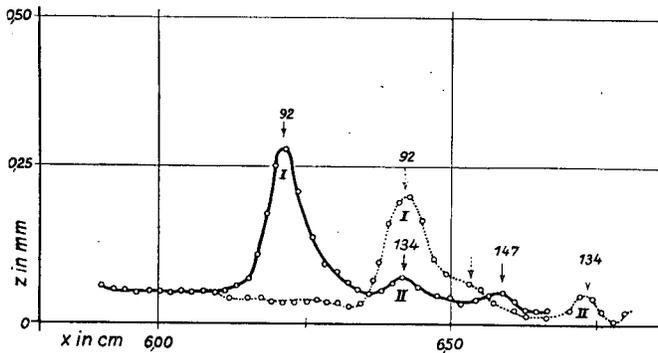


Abb. 7. Spaltprotein s_{20} , $c_{20} = 97$ in 0,02-m. Veronalpuffer (p_H 7,9). $c = 0,22\%$, Skalenabstand 7 cm, 25 400 U/min. Zeitraum zwischen den beiden Aufnahmen 10 min.

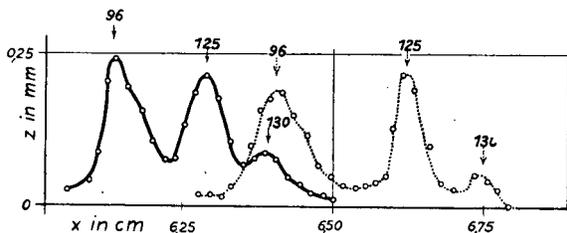


Abb. 8. Gleiche Lösung wie in Abb. 7 nach Dialyse gegen 0,1-m. Phosphat (p_H 8,4). $c = 0,22\%$, Skalenabstand 10 cm, 25 000 U/min. Zeitraum zwischen den beiden Aufnahmen 10 min.

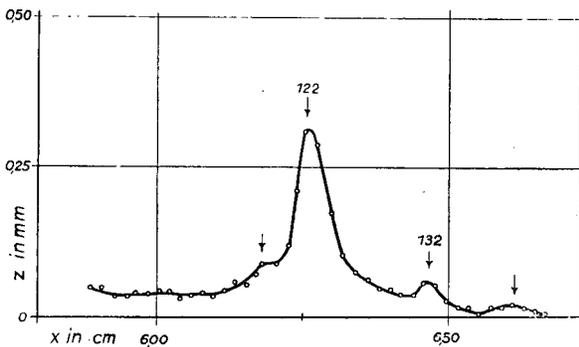


Abb. 9. Gleiche Lösung wie in Abb. 7 und 8 nach Dialyse gegen 0,1-m. NaHCO_3 (p_H 8,1). $c = 0,22\%$, Skalenabstand 6 cm, 20 000 U/min.

Der überraschend einheitliche Verlauf der Synthese wird durch die Abb. 7—9 veranschaulicht. Auf Abb. 7 sehen wir im wesentlichen nur die Ausgangskomponente neben geringen Verunreinigungen durch drei höhere Spaltkomponenten. Nach Erhöhung der Salzkonzentration tritt dann der neue Gipfel auf, der dem Doppelmolekül entspricht (Mol.-Gew. $14,8 \cdot 10^6$; Abb. 8). Dessen

Konzentration nimmt bei Erniedrigung des p_H weiter zu, während die Ausgangskomponente nahezu vollständig verschwindet (Abb. 9). Erhöhen wir die H-Ionenkonzentration weiter, so aggregiert das Doppelmolekül $s_{20} = 125$ wieder zu dem gleichen uneinheitlichen Protein, wie es aus den kleineren Bruchstücken erhalten wurde.

Ähnliche Aggregationsversuche wurden auch mit einer Lösung angestellt, die neben der unveränderten Ausgangskomponente im wesentlichen aus der ersten 5/6-Spaltstufe (Mol.-Gew. 34 Millionen) bestand. Das Sedimentationsdiagramm ist wiedergegeben in Abb. 4 des ersten Teils dieser Untersuchung¹. Wird diese Lösung durch Dialyse gegen 0,1-m. Phosphat auf p_H 6,5 gebracht, so erhält man wieder das Diagramm eines uneinheitlichen Proteins mit $s_{20} = 191$. Es ist in diesem Falle schwierig, die Uneinheitlichkeit zu erklären, da die Möglichkeit zu Zwischenstufen zwischen dem 5/6 und dem ganzen Molekül eigentlich nicht gegeben ist. Es bieten sich zwei Möglichkeiten der Erklärung: 1. Die ganzen und die 5/6-Moleküle reagieren kurzzeitig miteinander, so daß im Zeitmittel ein Gemisch verschiedener Molekülgrößen vorgetauscht wird. 2. Die in der Lösung ebenfalls noch vorhandenen niederen Spaltkomponenten lagern sich an die beiden Hauptkomponenten an, so daß sich hierdurch eine tatsächliche Streuung der Molekülgröße ergibt.

Dieser letzten Erklärung möchten wir den Vorzug geben, da wir beobachtet haben, daß auch das ungespaltene Virusmolekül in Gegenwart sehr kleiner Mengen niedrigmolekularer Zerfallsprodukte ein uneinheitliches Sedimentationsdiagramm gibt.

Diese letzten Versuche lassen es möglich erscheinen, daß primär ein homogeneres Aggregat entsteht, welches dann sekundär durch Anlagerung überschüssiger kleiner Bruchstücke uneinheitlich wird. Vielleicht gelingt es, durch weitere Versuche diese sekundären Einflüsse auszuschalten.

3. Versuche zur Darstellung eines biologisch-aktiven Proteins aus den Spaltstücken

Nachdem sich gezeigt hatte, daß sich die Spaltstücke zu einem dem Virus chemisch und physikalisch sehr ähnlichen Protein zusammenfügen lassen, erschien es nicht ausgeschlossen, auch die biologische Aktivität wieder herzustellen. Es wur-

den daher in Zusammenarbeit mit G. Melchers (Kaiser-Wilhelm-Institut für Biologie) eine Reihe von Versuchen in dieser Richtung angestellt. Zum Vergleich der biologischen Aktivität der verschiedenen Präparate wurde der bekannte Einzelherdtest von Holmes⁴ benutzt. Dieser beruht darauf, daß das *TMV* auf den Blättern bestimmter Pflanzen wie *Nicotiana glutinosa*, *Phaseolus vulgaris* oder *Datura stramonium* keine Allgemeininfektion, sondern lokalisierte Einzelnekrosen erzeugt. Um einen Vergleich durchzuführen, wird auf der einen Blatthälfte die Versuchslösung, auf der anderen die Kontroll-Lösung mit einem Mulltupfer aufgetragen. Durch Auszählen der gebildeten Nekrosen auf jeder Blatthälfte erhält man dann ein Maß für die relative Wirksamkeit der Präparate.

Wie bereits früher mitgeteilt wurde², besitzen die Aggregate aus dem kleinsten Nucleoprotein keine Viruswirksamkeit. Dies scheint uns heute nicht mehr verwunderlich, nachdem wir festgestellt haben, daß unter dem Einfluß von OH-Ionen bereits eine Inaktivierung des Virus erfolgt, bevor sich das Molekulargewicht merklich ändert (siehe hierzu den 1. Teil dieser Untersuchung). Es genügt also nicht, die ursprüngliche Molekülform des Virus wieder herzustellen, wenn nicht gleichzeitig diese erste Alkaliwirkung rückgängig gemacht werden kann.

Es fragt sich nun, worin diese Inaktivierung besteht. Versuche, das inaktive unzerfallene Virus durch einfache Dialyse gegen saure Pufferlösungen, z. B. 0,1-m. KH_2PO_4 vom p_{H} 4,8, wieder zu reaktivieren, schlugen fehl. Ebenso wenig gelang es, durch starke Reduktionsmittel wie Hypophosphit oder Hydrosulfit die Inaktivierung rückgängig zu machen (Tab. 6).

Eine naheliegende Annahme war daher, daß in der alkalischen Lösung aus dem Virus ein niedrigmolekularer Bestandteil, z. B. ein Metallion oder eine Wirkgruppe, abgespalten wird. Zu diesem Zweck wurde eine Mischung der Spaltproteine, die z. Tl. noch unzerfallene Moleküle enthielt, in Gegenwart verschiedener, in Proteinen vorkommender Kationen durch Erniedrigung des p_{H} -Wertes reaggregiert. Wie Tab. 6 zeigt, wurden folgende Metallionen geprüft: Mg^{++} , Mn^{++} , Zn^{++} , Cu^{++} , Fe^{++} . Außerdem wurde auch die Kombination einer Reduktionswirkung durch Cystein mit Zugabe von Mg-Ionen (0,1-m.) bei verschiedenem

⁴ F. O. Holmes, Bot. Gaz. 87, 39 [1929].

Vers. Nr.	Zusatz Konz.: 0,1-m.	p_{H} der Aggregat.	Zahl der Einzelherde je 100 Blatthälften	
			ohne Zusatz	mit Zusatz
1	Hypophosphit	4,2	1	2
2	Hydrosulfit	4,2	4	3
3	Zn^{++}	4,2	3	3
4	Mn^{++}	4,2	4	2
5	Cu^{++}	4,2	0	1
6	Fe^{++}	4,2	2	1
7	Mg^{++}	4,2	5	1
8	Mg^{++} u. Cystein	4,8	10	5
9	Mg^{++} u. Cystein	3,5	7	5

Tab. 6. Versuche zur Aktivierung des Tabakmosaikvirus durch verschiedene Zusätze. Jeder Versuch wurde an 20 *Nicotiana-glutinosa*-Pflanzen zu je 5 Blätter durchgeführt. Die Viruskonzentration betrug bei der Auswertung 10^{-5} g Protein/ccm.

p_{H} untersucht. Wie Tab. 6 zeigt, führte keiner der Versuche zu einer deutlichen Erhöhung der Aktivität gegenüber den unbehandelten Kontrollen.

Auf Grund unserer Hypothese mußte es weiterhin aussichtsreich erscheinen, aus einer größeren Virusmenge durch Alkali die Nucleinsäure und alle evtl. vorhandenen Wirkgruppen abzuspalten und diese zu einer kleinen Menge vorsichtig inaktivierten Virus' zu geben. Hierbei wurden variiert: 1. die Art der Inaktivierung (vorsichtige Spaltung mit Glykokoll-, Borat- oder NaHCO_3 -Puffer bei verschiedenem p_{H}), 2. der p_{H} -Wert der Reaggregation und 3. die Art der Versuchspflanzen, da möglicherweise das reaktivierte Virus andere biologische Eigenschaften haben konnte als die Ausgangsform. Bei einem Versuch wurde außerdem Preß-Saft aus gesunden Tabakpflanzen zugefügt, um durch ein evtl. vorhandenes Enzym die Anlagerung einer Wirkgruppe zu katalysieren.

Das Ergebnis dieser Versuche ist in Tab. 7 zusammengefaßt. Bei den ersten drei Versuchen wurde zwar eine geringe Erhöhung der Aktivität beobachtet, doch ist diese nicht als reell anzusehen, da sie bei den späteren Versuchen nicht reproduzierbar war. Bei den Versuchen 5 und 8 ist eine deutliche Erhöhung der Aktivität zu bemerken, die auch statistisch gesichert ist. Dies ist aber darauf zurückzuführen, daß die zugesetzte A-Lösung noch aktives Virus enthielt. Aus den Versuchen geht also hervor, daß es *bisher nicht mit Sicherheit gelungen ist, eine größere Virusmenge zu reaktivieren*. Die Bildung einzelner vermehrungsfähiger Moleküle kann jedoch bei der

Vers. Nr.	Ausgangslösung	Inaktivierung durch		Zusatzlösung	p _H der Aggregat.	Testpflanze	Zahl der Testblätter	Einzelherde je 100 Blatthälften		Diff.
		Puffer	p _H					ohne Zusatz	mit Zusatz	
1	Z III	Glykokoll	10,5	A I	4,2	Dat. stram.	87	3,5	26,5	+ 23
2	Z III	Glykokoll	10,5	A I	6,8	Dat. stram.	75	1,3	2,6	+ 1,3
3	Z III	Glykokoll	10,5	A II	3,9	Nicot. glut.	47	4,3	17	+ 12,7
4	Z III	Glykokoll	10,5	A II	4,6	Nicot. glut.	95	3,2	2,2	- 1
5	Z IV	Glykokoll	10,5	A III	3,9	Nicot. glut.	48	39	118	+ 79 ^{a)}
6	Z IV	Glykokoll	10,5	A V	3,9	Nicot. glut.	130	4,6	1,5	- 3,1
7	Z IV	Glykokoll	10,5	A V+S ^{c)}	3,9	Nicot. glut.	130	2,3	0	- 2,3
8	Z V	Glykokoll	10,5	A III	3,9	Nicot. glut.	49	30,6	112,2	+ 79 ^{b)}
9	Z V	Glykokoll	10,5	A IV ^{d)}	3,9	Nicot. glut.	150	9,34	12,7	+ 3,4
10	ZG	Glykokoll	10,0	A VI	3,9	Dat. stram.	113	10,6	9,7	- 0,9
11	ZS	Soda	10,0	A VI	3,9	Phas. vulg.	25	144	71	- 73
12	ZB	Borat	10,0	A VI	3,9	Phas. vulg.	20	625	85	- 540
13	ZG 9,7	Glykokoll	9,7	A VII	3,9	Nicot. glut.	70	365	361	- 4
14	ZS 9,7	Soda	9,7	A VII	3,9	Phas. vulg.	50	20	16	- 4
15	ZB 9,7	Borat	9,7	A VII	3,9	Phas. vulg.	50	72	44	- 28

Tab. 7. Versuche zur Reaktivierung des Tabakmosaikvirus durch Zugabe der alkalischen Abspaltungsprodukte.

a) Die Differenz ist statistisch gesichert. Höchstzulässige Zufallsdifferenz 73⁵.

b) Die Differenz ist statistisch gesichert. Höchstzulässige Zufallsdifferenz 50,4⁵.

c) S = 1 ccm Pflanzensaft.

d) Als Kontrolle diente in diesem Fall eine nicht angesäuerte Mischung der Ausgangslösung und A IV.

Versuchsbedingung: TMV wurde mit verschiedenen Pufferlösungen bei verschiedenem p_H gespalten (Z-Lösung). Versuche in der Ultrazentrifuge zeigten, daß die in dieser Weise entstehende Lösung neben niedrigmolekularen Proteinen auch unzerfallene inaktive Virusmoleküle enthielten. Etwa 0,1 mg inaktiviertes Virus wurden mit den Abspaltungsprodukten aus 50 mg Virus (A-Lösung) versetzt und mindestens 12 Stdn. stehen gelassen. Für die Auswertung wurden dann die Ansätze mit 0,1-m. Phosphat von p_H 7 auf 10⁻⁵ g Protein/cm³, bzw. bei den ersten vier Versuchen auf 5 · 10⁻⁶ g Protein/cm³ verdünnt. Die A-Lösungen wurden bei p_H 12,5 gewonnen. Bei diesem p_H fällt das Protein in denaturierter Form aus, während die Nucleinsäure und andere Abspaltungsprodukte in Lösung bleiben. Die A-Lösungen erwiesen sich als praktisch inaktiv bis auf A III, die eine Wirksamkeit von 70 Einzelherden je 100 Blatthälften besaß. Die hiermit angestellten Versuche Nr. 5 und 8 zeigen dementsprechend eine höhere Aktivität, die aber die Summe der Wirksamkeit der Z- und der A-Lösung nicht überschreitet.

begrenzten Empfindlichkeit des biologischen Testes nicht ausgeschlossen werden.

4. Besprechung der Ergebnisse

Wenn es auch nicht gelungen ist, ein biologisch aktives Virus aus den Spaltstücken wieder aufzubauen, so ist die Tatsache doch recht interessant, daß bei ihrer Wiedervereinigung zum mindesten ein physikalisch-chemisch sehr ähnliches Molekül entsteht. Man kann hieraus wohl den Schluß ziehen, daß die Molekülform des Virus vor andern möglichen Anordnungen der Untereinheiten energetisch bevorzugt ist.

Wir haben hier also ein eindrucksvolles Beispiel einer *auswählenden Polymerisation* vor uns, wie sie in der Natur, aber auch im Laboratorium, häufig beobachtet wird. Die Kräfte, die diese auswählende Polymerisation bewirken, sind noch unbekannt. Unsere in vitro durchgeführten Versuche zeigen jedenfalls, daß hierfür nicht spezifisch biologische Kräfte der Zelle verantwortlich zu machen

sind, wie sie kürzlich von G. V. Schulz⁶ neben anderen Gründen in Erwägung gezogen wurden, um die auffallende Einheitlichkeit natürlicher Makromoleküle zu erklären.

Weiterhin läßt sich sagen, daß es sich nicht um ein einfaches Gleichgewicht handeln kann zwischen einer polymerisierenden und depolymerisierenden Kraft (etwa der Oberflächenspannung und kinetischen Energie), da sonst das gleichzeitige Auftreten mehrerer Maxima (siehe hierzu Abb. 3 u. 5) nicht zu verstehen ist.

Das Problem, warum bei der Polymerisation bestimmte Stufen bevorzugt sind, tritt uns bereits bei dem ersten von uns beobachteten Aggregations-schritt entgegen, nämlich bei dem Übergang des Teilchens vom Mol.-Gew. 120 000 in ein solches mit 360 000. Wegen der Zunahme des Reibungskoeffizienten bei dem Aggregationsprodukt

⁵ S. Koller, Graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer Zahlen. Th. Steinkopff, Dresden u. Leipzig 1943.

⁶ G. V. Schulz, Z. Naturforschg. 1, 268 [1946].

müssen wir hier eine lineare Anlagerung annehmen¹. Es ist schwer einzusehen, warum diese gerade bei der Bildung einer Dreiergruppe abbricht. Da dieser Prozeß einheitlich verläuft und übersichtlich ist, wäre hier ein geeigneter Ansatzpunkt gegeben, um das Problem der auswählenden Polymerisation experimentell näher zu bearbeiten.

Für die Ausbildung der Polymerisationsstufen scheinen die Eigenschaften der Grundeinheiten maßgeblich zu sein. Durch die Struktur der Untereinheit vom Mol.-Gew. 120 000 ist demnach die Gestalt des hochmolekularen Virusproteins bereits weitgehend bestimmt. Dies legt die Vermutung nahe, daß diese Untereinheit auch bei der biologischen Entstehung des Virus eine beherrschende Funktion einnimmt. Tatsächlich erscheint es nicht ausgeschlossen, daß die Virusentstehung über eine solche Untereinheit verläuft.

Gegen diese Annahme scheint zunächst zu sprechen, daß kleinere vermehrungsfähige Moleküle als das hochmolekulare Virus bisher nicht nachgewiesen werden konnten. So zeigte Lauffer⁷ durch Ultrazentrifugierungs-Versuche an Viruspräparaten, die durch Ultrazentrifugierung gereinigt waren, daß die Aktivität nahezu vollständig an die hochmolekulare Komponente gebunden ist. Allerdings konnte er nicht ausschließen, daß für einen sehr geringen Teil der Wirksamkeit ein niedrigmolekularer Träger in Frage kommt. Diese

⁷ M. A. Lauffer, J. biol. Chemistry 151, 627 [1943].

⁸ H. Friedrich-Freksa, G. Melchers u. G. Schramm, Biol. Zbl. 65, 188 [1946].

Ergebnisse sind jedoch kein entscheidender Einwand gegen unsere Annahme, da wirksame niedrigmolekulare Proteine durch die vorhergehende Reinigung vielleicht schon entfernt waren oder vermehrungsfähige Untereinheiten im Plasma nicht beständig sind, weil sie nahezu vollständig zu dem hochmolekularen, in diesem Fall ebenfalls vermehrungsfähigen Proteins aggregieren.

Für die Annahme vermehrungsfähiger Untereinheiten spricht ein Befund, der in anderem Zusammenhang veröffentlicht wurde⁸. Es zeigte sich nämlich nach einer von H. Friedrich-Freksa durchgeführten serologischen Untersuchung, daß bei der Mutation des *TMV* wahrscheinlich alle Untereinheiten gleichartig verändert werden. Dieser Befund ist am einfachsten zu verstehen, wenn man eine solche Untereinheit als Zwischenstufe bei der Virusentstehung annimmt, ihnen also eine Vermehrungsfähigkeit zuschreibt. Andernfalls wäre man gezwungen, ein gleichzeitiges „Umklappen“ aller Untereinheiten bei der Mutation anzunehmen, was recht schwer vorzustellen ist. Es wird vielleicht möglich sein, durch die Übertragung der hier beschriebenen Experimente auf die Mutanten des *TMV* diese Frage einer weiteren Klärung zuzuführen.

Die chemischen und physikalischen Untersuchungen im 1. und 2. Teil dieser Arbeit wurden unter Mithilfe von Frl. L. Rebenburg und Frl. H. Schaarwächter durchgeführt. Hrn. Dr. Bergold danke ich für die Durchführung der Diffusionsmessungen. Frl. Woelffer sind wir für die unter der Leitung von Dr. G. Melchers durchgeführten Testversuche zu Dank verpflichtet.

Über Filme und Mischfilme von langkettigen dibasischen Estern*

Von HANS JOACHIM TRURNIT

(Z. Naturforschg. 2b, 258—266 [1947]; aus Friedberg (Hessen) eingegangen am 13. August 1946)

Filme von langkettigen dibasischen Estern zeigen bei der isothermen Kompression an Wasseroberflächen ein Verhalten, das dem der sogen. Übergangsfilme (liquid — expanded) ähnlich zu sein scheint. Eine ausführliche Diskussion der Isothermen zeigt aber, daß die Langmuir'sche Theorie der „Duplexfilme“ nur für einen Teil des Kurvenverlaufs gültig ist, während für den anderen Teil und den Mechanismus des Übergangs zwischen beiden Abschnitten eine andere Vorstellung passender erscheint. Die Ursache für das unterschiedliche Verhalten ist darin zu sehen, daß die Moleküle der dibasischen Ester mit ihren an den Moleküleenden befindlichen hydrophilen Gruppen sich beim Einengen des Films in anderer Art aufrichten als die Fettsäuren, die nur an einem Molekülende dem Wasser anhaften.

Mischungen von dibasischen Estern zeigen bei geeigneter Wahl der Partner im Film folgendes: Es ist möglich, Filme von Stoffen, die für sich allein instabile — nicht voll kondensierbare — Filme geben, durch Beimischung bestimmter Mengen eines Stoffes, der für sich allein stabile Filme bildet, zur vollen Kondensation, also zu hoher Stabilität zu bringen. Die erforderliche Menge des Stabilisators ist eine Funktion des Kettenlängenverhältnisses der beiden Partner, der Lage der hydrophilen Gruppen und der Temperatur. Diese Befunde sind von prinzipieller Bedeutung für die Lösung gewisser technischer Probleme, bei denen es auf Stabilisierung von Filmen ankommt.

Bei den Untersuchungen über monomolekulare Filme organischer Substanzen an Wasseroberflächen ist eines der wesentlichen Hilfsmittel die Gewinnung und Diskussion der sogenannten F/A -Kurven. Diese zeigen den Zusammenhang zwischen dem mittleren molekularen Flächenbedarf A des Films auf der Wasseroberfläche und dem Schub F . Nachdem in den letzten drei Jahrzehnten eine sehr große Anzahl von spreitungsfähigen Substanzen untersucht worden ist, hat man vor einiger Zeit auch begonnen, F/A -Kurven von Mischungen mehrerer Partner aufzunehmen, da sich daraus über die Stärke und Art der zwischenmolekularen Kräfte Hinweise ergeben. Solche Ergebnisse sind für biologische Probleme deswegen besonders interessant, weil sie einen ersten Schritt in der Richtung komplizierter Grenzflächensysteme darstellen.

Der Grad der möglichen Wechselwirkung reicht vom indifferenten Nebeneinander der Molekülpartner im Film bis zum Betätigen chemischer Hauptvalenzen.

* Die Arbeit sollte im Frühjahr 1945 in der Kolloidzeitschrift zum Abdruck gelangen, konnte aber nicht mehr erscheinen.

¹ „Schub“ steht für „zweidimensionaler Druck“. Siehe dazu H. J. Trurnit: Über monomolekulare Filme an Wassergrenzflächen und über Schichtfilme. Einführung in diesen Teil der Grenzflächenforschung usw. in Bd. IV der „Fortschritte der Chemie organ. Naturstoffe“, Springer Wien 1945.

Besonders interessant ist nun die Art der Wechselwirkung der Nebervalenz oder Austauschkräfte, deren Betätigung sich — mit dieser Methode untersucht — auf besonders deutliche Art zu erkennen gibt.

Die Wechselwirkung sei definiert als die in Richtung der Abszisse positive oder negative Abweichung der Lage der wirklichen Mischkurve von der Lage der theoretischen Mischkurve (s. u.) beider Einzelpartner. In einer größeren Arbeit untersuchen z. B. Harkins und Florence² diese Wechselwirkung in Mischfilmen zwischen langkettigen aliphatischen Säuren, Alkoholen und Aminen. Es wird dabei gleichzeitig auch die Wechselwirkung bezüglich der Größe ΔV untersucht³. Molekulare Anziehung der Partner äußert sich in einem (für die einzelne Kette gerechnet) geringeren molekularen Flächenbedarf, also in einer Verschiebung der Mischkurve nach links gegenüber der theoretischen Mischkurve. Diese Verschiebung nach links wird negativ gezählt und in A^2 pro Molekül angegeben.

Im folgenden soll nun über Filme von dibasischen Estern und ihren Mischungen berichtet werden, die im Rahmen einer anderen Zwecken dienenden Arbeit untersucht wurden. Wir wollen zunächst die an solchen Filmen und Mischfilmen gefundenen F/A -Kurven wiedergeben und sie unter Anwendung ganz einfacher Vorstellungen zu deuten suchen. Es sind außer von Adam und

² Harkins u. Florence, J. chem. Physics 6, 847 [1938].

³ Änderung des Voltapentials mit dem spezifischen Flächenbedarf.

Jessop⁴ bisher keine langkettigen dibasischen Ester in ihrem Filmverhalten untersucht worden. Und Langmuir⁵ geht in seiner großen Arbeit, die sonst alle anderen Daten der Adam'schen Untersuchungen zur Grundlage theoretischer Betrachtungen macht, auf diese Filme nicht ein, da sie nicht dem Begriff „Duplexfilme“ unterzuordnen sind und seine diesbezügliche Theorie nicht darauf anwendbar ist. Das sei im voraus erwähnt, damit Leser, denen die Langmuir'sche Theorie bekannt ist, die folgenden Kurven nicht unwillkürlich mit dieser in Zusammenhang bringen.

Zum Verständnis der Kurven von Übergangsfilmen (liquid- oder vapour expanded films) folgendes: Die Materie macht im Filmzustand die gleichen Verwandlungen ihres Aggregatzustandes durch wie im makroskopisch dreidimensionalen Zustand, d. h. wir können feste, flüssige und gasförmige Filme unterscheiden. Da wir es aber bei den bekanntesten Filmtypen (Kettenmoleküle) mit mehr oder weniger stark anisodiametrischen Molekülen zu tun haben, ergibt sich gegenüber der elementaren dreidimensionalen Thermodynamik, die die Verhältnisse für kleinere, in erster Näherung isodiametrische Moleküle oder für Atome darstellt, eine scheinbare Komplikation, die im folgenden an Hand einer schematischen Kurve erläutert wird (Abb. 1).

Ein Film aus Kettenmolekülen mit polaren Enden sei bei gegebener Temperatur zunächst gasförmig (1. Zustand). Jedes Molekül hat in horizontaler Lage mehr als ausreichend Platz auf der Wasseroberfläche und der Film übt auf seine Umrandung einen außerordentlich kleinen, aber mit empfindlichen Schubmessern noch meßbaren zweidimensionalen Gasdruck (Schub) aus (Größenordnung: 0,001 Dyn/cm). In diesem ersten Zustand folgt die F/A -Kurve mehr oder weniger gut dem klassischen Gasgesetz ($FA = \text{const.}$) bzw. einem entsprechenden van-der-Waals'schen Ausdruck.

Bei weiterem Einengen des Films beginnt von einem bestimmten Punkte (N) an bei konstantem Schub der Film zu kondensieren (2. Zustand), d. h. zwischen den liegenden Ketten, die sich dabei vermutlich strecken, beginnen Nebenvalenzkräfte zu wirken⁶. Bei weiterem Einengen verdichtet sich der Film unter erneutem Schubzuwachs zu einer

relativ hochkompressiblen zweidimensionalen Flüssigkeit aus Molekülen (3. Zustand), die im Fall der dibasischen Ester noch mit beiden polaren Endgruppen an der Wassergrenze haften und mit dem mittleren Molekülteil abgehoben sind (s. unten) und die im Fall einfacher Fettsäuren schon mehr oder weniger aufgerichtet sind (s. Langmuir⁵). Der Knick bei J (Ansteigen der Kompressibilität) bedeutet nach Langmuir bei den einfachen Fettsäuren den Beginn der Micellbildung aus schon vorher (im 3. Zustand) aufgerichteten Molekülen⁷. In den Kurven für die von

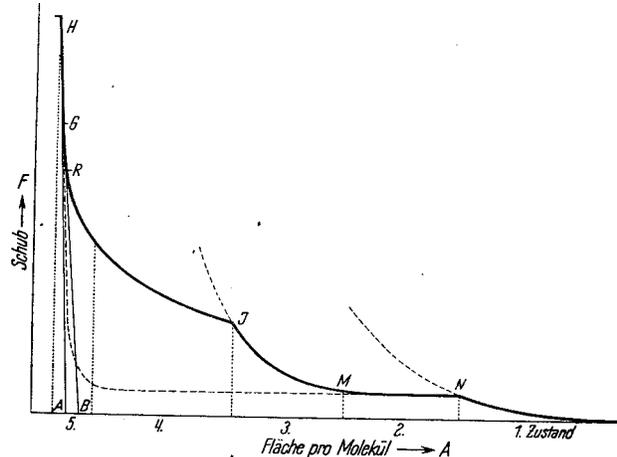


Abb. 1. Schematischer Verlauf einer F/A -Isotherme, die alle vorkommenden Filmzustände im gleichen Diagramm enthält. Erläuterung der Zustände im Text. Der Abszissenmaßstab für den rechten Kurventeil (1. und 2. Zustand) muß stark verkleinert gedacht werden und der Ordinatenmaßstab stark vergrößert. Die Wahl der Buchstaben für die ausgezeichneten Kurvenpunkte schließt sich der Langmuir'schen Bezeichnung (Anm. 5) an. Der kleine waagerechte Strich am linken oberen Kurvenende bedeutet, daß der Film bei diesem Schub kollabiert.

Adam und Jessop (s. u.) und von uns untersuchten dibasischen Estern bedeutet dagegen der Knick bei J nach der unten gegebenen Auswertung den Beginn des Ablösens der einen Endgruppe vom Wasser, wobei anzunehmen ist, daß eine gewisse gruppenweise Orientierung der noch an beiden Enden haftenden Moleküle (Micellbil-

⁶ In diesem 2. Zustand existieren also nebeneinander Inseln von „flüssigem Film“ und gasförmiger Film aus Einzelmolekülen. Beim Messen des Voltapentials in diesem Gebiet zeigt sich, daß beim seitlichen Verschieben der Luftelektrode über dem Film Potentialschwankungen auftreten.

⁷ Nach der Langmuir'schen Theorie setzt erst im Punkte J der Kurve (Abb. 1) die Micellbildung bei Myristinsäurefilmen (und ähnlichen) ein.

⁴ Adam u. Jessop, Proc. Roy. Soc. [London] Ser. A 112, 376 [1926].

⁵ Langmuir, J. chem. Physics 1, 756 [1933].

zung) schon vorher im 3. Zustand stattgefunden hat und daß gerade solche Micellen sich bevorzugt aufrichten.

Bei weiterem Einengen über den Punkt J hinaus (4. Zustand) verläuft die F/A -Isotherme nicht — wie bei der Kondensation im 2. Zustand — parallel zur Abszisse, sondern zunächst nur sehr flach, um dann zunehmend steiler zu werden, d. h. mit fortschreitender Aufrichtung und Micellbildung nimmt der Schub immer schneller zu, bis er bei vollendeter Parallellagerung und Einordnung aller Moleküle — eventuell in zwei Steilheitsstufen (RG und GH) — sprunghaft ansteigt (5. Zustand). Die noch verbleibende geringe Kompressibilität in den Abschnitten RG und GH kann als Verdrängbarkeit von im Film eingebauten Wassermolekülen und als Überwindbarkeit starker Abstoßungskräfte an den polaren ionisierten Enden gedeutet werden. Ob im 5. Zustand eine Flüssigkeit oder ein fester Körper, ein makroskopisch zweidimensionaler Kristall vorliegt, hängt von der filmbildenden Substanz und von der Temperatur ab. Definiert ist dieser Zustand nur als derjenige, bei dem völlige Kondensation der *aufgerichteten* Moleküle eingetreten ist.

Es sei hier besonders auf die Legende zu Abb. 1 verwiesen. Die Abbildung ist ein Schema mit nicht linearen Achsenmaßstäben. Bei der wirklichen, experimentellen Gewinnung der Isothermen arbeitet man — wenn man den 1. und 2. Zustand erfassen will — mit sehr kleinen Substanzmengen und maximaler Empfindlichkeit des Schubmessers. Die Koordinaten des Punktes N liegen größenordnungsweise bei 0,1 Dyn/cm und 1000 Å² pro Molekül, entsprechend sind die Achsenmaßstäbe zu wählen (siehe z. B. Adam, l. c.¹⁶, 2. Aufl., Abb. 13 und 18). Zur Gewinnung des Verhaltens im 3. bis 5. Zustand arbeitet man mit größeren Substanzmengen und geringerer Empfindlichkeit (d. h. man zieht bei Geräten mit Torsionsdraht einen dickeren Draht ein). Der Gesamtbereich der zu messenden Schübe vom 1. bis 5. Zustand erstreckt sich über fast fünf Größenordnungen (0,001 bis 50 Dyn/cm). Es ist nützlich, sich in dem zitierten Buch von Adam Abb. 13 und 16 (Myristinsäure im 1. und 2. Zustand und im 3. bis 5. Zustand) zu betrachten und sich die Kurve aus Abb. 13 im gleichen Maßstab wie in Abb. 16 dort als Verlängerung nach rechts eingezeichnet zu denken.

Die prinzipiellen Möglichkeiten für das Filmverhalten langkettiger Moleküle sind hier im Zu-

⁸ Auch im 4. Zustand zeigt das Voltapotentiale Schwankungen. Nach Schulmann u. Hughes, Proc. Roy. Soc. [London] Ser. A 138, 443 [1932], gibt Myristinsäure in diesem Zustand Schwankungen von 20 mV bei 15°. Adam u. Harding, Proc. Roy. Soc. [London] Ser. A 143, 107 [1933], fanden bei Margarinsäurenitril 60 mV.

sammenhang dargestellt worden, weil das bisher in dieser Form in den wenigen zusammenfassenden Darstellungen über dieses Gebiet nicht geschehen ist und weil diese Art der Darstellung für das Verständnis der folgenden Darlegungen eine besonders anschauliche Grundlage bildet.

Das Besondere an den geschilderten Zustandsänderungen ist also, daß die Isothermen unter Umständen zwei scharf voneinander getrennte Gebiete (3. und 4. Zustand) durchlaufen, deren jedes einem flüssigen Zustand entspricht^{8,9}. Es müssen nun aber nicht alle diese Zustandsformen bei jedem Stoff unter sonst gleichen Bedingungen auftreten. In vielen Fällen (z. B. Fettsäuren auf saurem Substrat) ist die zur Abhebung der Ketten von der Wasseroberfläche erforderliche Kraft so gering, daß der 2. Zustand direkt in den 5. Zustand übergeht (s. die gestrichelte Linie in Abb. 1). Oder aber der Film wird beim Einengen schon vor Erreichen des Punktes J instabil und kollabiert, oder er wird im Laufe der Zustandsänderung J—R instabil. Filme, die bei einer gegebenen Temperatur den Übergang vom 3. in den 4. Zustand zeigen, nennen wir „Übergangsfilme“¹⁰. Filme von Stoffen, die aus relativ isodiametrischen Molekülen bestehen, zeigen den 4. Zustand nicht¹¹. In Grenzfällen kann auch bei zunehmendem Schub merkliche Löslichkeit in Wasser auftreten. Die Isothermen entarten dann. Für Filme an der Grenzfläche von Wasser gegen ein mit Wasser nicht mischbares organisches Lösungsmittel gelten ähnliche Aussagen. Die Kurven sind hier in Richtung größerer Abszissenwerte verschoben und brechen früher ab. Eine völlige Kondensation läßt sich seltener erreichen.

1. Versuche

Es wird zunächst an dem Dibutylester der Hexadecamethylendicarbonsäure (A) ein beson-

⁹ Auch in diesem Zustand gibt es noch Veränderungen, die vermutlich zweidimensionale enantiotrope oder allotrope Umwandlungen polymorpher Filme sind. S. dazu z. B. Dervichian, J. chem. Physics 7, 931 [1939]; Harkins u. Boyd, J. chem. Physics 8, 129 [1949]; Harkins, Chem. Reviews 29, 385 [1941]; Ställberg-Stenhagen u. Stenhagen, Svensk. Kem. Tidskr. 55, 63 [1943] und dieselben in Ark. Kem. Mineral. Geol. 18, 1 [1944].

¹⁰ Der Ausdruck „expanded“ in dem englischen Namen dieser Filme bezieht sich auf den 4. Zustand. Wir meinen mit unserem Namen den gleichen Zustand als den für diesen Filmtyp charakteristischen Übergang.

¹¹ Z. B. Filme von α - und β -Dextrin nach Scharinger. (Gemeinsame Untersuchungen mit Prof. K. Freudenberg, Heidelberg.)

derer Fall eines Übergangsfilmes gezeigt*. Der Temperaturkoeffizient des 4. Zustandes liegt nicht in der Größenordnung von 1 Dyn/Grad wie bei den meisten sonst bekannten Übergangsfilmen, sondern bei 0,2 Dyn/Grad (Abb. 2). Auch liegt der Flächenbedarf für den Zustand im Punkt M nicht in der Gegend von 48 \AA^2 pro Molekül, wie Adam ihn für den üblichen Übergangsfilm angibt (z. B. Myristinsäure, Abb. 7), sondern bei etwa 200 \AA^2 . Beides hängt offenbar damit zusammen, daß wir es hier mit einem an beiden Kettenenden polaren Molekül zu tun haben, das bei beginnender Kompression des Films unter Abhebung des Mittelteils der Kette vom Wasser zunächst noch mit beiden Endgruppen in der Wasseroberfläche haftet.

Diese Substanz A wird nun einmal mit dem Methyl-dodecyl-sebacinsäureester (B) und ein anderes Mal mit dem Sebacinsäure-dibutylester (C) in verschiedenem molekularem Verhältnis gemischt, die Mischungen und die Komponenten werden für zwei um 15 bis 20° ** auseinanderliegende

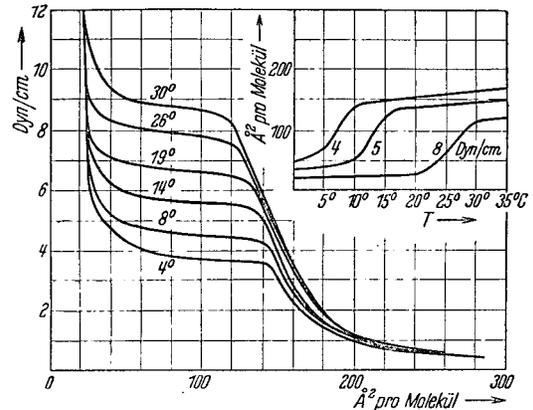


Abb. 2. F/A -Isothermen von Filmen des Esters A. Der Knick der Kurven bei J (s. Abb. 1) scheint nicht so scharf zu sein wie bei den Übergangsfilmen einbasischer Fettsäuren (s. Abb. 7). Im Einsatzdiagramm sogenannte Expansionskurven (Isobare). Vergl. dazu das Einsatzdiagramm von Abb. 7 und beachte den viel flacheren Verlauf des rechten oberen Kurventeils. Die im Text oft erwähnte Expansionstemperatur von Filmen ist definiert als die Temperatur, bei der sich die Isobare um die Hälfte des Abstandes zwischen unterem und oberem Niveau erhoben hat. Meist wird bei Filmen einbasischer Säuren die 1,5-Dyn/cm-Isobare zum Vergleich gewählt.

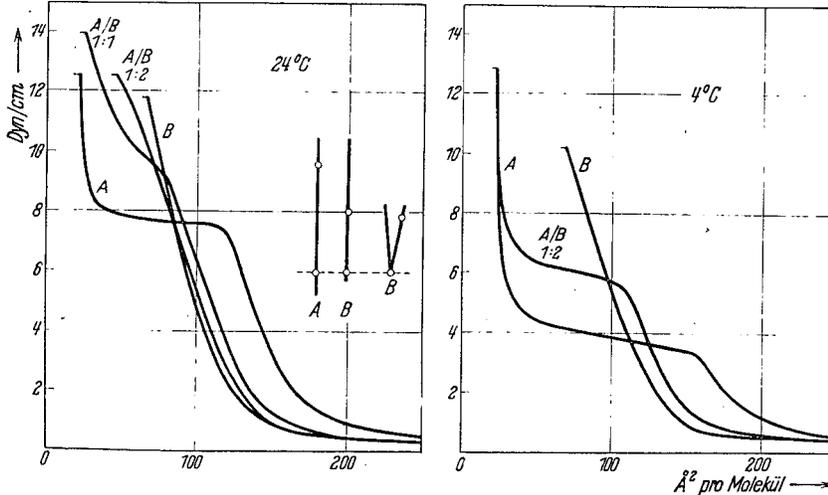


Abb. 3. F/A -Isothermen von Filmen des Esters A, des Esters B und verschiedener Mischungen bei verschiedenen Temperaturen. Die Einsatzzeichnung stellt in symbolischer Art, aber im richtigen Längenverhältnis, die verwendeten Moleküle vor, die Punkte deuten den Ort der polaren Gruppe (Esterbindung) an, die gestrichelte Linie bedeutet die Wasseroberfläche für den Fall, daß die Teilchen auf derselben senkrecht stehen. In Wirklichkeit ist natürlich die „Dicke“ der Moleküle, verglichen mit der Länge, viel größer. Bei 4° geht die Kurve des Esters B noch weiter nach links, der Beginn des Kollapses ist aber nicht mit Sicherheit festzustellen. Der gezeichnete Knick ist aber noch real. Die Indexzahlen an den Mischkurven bedeuten das Mol-Verhältnis A zu B.

Temperaturen untersucht. Abb. 3 und 4 zeigen die Ergebnisse. Das Wesentliche an diesen beiden Ab-

* Hrn. Dr. Zorn (Leuna-Werke) bin ich für Überlassung reiner Versuchssubstanzen und einige Son-

bildungen erkennt man sofort, wenn man darauf achtet, bis zu welchem Endflächenbedarf sich die

deranfertigungen zu besonderem Dank verpflichtet.

** Sämtliche Temperaturangaben in Celsius-Graden.

Filme jeweils komprimieren lassen. Die linken oberen Endpunkte der Kurven geben ungefähr den Punkt des Instabilwerdens (Kollabierens) der Filme an. Bis zu diesem Punkt ordnen sich die Moleküle mit steigendem Schub, soweit es möglich ist, immer mehr. Die folgende Betrachtung beruht also im wesentlichen auf einem Vergleich der Abszissenwerte der linken Kurvenendpunkte. In zweiter Linie ist natürlich auch der Gesamtkurvenverlauf, besonders die Lage des Punktes J

Ketten. Diese Befunde sind das in praktischer Hinsicht wichtige Ergebnis der Arbeit.

Bei der Mischung A—C zeigt sich, daß bei 20° schon ein Mischungsverhältnis 1:1 zur vollen Aufrichtung nicht ausreicht und daß ein Absinken der Temperatur auf 5° keine förderliche Wirkung hat. Die zwischenmolekularen Kräfte sind in diesem Falle infolge der kürzeren Kettenlänge erheblich kleiner und es werden sich vermutlich Micellen bilden, deren jede bevorzugt nur eine Molekül-

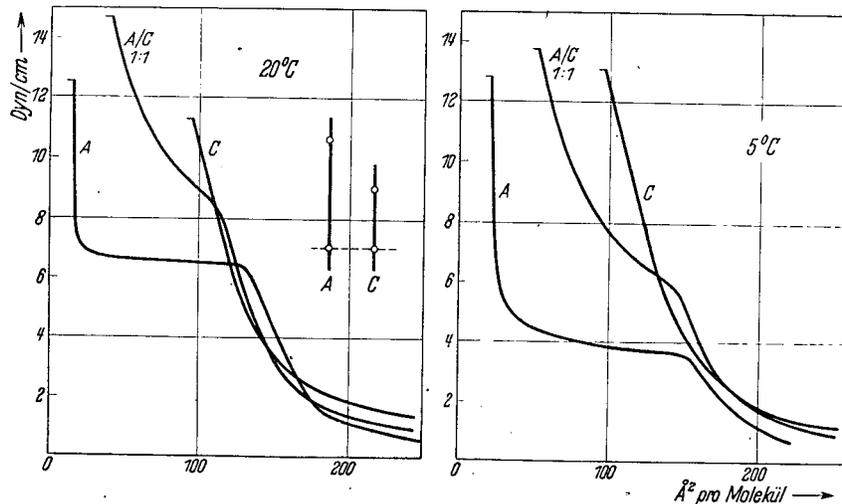


Abb. 4. F/A -Isothermen von Filmen des Esters A, des Esters C und der äquimol. Mischung beider. Die Kurve des Esters C hat ihren Knick bei 17 Dyn/cm und verläuft dann anschließend schräg aufwärts, ohne aber einen Endflächenbedarf von 20 Å² ganz zu erreichen.

zwischen dem 3. und 4. Zustand, von Bedeutung¹².

Wir finden, daß eine äquimolekulare Mischung von A und B sich bei 24° und bei 4° bis zu einem Endflächenbedarf von etwa 24 Å² pro Kette zusammenschieben läßt. Das bedeutet, daß die Moleküle B, deren ungemischter Film schon bei über 65 Å² pro Molekül kollabiert, hier durch die Beimischung der Moleküle A fast vollständig mitaufgerichtet wird. Eine Mischung 1:2 kollabiert schon bei 45 Å² pro Molekül bei 24°, d. h. daß hier die Anzahl der starren Partner A nicht groß genug ist zur Mitaufrichtung sämtlicher Moleküle B. Ein quantitativer Vergleich ergibt, daß etwa die Hälfte der Moleküle B mitaufgerichtet wird und die Hälfte den Flächenbedarf aufweist, den die Moleküle beim Kollaps im reinen B-Film zeigen. Bei 4° dagegen genügt auch dieses Mischungsverhältnis 1:2 noch zur vollen Aufrichtung aller

¹² S. unten die Diskussion des Kurvenverlaufs für den 4. Zustand.

sorte enthält. Da der Punkt J für den Ester A bei gleicher Temperatur bei viel kleineren Schüben liegt als für den Ester C, muß man annehmen, daß sich zunächst hauptsächlich Micellen des Esters A bilden. Durch weitere Variierung des Mischungsverhältnisses läßt sich vermutlich ziemlich genau festlegen, mit welcher Wahrscheinlichkeit C-Moleküle in A-Micellen eingebaut werden. Solche Versuche sollen noch angestellt werden.

Wenn die Aufrichtung eines flexiblen Moleküls (B) durch einen starren orientierungsfähigen Partner (A) etwa gleicher Kettenlänge eine allgemeine Reaktion ist, so muß sie sich auch mit langkettigen Molekülen einer einfachen Fettsäure erreichen lassen. Wir haben dazu Stearinsäure (D) genommen (Abb. 5). Wir finden, daß die Kurve des Mischfilms in ihren unteren Partien nur geringe Wechselwirkung zeigt, daß aber eine vollständige Aufrichtung der Moleküle B zustande kommt. Die Kurve für den reinen Ester B bei 15°

in dieser Abbildung ist durch sehr schnelles Zusammenschieben gewonnen worden. Von 12 Dyn/cm ab ist schon ein merklicher Kollaps festzustellen. In den Mischkurven dagegen tritt ein deutlicher Kollaps erst bei den jeweils markierten Schüben auf. Wir haben schließlich noch den Ester A mit Stearinsäure gemischt, da hier im Gegensatz zu der Mischung B—D die Kettenlänge des Säureteils beider Partner gleich ist. Abb. 6 zeigt das Ergebnis. Man sieht hier sofort die Verlagerung des unteren Mischkurventeils nach links gegenüber einer theoretischen Mittelkurve. Das bedeutet

$$(F - F_0)(A - A_0) = kT,$$

die der von der Waalsschen analog gebaut ist, hingeschrieben; die Konstanten A_0 und F_0 werden physikalisch interpretiert. A_0 , die Flächenkorrektur, ist nach Langmuir weniger ein Maß für den Kettenquerschnitt als für die Kräfte zwischen den polaren Gruppen, während F_0 etwas aussagt über die Kohäsion in der aus Kohlenwasserstoffketten bestehenden oberen Filmschicht. F_0 ist von der Kettenlänge abhängig und hat negative Werte.

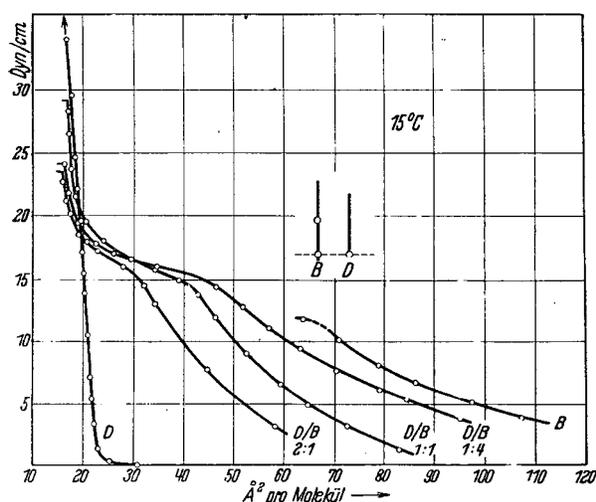


Abb. 5. F/A -Isothermen von Filmen des Esters B und der Stearinsäure und von Mischungen von beiden auf Wasser von $p_H = 4$ gespreitet (die in den vorangegangenen Abbildungen dargestellten Kurven stammen von Filmen auf reinem Wasser von 15°).

starke Micellbildung schon im 3. Zustand, zumindest die Aneinanderlagerung je zweier Mischpartner. Die Aufrichtung erfolgt praktisch bei dem gleichen Schub wie bei reinem A-Film. Die gleiche Verlagerung nach links im unteren Kurventeil zeigen auch die Mischkurven von A und B (Abb. 3), vor allem bei 24°. Also auch hier Aggregation der noch liegenden Partner.

2. Diskussion der Kurven des Esters A

Die theoretische Deutung, die Langmuir der von Adam gemessenen Kurvenschar eines typischen Übergangsfilmes (Myristinsäure, Abb. 4) gibt, basiert auf der Tatsache, daß das Kurvenstück N—J in diesem Falle ziemlich genau ein Abschnitt einer rechtwinkligen Hyperbel ist. Es wird dafür eine Zustandsgleichung

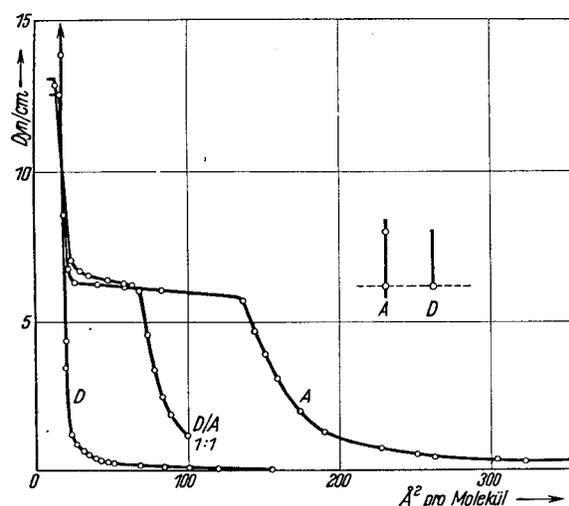


Abb. 6. F/A -Isothermen von Filmen des Esters A und der Stearinsäure und der äquimol. Mischung beider (auf Wasser von $p_H = 4$ gespreitet). Stearinsäurefilme sind bei 18° bis über 30 Dyn/cm stabil.

Die Betrachtung unserer Kurven für den Ester A (Abb. 2) zeigt aber, daß das Kurvenstück JN keiner rechtwinkligen Hyperbel zugehört und mithin auch keine einfache Zustandsgleichung eingeführt werden kann. Das Vorhandensein zweier polarer Gruppen am Ende jeden Moleküls läßt ja auch von vornherein einen ganz anderen Mechanismus beim Aufrichten von der Wasseroberfläche erwarten. Es wird sich für jedes einzelne Molekül mehr um ein ruckartiges Ablösen der einen polaren Gruppe handeln als um ein allmähliches Aufrichten. Dagegen scheint es wohl möglich zu sein, die Langmuirschen Vorstellungen über den Kurventeil JR auch auf die Kurven von dibasischen Estern anzuwenden. Der 4. Zustand ist sicherlich auch hier durch das gleichzeitige Vorhandensein von Micellen und Einzelmolekülen bestimmt;

wie im folgenden gezeigt wird, führt die Anwendung der Langmuirschen Vorstellungen auf diesen Fall zu plausiblen Schlüssen.

Der Langmuirsche Ansatz für den 4. Zustand von Übergangsfilmen¹³ (der weitgehend unabhängig von dem für den 3. Zustand ist) führt zu einer Formel für β , die mittlere Anzahl der Moleküle pro Micelle:

$$\beta = \frac{kT}{F_\beta} \cdot \frac{1}{a_J} \cdot \frac{a_J - a}{a - a_R};$$

darin ist F_β gleich $F - F_J$; F und a : Schub und molekularer Flächenbedarf des betrachteten Kurvenpunktes; F_J und a_J sind die gleichen Größen im Punkte J; a_R ist der molekulare Flächenbedarf im Punkte R.

Für Myristinsäurefilme^{14,15} variieren die β -Werte zwischen 9 und 18. Langmuir hält es aus einfachen geometrischen Gründen für wahrscheinlich, daß β -Werte von $1 + 6 = 7, 1 + 6 + 6 = 13$ usw. bevorzugt sind.

Tab. 1 zeigt die β -Werte, die wir unter Anwendung obiger Formel aus unseren Kurven für den Ester A erhalten haben.

t	$\text{\AA}^2/\text{Molekül}$			
	40	80	100	120
8°	20	—	5	—
19°	21	7	7	4
30°	20	—	6	—

Tab. 1.

Diese Werte liegen also ganz ähnlich wie die für Myristinsäure, obwohl die beiden Gruppen von Kurven einen ganz verschiedenen Verlauf haben und die Filme im 3. Zustand sicher nicht miteinander verwandt sind.

Es ist anzunehmen, daß die Micellen c. p. um so kleiner sind, je größer die polaren Gruppen sind. Je steiler das JR-Stück ist, um so kleinere β -Werte findet man.

Die Langmuirsche Formel ergibt für die Kurven von:

<i>p</i> -Dodecyl-phenol	$\beta = 5 \pm 1$	(vergl. Anm. ¹⁶)
α -Brom-fettsäure (C_{17})	$\beta = 9$ bis 13	(vergl. Anm. ¹⁶)
Monopalmitin	$\beta = 13$	(vergl. Anm. ¹⁶)
Äthylpalmitat	$\beta = 55$	(vergl. Anm. ¹⁴)
Propylpalmitat	$\beta = 60$	(vergl. Anm. ¹⁶)

¹³ Langmuir nimmt an, daß im 4. Zustand Micellen der Molekülzahl und Einzelmoleküle miteinander im thermodynamischen Gleichgewicht stehen. Der Partialdruck F_J der Einzelmoleküle bleibt, solange noch solche vorhanden sind, konstant. Die Micellen haben einen eigenen Partialdruck F und nehmen beim Einengen des Films ständig an Zahl zu.

Die Kurventeile für den 4. Zustand dieser Esterkurven verlaufen fast waagrecht, so daß der Punkt J ein reiner Phasenwechsel zu sein scheint. Nach Langmuir hängt das damit zusammen, daß diese Kurven den Teil GR nicht besitzen, die Linie GRB tritt immer auf, wenn die Endgruppen stark hydratisiert sind (z. B. *n*-Säuren). Bei Estern geht das Kurvenstück JR sofort in die Linie HGA über. Die Hydratation ist gering.

Daß nun die Kurven des Esters A viel steiler verlaufen als die der Monoester und kleinere β -Werte ergeben, läßt sich vielleicht deuten, wenn

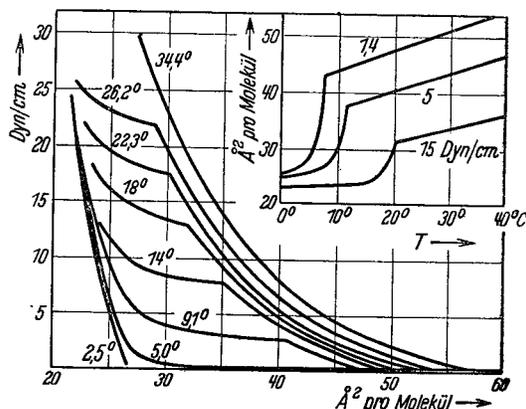


Abb. 7. F/A -Isothermen von Myristinsäurefilmen auf saurem Substrat (nach Adam^{14,15}). Die Einzeichnung der experimentell gefundenen Kurvenpunkte ist hier ebenso wie in den beiden folgenden Abb. unterlassen. Die in dieser Abb. wiedergegebenen Messungen bilden die Grundlage für die Theorie der Übergangsfilme von Langmuir⁵.

man die F/A -Kurven (s. Abb. 8) des zu unserem Ester A homologen Diäthylesters der Hexadecamethylendicarbonsäure (Adam, Jessop¹⁷) mit den F/A -Kurven des Esters A vergleicht. Es sind typische „vapour expanded“-Kurven, d. h. sie haben keinen J-Punkt, der 3. und 4. Zustand gehen fließend ineinander über. Außerdem ist die Temperaturabhängigkeit des 4. Zustandes viel geringer als bei den A-Ester-Kurven, und die Expansionstemperatur liegt sehr viel höher (s. Abb. 7). Wenn man nun damit die F/A -Kurven von Äthylpalmitat vergleicht (s. Abb. 9), so kann man die

¹⁴ Adam u. Jessop, Proc. Roy. Soc. [London] Ser. A 112, 362 [1926].

¹⁵ Adam, The Physics and Chemistry of Surfaces, 3. Aufl., Oxford 1941.

¹⁶ Adam, Berry u. Turner, Proc. Roy. Soc. [London] Ser. A 117, 532 [1928].

¹⁷ Adam u. Jessop, Proc. Roy. Soc. [London] Ser. A 112, 376 [1926].

Wirkung des Überganges von einem Monoester zu einem Diester gleicher Säurenlänge¹⁸ abtrennen von der Wirkung des Überganges von einem Diäthyl- zu einem Dibutylester.

Der zweite Vergleich (Abb. 7 und 9) zeigt im wesentlichen drei Unterschiede. 1. Die Gegend des J-Punktes liegt einmal bei 50 bis 70 Å² pro Molekül, das andere Mal bei etwa 100 bis 120 Å² pro

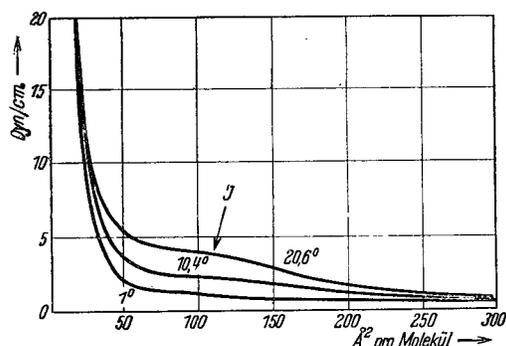


Abb. 8. F/A -Isothermen von Filmen des Diäthylesters der Hexadecamethylencarbonsäure (nach Adam u. Jessop¹⁷).

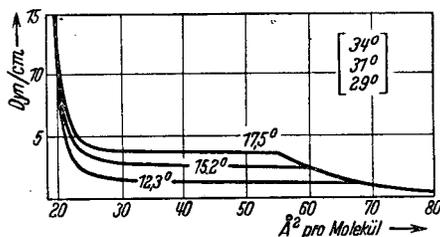


Abb. 9. F/A -Isothermen von Filmen des Äthylpalmitats (nach Adam u. Jessop¹⁴). Die eingeklammerten Temperaturwerte gelten etwa für den Äthylester der Stearinsäure und müssen bei dem im Text durchgeführten Vergleich mit Abb. 8 verwertet werden.

Molekül; 2. der J-Punkt ist einmal scharf markiert, das andere Mal nur als Krümmungsmaximum angedeutet; 3. die Änderung des Schubes F_J mit der Expansionstemperatur ist beim Diäthylester fünfmal kleiner als beim Monoester.

Aus der Tab. 4 bei Adam¹⁵ ergibt sich, daß bei n -Fettsäuren die Expansionstemperatur für jede zugefügte CH_2 -Gruppe um 8 bis 10° steigt. Wenn man das H-Atom der Carboxylgruppe durch CH_3 ersetzt, sinkt die Expansionstemperatur um 1 bis 2°, und wenn man es durch C_2H_5 ersetzt, sinkt sie um etwa 15°. Kettenverlängerung am

¹⁸ Für Äthylstearat liegen die Temperaturen um 15 bis 18° höher als die für Äthylpalmitat angegebenen. Sonst ist der Kurvenverlauf der gleiche.

Alkohol wirkt also der Kondensation entgegen, wenn der Alkohol der kürzere Teil des Esters ist.

Da bei dem Diester A die RJ-Kurven links viel steiler sind, also kleine β -Werte ergeben, so kann das im Falle der Gültigkeit der Langmuirschen Formel für diese Diester nur heißen, daß die Aufrichtung der jeweils im 4. Zustand noch vorhandenen Einzelmoleküle mit wachsender Zahl der Micellen immer schwieriger wird. Man kann das so deuten, daß für die noch liegenden Einzelmoleküle in der Nähe des Punktes J die „drängenden Elemente“ meist andere liegende CH_2 -Ketten sind, mit zunehmender Micellbildung dagegen nach R hin immer mehr Estergruppen von aufgerichteten Micellen auftreten, die zu der Affinität des Wassers noch eine zusätzliche Kraft auf die polaren Gruppen des noch liegenden Moleküls ausüben werden.

Der erste Vergleich (s. Abb. 2 u. 8) zeigt, daß der Dibutylester sich in seinen Eigenschaften wieder mehr dem Monoester nähert. Die Änderung des Schubs mit der Expansionstemperatur hat eine Zwischengröße. Der J-Punkt ist ziemlich ausgesprochen. Der Kurvenverlauf JR ist nicht so steil. Die β -Werte sind viel geringer als beim Diäthylester. Das kann in dem oben skizzierten Sinn wieder so gedeutet werden, daß die längere Alkoholgruppe die Zusatzkräfte der unteren Micellränder kompensiert oder abschirmt. Was oben über die Expansionstemperatur bei Verlängern der Alkoholkette gesagt wurde, gilt offenbar auch hier.

Diese Deutungsversuche sind sicherlich viel zu grob anschaulich, doch geht jeder theoretische Ansatz letzten Endes von solchen stark vereinfachenden Vorstellungen aus.

Eine wirkliche Theorie dieser Filme müßte die eines „Triplexfilmes“ sein: Eine K.-W.-Mittelschicht mit einer unteren wassergebundenen polaren Schicht und einer oberen freien polaren Schicht.

3. Diskussion auf Grund der Moleküldimensionen

Eine quantitative Auswertung der Kurven der reinen Substanzen ergibt folgendes: Die Länge von A errechnet sich zu etwa 35,5 Å. Wenn man einen Querschnitt von 20 Å², und diesen als quadratisch, annimmt, errechnet sich ein Längsquerschnitt für das Molekül von 158 Å². Wenn man das bei Röntgenuntersuchungen (Müller¹⁹) an Paraffinketten gefundene Seitenver-

¹⁹ A. Müller, „Organische Kristalle mit Kettenmolekülen“ in „Der feste Körper“, Leipzig 1936.

hältnis des Querschnittes der Elementarzelle 1:1,7 (kurz vor dem Schmp.) einsetzt, erhält man 3,4 Å für die kleinere und 5,8 Å für die größere Seite. Die entsprechenden Werte des Längsquerschnittes sind 120 und 206 Å². Bei genügend freiem Platz wird das Molekül aus energetischen Gründen so liegen, daß die längere Seite (5,8 Å) des Prismenquerschnittes horizontal liegt. Wir müssen also im 1. und 2. Zustand der Kurve mit 206 Å pro Molekül rechnen. Wie die Abb. 1 zeigt, beginnt bei 200 Å² pro Molekül der Schub stärker zu steigen. Bei weiterer Einengung des Films werden sich die Moleküle vielleicht teilweise um 90° um ihre Längsachse drehen, aber vermutlich eher dem Schub dadurch auszuweichen suchen, daß die kurzen, löslichen Alkoholenden nach oben oder unten verdrängt werden. Der größte Längsquerschnitt der Säure selbst beträgt 147 Å², der kleinste 86 Å². Bei 24° ist der Flächenbedarf im Punkte J 120 bis 130 Å² pro Molekül. Wenn man bedenkt, daß beim Komprimieren des Films bis dahin wegen der Sperrigkeit der langen Ketten (man denke an Streichhölzer auf Wasser) die Bedekung der Wasseroberfläche sicher keine vollständige ist, wird man die gefundenen Werte von 86 bis 147 Å² pro Molekül als gut dazu passend ansehen dürfen.

Filme des Moleküls B geben die Kurven B, die den 3. Zustand zeigen. Das Molekül B ist so gewählt, daß es von der weiter außen gelegenen Esterbindung ab bis zum anderen Ende genau so lang ist wie das Molekül A von einer Esterbindung bis zum anderen Ende (s. die Einsatzzeichnungen in den Abb.): 22 C-Atome und 1 Brücken-O. Der beim Komprimieren dieses Films erreichte Endflächenbedarf ist 66 Å² pro Molekül. Die beiden Längsquerschnitte des Säureteils sind 88 bzw. 52 Å². Es bleibt zunächst offen, ob das so zu deuten ist, daß bis zum Kollaps der Säureteil auf dem Wasser bleibt, oder ob in der in Abb. 3 (Nebendiagramm) angedeuteten Art eine Aufrichtung über der mittelständigen Esterbindung erfolgt. Auch das würde den Wert 66 Å² erklären können. Das letztgenannte Verhalten ist das wahrscheinlichere. Jedenfalls bewirkt bei 24° die Kompression des Films nicht eine gestreckte Aufrichtung der knickfähigen Moleküle B über der *endständigen* Esterbindung, was wie bei A zu einem Endflächenbedarf von 20 Å² pro Molekül führen müßte. In Tab. 2 sind die berechneten Dimensionen der verwendeten Moleküle zusammengestellt. Dabei bedeuten L_E und L_S die Länge des Esters und seines Säureteils in Å und sinngemäß Q_E und Q_S die Längsquerschnitte in Å². Der obere Wert gilt unter der Annahme eines quadratischen Querschnittes senkrecht zur Achse ($d_1 = d_2$) und die beiden unteren Werte geben die beiden Längsquerschnitte unter der Annahme, daß sich $d_2 : d_1$ verhält wie 1,7 : 1.

Der Vergleich dieser Werte mit den bei den Estern A, B und C für den Punkt J bei Zimmertemperatur gefundenen zeigt deutlich, daß wir in den Übergangsfilmen dibasischer Ester bis zum Punkte J (von rechts nach links gehend) mit dem Haften der beiden polaren Endgruppen an der Wasseroberfläche rechnen müssen. Für Myristinsäure dagegen liegt bei 19° der J-Punkt bei 32 Å² pro Molekül, während sich der Längsquerschnitt der Myristinsäure zu 80 Å² (61/105) ergibt. Die

Substanz	L_E	L_S	Q_E	Q_S
A	35,5	25,4	158 120/206	113 86/147
B	31,7	15,2	141 108/184	68 52/88
C	25,4	15,2	113 86/147	68 52/88
D	—	24,2	—	108 82/140

Tab. 2. Länge und Querschnitt (längs) der verwendeten Moleküle. Der Index E bedeutet Ester, der Index S den Säureteil des Esters. Für jede CH_2 -Gruppe wurde ein Längenwert von 1,27 Å angenommen. Die Brückensauerstoffe wurden mit dem gleichen Wert eingesetzt, da der damit eingeführte kleine Fehler für den Zweck dieser Zusammenstellung ohne Bedeutung ist. Für den Längsquerschnitt stehen jeweils drei Werte, über deren Bedeutung vergl. Text. Alle Werte in Å und Å².

Moleküle müssen in diesem Punkt also schon einen ziemlich steilen Winkel mit der Wasseroberfläche bilden. Langmuir nimmt in seiner Theorie für diese Filme an, daß im Punkt J die Micellbildung einsetzt.

Wir müssen für die dibasischen Ester dagegen nach dem Vorstehenden annehmen, daß im Punkte J das Abspringen der einen polaren Gruppe jeden Moleküls, also seine Aufrichtung, einsetzt. Der Punkt J bedeutet in beiden Fällen also etwas ganz Verschiedenes. Wir müssen auch annehmen, daß schon vor Erreichen des Punktes J zwischen den noch liegenden Molekülen der längeren dibasischen Ester Aggregation einsetzt und daß die Aufrichtung z. Tl. gruppenweise erfolgt. Daß der Punkt J sich mit zunehmender Temperatur nach links und oben verschiebt²⁰, hängt offenbar damit zusammen, daß die Ketten mit zunehmender Temperatur dem zunehmenden Schub immer besser durch ihre Biegsamkeit — also ein Abheben des mittleren Kurventeils — nach oben ausweichen können. Wenn diese Vorstellung zutrifft, müßte man annehmen, daß die oberen Glieder einer solchen Kurvenschar nicht wie bei Myristinsäurefilmen von einer kritischen Temperatur ab ohne einen Knick bei J verlaufen, sondern daß bei weiterem Einengen immer ein Knick bei J auftritt, wenn der Film nicht vorher kollabiert. Leider sind Versuche bei 40 bis 50° recht schwierig sauber auszuführen, so daß wir noch keine Werte für dieses Gebiet haben.

Bei einem Versuch bei 39° lag der Knick bei 8 Dyn/cm, also unter dem Wert für 30°. Es bleibt abzuwarten, ob es sich um einen experimentellen Fehler handelt oder ob mit steigender Temperatur plötzlich die Ablösung der einen polaren Gruppe so leicht wird, daß die Stufenhöhe für den 4. Zustand wieder sinkt.

²⁰ Übrigens, soweit unsere Kurven das erkennen lassen, *nicht* entlang einer Kurve, die durch eine Clausius-Clapeyronsche Gleichung dargestellt werden kann, wie bei den Übergangsfilmen einfacher Fettsäuren.

Ein Schubmesser für monomolekulare Filme

VON HANS JOACHIM TRURNIT

(Z. Naturforschg. 2b, 267—274 [1947]; aus Friedberg (Hessen) eingegangen am 13. August 1946)

Es wird über Bau und Leistungsfähigkeit eines Gerätes berichtet, das zum Messen des zweidimensionalen Druckes monomolekularer Filme an Wasseroberflächen dient. Es entstand durch Umbau eines ganz anderen Zwecken dienenden Gerätes (Polarisationsapparat), das in sehr präziser Ausführung serienmäßig hergestellt wird.

Die Frage nach dem Verhalten dünnster Schichten organischer Stoffe an Wasseroberflächen gewinnt im Zusammenhang mit chemisch-physikochemischen und vor allem biologischen Problemen immer größere Bedeutung. Bei der Untersuchung der Eigenschaften solcher Filme spielt die Messung der Abhängigkeit des mittleren molekularen Flächenbedarfes (A) vom Schub (F) und von der Temperatur eine wichtige Rolle¹. Sie entspricht der Aufnahme eines pv -Diagramms in der dreidimensionalen Thermodynamik. Man gewinnt daraus Hinweise auf Bau und Orientierung der Moleküle und auf die Art der zwischenmolekularen Kräfte. Auch lassen sich mögliche Wechselwirkungen und Reaktionen zwischen Film und Substrat verfolgen.

A ist gegeben durch die Fläche, die der Film auf der Wasseroberfläche einnimmt, dividiert durch die mittels Wägung gefundene Anzahl seiner Moleküle. F — der Schub des Films — wird in Dyn/cm gemessen. Sein Wert ist numerisch gleich der Differenz der Oberflächenspannungen der freien und der filmbedeckten Wasseroberfläche. — Die Art des experimentellen Unterschiedes zwischen wasserunlöslichen Filmen, um die es sich hier handelt, und solchen, deren Verhalten durch die Gibbssche oder eine verwandte Funktion dargestellt werden kann, spiegelt sich in der theoretischen Behandlung insofern, als in die Formeln für unlösliche Filme der mittlere molekulare Flächenbedarf A mit der Dimension Fläche pro Teilchen ($\text{Å}^2/\text{Molekül}$) und in die Formeln für lösliche Filme die Grenzflächenkonzentration mit der reziproken Dimension Teilcheneinheit pro Flächeneinheit (n/cm^2) eingesetzt wird. Im Nenner steht jeweils die experimentell konstante Größe.

¹ Über die Bezeichnung „Schub“ für die Kraft pro Längeneinheit in der Randlinie von Filmen und über die sonstige Nomenklatur s. H. J. Trurnit, Fortschr. der Chemie organ. Naturstoffe Bd. IV, S. 347, Springer, Wien 1946. Dort auch eine Übersicht über die sonstigen Schubmesser.

² A. Pockels, Nature [London] 43, 437 [1891]. — S. auch Ostwald, Kolloid-Z. 58, 1 [1932].

Die Meßgeräte sind im Prinzip immer eine Vereinigung der von Agnes Pockels² entwickelten Methoden mit irgendeinem empfindlichen, waageähnlichen Kraftmesser³.

Für eigene Filmuntersuchungen habe ich auf Grund der Erfahrungen anderer Forscher und auf Grund von eigenen Überlegungen und Erfahrungen mit einem ganz einfachen Schubmesser ein Präzisionsgerät entwickelt, das im folgenden beschrieben werden soll.

Das Gerät

Bei seinem Entwurf waren folgende Gesichtspunkte maßgebend: 1. Das Gerät soll eine hohe Empfindlichkeit bei möglichst großer Nullpunktstabilität haben. Diese Forderungen lassen sich nur auf Kosten des Meßbereichs verbinden. Das eigentliche Meßorgan muß also austauschbar sein, um in dem praktisch verlangten Bereich von 0,001 bis 50,0 Dyn/cm messen zu können. 2. Wechsel der Troglösung und Reinigung der Wasseroberfläche sollen leicht und ohne großen Zeitverlust möglich sein.

Aus der ersten Forderung ergibt sich die Wahl eines Gerätes mit waagrecht Torsionsdraht, wie es auch von Adam und Jessop⁴ und von Harkins⁵ verwendet wird. Die geeignete Dimensionierung ermöglicht es dabei, alle Forderungen durch Verwendung nur eines Drahtes zu erreichen. Dieser ist Meßdraht und gleichzeitig Träger des Spiegels für die Nullanzeige.

³ Sie werden daher häufig „Filmwaagen“ genannt. Da es sich aber nicht um ein Vergleichen von Schwerkraften, sondern von Oberflächenspannungen handelt, werden sie besser als „Schubmesser“ bezeichnet.

⁴ Adam u. Jessop, Proc. Roy. Soc. [London] Ser. A 110, 423 [1926].

⁵ Harkins u. Fischer, J. chem. Physics 1, 852 [1933].

Zum Zwecke der Vergrößerung des Spiegelausschlages ist bei anderen Geräten der *Nullspiegel* an einem dicht über dem Schwimmer montierten, besonderen Torsionsdraht befestigt und auf eine mechanisch äußerst verletzliche Art mit dem Schwimmer und dem Schubhebel verbunden. Nun sind aber die Schwimmerdichtungen prinzipiell schon derart empfindlich, daß man es nach Möglichkeit vermeiden sollte, das Gerät durch weitere empfindliche Stellen zu belasten. Die Erfahrung mit unserem Gerät hat gezeigt, daß auch bei hohen Anforderungen an die Meßempfindlichkeit die Befestigung des Nullspiegels am Meßdraht selbst genügt.

Ein wesentlicher Gesichtspunkt bei der Konstruktion war folgender: Zum Reinigen der Wasseroberfläche und beim Wechsel der Troglösung ist es zweckmäßig, wenn das Meßgerät schnell und einfach vom Trog abgehoben werden kann. Bei den früheren Geräten war das nicht möglich; Gorter⁶ hat 1934 als erster einen Schubmesser konstruiert, der als Ganzes gehoben und gesenkt werden kann. Harkins, Carman u. Ries⁷ sind 1935 diesem Vorbild gefolgt. Es schien mir

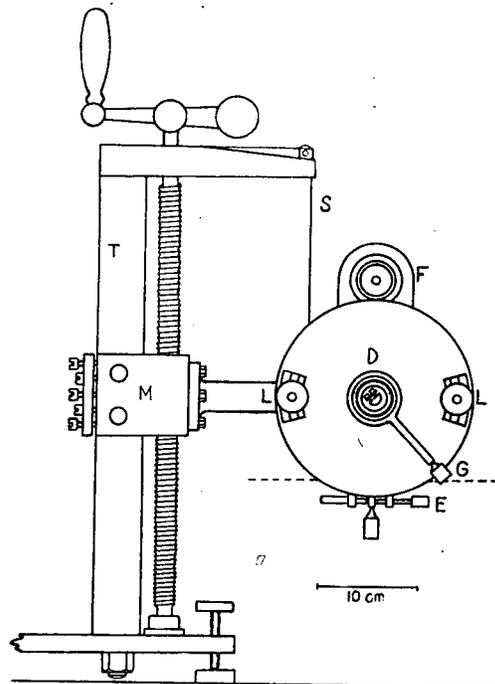


Abb. 1. Schematische Seitenansicht des Gerätes. Links das Stativ mit Spindel und Mutter (M). Rechts die Teilkreis-Kapsel mit Ableselupe (L), Grobeinstellung (G), Feineinstellung (E), Drahtklemme (D) am Drahthalter und Nullfernrohr (F). Das Drahtseil (S) läuft über Rollen zu einem Gegengewicht in dem U-Träger (T). Das gestrichelte Niveau über der Feineinstellung bezeichnet die Lage der Wasseroberfläche beim Messen.

nun zweckmäßig, noch einen Schritt weiterzugehen und den Schwimmer mit den Randstücken und Dichtungselementen vom eigentlichen Kraftmesser zu trennen und zu einem unabhängigen Aggregat zu machen. Die Dichtungen sind der empfindlichste Teil der Apparatur. Man kann dann Änderungen, Reinigung und Reparatur des Schwimmers vornehmen, ohne jedesmal den Kraftmesser in Mitleidenschaft zu ziehen. Bei Drehspulgalvanometern, Saitengalvanometern und Saitenelektrometern verfährt man ähnlich. Außerdem kann man den Kraftmesser ohne irgendeine Änderung mit verschiedenen Schwimmern und an verschiedenen geformten Trögen benutzen.

Diese Trennung des Schwimmers vom Meßsystem und damit dessen Trennung vom Trog birgt aber eine Fehlermöglichkeit in sich, auf die von vornherein geachtet wurde. Der Mechanismus, mit dessen Hilfe das Meßgerät in der Vertikalen bewegt wird, muß außerordentlich stabil und ohne jeden toten Gang sein, damit nicht die beim Messen notwendigen Krafteinwirkungen der Hand des Beobachters auf den Teilkreishebel zu Relativbewegungen zwischen Trog und Meßgerät führen. Dieser Forderung wurde durch Konstruktion und Ausführung des Stativs und durch Aufstellung der ganzen Apparatur auf einem schweren, erschütterungsfreien Tisch voll genügt⁸.

Es war naheliegend, nach einem geeigneten käuflichen Präzisionsgerät zu suchen, das sich in ungezwungener Weise in einen Schubmesser umwandeln läßt. Ein guter Polarisationsapparat vereinigt in sich die wesentlichen mechanischen Bauelemente für einen Schubmesser, nämlich einen erstklassigen Teilkreis und zwei in geeignetem Abstand voneinander befindliche zentrierte Lager. An die Stelle des axialen Lichtbündels kommt der Torsionsdraht, an die Stelle der Polarisationsprismen kommen die Drahthalter. Das Fernrohr des Gerätes wird oberhalb des Teilkreises montiert und dient zur Ablesung der Nullskala.

Der verwendete *Polarisationsapparat* ist das Modell nach Lippich von Zeiß-Winkel⁹.

⁶ Gorter, J. gen. Physiol. 18, 427 [1935].

⁷ Harkins, Carman u. Ries, J. chem. Physics 3, 692 [1935].

⁸ Dieses Stativ, die Drahthalter, das Hebelsystem und der Thermostat wurden von der Firma L. Hornmuth, Inh. W. Vetter, Heidelberg, in ausgezeichneter Ausführung geliefert.

⁹ Das Modell nach Landolt wäre wegen seiner Trägerform noch geeigneter.

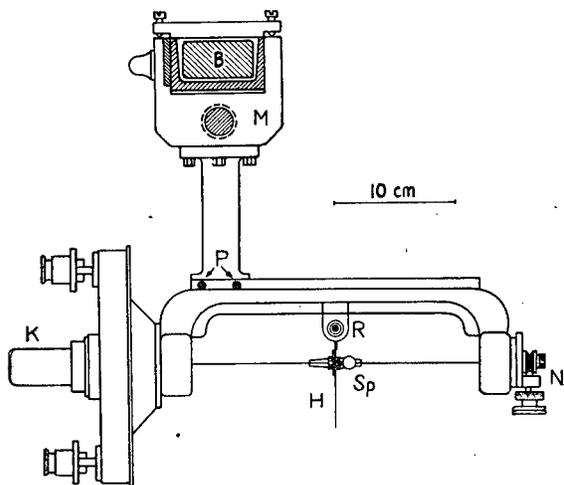


Abb. 2. Aufsicht des Gerätes mit Stativarm und Mutter (M). Darin der Querschnitt des U-Trägers, des Bleigewichtes (B) und der Spindel. P sind die beiden Befestigungspunkte der Drahtseile nahe dem gemeinsamen Schwerpunkt von Mutter, Stativarm und eigentlichem Schubmesser. H ist das Hebelsystem mit Spiegel (Sp) und Dämpfung (R), N der hintere Drahthalter mit Nulljustierung, K die Kapsel über dem vorderen Drahthalter. Das Fernrohr, das Winkelprisma und der Schutzkasten um Draht und Hebelsystem sind fortgelassen.

In die beiden Lager des Gerätes, die sonst die Prismen aufnehmen, wurden Drahthalter eingebaut. Der vordere, konisch eingesetzte Halter wird vom Teilkreis mitgenommen. Er trägt axial einen Drahtspanner, der einen Hub von etwa 8 mm hat. Der hintere Halter ist ebenfalls drehbar eingesetzt. Die Drehung erfolgt durch Schneckentrieb. Es wurde dazu der Feintrieb eines guten Mikroskops verwendet¹⁰. Die Trommel hat 100 Teilstriche. Dieser Trieb dient zur Nulljustierung des Gerätes vor jedem Versuch.

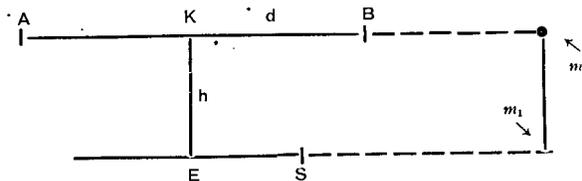
Die eigentliche Befestigung der Drahtenden besteht aus je einem Plättchen, das den Draht mittels zweier Stahlschrauben genau axial auf ein halbzyylinderförmiges Segment des Halters drückt. Es ist der jeweils äußerste, also gut zugängliche Teil der beiden Halter. Der mittlere Abstand der Fixierungspunkte beträgt 420 mm. Als Torsionsdraht wurde bisher ein Klaviersaitendraht von 0,3 mm \varnothing verwendet.

Das Hebelsystem (Abb. 3), das die Verbindung zwischen Torsionsdraht und Schwimmer herstellt, ist in einem Abstand von 250 mm hinter der vorderen Fixierung angebracht, sitzt also nicht in der Drahtmitte. Durch Tarierschrauben läßt sich genau wie bei einer Waage das System ins Gleichgewicht bringen und der Abstand des Schwerpunktes von der Achse einstellen. An dem Herzstück des Hebelsystems ist — aufsteckbar — ein Spiegelhalter angebracht, auf dem ein Galvanometerspiegel (8 mm \varnothing) in horizontaler Lage aufgeklebt ist. Das Hebelsystem besteht aus Aluminium-

¹⁰ Hierfür bin ich der Firma E. Leitz in Wetzlar zu Dank verpflichtet.

gitter. Das ganze System wiegt 4 g. Der Draht ist an jeder Seite des Herzstückes in gleicher Weise festgeklemmt wie an seinen Enden.

Bei der Wahl der Länge und Spannung des Torsionsdrahtes muß folgendes berücksichtigt werden:



Wenn zwischen den Punkten A und B ein Draht d eingespannt wird, an welchem im Punkt K ein Hebel h befestigt ist (an seinem unteren Ende mit dem Schwimmer S verbunden), so wird eine Torsion des Drahtes bei A ein Drehmoment m_1 erzeugen: Der Hebel bewegt den Schwimmer. Dieser Vorgang ist der Zweck der Anordnung. Nun bietet der Schwimmer aber dem Hebel einen, je nach Größe des Schubes verschieden großen Widerstand. Dadurch entsteht ein weiteres Drehmoment m_2 , das den Punkt K senkrecht zur Richtung AB und senkrecht zur Hebelrichtung aus seiner Lage zu verschieben trachtet. Das kann zu einer kleinen Kippung des bei K an dem Draht befestigten Nullspiegels führen. Bei zu langem oder zu schwach gespanntem Draht würde das bewirken, daß die Nullstellung des kraftfreien Systems (also ohne Film) von der Nullstellung beim Messen eines Films — und zwar mit wachsendem Schub immer mehr — merkbar abweichen würde. Bisher ist auf diese Verhältnisse nicht aufmerksam gemacht worden.

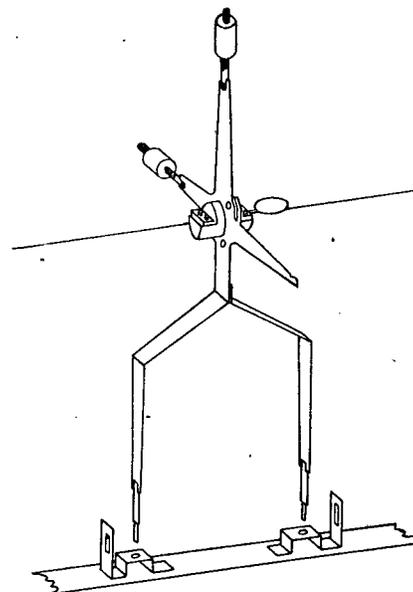


Abb. 3. Das Hebelsystem am Meßdraht in perspektivischer Darstellung. Die Dämpfungseinrichtung wurde nicht mitgezeichnet. Unten der mittlere Teil des Schwimmers.

Die notwendige *Dämpfung* besteht aus einem dünnen Stahldraht, der in Achsnähe am Hebelsystem in waagerechter Lage befestigt ist, dann nach unten umbiegt und in eine waagrecht liegende Flachspirale ausläuft. Diese taucht in reines Paraffinöl.

Es ist wichtig, daß der Draht dünn ist, weil beim Austauschen Öl von ihm mit hochgenommen wird, das dann langsam wieder abläuft. Bei zu großem Umfang des Drahtes führt das zu einer merklichen Relaxation bei der Einstellung auf Null. Ein \varnothing von 0,1 mm hat sich bewährt.

Der *Schubhebel* gabelt sich auf und endet in zwei geschlitzten Messinghülsen, in denen je ein Platinstift steckt. Der waagerechte *Eichhebel* zeigt zur Filmseite des Schwimmers hin und hat an seinem Ende eine Kerbe zum Anhängen der Eichgewichte¹¹. Die effektive Länge des Schubhebels beträgt 82 mm. Die effektive Länge des Eichhebels beträgt 47 mm und die effektive Länge des Schwimmers 150 mm. Bei Belastung des Eichhebels mit 10 mg (9,81 Dyn) ist die notwendige Gegendrehung am Teilkreis $0,98^\circ \pm 0,002$ ohne Schwimmer. Der Eichfaktor ist für 1° gleich 0,382 Dyn/cm.

Da die üblichen Filme selten einen Schub größer als 40 Dyn/cm aushalten, kommt also eine maximale Torsion des Drahtendes um etwa 110° in Frage. Dieser Wert erscheint bei 25 cm Länge und 0,3 mm \varnothing im Hinblick auf die Deformationserscheinungen und die unter dem Namen Bauschinger-Effekt (s. Heyn)¹² zusammengefallenen Elastizitätsanomalien etwas hoch. Die Formel, die diese Verhältnisse beherrscht,

$$D = \Phi \frac{\alpha \pi}{2 l} r^4,$$

ist nur gültig, wenn $\frac{r \alpha}{l}$ klein bleibt. Dabei ist $D =$ Drehmoment (in Dyn) \times cm, $\Phi =$ Drillingsmodul Dyn/cm², $\alpha =$ Torsionswinkel in Bogengraden, $l =$ Drahtlänge in cm, $r =$ Drahtradius in cm. Doch ändert sich, wie Versuche gezeigt haben (s. Tab. 3), der Eichfaktor bei hohen Schubwerten nicht. Meistens bleiben die Kollapsschübe auch unter 20 Dyn/cm, also die Drehung unter 60° .

Durch wahlweise Verwendung der üblichen Drahtstärken und verschiedener Materialien (Stahl, Bronze) kann man dem Gerät praktisch jeden gewünschten Meßbereich geben.

Der Torsionsdraht mit Balkensystem und Dämpfung ist durch ein *Blechgehäuse* geschützt. Dieses hat unten zwei Schlitze für die Platinspitzen des Schubhebels. Vorne ist ein abnehmbarer Vorbau für den Eichhebel. Beim Messen wird der Thermostat, in dem der Trog steht, außerdem mit Glasplatten bedeckt, die dicht um das Hebelgehäuse abschließen. Die Empfindlichkeit ist

¹¹ Bei dem Gerät der Cambridge-Instr.-Comp. und einigen anderen ist dieser Eichhebel zur filmabgewandten Seite hin gerichtet. Der Draht wird dann beim Eichen in entgegengesetzter Drehrichtung beansprucht wie beim Messen. Diese Anordnung ist nicht zweckmäßig.

¹² Heyn, Naturwiss. 9, 321 [1921].

so groß, daß ohne diesen Schutz geringe Luftbewegungen im Zimmer Nullpunktsschwankungen bewirken.

Die *Nulleinstellung* wird durch Beobachtung einer Nullskala vorgenommen. Diese wird mit dem Fernrohr des Instrumentes¹³ auf dem Umweg über ein Spiegelprisma und den Galvanometerspiegel beobachtet. Der Gesamtlichtweg ist etwa 46 cm. Dieser Teil des Gerätes ist optisch derart bemessen, daß die hohe Einstellgenauigkeit des Teilkreises voll ausgenutzt werden kann. Verschiebungen von halben hundertstel Grad an Teilkreis sind an der Nullskala noch bemerkbar. Die Nullskala kann gesondert beleuchtet werden.

Diese Anordnung der Nullbeobachtung hat gegenüber derjenigen bei den meisten bisherigen Schubmessern den Vorteil, daß die beiden Orte der Beobachtung (Teilkreislupe und Nullfernrohr) sehr nahe beieinander liegen und die Ablesungen schnell hintereinander vorgenommen werden können, ohne daß der Beobachter ermüdet.

Als optimale Lösung ist eine gleichzeitige Beobachtung der Teilkreisstellung und der Nullskala zu betrachten. Das läßt sich bei dem hier geschilderten Gerät z. B. dadurch erreichen, daß man den Teilkreis plus Nonius mit einem Strahlenbündel beleuchtet, das über den Nullspiegel geführt wird und das einen feinen Draht in der Teilkreisebene scharf abbildet. Neben dem Nonius muß dann ein schmaler weißer Schirmstreifen angebracht werden, der eine Nullmarke trägt. Der versilberte Nonius selbst ist als Schirm nicht geeignet. Es ist so möglich, die Einstellung auf Null und die Ablesung am Teilkreis (unter dauernder Kontrolle der Konstanz der Nulllage) im gleichen Gesichtsfeld bei nur minimaler Änderung der Blickrichtung vorzunehmen.

Der *Schwimmer* des Gerätes besteht aus Glimmer, die Dichtung aus kreisförmig¹⁴ angebrachten, 50 mm langen, 4 mm breiten Platinbändchen von 5 μ Dicke, die vertikal zur Hälfte ins Wasser tauchen. Die obere Hälfte ist unbenetzbar, die Kulissen bestehen aus versilbertem Messing. Die Art der Befestigung der Platinbändchen am Schwimmer und den Kulissen geht am besten aus der Abb. 4 hervor. Sie werden an die kleinen vertikalen Folienhalter aus Silberblech gelötet oder geschweißt oder mit Paraffin angeschmolzen. Wenn der Trog gereinigt werden soll, werden Kulissen und Schwimmer unter Fixierung ihrer gegenseitigen Lage zueinander und ohne irgendeine mechanische Beanspruchung der Dichtungsbändchen von einem *Halter* aufgenommen, ähnlich wie beim Ersatz der Saite eines Einfadenelektrometers oder Saitengalvanometers.

¹³ In der Blendenebene des Okulars wurde ein Haardraht als Nullmarke angebracht.

¹⁴ Die Verwendung dieser Kreisform erfolgt auf Vorschlag von Hrn. Dr. P. K o e h l e r. Bei den sonstigen Geräten werden schwach gewellte oder halbkreisförmige Dichtungen verwendet, die, weil sie kürzer sind, bei gleichem \varnothing dem Schwimmer eine unnötig große Richtkraft verleihen. Unter eine Dicke von einigen μ geht man am besten nicht herunter.

Der Schwimmer ist 145 mm lang. Die Breite der Spalte beträgt je 5 mm. Also ist die effektive Schwimmerlänge 150 mm. Die Breite des Schwimmers ist 8 mm. Die Fläche der Kreise und der Spalte zwischen Schwimmer und Seitenkulissen ist zusammen $5,6 \text{ cm}^2$ und wird immer mit diesem Wert in Rechnung gestellt. Selbst bei Verformung zu einer Ellipse mit einem Achsenverhältnis 2:3 ist die Flächenänderung noch geringer als 1 cm^2 für beide Kreise. Da (bei einer Trogbreite von 200 mm) der Barren nie näher als 4–5 cm an den Schwimmer herangeschoben wird, bleibt der durch seine Verformung mögliche Fehler in der Flächenbestimmung unter 1%. Je höher der Schub des Films während des Versuches wird, um so mehr nähert sich die bei filmfreier Wasserfläche nicht ganz kreisförmige Lage der Bändchen einem Kreise.

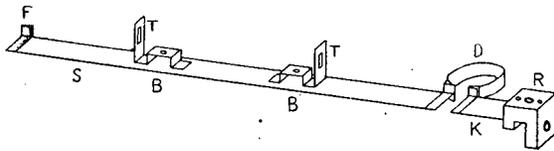


Abb. 4. Der Schwimmer mit Dichtung und Randstück. Diese nur auf einer Seite des Schwimmers gezeichnet. Auf dem Schwimmer (S) die beiden Brücken (B), in deren Löcher die Schubhebelspitzen eintauchen, seitlich davon die Trägerlaschen (T), in deren Schlitze die Arme des Schwimmerhalters eingreifen. Das Randstück (R), in das die Kulisse (K) eingesetzt ist, zeigt an seiner Oberseite drei Bohrungen für Schraube und Paßstifte des Schwimmerhalters. Die Dichtungsfolie (D) ist beiderseits an den Foliensaltern (F) befestigt. Von diesen ist je einer an den Schwimmerenden und den diesen gegenüberliegenden Kulissenenden fixiert. Das seitliche Loch im Randstück führt die Schraube zum Fixieren am Trogrand.

Die Konstruktion des Stativs geht aus den Abb. 1 und 2 hervor. Dieses Stativ ist so sauber ausgeführt, daß trotz der starken Vergrößerung des Fernrohres auch nicht die geringste Bewegung der Nullskala zu bemerken ist, wenn man an der Grobeinstellung des Teilkreises ein Drehmoment ausübt, das gerade noch nicht zur Teilkreisbewegung führt.

Der Trog ist aus Messing gebaut und matt verchromt¹⁵. Seine Innenmaße sind $600 \times 200 \times 8 \text{ mm}$. Er ist innen paraffiniert und sein Rand mit einem Film von Eisenstearat versehen. Der Schwimmer befindet sich etwa 10 cm vom einen Ende entfernt. Am anderen Ende müssen auch etwa 10 cm für die Reinigungsbarren abgerechnet werden, so daß die nutzbare Filmfläche 800 cm^2 beträgt. Die Kompression des Films erfolgt stets höchstens von 40 bis auf 4 cm, also auf 10%, weil der Meßfehler der Flächenbestimmung sonst zu groß (über 1%) würde und sich der Blindwert des Schubes (infolge geringer Verunreinigungen, die nie ganz zu vermeiden sind) sonst bemerkbar macht.

¹⁵ Für seine sorgfältige Ausführung bin ich dem Mechanikermeister am Physiol. Institut in Heidelberg, Hrn. V. Stoll, zu Dank verpflichtet.

Als Barren werden Glasprismen mit quadratischem Querschnitt ($10 \times 10 \text{ mm}$) genommen, die ebenfalls mit Eisenstearat imprägniert sind. Der Meßbarren wird durch einen Schieber bewegt, der mit der Laufmutter einer 50 cm langen Spindel in starrer Verbindung steht. Die Spindeldrehung erfolgt über eine Zahnradübersetzung. Der Barrenvorschub ist so bemessen, daß eine Drehung des 200-zähligen Antriebrades 1 cm Barrenvorschub bewirkt. Die mechanische Ausführung ist so sauber, daß eine Drehung um zwei Zähne am Zeiger der Vorschubskala, die mit Nonius ausgerüstet ist, gut als Vorschub zu erkennen ist ($\frac{1}{10} \text{ mm}$). Diesem Vorschub entspricht eine Flächenänderung von $0,2 \text{ cm}^2$, also bei 100 cm^2 0,2%, bei 800 cm^2 0,025%. In diesen Grenzen bewegt sich also die relative Genauigkeit der Flächenmessung bei der Aufnahme einer Einzelkurve, wenn man konstante Form der Dichtungsfolien annimmt. Da diese aber im Ruhezustand und bei kleinem Schub etwas von der Kreisform abweichen und sich bei höheren Schüben (10 bis 15 Dyn/cm) der Kreisform nähern, wird hierdurch ein zusätzlicher Fehler eingeführt, der aber auch bei der Minimumfläche von 80 cm^2 gering bleibt. Beispiel: Die Fläche einer Ellipse mit einer numerischen Exzentrizität von 0,7 ist nur um das 1,08-fache kleiner als die eines umfanggleichen Kreises.

Die Flächenmessung für sich ist also von einer hohen Genauigkeit. Der Hauptfehler in der Bestimmung der Größe A ($\text{Å}^2/\text{Molekül}$) wird bei der Einwaage der Substanz und dem Wägen der zu spreitenden Lösungsmenge eingeführt. Je nach Art und Größe der Moleküle werden 10 bis 20 mg auf 10 cm^3 Lösungsmittel eingewogen. Wenn für diese Wägung nur eine analytische Waage mit einem Wägefehler von 0,1 mg zur Verfügung steht, beträgt dieser Fehler etwa 1% und derjenige der Differenzwägung für das Tropfengewicht (10 bis 20 mg) 0,5 bis 1%. Diese Fehler können sich also zu einem Größtfehler von 2 bis 3% summieren. Der wahrscheinliche Fehler ist geringer.

Zum Auftropfen, Wägen und Aufbewahren der Meßlösung verwendet man zweckmäßig die von Harkins und Myers¹⁶ angegebenen Kugelpipetten (Wägepipetten) mit je doppeltem Schliffverschluß für Einfüll- und Auslaßstutzen. Der Verdunstungsfehler, der früher die Ergebnisse der Filmuntersuchungen stark fälschte, läßt sich bei richtigem Arbeiten mit diesen Pipetten praktisch ausschalten. Die der Pipette beim Spreiten entnommene Menge wird nicht volumetrisch, sondern durch Rückwägung bestimmt.

Das Gerät wird, wie jedes echte Laborgerät, das mit seiner Aufgabe verwachsen ist, Änderungen und Verbesserungen erfahren. Es soll aber trotzdem in dem Zustand, in dem es sich etwa ein Jahr lang bewährt hat, durch Wort, Bild und Zahl vorgestellt werden.

¹⁶ Harkins u. Myers, J. chem. Physics 4, 716 [1936].

Mit Schwimmer			Ohne Schwimmer		
Last am Eichhebel: 10 mg Ausgangslage: 194,84 Grad			Last am Eichhebel: 305 mg Ausgangslage: 195,60 Grad		
Ableseung	+ Δ	- Δ	Ableseung	+ Δ	- Δ
	194,84			195,60	
x	3,83	1,01	x	65,92	29,68
	4,93	1,10		95,59	29,63
x	3,83	1,07	x	65,96	29,63
	4,90	1,09		95,59	29,67
x	3,81	1,13	x	65,92	29,66
	4,94	1,17		95,58	29,57
x	3,77	1,15	x	66,01	29,57
	4,92	1,12		95,58	29,58
x	3,80	1,09	x	66,00	29,55
	4,89	1,17		95,55	29,64
x	3,72	1,20	x	65,91	29,65
	4,92	1,11		95,56	29,68
x	3,81	1,07	x	65,88	29,66
	4,88	1,18		95,54	29,50
x	3,70	1,17	x	66,04	29,50
	4,87	1,20		95,54	29,67
x	3,67	1,16	x	65,87	29,67
	4,83	1,13		95,54	29,69
x	3,70	1,14	x	65,85	29,68
	4,84			95,53	
	1,12	1,13		29,63	29,62
$m = 0,07 (0,04) = 6,2\% (3,5\%)$ $\bar{m} = 0,02 (0,014) = 1,8\% (1,2\%)$			$m = 0,06 = 0,2\%$ $\bar{m} = 0,02 = 0,06\%$		

Tab. 1. Beispiel zweier Meßreihen, wie sie zur Gewinnung von Tab. 2 für jede Belastung (S-Wert) mehrmals vorgenommen wurden. Die angegebene Last wurde zehnmal hintereinander an den Eichhebel gehängt und wieder abgenommen. Nach jeder Entlastung wurde der Nullwert neu bestimmt. Die positiven und negativen Differenzen sind verwertet. In dem Beispiel ohne Schwimmer sind die Werte von m und \bar{m} fast gleich für die +Δ- und die -Δ-Reihe. Daher nicht gesondert angeführt. Teilkreisablesung in Graden.

Wenn Langmuir und Schaefer¹⁷ schreiben, daß man in wenigen Stunden aus Glaskapillaren, Klebwachs und „materials obtainable at a 5 and 10 cents store“ einen für die meisten Zwecke ausreichenden Schubmesser bauen könne, so ist das eher als Ansporn für Jünger der „Filmkunst“ und als Ausdruck der Überzeugung zu werten, daß das Technische in der Forschung nur Hilfsmittel, nicht Selbstzweck ist.

Ich habe zunächst auch mit einem solchen „gebastelten“ Gerät (aus etwas Draht und Blech, Glasrohr, zwei Grammophonadeln als Waageschneide, Silberpapier und ein paar Schraubchen) gearbeitet. Es genügt für Demonstrationen und um einen ersten Anhalt für das Verhalten eines Films zu bekommen. Die Arbeit ist dabei erheblich mühsamer und erfordert mehr experimentelles Können und Kritik als das Arbeiten mit einem guten Standardgerät¹⁸.

Im folgenden werden als Anhang Ergebnisse von Genauigkeitsprüfungen und ihre Auswertung mit Hilfe der Fehlerrechnung mitgeteilt.

¹⁷ Langmuir u. Schaefer, J. Amer. chem. Soc. 59, 2400 [1937].

Anhang

Der wesentliche Unterschied zwischen einem einfachen und einem „kostbaren“ Gerät soll nicht in der Empfindlichkeit liegen, sondern darin, daß beim Arbeiten mit dem besseren Gerät die systematischen und zufälligen Fehler möglichst klein und letztere in ihrer Größe und Verteilung möglichst genau anzugeben sind. Da ausführliche Daten hierüber für die bisher bekannt gewordenen Schubmesser nicht veröffentlicht sind, soll das hier für das beschriebene Gerät geschehen.

Über die Fehler bei der Bestimmung des molekularen Flächenbedarfs wurde oben schon berichtet. Sie lassen sich durch Verwendung einer Mikrowaage erheblich verringern.

Über die *systematischen Fehler* bei der Schubmessung ist folgendes zu sagen. Wenn die Eichgewichte und die Teilung des Teilkreises als richtig angenommen werden, können Fehler durch die Bestimmung des Verhältnisses der Schub- und Eichhebellänge,

¹⁸ Harkins u. Anderson, J. Amer. chem. Soc. 59, 2189 [1937].

Last am Eichhebel mg	entspricht einem Schub von Dyn/cm	A		B	
		\bar{m}	%	\bar{m}	%
10	0,382	0,002	0,2	0,012	1,1
20	0,764	0,002	0,09	0,019	0,9
100	3,82	0,003	0,03	0,016	0,16
304	11,5	0,02	0,07	0,046	0,16
503	19,2	0,02	0,04	0,07	0,14
1007	38,5	0,05	0,06	0,09	0,09

Tab. 2. Prüfung des Schubmessers ohne Film. Mittlerer Fehler des Mittels aus je 10 Einzelbeobachtungen und relativer mittlerer Fehler des Mittels. A = ohne Schwimmer, Hebelsystem frei schwingend. B = Schubhebel in Arbeitsstellung mit Schwimmer verbunden, gereinigte Wasseroberfläche.

Last am Eichhebel mg	Eichwert: [Grad-Drehung pro 10 mg]	
	A	B
10	0,99	1,11*
20	—	1,04*
100	0,97	0,99
304	0,97	0,98
503†	0,97	0,98
1007†	0,98	0,98

Tab. 3. Eichwerte bei verschiedener Belastung.

A = ohne Schwimmer, B = mit Schwimmer.

* Wirkung der Richtkraft der Dichtungsbändchen, siehe Text.

† Bei 500 und 1000 mg Belastung macht sich eine elastische Nachwirkung von einigen hundertstel Grad bemerkbar, d. h. der endgültige Wert nach Belastung oder Entlastung stellt sich erst nach etwa 5 bis 10 Sekunden ein.

A Barrenabstand vom Schwimmer in cm		
Schub: 3,4 Dyn/cm große Fläche	Schub: 17 Dyn/cm große Fläche	Schub: 2,8 Dyn/cm kleine Fläche
32,74	32,24	9,25
78	21	24
82	19	27
84	16	29
87	13	30
90	07	30
93	05	32
98	01	32
33,01	31,99	33
33,03	31,96	34
$m=0,008$ =0,03%	$m=0,007$ =0,02%	$m=0,09$ =0,1%
$\bar{m}=0,003$ =0,008%	$\bar{m}=0,002$ =0,007%	$\bar{m}=0,003$ =0,03%

Tab. 4. A.

B Teilkreisablesung in Graden		
Barrenabstand: 32 cm Schub: 3,9 Dyn/cm	Barrenabstand: 32 cm Schub: 16,5 Dyn/cm	Barrenabstand: 9,3 cm Schub: 3,3 Dyn/cm
184,75	151,59	186,45
76	50	5,92
66	65	6,00
57	91	5,62
47	2,15	62
40	32	62
35	49	31
19	75	25
10	88	25
11	3,13	22
$m=0,04$ =0,4%	$m=0,06$ =0,15%	$m=0,14$ =1,6%
$\bar{m}=0,014$ =0,14%	$\bar{m}=0,02$ =0,05%	$\bar{m}=0,04$ =0,5%

Tab. 4. B.

Tab. 4. Meßreihen, die gleichzeitig systematische und zufällige Fehler demonstrieren bei p_H 3,2. Zimmertemperatur 13°. Stearinsäure.

A. Teilkreis auf einen festen Schubwert eingestellt. Der Barren wird immer um einen gleichen Betrag zurückgezogen (bei 32 cm um 2 cm, bei 9 cm um 1 cm) und wieder bis zur Nullstellung des Schubzeigers vorgeschoben.

B. Der Barren wird um die gleichen Wege zurückgezogen, aber dann immer wieder auf einen Festwert gebracht und der Schubmesser auf Null gestellt und abgelesen.

Alle Meßreihen zeigen einen Gang. Das bedeutet einen systematischen Fehler: Bei kleinem Schub Flächenvergrößerung bzw. Schubanstieg (thermischer Effekt oder Nachspreiten von ungespreiteter Substanz). Bei großem Schub Flächenverkleinerung bzw. Schubabfall (Undichtigkeit oder Kollaps).

Wenn man diesen Gang durch Abzug des mittleren Intervalls eliminiert, bleiben die zufälligen Fehler zurück. (Die Zeitabstände zwischen den einzelnen Ablesungen waren etwa gleich.) Die so gewonnenen Werte von m und \bar{m} sind bei jeder Meßreihe angegeben.

Es wurden absichtlich Meßreihen gewählt, in denen systematische Fehler bemerkbar sind. Wenn Trogränder und Barren frisch mit Eisenstearatfilm versehen sind und die Schwimmerdichtung und die Dichtung an den Randstücken einwandfrei ist, ist auch bei hohem Schub von einem Gang nichts zu bemerken.

durch das Dämpfungssystem und durch die Unsicherheit in der Bestimmung der effektiven Schwimmerlänge eingeführt werden. Ferner ändert sich durch Verdunstung u. U. auch während eines Versuches die effektive Schubhebellänge. Weiter wird ein Meßfehler dadurch eingeführt, daß der Schwimmer, der ja an seinen beiden Längskanten beim Versuch verschiedenen Oberflächenspannungen ausgesetzt ist, sich dadurch — in Abhängigkeit vom Schub — mehr oder

Barren- abstand in cm	Teilkreisablesung in Grad									
40	195,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
30	195,00	4,99	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
20	4,99	95	4,99	—	4,99	—	4,99	4,97	—	—
10	90	90	90	4,90	90	4,91	90	89	4,90	—
40	95	93	95	96	94	94	—	92	97	—

Tab. 5. Blindversuche zur Prüfung der Reinheit der Wasseroberfläche nach dem üblichen Abstreifen. Die einzelnen Gruppen sind an verschiedenen Tagen jeweils zwischen zwei Versuchen zur Kontrolle gemessen worden. Eichfaktor: $1^\circ = 0,382 \text{ Dyn/cm}$. (Adam¹⁹ gibt an [Seite 31], daß eine sehr saubere Wasseroberfläche bei Kompression von 38 cm Barrenabstand auf 8,75 cm, also auf ein Viertel, Schubwerte ergibt, die unter $0,03 \text{ Dyn/cm}$ bleiben.) Schubanstieg bei Kompression auf ein Viertel gleich $0,10^\circ = 0,038 \text{ Dyn/cm}$. Daß beim Zurückgehen auf 40 cm Barrenabstand der Nullwert am Schubmesser nicht wieder erreicht wird, hängt mit den im Text erwähnten mechanischen Mängeln der Dichtungsbändchen zusammen. Wenn man diese neuen Endwerte als wahres Null ansieht, was nicht unberechtigt ist, ist der Schubanstieg bei Kompression auf ein Viertel im Mittel $0,045^\circ = 0,017 \text{ Dyn/cm}$. Diese beiden Blindwertgrenzen stimmen also mit der Adamschen Angabe gut überein.

weniger um seine Längsachse neigt. Ferner macht sich — wie an einigen Stellen der beiliegenden Tabellen zu sehen ist — bei kleinen Schubwerten die Abhängigkeit der Richtkraft der Dichtungsbändchen von ihrer Raumform bemerkbar. Bei Änderungen des Wasserniveaus kommt es zu geringen Verdrehungen um die Längsachse der Bändchen, da ja die Kulissen

¹⁹ Adam, The Physics and Chemistry of Surfaces, 2. Aufl., Oxford 1938.

ein festes Niveau haben. Außerdem ist — gemessen in Graden der Kreisskala — die Null-Lage des Schwimmers im Bereich einiger hundertstel Grade unstabil. Dafür sind ebenfalls die mechanischen Eigenschaften der Dichtungsbändchen verantwortlich. Das macht sich aber nur bei Meßwerten unter 1 Dyn/cm mit einigen Prozent bemerkbar (s. Tab. 3 und Tab. 5). Man muß außerdem darauf achten, daß die Reibung der Schubhebelstifte an dem Innenrand der Schwimmerlöcher möglichst gering ist und — im Zusammenhang damit — daß für die Nullstellung des Gerätes der Schubhebel genau senkrecht steht, weil so bei den Einstellbewegungen während des Messens die Relativbewegung in der Vertikalen zwischen Schubhebel und Schwimmer am geringsten und im Grenzübergang Null wird.

Ich schätze die maximale Größe des gesamten systematischen Fehlers bei unseren Versuchen für Meßwerte im Bereich von 5 Dyn/cm auf 2 bis 3%. Bei höheren Meßwerten ist er geringer, bei kleineren Werten entsprechend größer. Für Messungen im Bereich von 10^{-3} bis 1 Dyn/cm läßt er sich durch Verwendung eines dünneren Meßdrahtes, feinerer Dichtungsfolien und eines leichteren, entsprechend sorgfältiger vermessenen Hebelsystems in diesen Werten entsprechenden Grenzen halten.

Über Größe und Verteilung der zufälligen Fehler geben die Tabellen 1—5 Auskunft. Zur Erläuterung folgendes: Die Nullstellung der Teilkreisskala ist $195,00^\circ$. Sinken dieses Wertes bedeutet Wachsen des Schubs. Als mittlerer Fehler der Einzelbeobachtung wird der Wert $m = \pm \sqrt{\Sigma v^2 / (n - 1)}$ bezeichnet, wobei Σv^2 die Summe der Quadrate der scheinbaren Fehler und n die Anzahl der Einzelbestimmungen bedeutet. Als mittlerer Fehler des Mittels, der etwas über die Streuung aussagt, wird $\bar{m} = \pm \sqrt{\Sigma v^2 / n(n - 1)}$ verwendet. Die Teilkreisablesung wird in Winkelgraden, die Skalenablesung für den Barrenvorschub in cm angegeben.

Verformung und Rekristallisation bei gittergeordneten hochpolymeren Stoffen

Von ERWIN STEURER*

(Z. Naturforschg. 2b, 275—285 [1947]; eingegangen am 1. Juni 1947)

Gittergeordnete, natürliche und synthetische organische Hochpolymere erleiden bei der Vermahlung eine Gitterdeformation, die bis zum Verschwinden des Röntgendiagramms führt. Durch Benetzung der gemahlten Präparate mit geeigneten Flüssigkeiten oder durch Erwärmen erfolgt Rückbildung des Gitters (Rekristallisation), die mit einer starken Volumenschrumpfung verbunden ist. Im Zusammenhang mit diesen Erscheinungen ergeben sich aus dilatometrischen, röntgenographischen und calorimetrischen Messungen an gemahlten und ungemahlten Präparaten Schlüsse auf den Ordnungsgrad und Energieinhalt makromolekularer Stoffe.

Nachdem die organischen hochpolymeren Stoffe in ihrem grundsätzlichen chemischen Aufbau erkannt sind, ist als weiterer bedeutungsvoller Faktor für ihre Eigenschaften der übermolekulare Bau in den Vordergrund getreten. Neben der Bedeutung der qualitativen Orientierung der gittergeordneten Teilchen für die Festigkeitseigenschaften, z. B. von Fasern und Folien, ist in neuester Zeit auch der Ordnungsgrad im Gitter herangezogen worden. Danach reicht zur Erklärung der Eigenschaften die Angabe der aus Röntgeninterferenzen abgeleiteten Gitterstruktur des „Idealkristalls“ nicht aus, sondern es ist hierfür die Ordnung des „Realkristalls“ maßgebend, die infolge vorhandener Fremdstoffen sowie durch mechanische und thermische Einflüsse oft erheblich von der des Idealkristalls abweicht.

Während bei niedrigmolekularen Substanzen, insbesondere bei Kristallen mit geringer Fehlordnung, quantitative Aussagen über den jeweiligen Ordnungsgrad¹ oder über den Energieinhalt² möglich sind, fehlen derartige Angaben bei den hochmolekularen Substanzen.

Die bei der Schwingmahlung von hoch- und niedrigmolekularen organischen Stoffen beobachteten Erscheinungen der Gitterdeformation (Ver-

formung) und Rekristallisation³ scheinen für eine nähere Charakterisierung von Ordnungsgrad und Energieinhalt hochmolekularer Stoffe geeignet zu sein. In der vorliegenden Untersuchung wird über Messungen von thermischer Ausdehnung, von Röntgeninterferenzen und Doppelbrechung sowie von Benetzungswärmen an gemahlten und ungemahlten Präparaten von Cellulose, Cellulosederivaten und totalsynthetischen Faserstoffen (Perlon) berichtet; die Meßergebnisse im Zusammenhang mit Verformung und Rekristallisation der Makromoleküle werden erörtert.

Die Messungen haben ergeben, daß die Verformung der Makromoleküle im wesentlichen auf eine Lageverschiebung der Kettenglieder zurückzuführen ist, deren Größe sich aus der Zunahme von Raumbeanspruchung und innerer Energie bei den gemahlten Stoffen im Vergleich zu den ungemahlten ableiten läßt. Die Verformung der Moleküle kann gegebenenfalls durch Erwärmen in verhältnismäßig engem Temperaturbereich infolge Rekristallisation wieder rückgängig gemacht werden, wobei die Rekristallisationstemperatur von den zwischenmolekularen Kräften sowie von den sterischen Eigenschaften der Moleküle abhängt. Eine bleibende Verformung der Moleküle ist nur unterhalb der Rekristallisationstemperatur möglich, während oberhalb dieser Temperatur die Makromoleküle den instabilen Verformungsgrad

* Kelheim, Süddeutsche Zellwolle A.G. Die der Abhandlung zugrunde liegenden Versuche wurden im Forschungsinstitut Heß am Kaiser-Wilhelm-Institut für Chemie, Berlin-Dahlem, durchgeführt.

¹ W. Schottky, Z. Elektrochem. 45, 33 [1939]; A. Smekal, Handbuch d. Physik, 2. Auflage Bd. 24, S. 796; A. Eucken, Lehrb. d. chem. Physik, Bd. II, 2, S. 622 ff., 2. Aufl. 1944.

² R. Fricke, Naturwiss. 31, 469 [1943].

³ K. Heß, H. Kiessig u. J. Gundermann, Z. physik. Chem., Abt. B, 49, 64 [1941]; K. Heß, E. Steurer u. H. Fromm, Kolloid-Z. 98, 152 [1942]; E. Steurer u. K. Heß, Z. physik. Chem. 193, 248 [1944].

durch innere Beweglichkeit der Kettenglieder wieder ausgleichen. Es ist bemerkenswert, daß die Rekristallisationstemperatur bei den untersuchten Stoffen im allgemeinen nicht mit der von anderen Autoren⁴ aus der kubischen Ausdehnung ermittelten niedrigen Umwandlungs- oder Einfriertemperatur übereinstimmt, sondern höher liegt. Es wird angenommen, daß bei der „Einfriertemperatur“ die Beweglichkeit der Kettenglieder in ungeordneten Bereichen und bei der Rekristallisationstemperatur in geordneten (kristallinen) Bereichen einsetzt.

I. Versuchsbeschreibung und Ergebnisse

Schwingmahlgerät. Statt des früher verwendeten „Vibratom“-Modells wurde die für Serienversuche bei Dauerbeanspruchung geeignetere „6-l-Labor-Schwingmühle“ der Siebtechnik G. m. b. H. benutzt, die durch eine Eisenplatte (90 × 60 cm²) zu einem „Schwingtisch“ umgestaltet war und auf der die bereits früher verwendeten Mahlgefäße mit 0,3 l Nutzinhalt nebeneinander befestigt waren. Die mechanischen Daten des Gerätes waren gegenüber unseren früheren Versuchen⁵ unverändert (Winkelgeschwindigkeit 1420 U/min, Schwingkreisradius durchschnittlich 1,75 mm). Vergleichende Mahlversuche an Äthylcellulose durch Bestimmung des Viskositätsabfalles ergaben, daß die mit zunehmender Entfernung der einzelnen Mahlgefäße von der Schwingachse des Tisches zunehmende Elliptizität der Schwingbewegung innerhalb der Tischabmessungen praktisch ohne Einfluß ist.

Ausgangsstoffe. Als Cellulose wurde Ramiefaser in sorgfältig gebleichtem und ungeschmälztem Zustand verwendet. Zur Herstellung von Hydratcellulose wurde die Ramie mit 18-gew.-proz. Natronlauge behandelt. Die verwendeten Präparate von Methyl-, Äthyl-, Butyl- und Capronylcellulose sowie die untersuchte Perlonfaser (Poly-hexamethylenadipinamid) waren von der I.G. Farbenindustrie A.G. zur Verfügung gestellt worden. Sämtliche Präparate wurden bei Zimmertemperatur oder — soweit gegeben — bei erhöhter Temperatur im Vakuum über Phosphorperoxyd bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Dilatometrische Messungen

Als Gerät für die Messungen der thermischen Ausdehnung diente das Dilatometer von Überreiter und Klein⁶. Die Aufnahme der Temperaturkurven (20 bis 180°) wurde bei jeder Dilatometerfüllung zweimal wiederholt. Nach der ersten Aufheizung

⁴ E. Jenckel, Kolloid-Z. **100**, 143 [1942]; K. Überreiter, Z. physik. Chem., Abt. B, **48**, 197 [1941]; F. E. Wiley, Brit. Plastics **14**, 617 [1943], ref. Kunststoffe **34**, 5 [1944].

⁵ K. Heß, E. Steurer u. H. Fromm, Kolloid-Z. **98**, 290 [1942].

wurde bei allen gemahlten und z. Tl. auch bei den ungemahlten Präparaten eine Volumenschrumpfung und eine Änderung der Volumenausdehnung beobachtet; bei der dritten Aufheizung blieb die Ausdehnung in fast allen Fällen konstant⁷. Die Volumen-Temperatur-Kurven waren bei verschiedenen Dilatometerfüllungen und verschiedenen Aufheizgeschwindigkeiten exakt reproduzierbar.

Die in Form von Pastillen in das Dilatometer eingeführten Pulver enthalten noch verhältnismäßig große Hohlräume, in die das als Dilatometerfülligkeit verwendete Quecksilber auch nach Evakuieren der Luft nicht eindringt. Es ist wahrscheinlich, daß die beim Erhitzen der Mahlpräparate beobachtete starke Volumenschrumpfung z. Tl. durch eine Verkleinerung derartiger Hohlräume verursacht oder mindestens stark beeinflußt wird; dabei ist noch unsicher, welche Volumengröße der dilatometrischen Messung mit Quecksilber als Füllflüssigkeit vor und nach der Erhitzung zugrunde liegt⁸. Ein Einfluß größerer makroskopischer Hohlräume ließ sich durch verschiedene Möglichkeiten experimentell ausschließen. 1. Pulver verschiedener organischer Substanzen (Cellobiose, Rohrzucker, Fumarsäure, Hydratcellulose) hinreichender Dispersität, die bei einem Einfluß der verschiedenen Hohlräume auf das Dilatometerergebnis beim Erhitzen Volumenverminderung zu erkennen geben sollten, zeigten im Dilatometer selbst nach mehrfach wiederholter Aufheizung keine Veränderung im Ausdehnungsvermögen. 2. Der bei der Herstellung geänderte Preßdruck war ohne Einfluß auf das dilatometrische Verhalten. 3. Bei den schwinggemahlten Präparaten der untersuchten Hochpolymeren, die nach der Aufheizung Volumenkontraktion anzeigen, verschwindet der Effekt, wenn die Substanzen vorher außerhalb des Dilatometers vorerhitzt waren.

Bei den in Abb. 1—3 für natürliche Cellulose sowie für Äthyl- und Butylcellulose wiedergegebenen Volumen-Temperatur-Kurven entspricht Kurve 1 jeweils der ersten, Kurve 2 der zweiten bzw. dritten (konstante Volumenänderung) Aufheizung. Die mit steigender Temperatur beobachtete Volumenzunahme setzt sich aus der über den gemessenen Bereich konstanten Ausdehnung der Dilatometer-Füllflüssigkeit (Quecksilber) und der Ausdehnung der gemessenen Substanz zusammen. Die Abweichung der Volumenzunahme von der Linearität sowie die Veränderung der Raumbeanspruchung bei mehrfacher Aufheizung sind daher auf das Verhalten der Substanz zurückzuführen.

⁶ K. Überreiter u. K. Klein, Chem. Technik **15**, 5 [1942].

⁷ Zeigen sich bei der dritten Aufheizung noch veränderliche Werte, so verschwinden diese ausnahmslos nach einer vierten Aufheizung.

⁸ Über den Zusammenhang von „wahrer“ u. „scheinbarer“ Dichte s. z. B. K.-E. Zimens, Handbuch d. Katalyse Bd. IV, S. 158 ff., J. Springer 1940.

ÜBER GITTERGEORDNETE HOCHPOLYMERE STOFFE

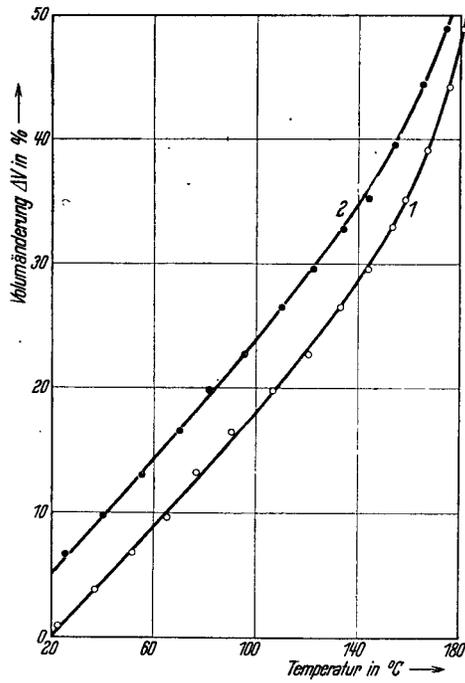


Abb. 1a. Cellulose ungemahlen.

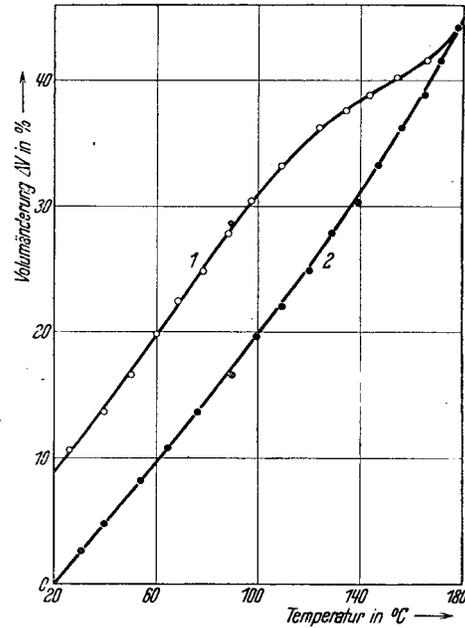


Abb. 2a. Äthylcellulose ungemahlen.

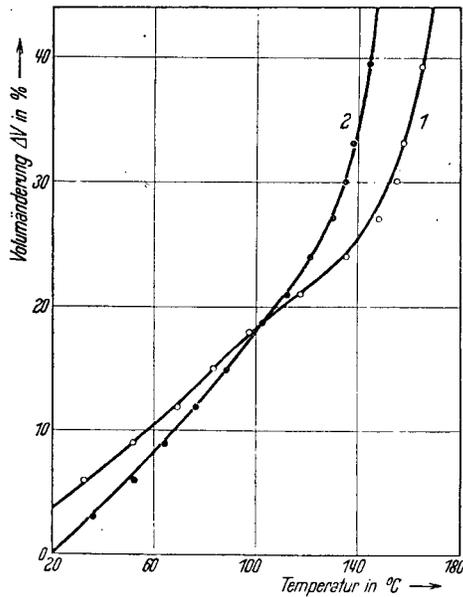


Abb. 1b. Cellulose gemahlen.

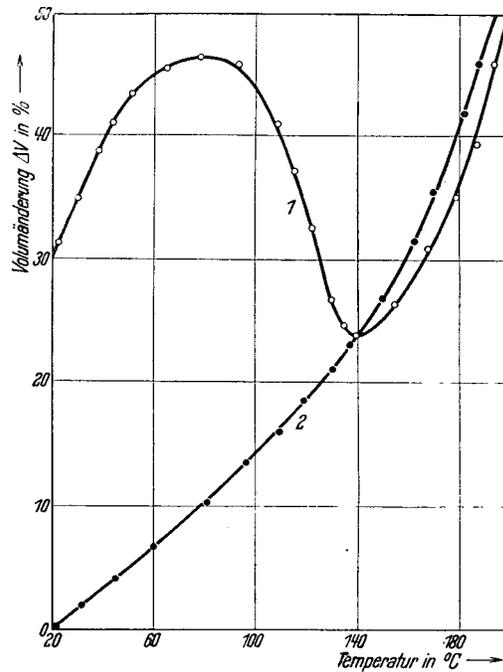


Abb. 2b. Äthylcellulose gemahlen.

ren. Aus dem Vergleich der Kurven der ersten mit denen der zweiten bzw. dritten Aufheizung geht hervor, daß bei den gemahlenen Präparaten gegen-

über den ungemahlenen z. Tl. beträchtliche Volumenkontraktionen eintreten, die in Tab. 1, Spalte 3, zusammenfassend wiedergegeben sind. Die Kon-

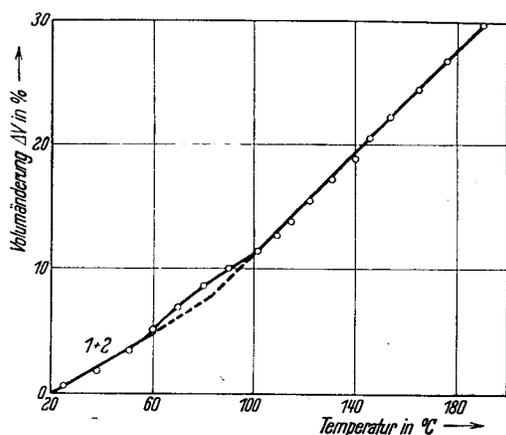


Abb. 3a. Butylcellulose ungemahlen.

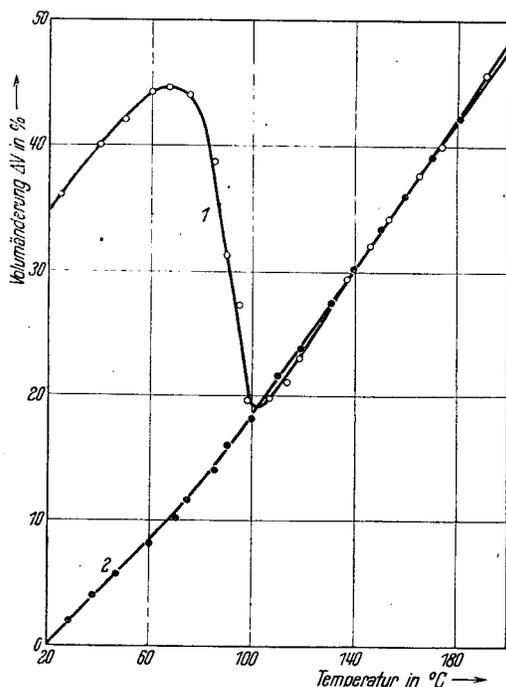


Abb. 3b. Butylcellulose gemahlen.

Abb. 1—3. Volumenänderung ΔV (in % der Raumerfüllung bei 20°) in Abhängigkeit von der Temperatur bei ungemahlenen (Abb. a) und gemahlenen (Abb. b) Hochpolymeren. Kurven Nr. 1 $\circ\circ\circ$ (1. Aufheizung), Kurven Nr. 2 $\bullet\bullet\bullet$ (2. bzw. 3. Aufheizung, konstante Volumenänderung).

traktion tritt in einem bestimmten, für jede Substanz spezifischen Temperaturbereich ein (Rekristallisationsbereich, vergl. Spalte 1 in Tab. 1) und wird nicht beobachtet, wenn der Stoff vor der dilatometrischen Messung auf die Kontraktionstemperatur erhitzt worden ist.

Substanz	t_R in °C	ΔV in % gemahlen	ΔV in % ungemahlen
Cellulose	> 200	3	- 5
Hydratcellulose	> 200	3	0
Methylcellulose	145	8	3
Äthylcellulose .	110	30	8
Butylcellulose .	85	35	0
Benzylcellulose	90	8	0
Perlon T.	140	3—6	0

Tab. 1. Rekristallisationstemperaturen t_R verformter Makromolekülgeritter und Volumenkontraktion ΔV gemahlener und ungemahlener Hochpolymerer nach Erhitzung.

Zur Charakterisierung des Temperatur-Bereichs der Rekristallisation, der nicht durch die triviale Erscheinung einer Rekristallisationsverzögerung infolge großer Relaxationszeit der Moleküle (vergl. S. 280), sondern durch den Ordnungszustand der Makromoleküle selbst bedingt ist, kann man eine mittlere Temperatur (Rekristallisationstemperatur) angeben; bei Methylcellulose Temperaturbereich etwa 130 bis 160°: Mittelwert 145°, bei Äthylcellulose Temperaturbereich 75 bis 145°: Mittelwert 110°, bei Butylcellulose 70 bis 100°: Mittelwert 85°, Benzylcellulose 73 bis 107°: Mittelwert 90°, Perlon: Mittelwert etwa 140°.

Die beobachteten Änderungen der Raumbeanspruchung finden ihre Deutung durch die damit verbundene Änderung der Gitterordnung (Rekristallisation), die sich durch Röntgenaufnahmen erkennen läßt.

Röntgenuntersuchung

K. Heß, H. Kiessig und J. Gundermann* haben beobachtet, daß das Gitter von Cellulose und anderen hochmolekularen Substanzen bei der Schwingmahlung so weitgehend gestört wird, daß die Röntgeninterferenzen verschwinden und im Diagramm nur ein unscharfer Interferenzring erkennbar ist, wie er bei nichtkristallinen Stoffen aufzutreten pflegt. Durch Berühren mit Wasser, insbesondere von höherer Temperatur, erfolgt Rekristallisation zu Hydratcellulose. Als weiteres Beispiel für die Wirkung der Schwingmahlung wurden die Röntgendiagramme von Äthylcellulose vor und nach der Mahlung untersucht. Während aber bei Cel-

* K. Heß, H. Kiessig u. J. Gundermann, Z. physik. Chem. Abt. B 49, 64 [1941].

lulose eine Gitterrückbildung ausschließlich durch Erwärmen selbst nach langdauernder Erhitzung bis zur Zersetzungstemperatur ($> 200^\circ$) nicht zu beobachten ist, erfolgt diese bei Äthylcellulose auch durch Erwärmen der trockenen Substanz. Bei einer Erhitzungstemperatur der schwinggemahlene Äthylcellulose von 125° werden bereits die Hauptinterferenzen der Äthylcellulose ausgebildet, und in dem durch Erhitzen auf 140° beobachteten Röntgendiagramm sind nahezu alle Interferenzen der Äthylcellulose wieder vorhanden¹⁰.

Ähnliche Rekrystallisationserscheinungen beim Erwärmen der schwinggemahlene Präparate auf höhere Temperaturen wurden bei Methyl-, Benzyl- und Butylcellulose sowie bei Perlon beobachtet. In allen diesen Fällen tritt, ähnlich wie bei schwinggemahlener Cellulose durch Wasser, Rekrystallisation auch beim Berühren mit geeigneten Flüssigkeiten ein.

Vergleich von Gitteränderung und Volumenänderung

Da ein enger Zusammenhang zwischen Gitteränderung und Volumenänderung allgemein in dem Sinne besteht, daß die unter Verschwinden der Röntgeninterferenzen erfolgende Gitterdeformation (Amorphisierung) mit einer Volumendilatation und der unter Wiederauftreten der Interferenzen erfolgende rückläufige Vorgang der Rekrystallisation mit einer Volumenkontraktion verknüpft ist, liegt es nahe, die beobachteten Volumenänderungen in diesem Sinne mit den röntgenographischen Erscheinungen in Zusammenhang zu bringen. Es ist dabei bemerkenswert, daß die beim Erhitzen der Mahlpräparate eintretende Volumenkontraktion bereits im röntgenamorphen Gebiet beginnt, d. h. also schon vor Erkennung von Rekrystallisation im Röntgenbild einsetzt und sich im Gebiet zunehmender Interferenzintensitäten kontinuierlich fortsetzt. So treten z. B. bei gemahlener Äthylcellulose Röntgeninterferenzen erst nach einer Kontraktion von 40% der Gesamtkontraktion auf. Die Volumenänderung ist also zur Verfolgung von Ordnungsvorgängen bei den organischen Hochpolymeren besonders geeignet.

¹⁰ Die Diagramme und deren Vermessungsergebnisse werden später publiziert.

Calorimetrische Messungen

Die beim Mahlen gittergeordneter hochpolymere Stoffe beobachteten Änderungen im Ordnungszustand der Makromoleküle lassen erwarten, daß diese mit meßbaren Energieänderungen verknüpft sind.

Zur Durchführung der Messungen wurden 2 bis 4 g gut getrocknete Substanz schnell in 200 ccm Wasser eingetragen, das sich in einem Dewar-Gefäß von etwa 300 ccm Rauminhalt befand, und die sich ergebende Temperaturerhöhung von etwa $0,1$ bis $0,2^\circ$ mit einem Beckmann-Thermometer auf $0,001^\circ$ genau gemessen. Die Temperaturerhöhung erreichte bereits nach wenigen Sekunden ihren Höchstwert und war daher ohne Schwierigkeit exakt meßbar.

Bei Messungen der Benetzungswärme von gemahlener und ungemahlener Hydratcellulose mit Wasser hat sich gezeigt, daß bei den Mahlpräparaten eine Erhöhung des Energieinhaltes um etwa 1 kcal/Mol eintritt¹¹; während ungemahlene Hydratcellulose eine Benetzungswärme (W_B) von 3,30 kcal aufweist, wurde bei dem 25 Stdn. gemahlene Präparat eine Wärmetönung von 4,25 kcal gefunden, die beim rekrystallisierten Präparat auf den normalen Wert des Ausgangspräparates zurückging. Bei natürlicher Cellulose betrug die Benetzungswärme des gemahlene Präparates 3,96 kcal/Mol gegenüber 1,71 kcal der ungemahlene Cellulose. Der höhere Betrag von $\Delta W_B = 2,3$ kcal bei natürlicher Cellulose gegenüber $\Delta W_B = 0,95$ kcal bei Hydratcellulose ist durch die Modifikationsänderung von natürlicher Cellulose zu Hydratcellulose bedingt, die nach den früheren Beobachtungen bei der Schwingmahlung und nachfolgenden Rekrystallisation erfolgt. Es blieb noch zu prüfen, inwieweit an der Erhöhung der Wärmetönung durch Schwingmahlung neben der Änderung der Gitterenergie eine durch die Mahlung geänderte Oberflächenenergie beteiligt ist. Durch Untersuchung von schwinggemahlene Substanzen, die keine Gitterstörung aufweisen, ließ sich zeigen, daß der Zuwachs an Oberflächenenergie beim Mahlen vernachlässigbar klein ist; bei Messungen der Lösungswärme von Kochsalz, Harnstoff und anderen Stoffen wurde praktisch kein Unterschied zwischen den ungemahlene und den extrem lang gemahlene

¹¹ K. Lauer findet keinen Unterschied in den Benetzungswärmen vor und nach der Mahlung. J. makromol. Chem. 1, 90 [1943].

Proben¹² gefunden. Aus der Erhöhung des Energieinhaltes von makromolekularen Stoffen beim Mahlen kann also unmittelbar auf die Veränderung des Ordnungszustandes geschlossen werden, indem zunehmende Lösungs- bzw. Benetzungswärme einem zunehmenden Verformungsgrad entspricht.

II. Diskussion und Folgerungen

1. Molekularphysikalische Charakterisierung der verformten Hauptvalenzketten-Gitter

Art und Umfang der bei der Schwingmahlung erfolgten Ordnungsänderung sind von erheblichem molekularephysikalischem Interesse.

Das Temperaturintervall der Rekristallisation und seine Begründung. Die Volumen-Temperatur-Kurven von Äthyl-, Butyl- und Benzylcellulose zeigen die Volumenkontraktion (VK) über ein sehr breites Intervall: Äthylcellulose VK zwischen 90 und 140°, Butylcellulose VK zwischen 65 und 100° und Benzylcellulose VK zwischen 73 und 107°. Da diese Erscheinung durch eine zu große Aufheizungsgeschwindigkeit gegenüber der Relaxationszeit der rekristallisierten Bereiche verursacht sein könnte, wurden Messungen der Volumenänderung in Abhängigkeit von der Erhitzungsdauer bei verschiedenen Temperaturen (70°, 90°, 125° und 140° bei einer Konstanz von 0,01°) durchgeführt. Aus Abb. 4 geht hervor, daß nach schnellem Anstieg der Volumenkontraktion im Verlauf von etwa 2 bis 10 Stdn. verschiedene Kontraktionswerte erreicht werden, die sich bei länger fortgesetzter Erwärmung nicht mehr ändern. Der Einfluß der Platzwechselzeit der Moleküle bzw. der Molekülsegmente auf die Breite des Umwandlungsintervalls ist also vernachlässigbar klein. Jede Temperatur zwischen den angegebenen Intervallgrenzen entspricht einer diskreten Volumenkontraktion, die von der Platzwechselzeit in den verformten Bereichen unabhängig ist.

Der Nachweis eines definierten Temperaturbereiches der Rekristallisation bei Äthyl-, Butyl-

¹² S. G. Lipsett, F. M. G. Johnson u. O. Maass, J. Amer. chem. Soc. 50, 2701 [1928], finden bei fein zerriebenem Kochsalz eine Verkleinerung der negativen Lösungswärme um etwa 1% der von grobkristallinem Kochsalz. Demgegenüber beträgt die Änderung der Benetzungswärme bei Cellulose im vorliegenden Fall 20 bis 35%.

und Benzylcellulose läßt auf im Mahlgut vorhandene verschiedene Verformungszustände schließen, die entsprechend den jeweiligen Temperaturen durch eine verschiedene Platzwechselenergie der verformten Teilchen gekennzeichnet sind. Unterschiede in der Platzwechselenergie bei der gleichen Stoffart könnten entweder durch eine beim Mahlprozeß entstandene verschieden große Lageverschiebung der einzelnen Kettenglieder oder durch verschiedene Molekülabstände verursacht sein, die z. B. bei Cellulose bereits für un-

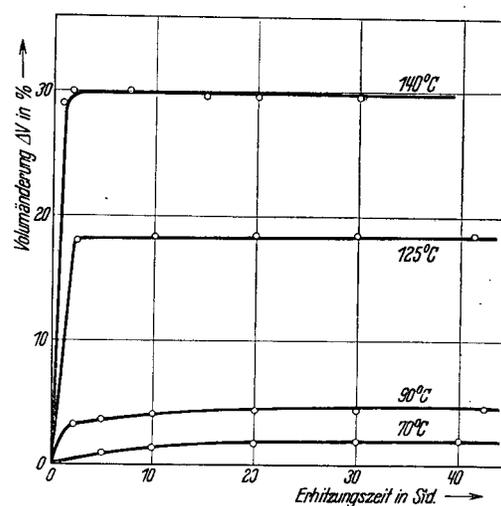


Abb. 4. Volumenänderung ΔV von gemahlener Äthylcellulose in Abhängigkeit von der Erhitzungszeit bei verschiedenen Temperaturen.

beanspruchte Fasern angenommen werden¹³. Da Unterschiede im Verformungsgrad nach Kenntnis der geringen Abhängigkeit der Verformung von der Mahldauer zurücktreten dürften, ist anzunehmen, daß die Variationsbreite der Molekülabstände im ungemahlene Präparat für die Größe des Rekristallisationsbereiches maßgebend ist.

Umfang der Ordnungsänderung. Die leichte Rekristallisierbarkeit der schwinggemahlene Cellulose bei Benetzung mit Wasser hatte bereits früher zu der Auffassung geführt, daß die Kettenmoleküle bei der Gitterdeformation im ganzen keine oder nur geringe Translationsbewegungen ausführen und daß die vorgegebene Parallellage der Moleküle und damit ein verhältnismäßig hoher Ordnungsgrad im ge-

¹³ Man vergl. z. B. die von A. Frey-Wyssling (Protoplasma 25, 261 [1936]) und O. Kratky (Kolloid-Z. 84, 152 [1938]) aufgestellten Modellbilder.

mahlenden Präparat bestehen bleiben. Die für Celluloseäther ermittelten niedrigen Rekrystallisationstemperaturen, die weit unterhalb der Schmelztemperatur dieser Stoffe liegen (vergl. Tab. 1), weisen darauf hin, daß die Verformung der Gitter nicht auf eine Translationsbewegung der Gesamtmoleküle zurückzuführen ist, sondern nur auf einer räumlichen Desorientierung von Molekülsegmenten beruhen kann. Diese Forderung wird durch die Beobachtung bestätigt, daß die Mahlpräparate von Methyl- und Äthylcellulose sowie Perlon ebenso wie Cellulose selbst, trotz der verschwundenen Röntgeninterferenzen und trotz extrem langer Mahldauer, noch optische Doppelbrechung zeigen. Die Mahlung der Hochpolymeren führt also nicht zu einer vollkommenen Amorphisierung im Sinne einer regellosen Verteilung statistisch geknäuelter Kettenmoleküle, wie dies gelegentlich für „röntgenamorphe“ Cellulosepräparate gefolgert worden ist¹⁴. Der Ordnungszustand gemahlener Cellulose wird vielmehr charakterisiert durch das Vorliegen ausgeprägter Fernordnung (Erhaltung der Kettenorientierung) bei gestörter Nahordnung (Desorientierung der Kettenglieder).

Auch bei den ungemahlenden Präparaten wurden nach Erwärmung Veränderungen der Raumbeanspruchung festgestellt, und zwar sowohl eine geringe Volumenkontraktion als auch Volumendilatation (vergleiche Tab. 1, Spalte 4). Im Sinne der bei den gemahlenden Präparaten gegebenen Deutung des Volumeneffektes bedeutet dies, daß bei Methyl- und Äthylcellulose durch Erhitzen eine Erhöhung und bei natürlicher Cellulose eine Erniedrigung des Ordnungsgrades eintritt, während der Ordnungszustand bei Hydratcellulose, Butyl- und Benzylcellulose sowie bei Perlon unverändert bleibt. Dieses Verhalten kann im Zusammenhang mit den ermittelten Rekrystallisationstemperaturen (vergl. Tab. 1) dahingehend gedeutet werden, daß bei Methyl- und Äthylcellulose, deren Methylierungs- bzw. Äthylierungstemperatur unterhalb der Rekrystallisationstemperatur liegt, im Verlauf des Substitutionsvorganges erfolgende Moleküldeformationen „einfrieren“ können, während bei Butyl- bzw. Benzylcellulose, deren Rekrystallisationstemperatur unterhalb der Butylierungs- bzw. Benzylierungstemperatur liegt, Reorientierung verformter Bereiche bereits während der chemischen Reaktion erfolgt. Die Volumendilatation bei natürlicher Cellulose bleibt zunächst ungeklärt¹⁵.

¹⁴ Vergl. z. B. O. Kratky, A. Sekora u. R. Treer, Holz als Roh- u. Werkstoff 4, 273 [1941].

¹⁵ Es ist möglich, daß die Erscheinung mit den besonderen Bedingungen des Wachstumsvorganges der natürlichen Cellulose zusammenhängt, der zu einem „überhöhten“ thermodynamisch instabilen Ordnungszustand führt.

Die Ordnungsänderung in Abhängigkeit vom chemischen Bau und der Kraftwirkung der Moleküle. Wird angenommen, daß bei der Rekrystallisation die Verformung quantitativ rückgängig gemacht wird, was in erster Näherung zutreffen dürfte, so kann die Volumenkontraktion als Maß für die Größe der Verformung angesehen werden. Die Raumbeanspruchung durch Verformung steigt danach in der Reihenfolge Cellulose¹⁶, Perlon, Methyl-, Äthyl-, Butylcellulose an. Es ist zunächst nicht zu entscheiden, ob die Zunahme der Raumbeanspruchung in der beobachteten Reihenfolge auf dem wachsenden Raumbedarf der Substituenten OH, OCH₃, OC₂H₅, OC₄H₉ oder auf dem steigenden Verformungsgrad infolge abnehmender zwischenmolekularer Kräfte beruht. Die geringe Abhängigkeit der Verformung von der Mahldauer — zwischen 1/2- und 2000-stdg. Mahldauer lassen sich bei Äthylcellulose keine merkbaren Unterschiede im dilatometrischen Verhalten erkennen — macht es jedoch wahrscheinlich, daß Unterschiede im Verformungsgrad nur eine untergeordnete Rolle spielen, so daß die Verschiedenheit der Kontraktionswerte im wesentlichen auf sterischen Einflüssen in den Molekülen beruhen dürfte.

Versuche zu einer quantitativen Erfassung der Ordnungsänderung. Ein Anhaltspunkt für eine zahlenmäßige Erfassung der Verformung bei Cellulose ergibt sich aus der Bestimmung der Benetzungswärme (Kristallisationswärme) mit Wasser vor und nach der Verformung. Die Kristallisationswärme verformter Präparate wird um so größer, je verschiedener die Ordnung von ungemahlendem und gemahlendem Präparat ist; sie erreicht ein Maximum, wenn sich das ungemahlene Präparat im Zustand idealer Ordnung und das Mahlpräparat im Zustand idealer Unordnung befindet. Da beide Endzustände nicht erreicht werden, ist jede gemessene Kristallisationswärme kleiner als die theoretische. Ein Maß für den Verformungszustand des jeweiligen Präparates ist das Verhältnis der realen zur idealen Kristallisationswärme. Nimmt man an, daß sich der maximale Energieunterschied zwischen geordnetem und ungeordnetem Zustand

¹⁶ Die bei Cellulose durch Erwärmen erzielte Kontraktion führt nicht zu röntgenographisch sichtbarer Rekrystallisation; auf Grund von Dichtemessungen ist bei völliger Rekrystallisation der Cellulose eine um etwa 20% höhere Kontraktion zu erwarten.

durch die Schmelzwärme annähernd wiedergeben läßt, was für die untersuchten Stoffe in erster Näherung zutrifft, so läßt sich die Größe der Verformung durch den Verformungsfaktor V_f zu

$$V_f = R/S$$

bestimmen¹⁷, wobei R die Kristallisationswärme und S die Schmelzwärme darstellen. Unter Zugrundelegung der Kristallisationswärme von 0,65 bis 1,20 kcal/Grundmol für die vermessene Cellulose und einer Schmelzwärme von 5 kcal/Grundmol ergibt sich ein Verformungsfaktor von 0,13 bis 0,21, d. h. 13 bis 21% der maximal möglichen Verformung sind durch den Mahlprozeß eingetreten. Vergleicht man den Verformungsfaktor von Cellulose mit dem als Beispiel für einen niedermolekularen Stoff bestimmten Wert von Rohrzucker $V_f = 0,65$, so ergibt sich, daß die Ordnungsänderung bei Hochpolymeren gegenüber niedermolekularen Stoffen erheblich geringer ist.

Stabilität und Beeinflussung der Verformung durch Flüssigkeiten. Ein Maß für die Stabilität der Verformung ist die Rekristallisationstemperatur (t_R). Diese ist die Temperatur, bei der Entspannung der verformten Bereiche durch Platzwechsel von Atomen bzw. Atomgruppen erfolgt; sie ist durch den Übergang von unendlich großer zu kleiner Platzwechselzeit definiert. Die in Tab. 1 angegebenen Werte für t_R lassen erkennen, daß die t_R von den zwischenmolekularen Kräften (ZMK) der Stoffe in dem Sinne abhängt, daß Stoffe mit großen ZMK, wie z. B. Cellulose, eine hohe t_R und Stoffe mit geringen ZMK, wie z. B. Butylcellulose, eine niedrige t_R besitzen. Aus dem Sinken der t_R mit zunehmender Verlängerung der substituierten Seitenketten der Cellulose läßt sich folgern, daß z. B. Capronylcellulose bei den in der Schwingmühle herrschenden Temperaturen nicht mehr verformbar ist. Der Versuch hat diese Erwartung bestätigt. Die Mahltemperatur muß unterhalb t_R liegen, damit stabile Verformung eintreten kann. Bei Mahltemperaturen, die oberhalb von t_R liegen, kann keine Verformung mehr beobachtet werden¹⁸.

¹⁷ E. Steurer u. K. Heß, Z. physik. Chem. 193, 248 [1944].

¹⁸ Die Rekristallisationstemperatur ist in anderem Zusammenhang umgekehrt dazu benutzt worden, um die an den Stoßstellen während der Schwingmahlung herrschende Temperatur abzuschätzen. E. Steurer, Z. Technik, 1947.

Ähnlich wie die Herabsetzung der ZMK bei den Makromolekülen durch „innere“ Weichmachung bei Einführung entsprechender Substituenten zu einer Erniedrigung von t_R führt, läßt sich dies auch durch eine „äußere“ Weichmachung durch Berührung mit solvatisierenden, gegebenenfalls zur Bildung von Doppelverbindungen Anlaß gebenden Flüssigkeiten erzielen. So findet Rekristallisation von Cellulose und Methylcellulose durch Benetzung mit Wasser bzw. Wasser-Methanol bereits bei Zimmertemperatur statt. Schon der geringe Wassergehalt normaler lufttrockener Cellulose in Höhe von 5 bis 12% genügt, um die t_R merklich herabzusetzen. Während die t_R wasserfreier, gemahlener Cellulose oberhalb der Zersetzungstemperatur ($> 200^\circ$) liegt, zeigt gemahlene Cellulose mit 10% Wassergehalt eine t_R von etwa 100° . Die Solvation der OH- und OCH₃-Gruppen durch Wasser- und Methanolmoleküle bewirkt eine Erhöhung der Beweglichkeit der Kettenglieder durch Erniedrigung der instabilen verformten Bereiche stabilisierenden Potentialschwellen, so daß der Übergang in den stabilen kristallisierten Zustand schon bei niedrigerer Temperatur eintritt.

Es ist weiterhin bemerkenswert, daß röntgenamorphe Cellulose bei einer Benetzung mit geringer Wassermenge zur Hochtemperaturmodifikation¹⁹ der Cellulose rekristallisiert, während bei größerer Wassermenge Hydratcellulose entsteht. Man kann diese Erscheinung dadurch erklären, daß bei der Rekristallisation zur Hochtemperaturform andere oder weniger Atome als bei der Rekristallisation zur Hydratcellulose beweglich werden. In der Beobachtung liegt der interessante Fall einer Kristallisationslenkung durch partielle innere Schmierung vor.

Die über der Zersetzungstemperatur liegende Rekristallisationstemperatur der Cellulose macht es weiterhin verständlich, warum die verschiedenen Modifikationen der Cellulose durch normale Erhitzung nicht ineinander umwandelbar sind. Zwischen den Kettengliedern der kristallinen Bereiche besteht ohne Beeinflussung durch Schmiermittel eine so starke zwischenmolekulare Kraftwirkung, daß eine merkliche Beweglichkeit unterhalb der Zersetzungstemperatur nicht einsetzt. Erst durch Zufügung von benetzenden Stoffen,

¹⁹ Über die Existenz einer Hochtemperaturmodifikation der Cellulose vergl. K. Heß u. H. Kiessig, Z. physik. Chem. Abt. B 49, 235 [1941].

wie Wasser, und Eintreten dieser Stoffe in die gestörten Gitterbereiche erhöht sich die Beweglichkeit der Moleküle, die eine Modifikationsumwandlung bei niedriger Temperatur ermöglicht. Dabei ist zu berücksichtigen, daß die Umwandlung durch derartige Schmiermittel erst auf dem Umwege über eine Gitterstörung erfolgt, indem die Fremdmoleküle durch den gestörten Gitterbereich in das Gitter eindringen.

Über den Zusammenhang von Rekristallisationstemperatur, Einfriertemperatur und Schmelztemperatur. Von besonderer Bedeutung für die Klärung der thermischen Eigenschaften des makromolekularen Festkörpers (insbesondere der Beweglichkeit der Ketten) ist der Vergleich der im Vorangehenden bestimmten Rekristallisationstemperaturen mit den aus dilatometrischen Messungen von E. Jenckel und K. Überreiter bestimmten Einfriertemperaturen. Diese Autoren beobachteten bei Volumen-Temperatur-Messungen an makromolekularen Stoffen Änderungen der Ausdehnung, die in engem Temperaturintervall auftreten, dessen Mittelwert als „Einfriertemperatur“ bezeichnet wird. Unterhalb der Einfriertemperatur wird eine geringere Ausdehnung als oberhalb gefunden. Nach Jenckel und Überreiter hängt die Volumenausdehnung unterhalb der Einfriertemperatur lediglich von den Schwingungsamplituden der Atome und Moleküle (unveränderte Schwerpunktslage) ab, während sich oberhalb der Einfriertemperatur noch die Ausdehnung überlagert, die sich aus Lage- und Orientierungsänderung der beweglich gewordenen Kettenglieder (veränderte Schwerpunktslage) ergibt. Nach Kennzeichnung der Einfriertemperatur als Punkt beginnender bzw. verschwindender Kettengliedbeweglichkeit ist ein enger Zusammenhang mit den Rekristallisationstemperaturen verformter Makromoleküle zu erwarten, da der Eintritt der Rekristallisation ebenfalls nur möglich ist, wenn Platzwechsel von Atomen oder Molekülteilen erfolgt.

Bei den Volumen-Temperatur-Kurven der ungemahlene und der schwinggemahlene rekristallisierten Präparate erkennt man in Übereinstimmung mit den Beobachtungen von Überreiter an unbehandelten Hochpolymeren zwei Bereiche verschiedener Ausdehnung, die durch den Einfriertemperaturbereich getrennt sind. Während jedoch bei allen Präparaten unterhalb der Einfriertemperatur konstante Volumenausdehnung gefunden wird

(bis -25°), zeigte sich im Gegensatz zu den Befunden Überreiters²⁰ im Meßbereich bis 180° nur bei Butyl- und Benzylcellulose eine Konstanz des Ausdehnungskoeffizienten, während bei Cellulose, Methyl- und Äthylcellulose mit steigender Temperatur ein zunehmender Ausdehnungskoeffizient beobachtet wird. Die Lage der Einfriertemperatur wäre also bei Cellulose, Methyl- und Äthylcellulose nicht durch den Schnittpunkt zweier Ausdehnungsgeraden, sondern durch den Beginn der Inkonstanz des Ausdehnungskoeffizienten gekennzeichnet.

Der Vergleich der ermittelten Einfriertemperaturen mit den Rekristallisationstemperaturen zeigt, daß Übereinstimmung zwischen beiden Temperaturen nur im Falle der Butyl- und Benzylcellulose besteht, daß dagegen die Einfriertemperaturen bei Cellulose, Methyl- und Äthylcellulose sowie bei Perlon um 50 bis 150° niedriger als die Rekristallisationstemperaturen liegen.

Da ein Zweifel an der gegebenen Deutung von t_R durch den Zusammenhang mit der Röntgenuntersuchung nicht möglich ist, ist zu erwägen, ob bei den gemahlene Stoffen die Einfriertemperaturen stark erhöht sind, oder ob die Deutung der Knickpunkte in den Volumen-Temperatur-Kurven als Einfriertemperaturen zu modifizieren ist.

Es ist außerordentlich unwahrscheinlich, daß die Atome und Moleküle der schwinggemahlene Stoffe eine geringere Beweglichkeit zeigen als die der ungemahlene Stoffe. Vielmehr ist zu erwarten, daß durch die bei der Vermahlung aufgenommene Verformungsenergie eine Erhöhung der Beweglichkeit (Herabsetzung der Einfriertemperatur) eintritt. Die Platzwechselwahrscheinlichkeit der Atome bzw. Kettenglieder steigt durch den Energiezuwachs ΔW bei der Vermahlung an, da zur Auslösung des Platzwechsels im verformten Zustand nur mehr der geringere Energiebetrag $W - \Delta W$ aufzubringen ist. Es liegt also kein Grund zu der Annahme vor, daß sich die Einfriertemperatur durch die Schwingmahlung in Richtung höherer Temperatur bis zur Rekristallisationstemperatur verschiebe. Die bei den gittergeordneten Stoffen bei 60 bis 70° beobachteten Unstetigkeiten im Ausdehnungskoeffizienten

²⁰ Die von Überreiter angegebenen Volumen-Temperatur-Kurven erstrecken sich über einen geringen Meßbereich, so daß die Diskrepanz zwischen den Messungen möglicherweise auf die verschiedene Größe des Meßbereiches zurückzuführen ist.

stehen also nicht mit der Kettengliedbeweglichkeit in Zusammenhang, die zu einer Neuordnung des Gitters führt.

Will man an der gegebenen Deutung der Unstetigkeit im Ausdehnungskoeffizienten als Einfriertemperatur festhalten, dann bleibt nur die Annahme übrig, daß sich derartige Einfriertemperaturen auch in an sich gittergeordneten Präparaten auf darin vorkommende amorphe Bereiche beziehen. Führt man die gegenseitige Behinderung der Beweglichkeit der Kettenglieder außer auf die innermolekulare Bindung auf die zwischenmolekularen Kräfte zurück, dann ist der Grad der Bewegungshemmung in den kristallinen Bereichen infolge des geringeren Atomabstandes größer als in den ungeordneten Bereichen. Charakterisieren die Rekristallisationstemperaturen den Temperaturbereich, in dem Beweglichkeit der Kettenglieder in den kristallinen Bereichen angeregt wird, so ist anzunehmen, daß sich die niedrigen Temperaturen (bei 60 bis 70°) auf die Desorientierung der Kettenglieder in den röntgenamorphen Bereichen beziehen.

Die gegebene Deutung einer verschieden großen Beweglichkeit von Kettengliedern bei gittergeordneten Präparaten in kristallinen und amorphen Bereichen läßt erwarten, daß mit geringer werdendem Ordnungsgrad der kristallinen Bereiche, also bei einer Verringerung des Ordnungsunterschiedes zwischen kristalliner und „amorpher“ Phase, eine Abnahme der Differenz von t_R und t_E eintritt. In diesem Sinne läßt sich aus den gefundenen t_R - und t_E -Werten (vergl. Tab. 2, Spalte 4) ableiten, daß der Ordnungsgrad von Cellulose, Methylcellulose und Perlon ($t_R - t_E = 80$ bis 100°) am höchsten ist und mit zunehmender Länge der in der Cellulose substituierten Kette (Benzyl- bzw. Butylcellulose $t_R - t_E = 4$ bis 5) abnimmt. Dieser Schluß findet seine Bestätigung in dem Bild der entsprechenden Röntgendiagramme, bei denen in der gleichen Präparatfolge eine starke Abnahme von Linienzahl und Linienschärfe beobachtet wird, was bereits früher als Zunahme von Gitterstörungen gedeutet worden ist.

Es sei hervorgehoben, daß die Unterschiede in den Rekristallisationstemperaturen bei den vermessenen Stoffen den Zusammenhang zwischen Molekülbeweglichkeit und Nebenvalenzkräften²¹ erst verständlich macht, während die bisherige

²¹ Die Wechselwirkung bezieht sich sowohl auf intra- als auch auf intermolekulare Anziehung.

Substanz	t_R	t_E	$t_R - t_E$	t_F	t_R/t_F
Cellulose	200	62	140	—	—
Methylcellulose	145	60	85	330	0,44
Äthylcellulose .	110	65	45	250	0,44
Butylcellulose .	85	81	4	190	0,45
Benzylcellulose	90	85	5	—	—
Perlon T	140	62/65	80	250	0,55

Tab. 2. Rekristallisationstemperatur t_R , Einfriertemperatur t_E und Schmelztemperatur t_F bei organischen Hochpolymeren.

Deutung des funktionellen Zusammenhangs von Einfriertemperatur und Gliederbeweglichkeit keineswegs in allen Fällen zwanglos möglich war. Insbesondere mußte die niedrige Lage der Einfriertemperatur von Cellulose überraschen, die z. Tl. noch unter den Einfriertemperaturen ihrer Derivate lag und die mit den sonstigen physikalischen und chemischen Eigenschaften der Cellulose nicht in Einklang steht. Im Sinne der obigen Deutung besitzt Cellulose in den geordneten Bereichen²² eine kleine innere Beweglichkeit, während in den ungeordneten Bereichen hohe Gliederbeweglichkeit vorzuliegen scheint. Die von P. H. Hermans²³ aus sterischen Betrachtungen abgeleitete große innere Beweglichkeit der Cellulosekette hat danach in fester Form nur beschränkte Gültigkeit.

Es liegt nahe, die Rekristallisationstemperatur auch zur Schmelz- oder Fließtemperatur in Beziehung zu setzen. Bei den hochpolymeren Stoffen ist die Schmelz- oder Fließtemperatur infolge der verhältnismäßig geringen Gitterordnung ebenso wie die Rekristallisationstemperatur unscharf und nur als Mittelwert über einen mehr oder weniger großen Schmelzbereich anzunehmen. Legt man diesen Mittelwert zugrunde, so findet man, daß t_R einen konstanten Bruchteil der Schmelztemperatur t_F darstellt: $t_R = 0,44 t_F$.

2. Über die Entstehung verformter Stoffe durch Mahlung

Nach Feststellung von Größe und Stabilität der Verformung von Makromolekülittern bleibt die Frage offen, auf welchem Wege Mahlenergie in Verformungsenergie umgewandelt wird und wie

²² Dabei ist es ohne Einfluß, ob diese Bereiche unverformt oder durch Mahlung verformt sind.

²³ P. H. Hermans, J. de Booy u. Chr. J. Maan, Kolloid-Z. 102, 169 [1943].

man sich die Stabilisierung des mechanischen Verformungszustandes vorstellen kann. Die Beantwortung dieser Frage wurde bereits im Zusammenhang mit Untersuchungen über den Energiebedarf bei mechanochemischen Valenzspaltungen behandelt²⁴. Da sie noch nicht endgültig gelöst werden kann, seien nur die allgemeinen Bedingungen für den Eintritt der Verformung angegeben, die sich auf die Art des verwendeten Mahlgerätes und des zu vermahlenden Stoffes sowie auf den Energieaustausch zwischen den Molekülen beziehen.

Der Verformungsprozeß ist nicht auf die Mahlung in der Schwingmühle beschränkt, sondern wird auch in anderen Mahlgeräten, wie z. B. in der Kugelmühle, beobachtet. Während die mechanische Beanspruchung in der Schwingmühle vorwiegend durch Druckkräfte verursacht wird, treten in der Kugelmühle vermutlich in erster Linie Scherkräfte auf. Die mechanische Verformung ist offenbar nicht an die spezifische Mechanik eines bestimmten Mahlvorganges gebunden. Voraussetzung für die Verwendbarkeit eines Mahlgerätes bei der Verformung ist lediglich der Ablauf des Mahlvorganges bei hinreichend tiefer Temperatur. So ist z. B. die Bloch-Rosetti-Mühle für die Untersuchung von Verformungsvorgängen ungeeignet, da sich das Mahlgut infolge großer Reibungskräfte stark erhitzt.

Der mechanischen Verformung durch Mahlung scheinen nach den bisherigen Erfahrungen grundsätzlich alle Stoffarten zugänglich zu sein; bisher wurde Verformung außer bei den organischen Hochpolymeren bei niedrigmolekularen Stoffen, z. B. Rohrzucker und bei anorganischen an Feldspat²⁵, beobachtet. Bei anderen Stoffen, wie z. B. Polyoxymethylen, Harnstoff, Kochsalz usw., trat auch bei langdauernder Mahlung keine Veränderung im Röntgendiagramm auf. Neben den quantitativen Unterschieden in der Größe der Verformung bestehen in der Verformbarkeit also auch qualitative Unterschiede. Für den Eintritt

²⁴ E. Steurer u. K. Heß, l. c.¹⁷; K. Heß u. E. Steurer, Z. physik. Chem. **193**, 234 [1944].

²⁵ M. L. Jackson u. E. Truog, Proc. Soil. Sci. Soc. America **4**, 136 [1939], ref. Z. angew. Chem. **54**, 92 [1941].

einer stabilen Verformung müssen offenbar mindestens zwei Bedingungen gegeben sein: 1. Die mechanische Beanspruchung muß unterhalb der Rekristallisationstemperatur des zu vermahlenden Stoffes erfolgen; 2. es muß eine unsymmetrische Verteilung des Kraftfeldes der Moleküle vorliegen, da Energiespeicherung das Vorhandensein von Minima höherer potentieller Energie voraussetzt. Es ist noch näher zu untersuchen, welchen Einfluß beide Bedingungen auf die Verformbarkeit bzw. den Verformungsgrad der Stoffe besitzen.

Die Bedingung niedriger Verformungstemperatur enthält implizite die Bedingung, daß nach mechanischer Schwingungsanregung Energie auf unbeanspruchte Bereiche abgeleitet werden kann. Durch den Mahlprozeß wird auf örtlich eng umgrenztem Raum eine Erhöhung der Schwingungsamplituden der Atome bewirkt, die zu stabiler Schwerpunktsverlagerung der Atome nur dann führen kann, wenn durch partielle Ableitung von Schwingungsenergie ein „Einfrieren“ der Atome bzw. Atomgruppen in Lagen höherer potentieller Energie möglich ist. Bei allgemeiner Temperaturerhöhung durch Zuführung von Wärme werden dementsprechend keine merklichen Gitteränderungen beobachtet. Ein eindruckvolles Beispiel für den Unterschied von thermischer und mechanischer Wirkung bietet Cellulose, die selbst bei Erhitzung bis zur Zersetzungstemperatur und nachfolgendem Abschrecken auf tiefe Temperatur keine merkliche Zunahme der Gitterstörung aufweist, während bei Mahlung ohne merkliche thermische Zersetzungserscheinung schon nach kurzer Zeit erhebliche Verformung beobachtet wird. Erst bei völliger Zerstörung des Gitters durch Schmelzen scheint sich z. B. bei Cellulosederivaten durch Abschrecken der Schmelze auch auf rein thermischem Wege in gewissem Umfang Verformung erzielen zu lassen²⁶.

²⁶ W. O. Baker, C. Fuller u. N. R. Pape, J. Amer. chem. Soc. **64**, 776 [1942].

Über die Einwirkung von Phenolkörpern auf Faserkeratine¹

Von HELMUT ZAHN

Aus dem Institut für Textilchemie in Badenweiler

(Z. Naturforschg. 2b, 286-291 [1947]; eingegangen am 6. Mai 1947)

Faserkeratine nehmen aus wäßrigen Lösungen von Phenolkörpern bei Zimmertemperatur weit mehr Phenol auf, als bei seiner Bindung als Säure an die basischen Aminogruppen zu erwarten ist. Die mit der Phenolaufnahme einhergehende reversible Abnahme des Elastizitätsmoduls und Erhöhung der Bruchdehnung der Faser machen eine Wechselwirkung des Phenols mit Querbindungen zwischen den Peptidketten wahrscheinlich. Phenol besitzt eine größere Affinität zu Peptidgruppen der Hauptketten und Oxygruppen der Seitenketten, als diese unter sich selbst sowie zu Wasser zeigen. Daher können Bindungen zwischen den genannten Gruppen (z. B. Wasserstoffbrücken) gespalten und Sorptionswasser verdrängt werden.

Die Spaltung der Querbindungen reicht erst bei Temperaturen von 70 bis 90° aus, um die Ketten so weit zu befreien, daß sie beweglich werden und der Neigung, einen wahrscheinlicheren, weniger orientierten Zustand anzunehmen, nachgeben, was zur Verkürzung der ganzen Faser führt. Verschiedene Abhängigkeiten dieser Superkontraktion von Temperatur, Konzentration, Dauer, p_H -Wert und Konstitution der Phenolkörper werden beschrieben.

Von chemischen Veränderungen der mit Phenol superkontrahierten Keratine sind geringe Umsetzungen am Cystin und eine starke Erhöhung der Verdaulichkeit in dem tryptisch wirksamen Pankreatin zu nennen.

Die Phenol-Superkontraktion von Keratinen ist ein Mittel, die Rolle der Wasserstoffbrücken für den Aufbau der Keratinfasern getrennt von den anderen Querbindungen zu studieren. Als Beispiel werden Beziehungen zwischen der Spaltung von Wasserstoff- und Cystinbrücken und dem Auftreten von Superkontraktion beschrieben.

1. Über Querbindungen in Faserkeratinen

Faserkeratine sind wie die übrigen fibrillären Proteine aus Hauptvalenzketten aufgebaut, in welchen etwa 20 verschiedene Aminosäuren durch Polykondensation unter Bildung von Peptidbindungen verknüpft sind. Im allgemeinen sind diese Peptidketten nicht isoliert und frei beweglich, sondern seitlich miteinander verbunden. Entsprechend den mannigfaltigen funktionellen Gruppen, welche die Ketten und die Seitenketten liefern, unterscheiden wir verschiedene Arten von Querbindungen zwischen den Peptidketten. Ein erheblicher Teil der Bausteine des Keratins entfällt auf die Hexonbasen und sauren Aminosäuren, welche als Seitenketten basische und saure Gruppen einführen. Zwischen diesen nimmt man sogenannte Salzbrücken an. Außerdem beteiligt sich Cystin am Aufbau der Faserkeratine, das zwei Peptidketten hauptvalenzmäßig zu verknüpfen vermag (Cystinbrücke). Die Peptidgruppen betätigen we-

¹ 1. Mitteilung.

gen ihrer großen Molkohäsion Valenzkräfte zu benachbarten Peptidgruppen derselben Kette oder anderer Ketten. Man nimmt an, daß sich zwischen den Peptidgruppen Wasserstoffbrücken ausbilden können, ferner ziehen sich Peptidgruppen im Extremzustand dipoliger Anordnung elektrostatisch an. Wasserstoffbrücken sind auch zwischen alkoholischen und phenolischen Hydroxylgruppen von Seitenketten möglich, welche diese sowohl unter sich selbst als auch mit den Peptidgruppen der Hauptketten eingehen. Wir verstehen daher unter Wasserstoffbrücken in Keratinen allgemein die interchenaren², nebervalenzartigen Verknüpfungen, welche sich zwischen polaren Gruppen wie Peptidbindungen, Oxy- oder Säureamidgruppen, gleichgültig ob außerhalb oder innerhalb der Micellen, ausbilden. Die Tab. 1 gibt einen Überblick über verschiedene Querbindungstypen zwischen den Peptidketten in Faserkeratinen.

² Der Ausdruck „interchenar“ (zwischen den Ketten) ist bei Keratinen eindeutiger als intermolekular, solange die Gleichsetzung von Peptidkette mit Molekül nicht bewiesen ist.

Bezeichnung	Maßgebende Gruppen
1. Wasserstoffbrücken	a) Hauptkette: Peptidgruppen b) Seitenketten: Oxy- und Säureamidgruppen
2. Cystinbrücken . . .	Cystin
3. Salzbrücken	basische und saure Gruppen der Seitenketten

Tab. 1. Schema von Querbindungen zwischen den Peptidketten in Faserkeratinen.

Um die Bedeutung der einzelnen Querbindungen zu untersuchen, kann man Veränderungen in den Eigenschaften der Keratine, wie Festigkeit, Elastizität, thermischer Ausdehnungskoeffizient, Quellung, Doppelbrechung, Röntgenogramm, Löslichkeit und chemische Reaktionsfähigkeit, in Abhängigkeit von der Aufspaltung der betreffenden Querbindung untersuchen. Solche Versuchsreihen können zu eindeutigen Schlüssen nicht führen, wenn im Verlauf der Einwirkung mehrere Bindungssysteme gleichzeitig oder nacheinander angegriffen werden. So ist z. B. erst die von Patterson, Geiger, Mizell und Harris³ eingeführte Reduktion des Keratin-Cystins mit Thioglykolatlösung bei 35°* und $p_H = 4,5$ spezifisch genug, um eine kritische Prüfung der Rolle des Cystins in Keratin zu erlauben. Dabei ergab sich, daß einige Eigenschaften der Keratine zu einem Teil auf der Anwesenheit der Cystinbindungen beruhen. Andererseits bestehen wichtige Analogien zu anderen Eiweißfasern, in welchen Cystin entweder gar nicht oder nur in untergeordneten Mengen vorkommt. So weiß man z. B., daß Fasern der Naturseide, des Elastins oder Kollagens beim Erhitzen in quellenden Medien sich verkürzen können, ohne daß Cystin in diesen Fällen mitwirken kann. Es ist bekannt, daß bei Einwirkung von Wasser auf Keratinfasern bei 60 bis 80° in erster Linie Cystinbindungen hydrolysiert werden. Erhitzt man jedoch Faserkeratine mit Wasser auf Temperaturen über 100°, so tritt die Cystinhydrolyse hinter strukturellen Verände-

* Alle Temperaturangaben in Celsius-Graden.

³ W. I. Patterson, W. B. Geiger, L. R. Mizell u. M. Harris, J. Res. nat. Bur. Standards 27, 89 [1941].

⁴ H. Zahn, Naturwiss. 31, 137 [1943].

⁵ E. Elöd u. H. Zahn, Kolloid-Z. 108, 94 [1944].

⁶ C. Neuberg, Biochem. Z. 76, 107 [1916].

⁷ A. Küntzel in W. Graßmann, Handbuch der Gerbereichemie und Lederfabrikation, 1. Band, 1. Teil, S. 573, Wien 1944.

rungen, insbesondere Desorientierung von Ketten und Micellen, zurück⁴. Beim Erhitzen von Keratinfasern mit *Formamid* an Stelle von Wasser erfolgt eine starke Schrumpfung der Faser, Abnahme von Quellungsanisotropie, Doppelbrechung und Orientierung der Micellen, ohne daß Cystinbindungen an diesen Vorgängen in merklichem Umfang beteiligt sind⁵. Formamid gehört zu den von Neuberger⁶ als hydrotrop bezeichneten, chemisch sehr verschiedenartigen Stoffen, welche an sich wasserunlösliche Substanzen „dem Wasser zuwenden“, d. h. in Wasser löslich machen bzw. ihre Quellung erhöhen (Küntzel⁷). Es ist einleuchtend, daß diese Erscheinung der Zunahme von Quellung und Löslichkeit z. B. bei Cellulose, Stärke, Superpolyamiden von anderen Vorgängen als von der Spaltung von Cystinbrücken verursacht wird. Wenn daher die Schrumpfungstemperatur von Keratinen in Formamid auf 115° sinkt gegenüber 135° in reinem Wasser, so kann man annehmen, daß hier nicht Cystin, sondern andere Brücken zwischen den Ketten aufgespalten werden, diese beweglich werden und sich in einen wahrscheinlicheren Zustand desorientieren können.

In Verfolgung dieses Gesichtspunktes haben wir Beziehungen zwischen Keratinfasern und anderen hydrotropen Stoffen untersucht. Küntzel und Schwank⁸ berichteten über eine starke Aufnahme von Phenolen durch Kollagenfasern und dadurch bewirkte strukturelle Veränderungen. Bei Wolle hatten Herzog und Krahn⁹ eine Löslichkeit in Phenol bei höheren Temperaturen beobachtet. Eigenartige Krepp-effekte von Wolle beim Erhitzen mit konzentrierten Phenollösungen fanden Barr und Speakman¹⁰. Es zeigte sich, daß die Einwirkung von Phenol auf Faserkeratine nicht auf Quellungs- und Lösungsvorgänge beschränkt bleibt, sondern eine spezifische Einwirkung auf Wasserstoffbrücken darstellt und daher für das Studium dieser wichtigen Gruppe von Querbindungen in Keratinfasern besonders geeignet erscheint. Bei Zimmertemperatur treten reversible Veränderungen auf, während bei 70 bis 100° eine irreversible Desorientierung von Ketten und Micellen erfolgt.

⁸ A. Küntzel u. M. Schwank, Collegium 1940, 441, 455, 489, 500.

⁹ R. O. Herzog u. E. Krahn, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 134, 390 [1924].

¹⁰ T. Barr u. J. B. Speakman, J. Textile Inst. 35, T 77 [1944].

2. Reversible Reaktion von Keratinen mit Phenol bei 20°

Schafwolle nimmt aus 1—7-proz. wäßrigen Phenollösungen ($p_H = 5$) erhebliche Mengen Phenol auf, wobei die Aufnahme mit der Konzentration der Phenollösung linear ansteigt, sofern das Verhältnis von Lösung zum Substrat 60 : 1 übersteigt. Je Gramm Wolle werden 700 bis 800 mg Phenol aufgenommen, ohne daß Sättigung eintritt. Das von der Wolle aufgenommene Phenol wird beim Einlegen in schwächere Lösungen bzw. Wasser

Wolle an der Phenolbindung Peptidgruppen der Hauptketten und geeignete Seitenkettengruppen beteiligt sind. In diesem Falle müßten die zwischen diesen Gruppen bestehenden Bindungen eine Abschwächung erfahren. Dafür spricht der Befund, daß die elastischen Eigenschaften von Keratinfasern durch die Aufnahme von Phenol reversibel in dem Sinne beeinflusst werden, den man bei Schwächung von interchenaren Bindungen erwartet. Wie Tab. 2 zeigt, nimmt die Bruchdehnung in Abhängigkeit von der Konzentration der Phenollösung reversibel zu.

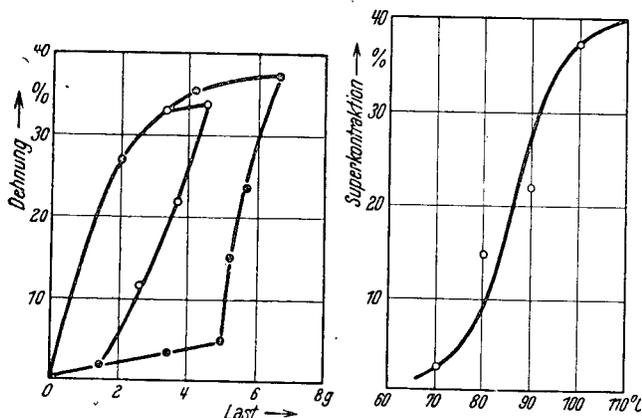


Abb. 1.

Abb. 2.

Abb. 1. Dehnungs-, Belastungskurve einer einzelnen Wollfaser in Wasser (•••) und 7-proz. Phenollösung (o-o-o).

Abb. 2. Abhängigkeit der Superkontraktion von Rohhaaren in 25-proz. Phenol von der Temperatur (20 Minuten).

leicht wieder abgegeben, wobei das Henry-Nernstsche Verteilungsgesetz anwendbar ist. An der Bindung des Phenols können sich die Aminogruppen nur geringfügig beteiligen, da sie nur mit etwa 0,8 Millimolen in 1 Gramm Wolle enthalten sind, während die Phenolaufnahme zehnmal so groß ist. Diese erfolgt bei $p_H 5,0$ in der Nähe des isoelektrischen Punktes der Wolle, bei welchem die Säurebindung der Aminogruppen ihr Minimum erreicht. Modellversuche zeigten, daß Cellulosefasern nur geringe Mengen Phenol aufnehmen, während Naturseide und Superpolyamide Phenol beträchtlich zu binden vermögen. Superpolyamide quellen bereits in 3-proz. wäßriger Phenollösung irreversibel auf. Da die wesentlichen Querbindungen in Superpolyamiden Wasserstoffbrücken sind, folgern wir, daß auch in

Phenol-konzentration %	Trockenbruch-dehnung %
Test	38,8
1,0	39,2
3,0	47,4
5,0	51,8
7,0	55,8

Tab. 2. Trockenbruchdehnung von Wollfasern in Abhängigkeit von der Konzentration der Phenollösung während der Vorbehandlung.

Der Elastizitätsmodul wird durch Phenolaufnahme herabgesetzt. Die Dehnungs- und Entdehnungskurve einzelner Wollfasern wurde zunächst in reinem Wasser mittels stufenweiser Be- und Entlastung registriert und nach Erholung auf die Anfangslänge an der gleichen Faser dieselbe Behandlung in Phenollösung durchgeführt. Wie die Abb. 1 zeigt, ist die Belastung, welche zu einer Dehnung von 20 bis 30 % erforderlich ist, in 7-proz. Phenollösung erheblich kleiner als diejenige in Wasser. Die Wollfasern verhalten sich bei der Entdehnung in beiden Medien gleichartig. Aus diesen Versuchen geht hervor, daß der Elastizitätsmodul nicht nur durch Spaltung von Cystin- und Salzbindungen, sondern auch von Wasserstoffbrücken herabgesetzt wird. Die Anziehungskräfte zwischen den Ketten werden bereits bei der Sorption von Wasser verringert, wobei die Dehnbarkeit und Reißgrenze der Faser erhöht wird. Phenol ist wirksamer als Wasser. Quellungsversuche ergaben, daß Phenol das von den Peptidgruppen gebundene β -Wasser (Speakman¹¹) sowie einen Teil des Kapillarwassers verdrängt.

¹¹ J. B. Speakman, Trans. Faraday Soc. 40, 6 [1944].

3. Superkontraktion von Keratinfasern mit Phenolkörpern

Wenn man Keratinfasern mit Phenollösungen erwärmt, treten irreversible Veränderungen auf, unter denen die Verkürzung der Faser (Superkontraktion) am deutlichsten in Erscheinung tritt. Diese erreicht bei Roßhaaren, in 25-proz. Phenol 10 Minuten lang erhitzt, bereits bei 85° einen Betrag von 15 %, während hierzu mit Formamid eine Temperatur von 115°, mit Wasser sogar von 135° erforderlich ist. Die Temperaturabhängigkeit der Verkürzung von Roßhaaren in einer 25-proz. wäßrigen Phenolschmelze ist in Abb. 2 graphisch dargestellt. Die Superkontraktion hängt ferner wie beim Formamid von der Konzentration stark ab. In der Abb. 3 ist die 100°-Isotherme der Superkontraktion von Roßhaaren in Abhängigkeit vom Mischungsverhältnis Phenol:Wasser aufgetragen. Die Superkontraktion steigt bei einer Konzentration von 10% Phenol stark an, erreicht ihr Maximum bei 25% und fällt bis 90% langsam und bei noch höheren Konzentrationen des Phenols stark ab. Außer dem gewöhnlichen Phenol erwiesen sich auch die beiden Dioxybenzole Brenzcatechin und Resorcin als starke Superkontraktionsmittel. Die Konzentrationsabhängigkeit der Superkontraktion bei 100° und einer Erhitzungsdauer von 20 Minuten ist in Abb. 4 graphisch dargestellt. Die Verkürzung erreicht in einer 45-proz. Resorcinschmelze ein deutliches Maximum. Dieses liegt im Falle von Brenzcatechin bei 40%. Das Hydrochinon verhält sich abweichend von seinen Isomeren. Selbst bei Verwendung einer 50-proz. Schmelze bleibt die Faserschrumpfung unter 10% (Abb. 4). Von substituierten Phenolen untersuchten wir *o*- und *p*-Nitrophenol. Roßhaare verkürzten sich in 10-proz. *p*-Nitrophenollösung, 20 Minuten auf 100° erhitzt, nur um 5,7%. Auch eine bei 100° gesättigte wäßrige Lösung von Salicylsäure verkürzte Roßhaare nur um 2,8%.

Um die Wirksamkeit der verschiedenen Phenole für die Auslösung von Superkontraktion zu vergleichen, müssen außer Konzentration, Temperatur und Versuchsdauer auch die p_H -Werte der Phenollösungen berücksichtigt werden. Bei allen untersuchten Phenolderivaten stieg die Superkontraktion mit dem p_H -Wert stark an. Abb. 5 zeigt, daß eine 7,5-proz. Phenollösung bei $p_H = 5$ eine Superkontraktion von nur 3%, bei $p_H = 8$

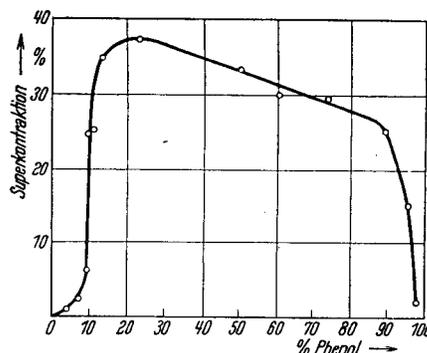


Abb. 3. Abhängigkeit der Superkontraktion von Roßhaaren vom Mischungsverhältnis Phenol:Wasser bei 100° und 20 Minuten.

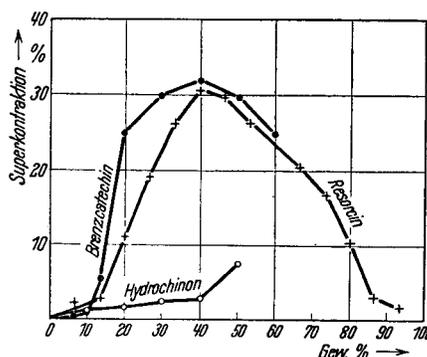


Abb. 4. Abhängigkeit der Superkontraktion von Roßhaaren in Brenzcatechin, Resorcin und Hydrochinon bei 100° und 20 Minuten Erhitzungsdauer von der Konzentration.

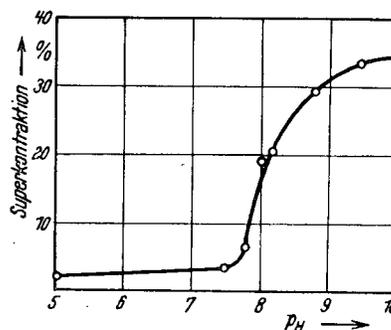


Abb. 5. Abhängigkeit der Superkontraktion von Roßhaaren in einer 7,5-proz. Phenollösung (100°, 20 Minuten) vom p_H -Wert.

eine solche von 20% herbeiführt. Bei den Nitrophenolen und der Salicylsäure bewirkt p_H -Erhöhung starke Superkontraktion. Eine 1-mol. Salicylsäure superkontrahiert z. B. Roßhaare bei $p_H = 9,3$ um 25% und eine 0,6-mol. Lösung von *o*-Nitrophenol bei $p_H = 9$ um 14%. K ü n t z e l

nimmt an, daß die freien Säuren vielfach deswegen nicht hydrotrop wirksam sind, weil die betreffende hydrophile Gruppe von den Aminogruppen des Eiweiß abgefangen wird¹². In unseren Beispielen werden jedoch verhältnismäßig hohe Konzentrationen angewendet, so daß nur eine untergeordnete Menge hydrophiler Gruppen durch Reaktion mit den Aminogruppen ausscheiden kann.

Die Zunahme der Schrumpfung von Keratinfasern in schwach alkalischen Phenollösungen kann von der reinen Alkaliwirkung experimentell abgegrenzt werden. Keratinfasern schrumpfen selbst in $1/40$ -mol. Natronlauge bei 100° in 20 Min. nur geringfügig. Für die Deutung der p_H -Abhängigkeit der Phenolüberkontraktion ist sowohl die Reaktionsfähigkeit des Phenols als auch die der Querbindungen in den Faserkeratinen zu untersuchen.

4. Veränderungen im Feinbau von Keratin durch Erhitzen mit hydrotropen Körpern

Untersucht man Keratinproben, welche durch Erhitzen mit hydrotropen Mitteln irreversibel geschrumpft sind, mit der Röntgenmethode, so zeigt sich, daß das orientierte α -Keratin-Röntgenogramm in desorientiertes β -Keratin umgewandelt worden ist (d -Keratin). Der röntgenoptisch festgestellten Desorientierung entspricht eine Abnahme der Quellungsanisotropie sowie der Doppelbrechung. In Tab. 3 sind Superkontraktion,

Minuten	Superkontraktion %	Quellung in %			Faktor Fläche/Länge	Doppelbrechung $\times 10^4$
		Länge	Breite	Fläche		
0	0	0,3	9,0	19,0	63	42
5	8,5	3,1	10,2	21,5	6,9	10
20	30,7	5,2	12,0	25,5	4,9	10
40	31,4	4,5	10,3	21,8	4,8	10
60	38,2	4,7	10,3	21,8	4,6	9

Tab. 3. Superkontraktion, Quellungsanisotropie und Doppelbrechung in Abhängigkeit von der Einwirkungsdauer von 50-proz. Resorcinlösung auf Roßhaare bei 100° .

Quellungsanisotropie und Doppelbrechung in Abhängigkeit von der Einwirkungsdauer von 50-proz. Resorcin auf Roßhaare bei 100° zusammengestellt. Man erkennt die starke Abnahme der Meßdaten im Verlauf der Superkontraktion.

¹² A. Küntzel, l. c. 7, S. 580.

5. Chemische Veränderung der Keratine nach Erhitzen mit Phenolkörpern

Es erhebt sich die Frage, ob die in den vorigen Abschnitten beschriebenen Formänderungen von Keratinfasern und die Umwandlung von α - in d -Keratin mit der Spaltung chemischer Bindungssysteme einhergeht. Unter Reaktionsbedingungen, bei welchen mit Formamid oder Phenol eine starke Superkontraktion ausgelöst wird, trat ein nennenswerter Substanzverlust nicht auf. Die kolorimetrische Cystinanalyse ergab, daß die Disulfidbindungen intakt bleiben. Eine Spaltung von Peptidbindungen war nicht festzustellen. Im Falle von Formamid ist nach Micheel¹³ eine Reaktion mit den Aminogruppen wahrscheinlich. Bei den genannten Bedingungen erfolgt also kein Abbau von Hauptvalenzbindungen, sondern eine Spaltung von interchenaren Nebervalenzbindungen, insbesondere den Wasserstoffbrücken, wodurch die Kohäsion der Ketten und Roste herabgesetzt und diese beweglich werden. Diese Feststellung gilt bei stärkeren Einwirkungsbedingungen nur beschränkt. Hier erfolgt ein simultaner Abbau von Hauptvalenzbindungen. Wenn man z. B. Wolle mit einer 25-proz. Phenollösung 1 Stde. lang auf 100° erhitzt, werden 7%, in 3 Stdn. 25% vom Cystin abgebaut. In 50-proz. Phenollösung beträgt dagegen der Cystinverlust selbst nach 4 Stdn. nur 9%. In Tab. 4 ist Cystingehalt, Alkalilöslichkeit und tryptische Verdaulichkeit in Abhängigkeit von der Dauer der Einwirkung 50-proz. Phenols auf Wolle bei 100° zusammengestellt.

Dauer in Minuten	Cystingehalt %	Löslichkeit (%) in $n/10$ -NaOH, 65° , 60 Min. ¹⁴	Verdaulichkeit (%) in 0,05-proz. Pankreatin 6×24^h , 42°
Unbehandelt	11,1	11,0	18,2
20	10,8	11,8	74,1
40	10,6	14,0	85,2
60	10,5	16,1	88,4
120	10,3	20,4	89,4
240	10,1	20,5	96,4

Tab. 4. Cystingehalt, Alkali- und Pankreatinlöslichkeit in Abhängigkeit von der Einwirkung 50-proz. Phenols auf Wolle bei 100° .

¹³ F. Micheel, Chem. Ber. 80, 37 [1947].

¹⁴ M. Harris u. A. L. Smith, J. Res. nat. Bur. Standards 18, 623 [1937].

Während die Alkalilöslichkeit im Verlauf der Phenoleinwirkung nur wenig zunimmt, ist die plötzliche Erhöhung der Verdaulichkeit bereits nach kurzem Erhitzen auffallend. Wir hatten gefunden, daß die Pankreatin-Löslichkeit vom Feinbau des Keratins beeinflusst wird, indem natives α -Keratin nur zu etwa 10%, desorientiertes β -Keratin (*d*-Keratin) dagegen zum größten Teil verdaulich ist¹⁵. Der Verdauungsrückstand von mit Phenol denaturiertem Keratin besteht wie im Falle der Formamidbehandlung vorzugsweise aus der Epidermikula¹⁶, deren Cystingehalt um 50% höher liegt als derjenige der ganzen Faser. Wir isolierten beispielsweise aus einer mit Phenol behandelten Schafwolle vom Cystingehalt 12,2% ein Epidermikulapräparat in einer Ausbeute von 8,9%, dessen Cystingehalt 20,4% betrug¹⁷.

6. Weitere Anwendungen der Phenolreaktion in der Keratinforschung

Wir haben gezeigt, daß in der Behandlung von Keratinfasern mit Phenollösungen bei 80 bis 100° eine Möglichkeit gegeben ist, Wasserstoffbrücken zu spalten, ohne daß hierbei die Peptidketten selbst oder Cystinbindungen in nennenswertem Umfang angegriffen werden. Daher kann man mit Hilfe der Phenolreaktion die Eigenschaften der Wasserstoffbrücken studieren. In Verbindung mit der spezifischen Spaltung von Cystin mittels Thio glykolaten lassen sich komplexe Vorgänge in ihre einzelnen Komponenten zerlegen. Für das Problem der Superkontraktion von Keratinfasern z. B. scheint nun bewiesen zu sein, daß nur solche Reagenzien Keratinfasern verkürzen können, welche Wasserstoffbrücken in genügendem Umfang aufspalten. Am allgemeinsten wird eine solche Spaltung von hydrotropen Mitteln, z. B. Phenol, erreicht. Die Behandlung bei Zimmertemperatur genügt jedoch nicht, weil die Befreiung der Ketten, ausgedrückt in der Abnahme des Elastizitätsmoduls, nur geringfügig bleibt. Beim Er-

hitzen sinkt dieser *E*-Modul oberhalb einer bestimmten Temperatur um zwei Zehner-Potenzen ab, und der lineare thermische Ausdehnungskoeffizient schlägt von positiven in negative Werte um. Die Faser beginnt sich zu verkürzen. Hat man die Cystinbindungen spezifisch aufgespalten, so erfolgt keine Superkontraktion. Dieselben Veränderungen im *E*-Modul und das Umschlagen des Ausdehnungskoeffizienten treten jedoch auf, wenn man die reduzierte Faser anschließend z. B. mit 40-proz. Resorcinlösung behandelt. Es ist bemer-

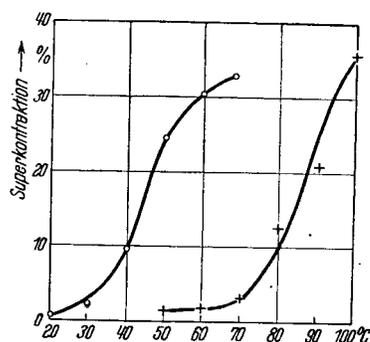


Abb. 6. Temperaturabhängigkeit der Superkontraktion von unbehandelten Roßhaaren (+ + +) und reduzierten Roßhaaren (o o o) in 40-proz. Resorcin ($p_H = 6,9$) in 20 Minuten.

kenswert, daß nunmehr eine Superkontraktion von 15% bereits bei 45°, bei unbehandelten Roßhaaren erst bei 85° erreicht wird (Abb. 6). Die Kombination von Cystin- und Wasserstoffbrücken-Spaltung bedeutet eine Erleichterung der Superkontraktion.

Die Phenolbehandlung ist ferner geeignet, die Einzelvorgänge, welche der eigentümlichen Fixierung gedehnter Keratinfasern zugrunde liegen, aufzuklären. Es ist Aufgabe von weiteren Mitteilungen, diese und andere Beziehungen darzustellen. Im ganzen führen diese Untersuchungen von der zu speziellen chemischen Betrachtungsweise auf eine allgemeinere Deutung der Eigenschaften der Keratinfasern vom Standpunkt der in ihr enthaltenen Ketten und ihrer seitlichen Kohäsion.

Hrn. Prof. Dr.-Ing. E. Elöd bin ich für die Ermöglichung der vorliegenden Arbeit zu wärmstem Dank verpflichtet.

¹⁵ E. Elöd u. H. Zahn, *Melliand Textilber.* **27**, 68 [1946].

¹⁶ E. Elöd u. H. Zahn, *Naturwiss.* **33**, 158 [1946].

¹⁷ Vergl. auch W. B. Geiger, *J. Res. nat. Bur. Standards* **32**, 127 [1944].

Verhalten transplantiertter Ringdrüsen „letal“ *Drosophila*-Larven

Von MARGUERITE VOGT

Aus dem Hirnforschungsinstitut Neustadt (Schwarzwald)

(Z. Naturforschg. 2 b, 292—294 [1947]; eingegangen am 22. Mai 1947)

Es wurden larvale Ringdrüsen der *Drosophila*-Mutante *lethal-giant-larvae* (*lgl*) sowie letaler männlicher *mel/sim*-Bastarde in lebensfähige Wirtslarven verpflanzt. Während zur Zeit der Verpuppung der Wirte die *lgl*-Ringdrüsen-Hauptzellen in ihrer Größe hinter der Norm zurückbleiben, erreichen sowohl die *Corpus-allatum*- als auch die Ringdrüsen-Hauptzellen der *mel/sim*-Männchen eine annähernd normale Größe. Das *in situ* verminderte Wachstum der Ringdrüsen-Hauptzellen der *lgl*-Mutante dürfte daher vorwiegend *genetisch*, dasjenige der *mel/sim*-Männchen in erster Linie *milieubedingt* sein. Die transplantierten Ringdrüsen beider letaler Konstitutionen zeigen in den ersten Stunden des Imaginallebens der Wirtstiere den normalen Untergang der Hauptzellen bei Erhaltung der *Corpus-allatum*- sowie der *Corpora-cardiaca*-Zellen. Die adulten *Corpus-allatum*-Zellen unterscheiden sich von normalen lediglich durch ihre geringere Größe. Eine Funktionsprüfung der ersteren fiel für die *lgl*-Mutante positiv aus.

Bekanntlich kommt es bei der *Drosophila*-Mutante *lethal-giant-larvae* (*lgl*)¹ sowie den letalen männlichen² Larven aus der Kreuzung *D. melanogaster* × *D. simulans* teils zu einem verspäteten Eintritt, teils zu einem völligen Unterbleiben der Bildung des Puppentönchens oder Pupariums. Wie HADORN^{3,4} als erster zeigen konnte, läßt sich in den letalen Larven durch Implantation genetisch normaler Ringdrüsen eine rechtzeitige Pupariumbildung auslösen. Es ist also die Hypodermis der letalen Larven auf Verpuppungshormon reaktionsfähig; die in den letalen Larven normalerweise auftretende Verzögerung bzw. das völlige Unterbleiben der Pupariumbildung sind offenbar die Folge einer *ungenügenden Hormonproduktion* der Ringdrüse letaler Larven. Dabei bleibt unentschieden, ob die ungenügende Hormonproduktion der Ringdrüse durch die *genetische Konstitution* der Ringdrüsenzellen (primäre Pleiotropie HADORN⁵) oder aber durch eine milieubedingte Entwicklungsverzögerung innerhalb des letalen Wirtes (sekundäre Pleiotropie) verursacht ist. Eine Klärung der obigen Frage läßt sich — innerhalb gewisser Grenzen — durch das Transplantationsexperiment erreichen. Im folgenden sei daher über Versuche berichtet, in denen

„letale“ Ringdrüsen in genetisch normale Larven verpflanzt wurden. Da die Ringdrüsenimplantate gleichzeitig über die Metamorphose der Wirtstiere hinaus verfolgt werden konnten, ließen sich ferner auch die durch das vorzeitige Absterben der letalen Wirte *in situ* nicht in Erscheinung tretenden imaginalen Entwicklungspotenzen der letalen Ringdrüsen näher prüfen. Die Ergebnisse sollen hier ebenfalls kurz geschildert werden⁶.

Befunde

1. Verhalten transplantiertter „letal“ Ringdrüsen bis zur Verpuppung der Wirtslarven

Nach SCHARRER und HADORN⁷ ist die Ringdrüse homozygoter *lethal-giant*-Larven durch ein im Vergleich zur Norm *vermindertes Größenwachstum* der Ringdrüsen-Hauptzellen charakterisiert. Entsprechendes gilt in noch stärkerem Maße für die Ringdrüse der letalen männlichen *mel/sim*-Larven.

In Abb. 1c* ist die Ringdrüse einer 72-stdg. männlichen *mel/sim*-, in Abb. 1d zum Vergleich diejenige einer 72-stdg. weiblichen *mel/sim*-Larve abgebildet. Man erkennt deutlich die im Wachstum zurückgeblie-

⁴ E. HADORN u. J. NEEL, Roux' Arch. 138, 281 [1938].

⁵ E. HADORN, Schweiz. med. Wschr. 70, 1237 [1940].

⁶ Für die Anfertigung der histol. Präparate möchte ich Frl. RUTH HÄßLER vielmals danken.

⁷ B. SCHARRER u. E. HADORN, Proc. Nat. Acad. Sci. 24, 236 [1938].

* Abb. 1a—k siehe Tafel S. 296c.

¹ Die Letalität beschränkt sich auf homozygote Tiere.

² Im Gegensatz zu den letalen männlichen *mel/sim*-Larven sind die weiblichen *mel/sim*-Larven voll lebensfähig.

³ E. HADORN, Naturwiss. 25 [1937]; Proc. Nat. Acad. Sci. 23 [1937].

benen Drüsenzellen der männlichen Bastardlarve; im Gegensatz zur Mutante *lgl* sind hier neben den Hauptzellen (Hz) auch die dem *Corpus allatum* (*C. a.*) zugehörigen Ringdrüsenzellen von der Wachstumshemmung betroffen. Die in Abb. 1c abgebildete Größe der Zellen wird auch in älteren männlichen *mel/sim*-Larven nicht überschritten.

Es war daher zu prüfen, ob die Wachstumshemmung — die zugleich die Ursache für die oben erwähnte ungenügende Produktion von Verpuppfungshormonen in den letalen Larven sein dürfte — bei Verpflanzung der letalen Ringdrüsen in ein normales Milieu ausbleibt. Zu diesem Zwecke wurden Ringdrüsen von *lgl*^s- sowie von männlichen *mel/sim*-Larven in die Leibeshöhle normal lebensfähiger Larven transplantiert und die Implantate zur Zeit der Pupariumbildung der Wirtslarven auf ihre Zellgröße untersucht.

Als Wirte für die *lgl*-Implantate wurden die aus den gleichen Zuchten stammenden heterozygoten *lgl cn bw/Cy cn*²-Larven, als Wirte für die männlichen *mel/sim*-Implantate die weiblichen *mel/sim*-Bastardlarven gewählt. Das Alter aller Wirtslarven betrug zur Zeit der Implantation 38—40 Stdn., dasjenige der *lgl*-Spenderlarven stets 38—40 Stdn., dasjenige der *mel/sim*-Spenderlarven dagegen 24—26, 38—40 oder 62—64 Stunden. Um das Auffinden der Implantate zu erleichtern, wurden die Ringdrüsen stets zusammen mit den larvalen Hirnhemisphären sowie den mit diesen verbundenen Augen-Antennen-Imaginalseiben verpflanzt. Da letztere bei den in Frage kommenden letalen Larven auch unter den normalen Milieubedingungen mehr oder weniger stark degenerieren, war hiermit gleichzeitig die Möglichkeit gegeben, stets die genetische Konstitution der Implantate zu verifizieren.

In Abb. 1b ist ein Schnitt durch eine transplantierte *lgl*-, in Abb. 1e und 1g durch eine transplantierte männliche *mel/sim*-Ringdrüse wiedergegeben. Während die Hauptzellen der *lgl*-Ringdrüse auch im normalen Wirt in ihrer Größe hinter der Norm zurückbleiben (vergl. Abb. 1b mit Abb. 1a), ist der fördernde Einfluß des normalen Wirtsmilieus auf die letale *mel/sim*-Ringdrüse sehr ausgeprägt (vergl. Abb. 1e u. 1g mit Abb. 1c u. 1f). Dies ist besonders deutlich zu erkennen in dem Schnitt der Abb. 1g. Es handelt sich um einen derjenigen Fälle, in denen die letale Ringdrüse in einen jüngeren Wirt verpflanzt wurde. Der fördernde Einfluß erstreckt sich hier sowohl auf die Hauptzellen als auch auf die Zellen des *Corpus*

^s Die *lgl*-Larven stammten aus einer *lgl cn bw/Cy cn*²- (= *lethal-giant-cinnabar-brown/Curly-cinnabar-2*)-Kultur, die Hr. Prof. Hadorn zur Verfügung stellte, wofür ich meinen besten Dank aussprechen möchte.

allatum. (In schroffem Gegensatz hierzu steht das Verhalten der zusammen mit der letalen *mel/sim*-Ringdrüse verpflanzten Hirnhemisphären und Augenantennenscheiben, die stark in ihrem Wachstum zurückgeblieben sind und gleichzeitig degenerierende Zellen aufweisen, s. Pfeile Abb. 2a und b.)**

Die Untersuchung weiterer, hier nicht abgebildeter Implantate letaler Ringdrüsen ergab ähnliche Befunde. Zusammenfassend können wir somit schließen, daß die *in situ* herabgesetzte Wachstumsintensität der letalen Ringdrüsen bei der Mutante *lgl* vorwiegend durch die *genetische Konstitution* der Ringdrüsenzellen, bei den männlichen Bastardlarven dagegen in erster Linie *milieubedingt* ist. Diese Schlußfolgerung hat für den Fall der Mutante *lgl* allerdings nur dann Gültigkeit, wenn eine schon vor der Transplantation erfolgte Schädigung der *lgl*-Ringdrüsen durch das letale Milieu ausgeschlossen werden kann. Diese Voraussetzung ist durch die Tatsache gerechtfertigt, daß die Größe der Zellen der *lgl*-Ringdrüsen zur Zeit der Transplantation noch nicht von der normalen abweicht.

2. Verhalten transplantiertes „letales“ Ringdrüsen während des Imaginallebens der Wirtstiere

Bei *Drosophila* degenerieren normale Ringdrüsenhauptzellen — *in situ* wie auch im Transplantat (Vogt^o) — in den ersten Stunden des Imaginallebens, so daß von der larvalen Ringdrüse in der Imago nur die Zellen des *Corpus allatum* sowie der *Corpora cardiaca* persistieren. Ein entsprechendes Verhalten zeigten auch die transplantierten Ringdrüsen von homozygoten *lgl*- und männlichen *mel/sim*-Larven.

In Abb. 1h u. i sowie Abb. 2d u. e sind zwei letale Ringdrüsenimplantate wiedergegeben, die einige Stunden nach Schlüpfen der Wirtsimagines fixiert wurden. In beiden Fällen ist die beginnende Degeneration der Hauptzellen an dem Auftreten sich mit Hämatoxylin dunkel färbender Kugeln (s. Pfeile) zu erkennen. In älteren Wirtsimagines verschwinden die Hauptzellen völlig, während die Zellen des *Corpus allatum* und der *Corpora cardiaca* auch auf diesem Stadium deutlich erhalten bleiben (Abb. 1j u. k; Abb. 2g, h u. j).

Der einzige histologische Unterschied, der sich bei den adulten Ringdrüsen letaler Spenderlarven aufzeigen ließ, war eine durchschnittlich *gerin-*

^o M. Vogt, Roux' Arch. 142, 131 [1942].

** Abb. 2a—j siehe Tafel S. 296 d.

gere Größe der *Corpus-allatum*-Zellen (vergl. die *Corpus-allatum*-Zellen in Abb. 1 j und Abb. 2 g u. h mit denjenigen einer weiblichen *mel/sim*-Spenderlarve¹⁰ in Abb. 2 i).

In einer letzten Versuchsserie wurde die Funktionsfähigkeit der „adulten“ *Corpus-allatum*-Zellen der Mutante *lethal-giant-larvae* näher untersucht. Es wurden zu diesem Zwecke je zwei *lgl*-Implantate 2 bis 9 Tage nach dem Schlüpfen der *Cy*-Wirt in allatectomierte¹¹ *D. hydei*-Weibchen übertragen und ihr Einfluß auf die Wirtseierstöcke geprüft. Wie aus der Tab. ersichtlich ist,

Alter der <i>Cy</i> -Wirtsimago zur Zeit der Übertragung des <i>lgl</i> -Implantates in den <i>hydei</i> -Wirt	Bildung reifer Eier	Ausbleiben der Eireifung	n
2 Tage	3	—	3
3 "	3	1	4
5 "	4*	—	4
7 "	1	—	1
9 "	1	—	1
Total	12	1	13
Kontrollen	—	13	13

* In 3 Fällen wurden an Stelle der gesamten Gehirnringdrüsenkomplexe lediglich die abpräparierten Ringdrüsen implantiert.

Tab. Förderung der Eireifung in allatectomierten *D. hydei*-Weibchen durch Implantation „adulten“ *lgl*-Gehirnringdrüsenkomplexe.

kam es in 12 der 13 *hydei*-Weibchen zur Eireifung, während letztere in 13 Kontrollweibchen, in die an Stelle der *lgl*-Implantate lediglich Ringerlösung injiziert wurde, ausblieb.

Da die *lgl*-Implantate neben den adulten Ringdrüsen auch noch Hirngewebe enthalten, ließe sich die Förderung der Eireifung auch auf eine Mitübertragung in den Hirnhemisphären gespeicherten *Corpus-allatum*-Hormones zurückführen. Eine solche Mitübertragung gespeicherten Hormones konnte indessen für 3 Fälle der Tab. (s. *) mit Sicherheit ausgeschlossen werden. So war es in diesen 3 Fällen möglich, die adulten Ringdrüsen vor der Übertragung in den *hydei*-Wirt von den Hirnhemisphären abzulösen und getrennt zu verpflanzen. Die *hydei*-Weibchen mit den isolierten Ringdrüsen-Implantaten bildeten reife Eier aus, während eine Eireifung in den Weibchen mit den Gehirn-Implantaten ausblieb.

Es ist also bei der Mutante *lgl* die *Persistenz* der *Corpus-allatum*-Zellen mit einer solchen der *Funktion* verbunden.

Bekanntlich gliedert H a d o r n¹² die Organe der *lgl*-Mutante in drei Gruppen: die ganz normalen, die im Wachstum gehemmten, aber eine unveränderte Zellstruktur zeigenden Organe und die degenerierenden Organe. Nach dieser Gliederung gehört das adulte *Corpus allatum* der Mutante *lethal-giant* ebenso wie die larvalen Hauptzellen der Ringdrüse zur zweiten Gruppe. Dabei zeigt die oben nachgewiesene Funktionsfähigkeit der adulten *lgl*-*Corpus-allatum*-Zellen von neuem die Berechtigung, mit H a d o r n die zweite Organgruppe von den degenerierenden Organen der dritten Gruppe zu trennen.

¹⁰ Die abgebildete Größe gilt in gleicher Weise für heterozygote *Cy*-Spenderlarven.

¹¹ Aus rein technischen Gründen wurden stets zusammen mit dem *Corpus allatum* auch die *Corpora cardiaca* und das *Ganglion hypocerebrale* entfernt.

¹² E. H a d o r n, Arch. Jul.-Klaus-Stiftg., Ergänzgsband zu 20, 82 [1945].

Untersuchungen über basophile Plasmastrukturen

Von ANGELA NOLTE

Aus dem Zoologischen Institut der Universität Münster

(Z. Naturforsch. 2 b, 295—300 [1947]; eingegangen am 3. März 1947)

Die biochemische Methode von Brachet zum Nachweis der Ribonucleinsäuren wurde mit der Methode von Pischinger zur Bestimmung der Umladungsbereiche mit acidimetrisch abgestuften Farblösungen und mit polarisationsoptischen Untersuchungen kombiniert. Es wurde auf diese Weise die basophile Struktur der verhornenden Epidermis, des Ergastoplasmas und der Nißl-Schollen untersucht.

Es konnte gezeigt werden, daß der von Zeiger bei verhornenden Epithelien beschriebene Ladungsschwund primär nichts mit der Alterung von Geweben (Protoplasmahysteresis von Ružička) zu tun hat. Dieser Ladungsschwund beruht vielmehr auf der Abnahme der Konzentration der Ribonucleotide von der Epithelbasis zur Oberfläche hin.

Weiterhin wurden Ribonucleotide nachgewiesen im Ergastoplasma des Pankreas der weißen Maus und in den Nißl-Schollen der Ganglienzellen des Rückenmarks der weißen Maus.

Die Doppelbrechung des Ergastoplasmas erwies sich als abhängig von einem orientierten Einbau der Ribonucleinsäuren. Nach der Behandlung des Ergastoplasmas mit Ribonuclease ist die Doppelbrechung nicht wieder hervorzurufen.

Mit der Entwicklung der Färbungstechnik in der zweiten Hälfte des vorigen Jahrhunderts wurde es deutlich, daß bestimmte Zellelemente basische, andere saure oder neutrale Farbstoffe bevorzugen. Da die Kerne in der Regel eine besondere Affinität zu basischen Farbstoffen zeigen, bezeichnete man diese Farbstoffe als „Kernfarbstoffe“ und hielt konsequenterweise alle Strukturen des Cytoplasmas, die in ähnlicher Weise eine Vorliebe für solche Farbstoffe zeigen, für vom Kernchromatin abstammende Gebilde.

Hertwig prägte für diese Plasmastrukturen den Ausdruck „Chromidien“. Die Cytologen glaubten durch ihre mit den verschiedensten Färbungstechniken durchgeführten Untersuchungen nachweisen zu können, daß wirklich ein Chromatinaustritt durch die Kernmembran hindurch erfolge, und zwar besonders stark in Zellen mit lebhafter Tätigkeit. Goldschmidt¹ ging in seiner Chromidialtheorie so weit, Ergastoplasma, Dotterkerne, Nißl-Schollen, Mitochondrien u. a. mit Chromidien zu homologisieren.

Zu der plötzlichen Ablehnung der Chromidialtheorie trugen in besonderem Maße die Entwicklung der Cytogenetik einerseits und die histochemische Erforschung der Kernstrukturen andererseits bei. Die Cytogenetik hatte eine grundsätzliche Trennung der Chromosomenstrukturen vom Plasma erwiesen, und

¹ R. Goldschmidt, Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebszellen. Zool. Jb. 21, 49—140 [1909].

² T. Caspersson, Untersuchungen der Nucleinsäureverteilung im Zellkern. Z. wiss. Mikroskopie mikroskop. Techn. 53 [1936].

Feulgen erbrachte mit seiner Nuclealreaktion den eindeutigen histochemischen Nachweis, daß die Thymonucleinsäure, auf der die starke Färbbarkeit der Kerne mit basischen Farbstoffen im wesentlichen beruhen muß, auf Chromosomen bzw. Zellkerne beschränkt ist. (Heute wissen wir, daß sie außerdem in Bakterien, Cyanophyceen und Viren außerhalb eines Zellkernes vorkommt.) Hierdurch schien die Chromidialnatur der basophilen Plasmastrukturen ernstlich in Frage gestellt.

Die Vermutung jedoch, daß auch für die typische Basophilie des Cytoplasmas Nucleinsäuren mitverantwortlich zu machen sind, konnte neuerdings durch zwei Methoden exakt bewiesen werden: einmal mit der Messung der Absorptionsspektren in ultraviolettem Licht nach Caspersson² und zum anderen mit der histochemischen Methode, wie sie Brachet³ angewandte. Caspersson vermochte mit Hilfe der Mikroskopie in ultraviolettem Licht zum erstenmal im Cytoplasma exakt Nucleinsäuren zu erfassen, die keine Feulgense Nuclealreaktion geben. Es handelt sich um Nucleinsäuren von Ribosenatur.

Schon vor Brachet hatte u. a. van Herwerden⁴ durch ihre Lösungsversuche mit Nuclease aus der Milz zu beweisen geglaubt, daß basophile Strukturen, wie Nißl-Schollen usw., aus Nucleinsäuren

³ J. Brachet, Der histochemische Nachweis der Pentosenucleinsäuren. C.R. Séances Soc. Biol. Filiales Associées 133 [1940].

⁴ M. A. van Herwerden, Über die Nucleasewirkung auf tierische Zellen. Arch. Zellforsch. 10 [1913]; Über die Nuclease als Reagens auf die Nucleinsäureverbindungen der Zelle. Anat. Anz. 47 [1914].

bestehen. Nach der heutigen Auffassung können aber diese Ergebnisse von van Herwerden nicht als Kriterium gewertet werden, da es sich bei der Nuclease aus der Milz wohl um ein Fermentgemisch gehandelt hat. Erst die Versuche von Brachet mit einer spezifischen Nuclease, der Ribonuclease aus Rinderpankreas, ermöglichen uns einen einfachen und exakten histochemischen Nachweis der Ribonucleotide des Cytoplasmas. Dieses Ferment zeichnet sich durch eine Beschränkung seiner Wirkung nur auf die Ribonucleinsäuren aus. Weder die Thymonucleinsäure, noch die Eiweißstoffe, noch die Glykoproteide werden angegriffen. Wichtig ist ferner, daß die Wirkung der kristallisierten Ribonuclease auf die Hefenucleinsäuren durch biochemische Untersuchungen weitgehend geklärt wurde (Fischer, Schramm⁵). Es erfolgt dabei ein Abbau der Polynucleotide bis zu Mononucleotiden und damit eine Vermehrung der freien Säureäquivalente, und zwar entsteht auf vier der vorhandenen Aciditäten eine neue.

Brachet verglich die Wirkung seiner aus Rinderpankreas gewonnenen Ribonuclease mit der Wirkung der kristallisierten Ribonuclease und erzielte bei seinen Untersuchungen an Gewebestückchen oder Paraffinschnitten mit beiden die gleichen Ergebnisse. Nach der Behandlung mit Ribonuclease bei 65° bis 70° zeigen die basophilen Strukturen des Plasmas keine Affinität zu basischen Farbstoffen mehr. Dieses Verschwinden der Affinität zu basischen Farbstoffen nach der Fermenteinwirkung gilt nach Brachet als Kriterium für das Vorhandensein von Ribonucleotiden. Brachet selbst beschrieb die Wirkung des Fermentes mit folgenden Worten: „La ribonucléase n'a donc provoqué aucune attaque des protéines, elle a simplement fait disparaître leur basophilie.“

Während nun Schramm und Fischer bei ihren biochemischen Untersuchungen der Ribonucleasespaltung der Hefenucleinsäure eine Zunahme der Aciditäten feststellen konnten, fand Brachet, daß die von ihm untersuchten Strukturen und Gewebe ihre starke Acidität, die sich in ihrer Affinität zu basischen Farbstoffen zeigte, nach der Fermenteinwirkung verloren haben. Es ist selbstverständlich, daß die an Geweben oder Paraffinschnitten durchgeführten Fermentversuche viel zu komplexer Art sind, als daß man sich schon jetzt exakte Vorstellungen von den hervorgerufenen Veränderungen machen könnte. Ziehen wir aber in Erwägung, daß Brachet⁶ feststellen konnte, daß sich nach der Einwirkung von Ribonuclease auf Organisator-Implantate in der gebrauchten Fermentlösung im großen Überfluß lösliche Derivate der Ribonucleinsäure befanden, so könnte man vermuten,

⁵ F. G. Fischer, Zum enzymatischen Abbau und zur Struktur der Nucleinsäuren. Naturwiss. 1942, 377—408; G. Schramm, G. Bergold u. H. Flammersfeld, Zur Konstitution der Hefenucleinsäure. Z. Naturforschg. 1, 328 [1946].

⁶ J. Brachet, Embryologie chimique [1944].

⁷ A. Pischinger, Die Lage des isoelektrischen Punktes histologischer Elemente als Ursache ihrer verschiedenen Färbbarkeit. Z. wiss. Biol., Abt. 13, Z. Zellforschg. 3, 169—197 [1926].

daß die die Basophilie hervorrußende Ribonucleinsäure durch das Ferment gespalten wird (vielleicht bis zu Mononucleotiden) und die entstehenden Teilprodukte mehr oder weniger in Lösung gehen. Auf diese Weise könnte man sich das Verschwinden der Basophilie erklären. Andererseits wäre es denkbar, daß die freien Säuregruppen innermolekular verestert werden und so das Verschwinden der Basophilie hervorrufen. Für die vorliegenden Untersuchungen war die Entscheidung dieser Frage von keiner wesentlichen Bedeutung. Wichtig ist lediglich, daß die Ribonuclease eine spezifische Wirkung nur auf die Ribonucleotide ausübt.

Meine Aufgabe war es, diese histochemischen Ergebnisse von Brachet in Einklang zu bringen mit den mehr physikalisch gerichteten Untersuchungen von Pischinger⁷, Zeiger⁸ und Ries⁹ über das Ladungs mosaik von Geweben und mit der polarisationsoptischen Methode. Insbesondere war die Richtigkeit der Protoplasmahysteresis für den Verhornungsvorgang mit den Methoden von Brachet und Pischinger zu überprüfen.

Die Untersuchungen wurden auf Anregung und unter Anleitung meines hochverehrten Lehrers, Hrn. Prof. Dr. E. Ries, durchgeführt, der leider im Februar 1944 gefallen ist. Ich werde seiner stets in Dankbarkeit gedenken.

1. Material und Technik

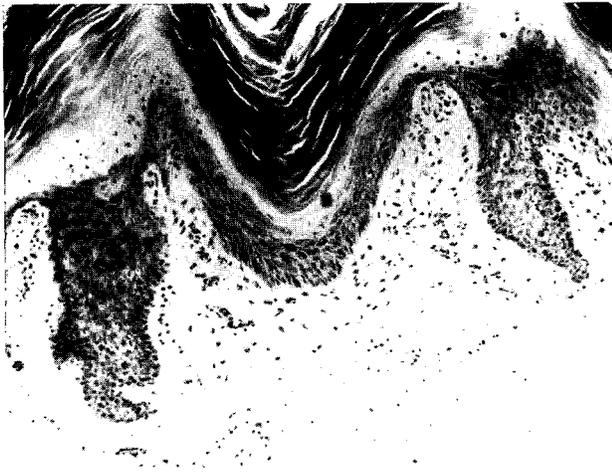
Für die vorliegenden Untersuchungen wurden Drüsenzellen, nervöse Gewebe und verhornendes Epithel benötigt. Ich wählte zu diesem Zwecke Pankreas und Rückenmark der weißen Maus und als verhornendes Epithel Menschen-Zehenhaut, die mir freundlicherweise vom Anatomischen Institut der Universität Münster zur Verfügung gestellt wurde.

Als Fixierungsmittel wurde stets 96-proz. Alkohol angewandt, um eine möglichst geringe Verschiebung des isoelektrischen Punktes (I.E.P.) der Gewebeeisweißstoffe zu erhalten. Die Einbettung erfolgte über Xylol bzw. Benzol in Paraffin, mit Ausnahme der Zehenhaut, deren Sprödigkeit durch eine Behandlung mit Methylbenzoat-Celloidin herabgesetzt wurde.

Die Bestimmung des I.E.P. wurde mit der von Pischinger⁷ ausgearbeiteten Methode mit acidimetrisch abgestuften Lösungen eines nicht umladbaren, hochdispersen, sauren und basischen Farbstoffes (Schering-Kahlbaum-Lösungen, Citrat- und Phosphatgemische) durchgeführt. Als Farbstoffe dienen das basische Methylenblau und das saure Kristallponceau in einer Verdünnung von 1:20000. Zur Fixierung der Methylenblau-Färbung verwandte ich eine 1-proz. Ammoniummolybdat-Lösung.

⁸ K. Zeiger, Das Ladungs mosaik der Epidermis. Z. Zellforschg. 23, 431—441 [1936].

⁹ E. Ries, Zur Histophysiologie des Mäusepankreas nach Lebendbeobachtung, Vitalfärbung und Stufenuntersuchung. Z. Zellforschg. 22, 523—585 [1935].



a) Verhornende Epidermis der menschlichen Zehe.
Methylgrün-Pyronin-Färbung.
Vergr. 110/1.



Abb. 1.

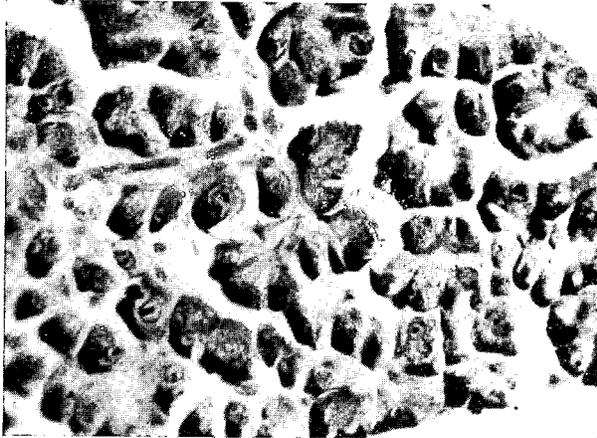
b) Verhornende Epidermis der menschlichen Zehe
nach 1/4-std. Behandlung mit Ribonuclease. Methylgrün-
Pyronin-Färbung.
Vergr. 110/1.



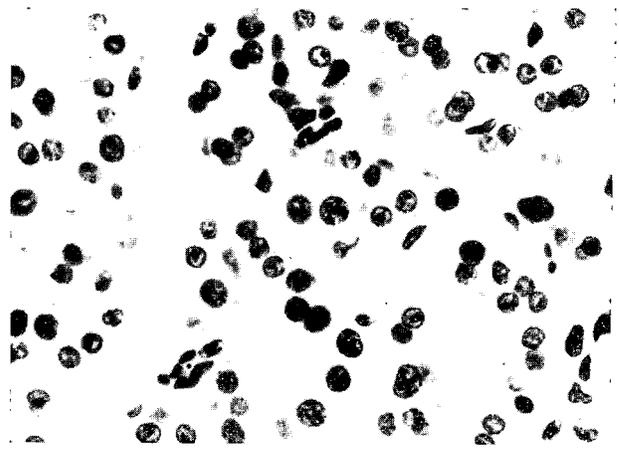
Abb. 2. Verhornende Epidermis der menschlichen Zehe,
1/4 Min. mit Ribonuclease (1 : 1000 verdünnt) behandelt.
Methylgrün-Pyronin-Färbung.
Vergr. 90/1.



Abb. 3. Ausschnitt aus Abb. 2, stark vergrößert.
Vergr. 520/1.

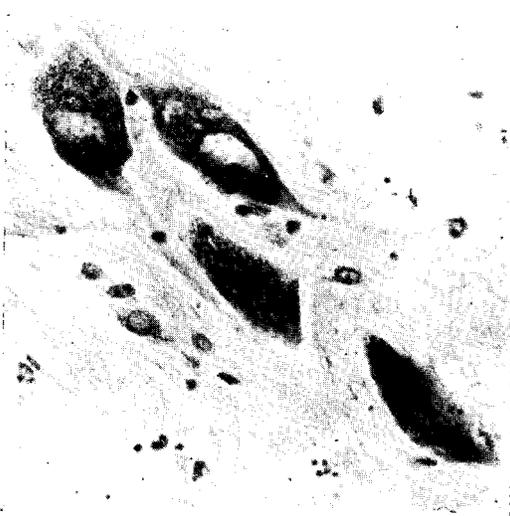


a) Ergastoplasma in den Zellen des Pankreas der weißen Maus. Methylgrün-Pyronin-Färbung. Vergr. 520/1.

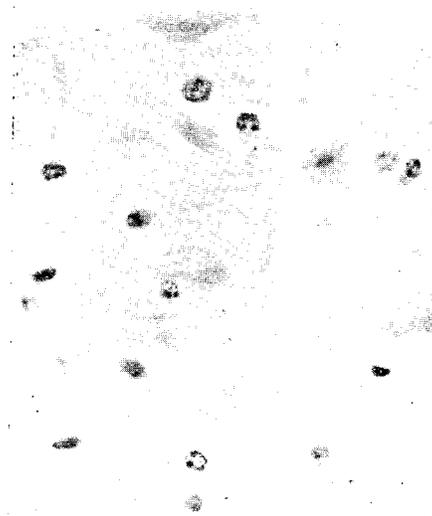


b) Pankreaszellen nach $\frac{1}{4}$ -std. Behandlung mit Ribonuclease. Methylgrün-Pyronin-Färbung. Vergr. 520/1.

Abb. 4.



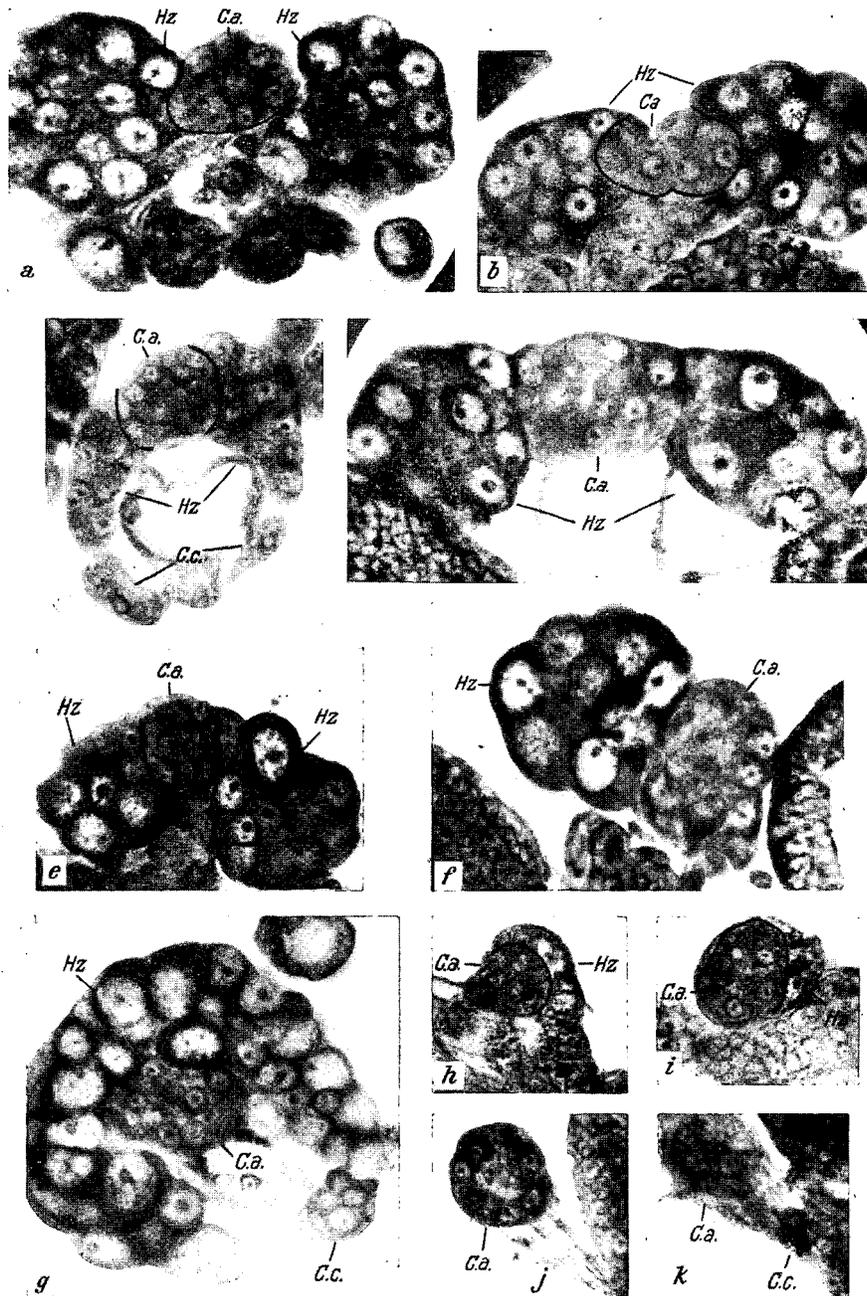
a) Nißl-Schollen in den Nervenzellen des Rückenmarks der weißen Maus. Methylgrün-Pyronin-Färbung. Vergr. 520/1.



b) Nervenzellen des Rückenmarks der weißen Maus nach $\frac{1}{4}$ -std. Behandlung mit Ribonuclease. Methylgrün-Pyronin-Färbung.

Vergr. 520/1.

Abb. 5.



- Abb. 1 a. Schnitt durch eine transplantierte heterozygote *Cy*-Ringdrüse, Wirt weiße Puppe. Vergr. 500/1.
 b. Schnitt durch eine transplantierte *Igl*-Ringdrüse, Wirt weiße Puppe. Vergr. 500/1.
 c. Schnitt durch eine 72-stdg. männliche *mel/sim*-Ringdrüse. Vergr. 500/1.
 d. Schnitt durch eine 72-stdg. weibliche *mel/sim*-Ringdrüse. Vergr. 500/1.
 e. Schnitt durch eine transplantierte männliche *mel/sim*-Ringdrüse. Spenderlarve zur Zeit der Verpflanzung 38—40 Stdn. alt, Wirt zur Zeit der Sektion weiße Puppe. Vergr. 500/1.
 f. Schnitt durch eine transplantierte weibliche *mel/sim*-Ringdrüse. Wirt weiße Puppe. Vergr. 500/1.

g. Schnitt durch eine transplantierte männliche *mel/sim*-Ringdrüse. Spenderlarve zur Zeit der Verpflanzung 62—64 Stdn. Wirt zur Zeit der Sektion weiße Puppe. Vergr. 500/1.

h u. i. Zwei Nachbarschnitte durch eine transplantierte männliche *mel/sim*-Ringdrüse. Spenderlarve zur Zeit der Verpflanzung 24 Stdn. alt, Wirt zur Zeit der Sektion 0—6-Stdn.-Imago. In Pfeilhöhe degenerierende Hz. Vergr. 500/1.

j u. k. Zwei Nachbarschnitte durch eine transplantierte männliche *mel/sim*-Ringdrüse. Spenderlarve zur Zeit der Transplantation 24 Stdn. alt, Wirt zur Zeit der Sektion 3 Tage alte Imago. Vergr. 500/1.

Abkürzungen: *C.a.* = *Corpus allatum*; *H.z.* = Hauptzellen; *C.c.* = *Corpora cardiaca*.

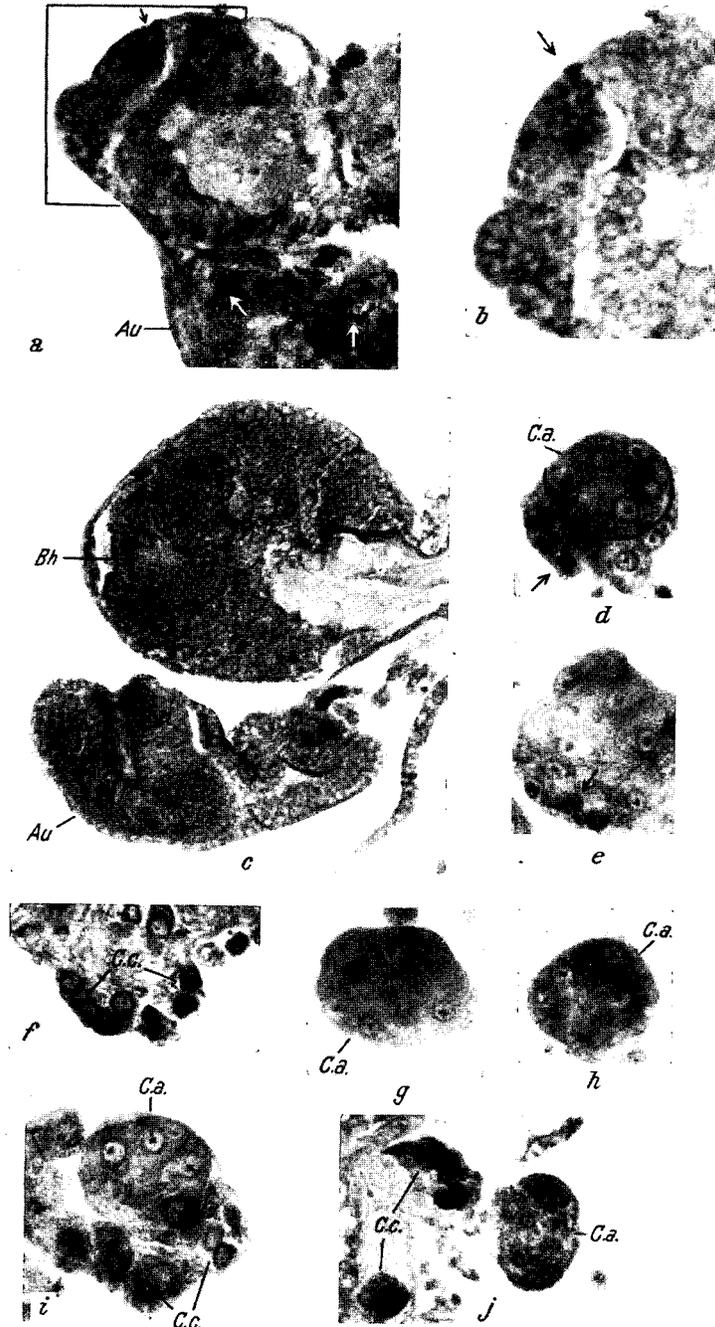


Abb. 2a u. b. Schnitt durch eine Hirnhemisphäre sowie eine Augenscheibe (Au) eines männlichen *mel/sim*-Implantats, dessen zugehörige Ringdrüse in Abb. 1g wiedergegeben ist. In Höhe der Pfeile degenerierende Zellen. Vergr. a 300/1, b 500/1.

c. Schnitt durch eine Hirnhemisphäre sowie eine Augenscheibe (Au) eines weiblichen *mel/sim*-Implantats. Wirt zur Zeit der Sektion weiße Puppe. Bh = Bildungsherde. Vergr. 300/1. Vergl. mit Abb. 2a.

d u. e. Zwei Nachbarschnitte durch eine transplantierte *lgl*-Ringdrüse. Wirt zur Zeit der Sektion 0—6 Stdn. alte Imago. In Pfeilhöhe degenerierende Hz. Vergr. 500/1.

f. Schnitt durch eine transplantierte *lgl*-Ringdrüse. Wirt

zur Zeit der Sektion 0—1 Stdn. alte Imago. Gut erhaltene *Corpora-cardiaca*-Zellen. Vergr. 500/1.

g u. h. Zwei Schnitte durch zwei „adulte“ *lgl-Corpora allata*, in g Wirt 2 Tage alte Imago, in h 3 Tage alte Imago. Vergr. 500/1.

i. Schnitt durch ein transplantiertes „adultes“ *Corpus allatum* einer weiblichen *mel/sim*-Larve. Wirt 2 Tage alte Imago. Vergl. mit g u. h sowie mit Abb. 1j. Vergr. 500/1.

j. Schnitt durch eine zweimal verpflanzte „adulte“ *lgl*-Ringdrüse; die zweite Verpflanzung erfolgte aus der 2 Tage alten *Cy*-Imago in ein *allatectomiertes hydei*-Weibchen. Sektion 3 Tage nach zweiter Übertragung. Vergr. 500/1.

Die polarisationsoptischen Untersuchungen wurden entsprechend den Angaben von Ries¹⁰, nach vorheriger Behandlung der Gewebe mit acidimetrisch abgestuften Lösungen, mit Hilfe des Bernauer Polarisationsfilters von Zeiß durchgeführt.

Für die Lösungsversuche mit Ribonuclease stellte ich die Fermentlösung nach den Angaben von Brachet folgendermaßen her: Rinderpankreas wurde fein zerkleinert und 24 Stdn. bei 37° mit 1—2 Vol. Essigsäure (0,1-n.) behandelt. Dann wurde 10 Min. gekocht (Ribonuclease ist nach Jones¹¹ und Brachet im Gegensatz zu fast allen anderen Fermenten, deren Wirkung beim Erhitzen vernichtet wird, kochbeständig), filtriert, das Filtrat neutralisiert und nochmals filtriert. Daraufhin wurde die Lösung dialysiert und der sich bildende Niederschlag durch Zentrifugieren entfernt.

Die Schnitte wurden von Paraffin befreit, die Alkoholstufen kurz hinuntergeführt und verschieden lange Zeit (5 Min. bis 2 Stdn.) bei 65° bis 70° in die Ribonucleaselösung gestellt. Zur Kontrolle wurden Schnitte gleich lange Zeit bei derselben Temperatur in destilliertes Wasser gebracht.

Sämtliche Mikrophotographien wurden mit dem Panphot (Leitz) unter Anwendung eines Grünfilters angefertigt.

2. Verhornende Epidermis

Von ganz besonderer Bedeutung waren die Untersuchungen des Verhornungsprozesses der Epithelien für eine der wesentlichsten neueren Alterstheorien, nämlich für Ružičkas Protoplasmahysteresis. Ružička und seine Schule¹² führen das Altern von Zellen und Geweben auf kolloidchemische Zustandsänderungen des Protoplasmas zurück. Wie manche Kolloide sich mit der Zeit verändern (Synärese), so soll sich auch die Substanz des lebenden Organismus vom Beginn der Entwicklung bis zum Tode kontinuierlich verdichten. Diese Verdichtung infolge von Wasserverlust soll auf Ladungsschwund beruhen. Nach Ružička sinkt im Laufe der Entwicklung und des individuellen Lebens die H-Ionenkonzentration in den Körpersäften wie auch in den Zellen stetig, d. h. die Ladung der Körpersubstanz nähert sich immer mehr dem Neutralpunkt. Er sieht in der Histogenese der Oberhaut des Molches — also in einem Verhornungsprozeß — einen klassischen Beleg für seine Theorie.

¹⁰ E. Ries, Der submikroskopische Bau der Pankreaszelle. Z. Zellforsch. mikroskop. Anat. 1940, 456—466.

¹¹ W. Jones, Amer. J. Physiol. 52, 203 [1920].

¹² V. Ružička, Beiträge zum Studium der Protoplasmahysteresis. (Zur Kausalität des Alterns.) Roux' Arch. 101, 459—482 [1924]; 116, 104—122 [1929].

Zeiger¹³ glaubte durch seine histologischen Untersuchungen über die Verhornung von Epithelien die Theorie der Protoplasmahysteresis bestätigen zu können. Er bestimmte durch Reihenversuche mit acidimetrisch abgestuften Lösungen je eines nicht umladbaren basischen und sauren Farbstoffes (Methode Pischinger) das Ladungsmosaik der Epidermiszellen. Gleichzeitig ermittelte er die Strukturdichte der verschiedenen Zellschichten, vor allem mit der Heidenhainschen Eisenhämatoxylinfärbung. Er kam zu folgendem Ergebnis: „Bei allen geschichteten Plattenepithelien verschieben sich die Umladungsbereiche in der Richtung von der Epithelbasis bis zur Oberfläche von weit in saurem Gebiet gelegenen Werten nach dem Neutralpunkt zu.“ Parallel zu diesem Befund konnte er eine Zunahme der Strukturdichte in den oberflächlichen Schichten des Epithels feststellen. Er schloß aus diesen Ergebnissen, daß es bei der Differenzierung und Alterung von Zellen in mehrschichtigen Epithelien als Folge der Protoplasmahysteresis zu einer fortschreitenden Synärese der Zellkolloide komme.

Eigene Untersuchungen: Es war zu erwarten, daß die typische Basophilie der verhornenden Epidermis auf einem Gehalt an Ribonucleotiden beruhen muß. Ich führte im Sommer 1941 die Fermentlösungsversuche nach Brachet durch und konnte feststellen, daß nach einer 1-std. Einwirkung der Ribonuclease bei 65° bis 70° die Affinität zu basischen Farbstoffen verloren gegangen war. Die Schnitte ließen sich nicht mehr mit Pyronin anfärben (Abb. 1). Zu dem gleichen Ergebnis gelangte später auch Brachet¹⁴.

Um das Verschwinden der Basophilie näher zu erfassen, führte ich Färbungen mit acidimetrisch abgestuften Farblösungen durch. (Näheres über diese Methode von Pischinger bei Zeiger¹⁵.) Vor der Behandlung mit Ribonuclease stellte ich als Umladungsbereiche (I.E.P.) des Cytoplasmas der verschiedenen Zell-Lagen — kenntlich an dem sprunghaften Rückgang der Färbungsintensität — gleichmäßig in den verschiedenen Zellschichten

¹³ K. Zeiger, s. Anm. 8.

¹⁴ J. Brachet, La localisation des acides pentosenucléiques dans les tissus animaux et les oeufs d'amphibiens en voie de développement. Arch. de Biol. 207 [1942].

¹⁵ K. Zeiger, Der Einfluß von Fixationsmitteln auf die Färbbarkeit histologischer Elemente. Z. Zellforsch. 10 [1930].

folgende Werte fest (Fixierung in 96-proz. Alkohol):

Basale Zellschicht	p_H 2,9
Stachelzellen	p_H 3,4
Obere Zellschicht	p_H 3,9.

Die Übergänge zwischen den einzelnen Zellschichten sind nicht scharf, sondern fließend. Es verschiebt sich also der isoelektrische Bereich des basophilen Plasmas vom Stratum germinativum bis zur Oberfläche langsam von p_H 2,9 in Richtung des Neutralpunktes und zwar um 1 p_H -Einheit.

Ähnliche Verschiebungen hatte Zeiger bei den verschiedensten Plattenepithelien beschrieben, z. B. dem Zahnfleisch (Hutaffe), der Hornhaut (Kaninchen), dem Harten Gaumen (Hutaffe), der Speiseröhre (Pferd).

Nach einer $\frac{1}{4}$ -std. Behandlung der mit Alkohol fixierten Schnitte mit Ribonuclease bei 65° bis 70° wurde ebenfalls die I.E.P.-Bestimmung nach Pischinger durchgeführt. Die einzelnen Schichten der Epidermis zeigten nun kein Ladungs mosaik mehr. Es scheint also ein Zusammenhang zu bestehen zwischen den Ribonucleotiden in der verhornenden Epidermis und dem Ladungsschwund. Sind nun die Ribonucleotide gleichmäßig in den verschiedenen Zellschichten verteilt? Um diese Frage zu beantworten, wurden Verdünnungen der Fermentlösung bis zu 1:1000 hergestellt und die Einwirkungszeit bis auf $\frac{1}{4}$ Min. abgekürzt. Die Abb. 2 zeigt einen Schnitt, der $\frac{1}{4}$ Min. der auf 1:1000 verdünnten Fermentlösung ausgesetzt war. Das Plasma der unteren Zellschichten ist noch schwach mit Pyronin angefärbt, während das Plasma der oberen Zell-Lagen farblos erscheint. Noch deutlicher ist diese Abnahme der Anfärbbarkeit mit Pyronin auf einem vergrößerten Ausschnitt dieses Schnittes zu sehen (Abb. 3). Die geringe Enzymmenge reichte bei der stark abgekürzten Einwirkungszeit nicht aus, um die größeren Mengen von Ribonucleotiden in der untersten Zellschicht zu spalten. Schramm¹⁶ stellte ebenfalls fest, daß mit geringer Enzymmenge die Spaltung der Hefenucleinsäuren sehr unvollständig ist.

Da die Ribonucleotide überall dort, wo sie vorkommen, eine starke Basophilie bedingen, ist wohl beim vorliegenden Versuchsobjekt der Schluß gerechtfertigt, daß die Verschiebung der Umladungsbereiche, die Zeiger bei allen Platten-

¹⁶ s. Anm. 5.

epithelien nachweisen konnte, auf die *Abnahme der Ribonucleotide von der Keimschicht zur Hornschicht* und die damit verbundene Abnahme der Basophilie zurückzuführen ist.

Zeiger glaubte aus dem Ladungsrückgang der Substrate und der zunehmenden Stärke der Doppelbrechung schließen zu können, daß mit fortschreitender Alterung der Zellen als spezifische Kondensationsprodukte der Plasmahysteresis unter Wasserabgabe und Schrumpfung immer mehr und mehr stäbchenförmige Mikrone entstehen. Er nimmt an, daß beim Aneinanderlagern der stäbchenförmigen Proteinmicellen durch die Rückkehr von dissoziierten Ionen in das Gitter des Molekülgefüges geladene Teilchen verschwinden. Statt dieser Annahmen und Vermutungen Zeigers konnte durch die vorliegenden Untersuchungen der Ladungsschwund exakt auf die Abnahme der Ribonucleotide in den einzelnen Zellschichten zurückgeführt werden. Die Tatsache, daß die Ribonucleotide am stärksten in der Keimschicht auftreten, läßt sich durch ihre Bedeutung für die Eiweiß-Synthese erklären. Caspersson und Brachet¹⁷ fanden Ribonucleotide im Plasma stets dort, wo eine rasche Zellvermehrung und vor allem eine Eiweißproduktion stattfindet. Beide Forderungen sind bei unserem Untersuchungsobjekt erfüllt, sowohl die rasche Zellvermehrung in der Keimschicht als auch die starke Produktion von Proteinen als Grundlage für die Keratinbildung.

Es zeigt sich also, daß der Ladungsschwund in verhornenden Epithelien zunächst nichts mit einer Synärese der Zellkolloide zu tun hat, wie es Zeiger annimmt. Er ist vielmehr durch die Abnahme der Ribonucleotide bedingt, die ihrerseits bei der Synthese der Eiweiße mitwirken. An diesen Eiweißen kann sich dann erst die Alterung der Zellkolloide vollziehen.

Auffallend ist es, daß nach Zeiger die Übergangsepithelien keinen Unterschied der Ladungsäquivalente basaler und oberflächlicher Elemente zeigen, wohl aber eine zunehmende Verdichtung der Strukturen. Er versuchte diese Abweichung durch die mehr oder weniger ausgeprägte, mehrreihige Anordnung von Elementen der Basal- und der Zwischenzone zu erklären. Dadurch seien

¹⁷ T. Caspersson, Studien über den Eiweißumsatz der Zelle. Naturwiss. 29, 33 [1941]; J. Brachet, La localisation des acides pentosenucléiques pendant le développement des amphibiens. C.R. Séances Soc. Biol. Filiales Associées 133 [1940].

mehr Zellen unmittelbar mit der gefäßnahen Basis des Epithels in Verbindung als beim Plattenepithel. Die Protoplasmahysteresis wird nämlich nach Ružička durch das Abrücken der Zellen von ihrer Ernährungsbasis beschleunigt. Für dieses unstimme Verhalten von Platten- und Übergangsepithel läßt sich jetzt, da wir annehmen müssen, daß der so auffällige Ladungsschwund, der sich nach Zeiger am deutlichsten bei stark verhornenden Epithelien zeigt, auf einer Abnahme der Ribonucleotide von der Basalschicht zur Hornschicht hin beruht, eine einfachere Erklärung finden. Der Ladungsschwund fehlt nämlich überall dort, wo keine größere Eiweiß-Synthese stattfindet, so bei dem von Zeiger untersuchten Harnleiter-Epithel vom Kaninchen, bei dem mehrreihigen Zylinderepithel vom Mittelteil der Pars cavernosa urethrae des Menschen und dem zweireihigen Epithel aus dem Nebenhodengang von Hund, Maus und Meerschweinchen. In allen diesen Fällen fehlen vermutlich größere Konzentrationen von Ribonucleotiden, da keine besondere Eiweißproduktion wie bei der Bildung von Keratinen vorliegt. Zeiger konnte sowohl bei den Plattenepithelien als auch bei den Übergangsepithelien eine Verdichtung des Plasmas feststellen, also eine Plasmahysteresis. Es ist also unsere Annahme berechtigt, daß *der Ladungsschwund bei verhornenden Epithelien primär nichts mit einer Protoplasmahysteresis zu tun hat.*

3. Ergastoplasma

Als zweites Objekt zur Untersuchung von basophilen Strukturen des Plasmas wählte ich das Ergastoplasma des Pankreas der weißen Maus. Als Ergastoplasma wird eine Plasmazone bezeichnet, die sich vor allem nach Fixierung mit eisessig- und sublimathaltigen Flüssigkeiten durch ihre Affinität zu basischen Farbstoffen auszeichnet (Jacobs¹⁸).

Pankreasschnitte wurden verschieden lange Zeit (2 Min. bis 2 Stdn.) der Wirkung der Ribonuclease aus Rinderpankreas ausgesetzt und dann mit Methylgrün-Pyronin gefärbt. Nach einer 1/4-std. Einwirkung der Ribonuclease färbt sich das Ergastoplasma nicht mehr mit Pyronin (Abb. 4). Zur Kontrolle wurden Schnitte gleich lange Zeit bei derselben Temperatur (65° bis 70°) in destilliertes Wasser gebracht und anschließend mit Methylgrün-Pyronin gefärbt. Es

¹⁸ W. Jacobs, Untersuchungen über die Cytologie der Sekretbildung in der Mitteldarmdrüse von *Astacus lept.* Z. Zellforsch. 8, 1—62 [1929].

zeigt sich außer einer sehr geringen Abblassung der Pyronin-Färbung kein Unterschied gegenüber den unbehandelten Schnitten.

Nach der Fermentbehandlung tritt die typische Ergastoplasma-Struktur bei der Anfärbung mit sauren Farbstoffen wie Lichtgrün wieder deutlich in Erscheinung. Die vorher basophile Struktur ist also durch die Einwirkung von Ribonuclease acidophil geworden. Daraus läßt sich nach Brachet der Schluß ziehen, daß das Ergastoplasma Ribonucleotide enthält, die seine Basophilie bedingen. Das gleiche Ergebnis veröffentlichte Brachet 1942, und ich möchte es hier lediglich als Bestätigung noch einmal erwähnen.

Soweit ich die Literatur übersehen kann, hat Brachet seine Fermentmethode nicht mit der Methode zur Bestimmung der Umladungsbereiche nach Pischinger kombiniert. Ich tat es, um den Wechsel der Affinität durch die Einwirkung der Ribonuclease exakt festzulegen. Es zeigte sich, wie erwartet, eine deutliche Verschiebung des I.E.P. des Ergastoplasmas gegen den Neutralpunkt hin:

I.E.P. nach Alkoholfixierung p_H 3—3,4,

I.E.P. nach Alkoholfixierung
und Fermentbehandlung p_H 5—6.

Der Bereich der Anfärbung mit sauren Farbstoffen ist also deutlich gewachsen.

Ries¹⁹ gelang es, das Ergastoplasma bei der polarisationsoptischen Untersuchung doppelbrechend zu machen, indem er das unfixierte Gewebe mit einer Reihe von acidimetrisch abgestuften Lösungen behandelte. Maximal etwa bei p_H 1,9 tritt eine kräftige Doppelbrechung auf. Um die Einwirkung der Ribonuclease auf die Doppelbrechung des Ergastoplasmas zu überprüfen, brachte ich die mit den gepufferten Lösungen vorbehandelten Gewebestückchen 1/4 Stde. bei 65° bis 70° in die Fermentlösung und untersuchte sie dann polarisationsoptisch. Die Doppelbrechung war nicht mehr festzustellen. Auch nach einer anschließenden, erneuten Behandlung der Stückchen mit gepufferten Lösungen ließ sich das Ergastoplasma nicht wieder doppelbrechend machen. Um sicherzugehen, daß dieses Ausbleiben der Doppelbrechung auf der Einwirkung des Fermentes beruht, nicht aber auf der Temperatur der Lösung, behandelte ich Gewebestückchen auf dieselbe Weise mit destilliertem Wasser. Das polarisa-

¹⁹ E. Ries, s. Anm.¹⁰.

tionsoptische Bild zeigte jedoch wie vorher eine deutliche Doppelbrechung des Ergastoplasmas. Wir können daraus schließen, daß die submikroskopischen Bausteine des basophilen Plasmas durch die Ribonuclease eine Veränderung erfahren haben müssen, die auch durch die Nachbehandlung mit acidimetrisch abgestuften Lösungen nicht reversibel zu machen ist. Wir können annehmen, daß *beim Ergastoplasma die Doppelbrechung auf einem orientierten Einbau bzw. auf Absorption von Nucleinsäuren* (in diesem Falle Ribonucleinsäuren) *beruht*, ähnlich wie es Schmidt²⁰ für den Feinbau der Chromosomen gefunden hat. Auch dort sind Eiweißmicelle an Nucleinsäuremoleküle angelagert oder salzartig gebunden.

4. Ergänzende Untersuchungen

Ähnlich wie beim Ergastoplasma wurden auch bei den Nißl-Schollen aus den Ganglienzellen des Rückenmarks der weißen Maus Fermentlösungsversuche durchgeführt, deren Ergebnisse mit den 1942 von Brachet veröffentlichten übereinstimmen. Die Nißl-Schollen verlieren nach der Behandlung mit Ribonuclease ihre Affinität zu basischen Farbstoffen (Abb. 5) und zeigen eine starke Verschiebung des I.E.P. in Richtung auf den Neutralpunkt.

²⁰ W. J. Schmidt, Die Doppelbrechung von Karyoplasma, Cytoplasma und Metaplasma. Monographien 11, Berlin 1937.

I.E.P. nach Alkoholfixierung p_H 3,5,
I.E.P. nach Alkoholfixierung und
Einwirkung der Ribonuclease p_H 5.

Im Laufe der Untersuchungen konnte weiterhin gezeigt werden, daß einfache Lösungsversuche mit Salzen, Säuren oder Basen nicht als spezifische Reaktionen gewertet werden dürfen. Als Beispiel soll ein Versuch mit 10-proz. NaCl-Lösung näher ausgeführt werden:

Es wurden kleine Stückchen Pankreas 12 Stdn. in 96-proz. Alkohol fixiert und dann 12 Stdn. in 10-proz. NaCl-Lösung gebracht. Anschließend wurden die Stückchen entwässert und in Paraffin eingebettet. Die Schnitte wurden einmal mit Hämalaun-Eosin und zum anderen mit gepufferten Farblösungen gefärbt. Das Ergastoplasma war auf den mit Hämalaun-Eosin gefärbten Schnitten kaum erkennbar. Daß es aber trotzdem nicht herausgelöst wurde, zeigen uns die nach der Methode von Pischinger gefärbten Schnitte. Das Ergastoplasma ist hier deutlich sichtbar, zeigt jedoch eine Verschiebung des I.E.P. zum Neutralpunkt hin, und zwar von p_H 3—3,4 nach Alkoholfixierung bis p_H 5,3. Ähnliche Verschiebungen des I.E.P. zeigt das Ergastoplasma nach Behandlung des Gewebes mit anderen Lösungen, wie 0,5-proz. HCl, konz. NaCl usw.

Wir sehen also, daß das Ausbleiben der Anfärbung nach solchen indifferenten Lösungsversuchen an der Verschiebung der Ladung der Strukturen liegen kann. Wenn man heute überhaupt noch aus derartigen Lösungsversuchen Schlüsse ziehen will, so müßte man sie aber auf jeden Fall mit der Methode von Pischinger kontrollieren.

Über den Einfluß der Kopulation auf die Eiproduktion und Eiablage von Schmetterlingsweibchen

Von HERBERT BRANDT*

(Z. Naturforsch. 2 b, 301—308 [1947]; eingegangen am 24. März 1947)

1. Beim Kiefernspanner *Bupalus piniarius* L. besteht ein gesicherter Unterschied in der Gesamtzahl der legereifen Eier begatteter und unbegatteter ♀♀ zugunsten der ersteren.

2. Dieser Unterschied wird mit steigendem Puppendurchmesser, d. h. mit steigender Körpermasse der ♀♀, größer.

3. Auch bei der Mehlmotte *Ephesia kühniella* Zeller besteht in demselben Sinne ein gesicherter Unterschied in der Gesamtzahl der legereifen Eier befruchteter und unbefruchteter ♀♀.

4. Dieser Unterschied ist nicht darin begründet, daß durch die bei den befruchteten ♀♀ sehr bald einsetzende Eiablage Platz für Neubildung von Eiern geschaffen würde. Er steht auch in keinem Zusammenhang mit der Lebensdauer der Imago und unter den gegebenen Umständen ebenfalls nicht mit der Gesamtentwicklungsdauer des weiblichen Tieres.

5. Von den bei der Begattung in das ♀ übertragenen männlichen Geschlechtsprodukten geht wahrscheinlich eine über die im weiblichen Organismus liegende Eibildungstendenz hinausführende zusätzlich fördernde Wirkung auf die Eiproduktion aus.

6. Begattete Kiefernspannerweibchen legen einen hohen, unbegattete einen weitaus geringeren Prozentsatz ihres Eivorrates bis zum natürlichen Tode ab.

7. Auch der Unterschied in der Eiablage begatteter und unbegatteter Mehlmottenweibchen ist sehr groß.

8. Dieser Unterschied steht in keinem Zusammenhange mit der Größe der Eiproduktion oder der Lebensdauer, sondern ist möglicherweise die Folge einer spezifischen, eine beschleunigte Eiablage in Gang setzenden Wirkung der Kopulation bzw. der bei der Kopulation übertragenen männlichen Produkte.

I. Eiproduktion

Die Mitteilungen in der Literatur über die Anzahl der von Schmetterlingsweibchen produzierten Eier geben zwar verschiedene Hinweise auf einen Unterschied in der Eizahl begatteter und unbegatteter Weibchen, doch fehlt ihnen infolge der verhältnismäßig geringen Menge des Untersuchungsmaterials, wodurch eine statistische Auswertung unmöglich wird, die entscheidende Beweiskraft. Im folgenden wird über umfangreichere Untersuchungen zum angegebenen Thema berichtet.

A. Untersuchungen am Kiefernspanner *Bupalus piniarius* L.

Bei früheren Untersuchungen über die gegenseitigen Beziehungen von Puppengewicht, Puppengröße und Eizahl beim *Kiefernspanner*¹ stellte

* Z. Zt. (13b) Lailling b. Otzing (Ndb.).

¹ H. Brandt, Puppengewicht, Puppengröße und Eizahl beim Kiefernspanner *Bupalus piniarius* L., Mitt. Forstwirtschaft, Forstwissenschaft [1936].

ich die *Gesamteizahl*, d. h. die Summe der abgelegten und in den Geschlechtsorganen verbliebenen legereifen Eier, getrennt bei solchen ♀♀ fest, die begattet waren und entwicklungsfähige Eier abgelegt hatten, und bei solchen, die unbegattet geblieben waren.

Die Schmetterlinge schlüpften aus Freilandpuppen in einem Flugkäfig und wurden sofort nach dem Schlüpfen paarweise isoliert, oder es wurde ein frischgeschlüpfte ♀ einzeln gehalten, das somit unbegattet blieb. Das ♀ eines isolierten Paares kam nur dann für die Auswertung in der Gruppe der begatteten ♀♀ in Frage, wenn aus seinen Eiern Räumchen schlüpften. Die Eiablage erfolgte völlig normal an den Nadeln eines beigegebenen Kiefernkurztriebes. Die Zählung der Eier, der abgelegten wie der in den Geschlechtsorganen verbliebenen legereifen, erfolgte nach dem natürlichen Tode des ♀.

Die Zahlenwerte der Eiproduktion sind der Tab. 1 zu entnehmen. Die *mittlere Eizahl der begatteten* ♀♀ beträgt $175,4 \pm 4,99$ Eier, die der *unbegatteten* gebliebenen $140,2 \pm 3,53$ Eier. Der Unterschied ist statistisch gesichert: $\text{Diff } M / m \text{ Diff} = 5,76 > 3$.

		50	100	150	200	250 Eier	<i>n</i>	<i>M</i> Eier	σ	<i>m</i>	Max.	Min.	
A	abs. %	1 0,7	13 9,8	32 24,1	41 30,8	30 22,6	16 12,0	133 100,0	175,4	$\pm 57,50$	$\pm 4,99$	296	47
B	abs. %	6 3,8	24 15,2	54 34,2	64 40,5	10 6,3	— —	158 100,0	140,2	$\pm 44,34$	$\pm 3,53$	247	15

Tab. 1. Gesamteizahl begatteter (A) und unbegatteter (B) Kiefernspannerweibchen.

Größter Puppen- durch- messer in mm	Mittlere Eizahl		Eizahl un- begatteter ♀♀ in % der Eizahl begatteter	<i>n</i>	
	begat- teter	unbegat- teter ♀♀		be- gattet	unbe- gattet
3,9	86,0	55,4	64,4	1	7
4,1	80,4	85,4	106,3	7	12
4,3	110,4	97,5	88,3	12	20
4,5	152,6	124,5	81,6	41	27
4,7	186,2	152,4	81,8	20	32
4,9	202,2	161,8	80,0	29	35
5,1	246,6	184,4	74,8	22	24
5,3	296	197	66,6	1	1

Tab. 2. Gesamteizahl begatteter und unbegatteter Kiefernspannerweibchen, geschlüpft aus Puppen verschiedener Größe.

Größter Puppennur- messer in mm	$\frac{\text{Diff } M}{m \text{ Diff}}$	
4,1	0,41	< 3
4,3	1,57	
4,5	3,49	
4,7	3,93	> 3
4,9	4,59	
5,1	7,38	

Tab. 3. Diff *M* / *m* Diff beim Vergleich der Eizahl begatteter und unbegatteter Kiefernspannerweibchen, geschlüpft aus Puppen verschiedener Größe. (Wegen der geringen Anzahl der Beobachtungen [vergl. Tab. 2] ohne die beiden extremen Größenklassen.)

Es sei erwähnt, daß der Unterschied in der Eizahl begatteter und unbegatteter ♀♀ um so größer wird, je größer der größte Durchmesser der Puppe, d. h., wie ich in der erwähnten Arbeit ausführlich dargelegt habe, je größer die Eiproduktionsmöglichkeit wird, die mit der Zunahme des größten Puppennurmessers linear ansteigt. In Tab. 2 ist angegeben, wieviel % der von begatteten ♀♀ produzierten Anzahl legerer Eier von unbegatteten, aus Puppen mit dem gleichen größten Durchmesser geschlüpften ♀♀ ausgebildet wurden. Entsprechend wird der Quotient $\frac{\text{Diff } M}{m \text{ Diff}}$ als Maß der statistischen Verschiedenheit der beiden betrachteten Versuchsgruppen mit zunehmendem Puppennurmesser immer größer, wie Tab. 3 zeigt.

B. Untersuchungen an der Mehlmotte *Ephestia kühniella* Zeller

1. Methodisches

Die Versuchstiere gehörten der Wildform an. Sie stammten in der Hauptsache aus drei Zuchten, ein geringerer Teil aus weiteren vier. Bei jeder Zucht waren 250 Jungräupchen in 100 g Weizenschrot gegeben, was nach Köhler² in bezug auf Entwicklung und Eiproduktion der Schmetterlinge als optimal zu gelten hat. Die Zuchtschalen hatten einen Durchmesser von 11,5 cm und eine Höhe von 3,7 cm. Die Feuchtigkeitsverhältnisse waren in allen Zuchten gleich. Die gesamte Entwicklung der Tiere bis

zum natürlichen Tode der Imagines verlief bei einer konstanten Temperatur von 20 ° C. Nachdem das erste Tier geschlüpft war, wurden die Zuchten mehrere Male am Tage kontrolliert und die geschlüpften Tiere wurden jeweils entfernt. Die ♀♀ wurden in kleinen Glasschälchen isoliert und bis zu ihrem natürlichen Tode ungestört gehalten. Einige wurden schon in Kopulation angetroffen; diese blieben mit dem ♂ zusammen. Zu anderen wurden ein, gelegentlich zwei ♂♂ gesetzt, und die übrigen blieben ohne ♂♂. Die Kopulation konnte auch bei denjenigen ♀♀ oftmals beobachtet werden, zu denen erst nach Entfernung aus dem Zuchtgefäß ein ♂ gesetzt war, doch wurde zur Kontrolle später festgestellt, ob aus den abgelegten Eiern Räumchen schlüpften. Es wurden bei der Auswertung einerseits nur solche ♀♀ berücksichtigt, aus deren Eiern sich tatsächlich Räumchen entwickelten, andererseits nur solche, die ohne ♂ geblieben waren und auch keine befruchteten Eier abgelegt hatten. Es schied somit die Fälle aus, in denen ein ♀ mit einem ♂ zusammen gehalten wurde, es aber zu keiner Ablage befruchteter Eier gekommen war, in denen aber möglicherweise eine nicht beobachtete Begattung, wenn auch keine Eibefruchtung eingetreten sein konnte. Nach dem natürlichen Tode jedes ♀ wurde die Zahl der von ihm abgelegten Eier sowie die Zahl der noch in den Ovarien, den paarigen Ovidukten und dem Oviductus communis vorhandenen legereifen Eier festgestellt, die an ihrer Größe und ihrer Festigkeit ohne weiteres von den noch nicht legereifen zu unterscheiden sind. Unter der Eizahl eines ♀ ist im folgen-

		50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	550 Eier	n	M Eier	σ	m	Max.	Min.
A	abs.	—	4	4	4	7	14	7	6	7	2	3	58	317,2	$\pm 116,03$	$\pm 15,23$	562	78
	%	—	6,9	6,9	6,9	12,1	24,1	12,1	10,3	12,1	3,4	5,2	100,0					
B	abs.	—	—	—	—	9	18	3	—	—	—	—	30	290,0	$\pm 26,30$	$\pm 4,80$	356	226
	%	—	—	—	—	30,0	60,0	10,0	—	—	—	—	100,0					
C	abs.	2	6	5	12	27	5	—	—	—	—	—	57	212,3	$\pm 61,35$	$\pm 8,12$	309	56
	%	3,5	10,5	8,8	21,0	47,4	8,8	—	—	—	—	—	100,0					
D	abs.	—	—	4	10	17	3	—	—	—	—	—	34	227,9	$\pm 37,91$	$\pm 6,49$	288	142
	%	—	—	11,8	29,4	50,0	8,8	—	—	—	—	—	100,0					
A+B	abs.	—	4	4	4	16,0	32	10	6	7	2	3	88	308,0	$\pm 96,30$	$\pm 10,26$	562	78
	%	—	4,5	4,5	4,5	18,2	36,4	11,4	6,8	8,0	2,3	3,4	100,0					
C+D	abs.	2	6	9	22	44	8	—	—	—	—	—	91	218,1	$\pm 54,30$	$\pm 5,69$	309	56
	%	2,2	6,6	9,9	24,2	48,3	8,8	—	—	—	—	—	100,0					

Tab. 4. Gesamteizahlen der Mehlmotten-♀♀ aller Gruppen.
(A: befruchtet; B: befruchtet + lackiert; C: unbefruchtet; D: unbefruchtet + lackiert.)

den die Summe der abgelegten und nach dem Tode noch in den Geschlechtsorganen und -ausführgängen befindlichen legereifen Eier zu verstehen.

2. Die Eizahl befruchteter und unbefruchteter ♀♀

58 ♀♀, die befruchtete Eier abgelegt hatten — kurz als „befruchtete ♀♀“ bezeichnet — (Versuchsgruppe A), und 57 „unbefruchtete ♀♀“ (Versuchsgruppe C) kamen zur Untersuchung. Die Eizahlen sind aus Tab. 4 zu entnehmen. Der Mittelwert der Eizahl der *befruchteten* ♀♀ ist $317,2 \pm 15,23$ Eier, der der *unbefruchteten* $212,3 \pm 8,12$ Eier. Der Unterschied ist statistisch gesichert: $\text{Diff } M/m \text{ Diff} = 6,08 > 3$.

3. Etwaige Möglichkeiten der Erklärung des Unterschiedes in der Eizahl befruchteter und unbefruchteter ♀♀

a) Eizahl und Eiablage

Befruchtete ♀♀ beginnen bald nach Beendigung der Kopulation mit der *Eiablage*, während unbefruchtete ihre Eier entweder überhaupt nicht oder nur zum geringen Teil ablegen (vergl. S. 306). In Tab. 12 ist verzeichnet, wieviel % der legereif entwickelten Eier von den befruchteten und unbefruchteten ♀♀ abgelegt worden sind. Der Mittelwert beträgt für Versuchsgruppe A $82,1 \pm 2,76$ %, für Versuchsgruppe C $13,25 \pm 2,30$ %. Von den

befruchteten ♀♀ legten 41,7% 95—100%, von den unbefruchteten ♀♀ hingegen 71,9% nur 0—5% ihrer legereif entwickelten Eier ab.

Der Unterschied in der Eizahl befruchteter und unbefruchteter ♀♀ könnte nun darauf zurückzuführen sein, daß bei den befruchteten ♀♀ durch die Ablage der Eier fortwährend *Platz für deren Neubildung geschaffen wird*, bei den unbefruchteten ♀♀ aber die sich in den Geschlechtsorganen gewissermaßen *stauenden* Eier eine über ein gewisses Maß hinausgehende Eibildung verhindern. Um diese Frage zu entscheiden, wurde das Hinterleibsende von insgesamt 30 ♀♀ sofort nach Beendigung ihrer Kopulation mit *Lack bestrichen* (Versuchsgruppe B), zur Kontrolle wurde dasselbe bei insgesamt 34 frischgeschlüpften und mit Sicherheit noch keine Kopulation eingegangenen ♀♀ ausgeführt (Versuchsgruppe D), wodurch überall eine Eiablage unmöglich gemacht wurde. Diese Manipulation rief keine Schädigung der ♀♀ hervor, wie schon aus dem Vergleich der *Lebensdauer* der ♀♀ aller Versuchsgruppen hervorgeht (Tab. 6). Die *mittlere Lebensdauer* der Gruppe B mit $13,3 \pm 2,18$ Tagen übertrifft sogar die der Gruppe A mit $11,7 \pm 2,38$ Tagen um ein Geringes ($\text{Diff } M/m \text{ Diff} = 3,14 > 3$), während die der Gruppe D mit $12,6 \pm 3,78$ Tagen von der der Gruppe C mit $11,6 \pm 3,38$ Tagen statistisch nicht verschieden ist ($\text{Diff } M/m \text{ Diff} = 0,92 < 3$).

Die *Eizahlen* aller ♀♀ der Versuchsgruppen B und D sind ebenfalls in Tab. 4 verzeichnet. Der

Vergleich der Versuchsgruppen	$\frac{\text{Diff } M}{m \text{Diff}}$	≤ 3	Die Mittelwerte der Eizahlen sind statistisch:
A—B	1,70	< 3	gleich
A—C	6,08	> 3	verschieden
A—D	5,39	> 3	verschieden
B—C	8,23	> 3	verschieden
B—D	7,69	> 3	verschieden
C—D	1,63	< 3	gleich

Tab. 5. Vergleich der Mittelwerte der Eizahlen aller Versuchsgruppen (Mehlmotte). (A: befruchtet; B: befruchtet + lackiert; C: unbefruchtet; D: unbefruchtet + lackiert.)

Mittelwert der Gruppe B ist mit $290,0 \pm 4,80$ Eiern nicht von dem der Gruppe A mit $317,2 \pm 15,23$ Eiern verschieden: $\text{Diff } M / m \text{Diff} = 1,70 < 3$. Dasselbe gilt für die Gruppe D mit $M = 227,9 \pm 6,49$ Eiern im Vergleich mit der Gruppe C mit $M = 212,3 \pm 8,12$ Eier: $\text{Diff } M / m \text{Diff} = 1,63 < 3$. Hingegen sind die mittleren Eizahlen der beiden befruchteten ♀♀-Gruppen von jeder der beiden unbefruchteten ♀♀-Gruppen C und D statistisch gesichert verschieden (Tab. 5). *Es ergibt sich also, daß die Eiablage auf die Neubildung von Eiern ohne Einfluß ist.*

Die Gruppen A und B einerseits, C und D andererseits können, da in den Eizahlen kein Unterschied festzustellen ist, *vereinigt* werden, wie das im Folgenden unter b) und c) geschehen ist. Die Eizahlen aller befruchteten und unbefruchteten ♀♀ sind der Tab. 4 zu entnehmen. Der Unterschied zwischen den Mittelwerten $308,0 \pm 10,26$ Eier (be-

	5	7	9	11	13	15	17	19 Tg.	
100		1	1	1		1			4
150			1	3					4
200			2	2					4
250	1	1	1	4	4	3	1	1	16
300		1	4	10	10	4	3		32
350				3	4	2	1		10
400				3	2	1			6
450				2	3	2			7
500				1	1				2
550 Eier					2	1			3
	1	3	9	29	26	14	5	1	88

$r = +0,26 \pm 0,100$.

Tab. 7. Lebensdauer und Eizahl bei befruchteten Mehlmotten-♀♀ (A + B).

fruchtete ♀♀) und $218,1 \pm 5,69$ Eier (unbefruchtete ♀♀) ist wiederum statistisch gesichert: $\text{Diff } M / m \text{Diff} = 7,66 > 3$.

b) Eizahl und Lebensdauer des Schmetterlings

Zwischen der *Lebensdauer* aller befruchteten ♀♀ ($M = 12,2 \pm 2,44$ Tage) und aller unbefruchteten ♀♀ ($M = 12,0 \pm 3,45$ Tage) besteht kein Unterschied: $\text{Diff } M / m \text{Diff} = 0,45 < 3$ (Tab. 6). Der Unterschied in der Eizahl der befruchteten und unbefruchteten ♀♀ ist also *nicht* auf einen Unterschied in der Lebensdauer beider Gruppen zurückzuführen. Es besteht bei der Mehlmotte übrigens überhaupt keine Korrelation zwischen Eizahl und Lebensdauer: bei den befruchteten ♀♀ ist der

		3	5	7	9	11	13	15	17	19 Tage	n	M Tage	σ	m	Max.	Min.
A	abs.	—	1	3	8	21	15	8	2	—	58	11,7	$\pm 2,38$	$\pm 0,31$	17,5	4,5
	%	—	1,7	5,2	13,8	36,2	25,9	13,8	3,4	—	100,0					
B	abs.	—	—	—	1	8	11	6	3	1	30	13,3	$\pm 2,18$	$\pm 0,40$	18,5	9,5
	%	—	—	—	3,3	26,7	36,7	20,0	10,0	3,3	100,0					
C	abs.	—	1	6	16	12	6	8	6	2	57	11,6	$\pm 3,38$	$\pm 0,45$	18,5	5,5
	%	—	1,8	10,5	28,1	21,1	10,5	14,0	10,5	3,5	100,0					
D	abs.	1	—	3	4	5	7	9	4	1	34	12,6	$\pm 3,78$	$\pm 0,65$	18,0	3,5
	%	2,9	—	8,8	11,8	14,7	20,6	26,5	11,8	2,9	100,0					
A+B	abs.	—	1	3	9	29	26	14	5	1	88	12,2	$\pm 2,44$	$\pm 0,26$	18,5	4,5
	%	—	1,1	3,4	10,2	33,0	29,5	15,9	5,7	1,1	99,9					
C+D	abs.	1	1	9	20	17	13	17	10	3	91	12,0	$\pm 3,45$	$\pm 0,36$	18,5	3,5
	%	1,1	1,1	9,9	22,0	18,7	14,3	18,7	11,0	3,3	100,1					

Tab. 6. Lebensdauer der Mehlmotten-♀♀ aller Gruppen. (A: befruchtet; B: befruchtet + lackiert; C: unbefruchtet; D: unbefruchtet + lackiert.)

		1	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21	23	25	27	29 Tage	n	M Tage	σ	m	Max. Tg.	Min. Tg.
begattet	abs. %	2 1,5	7 5,3	8 6,0	10 7,5	23 17,3	23 17,3	18 13,5	17 12,8	15 11,3	8 6,0	2 1,5	—	—	—	—	133 100,0	11,5	$\pm 4,20$	$\pm 0,36$	21	1
unbegattet	abs. %	— —	21 13,1	25 15,6	22 13,7	17 10,7	10 6,3	17 10,7	13 9,0	8 5,1	9 5,7	5 3,2	3 1,9	3 1,9	1 0,6	4 2,5	158 100,0	10,9	$\pm 6,57$	$\pm 0,52$	28	2

Tab. 8. Lebensdauer der Kiefernspanner-♀♀.

Versuchs- gruppe	Aus den einzelnen Zuchten geschlüpft als						
	1.—10.	11.—20.	21.—30.	31.—40.	41.—50.	51.—60.	61. ff. ♀♀
A + B befruchtet	276,4	300,4	348,4	339,8	306,1	322,3	343,2 Eier
C + D unbefruchtet	182,3	209,6	236,9	246,3	230,3	219,8	226,8 Eier

Tab. 9. Durchschnittliche Eizahl der nacheinander aus den einzelnen Zuchten geschlüpften Mehlmotten-♀♀ in den Versuchsgruppen.

Korrelationskoeffizient $r = +0,26 \pm 0,100$, bei den unbefruchteten ♀♀ ist $r = +0,11 \pm 0,104$ (vergl. Tab. 7 als Beispiel für die den Berechnungen von r zugrunde liegenden Korrelationstabellen). Die Eientwicklung verläuft hier also sehr schnell.

Beim Kiefernspanner besteht zwar eine verhältnismäßig deutliche positive Korrelation zwischen der Lebensdauer und der Produktion legereifer Eier sowohl bei begatteten ♀♀ ($r = +0,56 \pm 0,059$) wie auch bei unbegatteten ($r = +0,41 \pm 0,067$). Danach verläuft hier die Eiproduktion langsamer als bei der Mehlmotte, wo eine solche Beziehung nicht festgestellt werden konnte. Andererseits ist jedoch die Lebensdauer der begatteten ♀♀ mit $11,5 \pm 0,36$ Tagen von der der unbegatteten ♀♀ mit $10,9 \pm 0,52$ Tagen (Tab. 8) statistisch nicht verschieden ($\text{Diff } M/m \text{ Diff} = 0,94 < 3$), so daß auch hier der beobachtete Unterschied in der Eiproduktion begatteter und unbegatteter ♀♀ in keinem Zusammenhang mit der Lebensdauer steht.

c) Eizahl und Entwicklungsdauer der ♀♀

Wie Köhler² angab, ist die Eizahl derjenigen Mehlmottenweibchen, die aus einer Zucht am spätesten schlüpfen, gegenüber der der früher ge-

² W. Köhler, Der Einfluß verschiedener Ernährungsgrade auf äußere Körpermerkmale, auf die Entwicklungsgeschwindigkeit, Lebensdauer und Fortpflanzungsfähigkeit von *Ephesia kühniella* Zeller, Biol. Zbl. 60 [1940].

schlüpften ♀♀ in Zuchten mit einer Anfangsfuttermenge von 40 und 20 g auf 250 Räumchen herabgesetzt, und zwar wird dieser Unterschied vom 26. bzw. 11. aus einer Zucht geschlüpften ♀♀ merklich. Bei optimal ernährten Zuchten (100 und 60 g Anfangsfuttermenge auf 250 Räumchen) ist hingegen diese Beobachtung von ihm nicht gemacht worden. Schon danach ist somit auch in unserem Falle eine derartige Fehlerquelle auszuschließen. Immerhin habe ich noch die meinen Berechnungen zugrunde liegenden Zahlen in dieser Hinsicht geprüft. Zwar sind zufällig ♀♀ mit kürzerer Entwicklungsdauer in den Gruppen A und B (befruchtete ♀♀) etwas stärker vertreten als in den Gruppen C und D (unbefruchtete ♀♀), aber die Betrachtung der Eizahlen lehrt, daß die durchschnittliche Eizahl der später geschlüpften ♀♀ nicht geringer ist als die der früher geschlüpften (Tab. 9). Das zufällige Überwiegen der ♀♀ mit kürzerer Entwicklungsdauer in der Gruppe der befruchteten ♀♀ (A + B) ist also hier bedeutungslos, da *unter den gegebenen Bedingungen die Entwicklungsdauer des Mehlmottenweibchens keinen Einfluß auf seine spätere Eiproduktion hat.*

C. Schlußfolgerung

Der Unterschied in der Eizahl befruchteter und unbefruchteter ♀♀ ist sowohl bei der Mehlmotte wie beim Kiefernspanner statistisch gesichert. Er

steht, wie nachgewiesen werden konnte, in keinem Zusammenhange mit Eiablage, Lebensdauer der Imago und Gesamtentwicklungsdauer der ♀♀. Der Unterschied kann also nur auf dem beruhen, was die Gruppen der befruchteten und unbefruchteten ♀♀ allein unterscheidet, d. h. auf den *mit der Begattung verbundenen Vorgängen*. Bei der Begattung werden die Spermien zusammen mit Sekreten aus den Anhangsdrüsen der männlichen Geschlechtsorgane in die weiblichen Geschlechtsorgane übertragen. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß von den männlichen Geschlechtsprodukten innerhalb des weiblichen Organismus *eine die Eibildung befördernde Wirkung* ausgeht. Durch solche Einwirkung wird natürlich nicht die Eibildung überhaupt in Gang gesetzt, vielmehr wird sie vom weiblichen Organismus bereits eingeleitet und bis zu einem gewissen Maße, das der Eizahl unbefruchteter ♀♀ entsprechen dürfte, weitergeführt. Mit den männlichen Geschlechtsprodukten würde ein *zusätzlicher Anreiz* gegeben, der die Eibildung über das im weiblichen Organismus liegende Maß hinaus steigert, und zwar, wie die Ergebnisse am Kiefernspanner zeigen, desto mehr, je größer die im ♀ für die Eibildung zur Verfügung stehende Masse, d. h. je größer der Durchmesser der Puppe ist, zu deren weitgehender Umarbeitung in legereife Eier die im weiblichen Organismus liegende Eibildungstendenz nicht mehr ausreicht. Bis zum Vorliegen von Ergebnissen aus beabsichtigten weiterführenden Implantationsversuchen muß allerdings noch damit gerechnet werden, daß die nachgewiesene Folgeerscheinung der Kopulation auch auf nervösem Wege herbeigeführt sein könnte (vergl. unter IIC).

Daß vom männlichen Organismus bzw. von männlichen Organprodukten entwicklungsfördernde Einflüsse auf das ♀ ausgehen, ist schon einmal, und zwar von Goetsch³ bei der Termiten *Kaloterms flavicollis*, beobachtet worden, bei der flüchtige Körpersekrete des männlichen Geschlechts zur vollständigen Entwicklung der weiblichen Geschlechtsorgane erforderlich sind. In diesem Zusammenhang sei an einige Befunde beim Menschen erinnert, die eine Vergrößerung der Schilddrüse und des Uterus im Gefolge der Kopulation wahrscheinlich machen.

II. Eiablage

Verschiedentlich ist angegeben worden, daß begattete Schmetterlingsweibchen einen größeren Teil ihrer legereif entwickelten Eier ablegen als unbegattete. So teilt Eidmann⁴ die in Tab. 10 zusammengestellten Zahlen mit. Unser Material kann ebenfalls zur Kenntnis eines etwaigen Zusammenhanges zwischen Begattung und Eiablage beitragen.

Art	begattet %	unbegattet %
<i>Dasychira pudibunda</i> . . .	91	37
<i>Lymantria monacha</i> . . .	97	21
<i>Dendrolimus pini</i>	99	68
<i>Bupalus piniarius</i>	88	28

Tab. 10. Zahl der abgelegten Eier in % der legereif entwickelten bei begatteten und unbegatteten Schmetterlingsweibchen (nach Eidmann⁴).

A. Feststellungen am Kiefernspanner

Begattete Kiefernspannerweibchen legen bis zu ihrem natürlichen Tode unter den auf S. 301 angegebenen Bedingungen im Mittel $89,1 \pm 1,15\%$ ihres entwickelten Eivorrates ab, die unbegatteten ♀♀ hingegen im Mittel nur $38,04 \pm 2,46\%$ (Tab. 11).

⁴ H. Eidmann, Morphologische und physiologische Untersuchungen am weiblichen Genitalapparat der Lepidopteren. II. Physiologischer Teil, Z. angew. Entomol. 18 [1931].

³ W. Goetsch, Staatengründung und Kastenbildung bei Termiten, Naturwiss. 29 [1941].

		5	15	25	35	45	55	65	75	85	95%	n	M %	σ	m	Max. %	Min. %
begattet	abs. %	—	1	—	1	3	3	2	7	14	102	133	89,1	13,23	1,15	100	11,6
		—	0,8	—	0,8	2,3	2,3	1,5	5,3	10,5	76,6	100,1				44 ♀♀=33,1	
unbegattet	abs. %	39	24	21	9	16	9	11	5	5	19	158	38,2	30,90	2,46	100	0
		24,7	15,2	13,3	5,7	10,1	5,7	7,0	3,2	3,2	12,0	100,1				9 ♀♀=5,7	8 ♀♀=5,1

Tab. 11. Zahl der abgelegten Eier in % der legereif entwickelten bei begatteten und unbegatteten Kiefernspannerweibchen.

		5	15	25	35	45	55	65	75	85	95 %	Σ	M %	σ	m	Max. %	Min. %
A	abs. %	2 3,4	— —	— —	— —	3 5,2	5 8,6	3 5,2	1 1,7	11 19,0	33 56,9	58 100,0	82,1	$\pm 21,06$	$\pm 2,76$	100 5 ♀♀ = 8,6	6,5
C	abs. %	43 75,4	3 5,3	4 7,0	1 1,8	1 1,8	2 3,5	2 3,5	1 1,8	— —	— —	57 100,1	13,2	$\pm 17,35$	$\pm 2,30$	73,6	0 18 ♀♀ = 31,6

Tab. 12. Zahl der abgelegten Eier in % der legereif entwickelten bei befruchteten (A) und unbefruchteten (C) Mehlmottenweibchen.

Da begattete ♀♀, wie wir sahen, durchschnittlich mehr Eier produzieren als unbegattete, könnte man annehmen, daß die größere Eizahl der begatteten ♀♀ den größeren Prozentsatz an abgelegten Eiern herbeiführt. Es besteht aber beim Kiefernspanner keine Korrelation zwischen der Gesamteizahl und dem Prozentsatz der davon zur Ablage gekommenen Eier, und zwar weder bei den begatteten ♀♀ ($r = +0,09 \pm 0,86$) noch bei den unbegatteten ($r = -0,06 \pm 0,079$).

Eine geringe Korrelation ($r = +0,32 \pm 0,078$) zwischen Lebensdauer und Eiablage ist hingegen bei begatteten ♀♀ insofern zu erkennen, als die länger lebenden ♀♀ einen etwas größeren Teil des Eivorrates ablegen als die nach wenigen Tagen sterbenden, aber bei unbegatteten ♀♀ ist diese Beziehung schon nicht mehr deutlich ($r = +0,22 \pm 0,076$). Da im übrigen die Lebensdauer begatteter und unbegatteter Kiefernspannerweibchen nicht verschieden ist (Tab. 8), ist diese Beziehung in unserem Zusammenhange außer acht zu lassen.

B. Feststellungen an der Mehlmotte

Die Verhältnisse bei der Mehlmotte liegen ähnlich wie beim Kiefernspanner. Auf den grundlegenden Unterschied in der Eiablage begatteter und unbegatteter ♀♀ wurde bereits hingewiesen. Erstere legen im Mittel $82,1 \pm 2,76$ % ihres Vorrates an entwickelten Eiern ab, letztere nur $13,2 \pm 2,30$ (Tab. 12).

Was die Beziehungen von Eizahl und Eiablage angeht, so besteht bei begatteten ♀♀ eine geringe Korrelation ($r = +0,38 \pm 0,113$). Diese beruht aber in erster Linie auf den wenigen übernormal produktiven ♀♀ und ist bei unbegatteten ♀♀ ($r = +0,19 \pm 0,087$) nicht vorhanden. Sie reicht keinesfalls aus, um den erwähnten großen Unterschied in der Eiablage zu erklären.

Zwischen Lebensdauer und Eiablage kann bei begatteten Mehlmottenweibchen keine Beziehung festgestellt werden: $r = +0,20 \pm 0,081$. Bei unbe-

gatteten ♀♀ liegt allerdings eine deutliche Korrelation vor: $r = +0,55 \pm 0,092$. Aber da, wie beim Kiefernspanner, die Lebensdauer begatteter und unbegatteter ♀♀ der Mehlmotte nicht verschieden ist (Tab. 6), kann diese Beziehung für unsere Fragestellung ohne Berücksichtigung bleiben.

C. Schlußfolgerung

Der frappante Unterschied in der Eiablage begatteter und unbegatteter Schmetterlingsweibchen hängt, wie nachgewiesen wurde, entweder überhaupt nicht mit der Lebensdauer der ♀♀ und der Zahl der von ihnen produzierten Eier zusammen oder kann doch in seinem Ausmaße keinesfalls durch eine gelegentlich zu erkennende Beziehung zwischen den genannten Momenten erklärt werden. Es folgt, daß der Unterschied in der Eiablage durch einen spezifischen, mit der Begattung wirksam werdenden Faktor hervorgerufen wird. Die Begattung bzw. die bei der Begattung in den weiblichen Organismus gelangenden männlichen Produkte bewirken also wahrscheinlich nicht nur eine verstärkte Eibildung, sondern setzen auch die Eiablage in Gang, die bei Ausbleiben der Begattung erst spät und spärlich erfolgt.

Ein schönes Beispiel für diesen Einfluß der Begattung ist bei Maercks⁵ zu finden. Am ersten und zweiten Lebenstag begattete ♀♀ des bekreuzten Traubenwicklers *Polychrosis botrana* Schiff. begannen am dritten oder vierten Tage mit der Eiablage, die sich, immer geringere Tagesleistungen zeitigend, bis zum 20. bzw. 24. Lebenstag erstreckte. Ein Weibchen kam erst 15 Tage nach dem Schlüpfen zur Begattung und begann am 17. Tage, also wiederum zwei Tage danach, mit der Eiablage, die bis zu seinem am 32. Tage erfolgten Tode währte.

Hier mag noch ein in gewisser Weise analoger Vorgang bei einem systematisch weit entfernten

⁵ H. Maercks, Beobachtungen über Lebensdauer und tägliche Eimenge des bekreuzten Traubenwicklers *Polychrosis botrana* Schiff, Anz. Schädlingskunde 11 [1935].

Tiere erwähnt werden, nämlich der bei dem Kaninchen beobachtete Eintritt der Ovulation erst nach erfolgter Kopulation. Aber gerade diese analoge Tatsache, die auch nach Begattung mit einem sterilen ♂ oder nach elektrischer Reizung ohne jegliche Begattung in Erscheinung treten kann, läßt vorerst die Möglichkeit offen, daß in unserem Falle der die Eiablage befördernde Kopulationseinfluß auch auf ein nervöses Phänomen

zurückzuführen wäre, sei es in unmittelbarer Auswirkung des Kopulationsvorganges oder eher noch — da die Eiablage erst eine gewisse Zeit nach der Kopulation einsetzt — als reflektorische Folge des Füllungszustandes oder der entleeren Bewegungen von Bursa copulatrix oder Receptaculum seminis. Die vorgesehenen Untersuchungen werden auch hierin vermutlich weitere Aufklärung geben.

Spontane Mutabilität bei *Bacterium prodigiosum*

Von REINHARD KAPLAN

Aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für Züchtungsforschung, Erwin-Baur-Institut, Voldagsen
(Z. Naturforschg. 2b, 308—312 [1947]; eingegangen am 19. März 1947)

Die biophysikalische Analyse des Mutationsprozesses ergibt eine Charakterisierung der Gene in Hinsicht auf ihre stoffliche Natur, während die Bastardanalyse lediglich die Lokalisation dieser ihr im Wesen unbekannt bleibenden Erbfaktoren gestattet. Darum kann jene Methode auch bei nichtkreuzbaren Organismen eine Entscheidung darüber herbeiführen, ob die für Erbvariationen verantwortlichen Faktoren dieselbe stoffliche Natur besitzen wie die Gene der höheren sexuellen Organismen. Die spontanen Erbvariationen von *Bact. prodigiosum*, die ein Umschlagen der Koloniefärbung erzeugen, erwiesen sich als nach der Eintreffeffunktion von der Lagerzeit der Zellen abhängig und ergaben Temperaturquotienten, denen Aktivierungsenergien von etwa 0,6 eV entsprechen. Daraus und aus den Absolutgrößen der Mutationsraten ließ sich weiterhin eine anscheinend einfache Beziehung zwischen Aktivierungsenergie und -entropie finden, die auch Vermutungen über die Größenordnung der beteiligten Genzahl gestattete. Danach scheint der untersuchte Variationsprozeß durch relativ wenige Erbfaktoren (vielleicht nur einen) zustandezukommen, die den mutablen Genen höherer Organismen entsprechen.

Die Aufklärung des Mutationsprozesses bei höheren Organismen hat uns Möglichkeiten geliefert, die Gene direkt durch ihr stoffliches Wesen (ablesbar an den Besonderheiten der Mutationsentstehung) zu charakterisieren, ohne dabei die Lokalisation in den Chromosomen (erschließbar aus dem Erbgang nach Kreuzung) zu berücksichtigen. Sehen wir diese Lage der Gene im Kern als weniger wesentlich an als ihre spezielle molekulare Struktur, so gibt uns die systematische quantitative Analyse erblicher Variationen eine Handhabe, die Frage nach dem Vorhandensein von Genen auch für solche Organismen zu beantworten, die keine Sexualität (Kopulation und Meiose) besitzen. Für die Bakterien sind schon viele Tatsachen über Erbvariationen bekannt, die es aussichtsreich erscheinen lassen, mit den Methoden der Mutationsforschung diese Frage anzugehen. Dies erscheint wichtig, weil sie zum Teil Möglichkeiten der weiteren Aufklärung des Genbaues bieten könnten, die bei den höhe-

ren Organismen nicht vorhanden sind. Eine Sichtung der Literatur ergab, daß sprunghafte Erbvariationen der Bakterien („Dissoziation“ usw.) durch die gleichen Agentien erhalten wurden, die auch bei höheren Organismen Mutationen erzeugen (Alterung, Strahlen, Chemikalien). Unter den wenigen quantitativen Ergebnissen erscheint am wichtigsten der Nachweis exponentieller Wirkung der Röntgenstrahlendosis auf die Variantenrate¹. Dies zeigt, daß zumindest gewisse Varianten sehr wohl echte Genmutationen sein können. Die Ergebnisse über die Strahlentötung der Bakterien hatten schon seit längerem ihre Erklärung durch Annahme letalmutationsähnlicher Vorgänge nahegelegt². Die Lage und Zusammenfassung der betreffenden Gene in Chromosomen bzw. Kernen ist natürlich für diese Fragestellung von sekundärer Bedeutung. Die Bakteriengene brauchen u. U. weder in Chromosomen aggregiert zu sein, noch

¹ Ralph E. Lincoln, *Genetics* 25, 125 [1940].

² P. Jordan, *Protoplasma* 32, 464 [1939].

evtl. diese in echten Kernen (mit Membran, Spindelmechanismus, Nukleolen usw.) zu liegen.

Zur Aufhellung des bakteriellen Erbvariationsmechanismus ist eine Methode nötig, die an einer großen Anzahl von Einzelzellen die Häufigkeit von Erbvariationen, die in ihnen entstanden sind und sich an den daraus hervorgehenden Nachkommenschaften (Einzelkolonien) manifestieren, festzustellen gestattet. Denn die quantitative Abhängigkeit des Prozentsatzes der mutierten unter einer großen Zahl geprüfter Zellen, der Mutationsrate, von den einwirkenden Agentien ist es ja, was uns erst die intimen Züge des Mutationsprozesses und des Gens (Monomolekularität, Größe des Strahlentreffbereichs, Aktivierungsenergie usw.) erkennen läßt. Die einfachste Methode besteht darin, nach Einwirkung des Agens auf die Zellen eine Suspension von möglichst hohem Prozentsatz an Einzelzellen, z. B. durch Schütteln, herzustellen und von dieser kleine Mengen zur „Aussaat“ auf Agarplatten breit zu streichen. Praktisch jede der daraus hervorgehenden Kolonien stellt dann die Nachkommenschaft einer Zelle der Suspension dar und kann deren erbliche Konstitution anzeigen. Als ein hierzu (bezüglich Einzelligkeit u. a. Eigenschaften) geeigneter Organismus erwies sich *Bacterium prodigiosum* (= *Serratia marcescens*). Da bei ihm das spontane Umschlagen eines Bruchteils der Zellen zu abgeänderten Kolonien (z. B. rot nach weiß und umgekehrt) häufig vorkommt und die Erbllichkeit dieser Variation nachgewiesen ist³, lag es nahe, diese spontanen Änderungen mit den bei höheren Organismen bekannten spontanen Mutationen zu vergleichen. Über ein erstes Ergebnis dieses Vergleichs sei hier berichtet.

Die Versuchsmethode bestand darin, aus einer Einzelkolonie einer Petrischalenkultur („Stammplatte“) eine Zellsuspension herzustellen, von der dann eine Impföse voll auf eine weitere Petrischale mit synthetischem Nähragar (Glycerin — Zitronensäure — Ammonphosphat, p_H 7,0) ausgespatelt wurde. Die so erhaltene „Zählplatte“ wurde bei 30°C bebrütet und die angewachsenen roten (*r*) und weißen (*w*) Kolonien (insgesamt meist mehrere hundert je Platte) ausgezählt. Das Verhältnis der *r*- bzw. *w*-Kolonien zur Gesamtzahl der geprüften entspricht dann der Mutationsrate der Zellen der Stammkolonie. Als von mutierten Zellen abstammend wurden nur die total umgeschlagenen Kolonien gezählt, solche mit Sektoren dagegen als unmutiert gewertet, da die sektor-erzeugende Mutation erst im Verlauf der Kolonieentwicklung entstanden sein mußte.

³ M. I. Bunting, J. Bacteriology 40, 57 [1940].

Kolonienfläche (mm ²)	Mutationsrate
0,27	9/43 = 20,9%
0,27	34/180 = 18,9 "
0,35	26/146 = 17,8 "
0,49	12/52 = 23,1 "
0,99	71/361 = 19,6 "
1,22	52/272 = 19,1 "
1,40	43/190 = 22,6 "
2,17	71/432 = 16,5 "
2,85	77/419 = 18,4 "
Durchschnitt: 7 ³ 8 = 12,0	395/2095 = 18,9 % $P_{Hom.} = 0,15 "$

Tab. Mutationsraten von 9 *r*-Kolonien gleichen Alters (10 Tage bei 30°C), aber verschiedener Zellzahl (Fläche).

Als erste Frage wurde geprüft, ob das Umschlagen der Koloniefarbe, z. B. von *r* nach *w*, durch den Ablauf der Zellteilung induziert wird (durch zufällige Entmischung von frei im Plasma liegenden Erbpartikeln o. ä.) oder unabhängig von dieser geschieht. Sie wurde entschieden durch Feststellung der Mutationsrate in gleich alten, aber verschieden großen Kolonien einer Stammplatte, bei denen also im gleichen Zeitraum verschieden viele Zellteilungen, wohl durch zufällige Nährstoffunterschiede, stattgefunden hatten. Wie die Tabelle zeigt, ist trotz eines Unterschiedes des Flächeninhaltes der Kolonien von etwa 1:10, dem ein wahrscheinlich noch größerer Zellzahlenunterschied entspricht, kein Unterschied der Mutationsrate nachweisbar. Hierdurch wird für die geprüfte Zeitspanne eine weitgehende Unabhängigkeit des Erbvariationsvorgangs von der Zellteilung angezeigt, wie wir es von den Genmutationen höherer Organismen gewöhnt sind.

Das zweite angeschnittene Problem war die Abhängigkeit der Mutationsrate von der Zeitdauer, während der die Mutationen stattfinden können. Von den Mutationen höherer Organismen wissen wir, daß sie Umlagerungen molekülartiger Atomverbände durch einzelne überschwellige Wärmeschwingungen, analog den monomolekularen chemischen Reaktionen, sind. Für derartige Prozesse ist eine exponentielle Zeitabhängigkeit typisch, falls diese Funktion nicht von sekundären Faktoren verformt wird. Zur Feststellung der Abhängigkeit der Mutationsrate von der Zeit wurde die Beobachtung ausgenutzt, daß die Kolonien nach etwa zwei Tagen ihr Wachstum wegen Nährstoffmangels einstellen und die Zellen sich

nach Eintreten dieses Ruhestadiums noch eine Zeitlang lebend und wahrscheinlich ungeteilt halten. Es wurden also *r*- und *w*-Stammpplatten (insgesamt 28 *r*, 22 *w*) im Brutschrank weiter aufbewahrt und von ihnen nach gewissen Zeiten aus Einzelkolonien Zählplatten abgeimpft. Durch Auszählung dieser wurden die Mutationsraten in den Kolonien der Stammpplatte erhalten. Ein Teil der Zählplatten wurde als Stammpplatten für weitere gleichartige Versuche verwendet. Die Ergebnisse der Abimpfungen von *r*-Kolonien aus den Stammpplatten ist in Abb. 1, die von *w*-Kolonien in Abb. 2

also stabiler oder mutabler waren als der „Normalstamm“. Wiederholte Versuche, sie als stabilere oder labilere Stämme zu isolieren, schlugen fehl, da ihre Nachkommenschaften (einfache Kreise \circ) nicht konstant bezüglich der Zugehörigkeit zu einer „Mutabilitätslinie“ waren. Sie ergaben z. T. uneinheitliche Mutationsraten, die oft über oder unter den jeweiligen Elternstämmen lagen. Wie Abb. 1 zeigt, lassen sich diese „inkonstanten“ Kolonien etwa 5 Mutabilitätszeitfunktionen (---) zuordnen. Das beobachtete Entstehen dieser „Nebenlinien“ aus der „Normallinie“ mit einer Häufigkeit von 7/57 zeigt jedoch, daß der Unterschied beider Typen nur graduell ist und darin besteht, daß der Normalstamm häufiger Nachkommen seiner eigenen Mutabilität ergibt als die Nebenstämme.

Das unvorhergesehene „Springen“ der Mutationsrate zeigten auch analog den *r*-Nebenlinien alle untersuchten *w*-Kolonien bezüglich des Übergangs *w* nach *r*. Ein relativ stabilerer „Normalstamm“ war hier nicht deutlich nachweisbar. Sehr wahrscheinlich bestehen aber auch hier Unterschiede in der „Intraphänmutabilität“ (s. u.) der einzelnen Linien, doch offenbaren sich diese nicht so deutlich wegen des kleinen Versuchsumfangs und wohl auch wegen ihrer geringeren reellen Größen. Die gefundenen Punkte ordnen sich etwa 4 Zeitlinien ein. Möglicherweise hätten sich bei weiterem Suchen in beiden Phänotypen *r* und *w* noch mehr solche Linien auffinden lassen.

Da die Aufbewahrung der Stammpplatten die Zellen allmählich absterben ließ, vielleicht aber auch nach Abschluß des Koloniewachstums noch Zellteilungen stattfinden, war zu prüfen, ob nicht die gefundene Zeitfunktion durch unterschiedliches Absterben oder Vermehren der *r*- und *w*-Zellen entstehen könnte. Bezeichnen wir mit *t* die Zeit, A_0 das Ausgangsverhältnis der *r*- und *w*-Zellen und mit δ die Differenz der Sterbe- bzw. Wachstumsraten beider Zelltypen, so gilt unter Annahme des bei Bakterien weit verbreiteten exponentiellen Wachstums bzw. Absterbens für die Mutantenrate $m = 1/1 + A_0 \cdot e^{\pm \delta t} \approx 1/1 + A_0 (1 \pm \delta t)$. Die Zeitfunktion müßte dann also im Anfangsteil nach oben hyperbelähnlich konkav sein. Der gegenteilige experimentelle Kurvenverlauf zeigt demnach, daß Sterbe- oder Wachstumsvorgänge am Zustandekommen der gefundenen Zeitfunk-

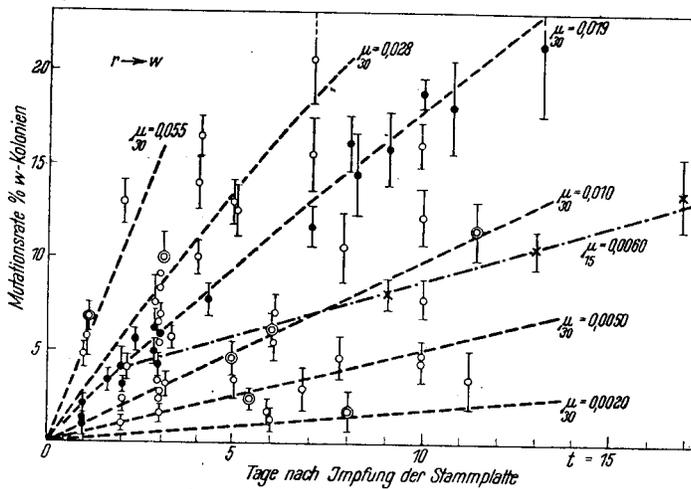


Abb. 1. Abhängigkeit der Mutationsrate *r* → *w* (% weiße Kolonien) vom Alter roter Stammkolonien.

dargestellt. Die eingezeichneten Fehlerspannen der Prozentsätze sind nach der Näherungsformel $\sqrt{p \cdot q/n}$ berechnet (p = % mutierte, q = % unmutierte Kolonien, n = Gesamtzahl ausgewerteter Kolonien der Platte).

Die Versuche mit *r*-Kolonien ergaben zunächst eine deutliche Zeitproportionalität (Abb. 1: volle Kurvenpunkte \bullet , $\mu_{30} = 0,019$), die dem unteren Teil einer Exponentialfunktion entspricht. Das bei längerer Aufbewahrung stattfindende Austrocknen und Absterben der Kolonien begrenzte die Versuchsdauer. Im Verlaufe der Versuche, bei denen die Mutationsraten von 57 *r*-Kolonien (aus 10 Stammpplatten) verschiedenen Alters festgestellt wurden (in Abb. 1 sind in einigen Kurvenpunkten die nahe beieinander liegenden Raten mehrerer Kolonien zusammengezogen), fanden sich auch insgesamt 7 Kolonien (Doppelkreise \circ), die aus der gefundenen Zeitkurve herausfielen,

tion nicht wesentlich beteiligt sein können, sondern daß diese durch Ansammeln von Mutationen, die im Laufe der Zeit entstehen, erzeugt wird.

Wenn wir den beiden Phänotypen r und w nur je einen Genotyp zuordnen könnten, so müßte die Mutationsrate m im Laufe der Zeit durch das Hin- und Rückmutieren ($r \rightleftharpoons w$) einem Gleichgewichtszustand, analog einer reversiblen chemischen Reaktion, zustreben, der nur von den beiden Muta-

tionen durch Änderung der Mutationskonstante kundgeben. Wir wollen sie „Intraphänmutationen“ nennen. Das im Experiment zu findende Endgleichgewicht m würde daher von einer sehr großen Zahl Reaktions-(= Mutations-)Konstanten abhängen, die im einzelnen kaum bestimmbar sind. Aus den gleichen Gründen entsprechen die den Kurven angeschriebenen Mutationskonstanten μ_{30} nur denjenigen Übergängen, die zu einem Umschlag der Koloniefärbung führen; die Intraphänmutationen kommen darin nicht zum Ausdruck. Die Frage, ob die gefundenen Genotypen mehreren verschiedenen Genen oder verschiedenen Allelen eines Gens entsprechen, läßt sich auf dem sonst üblichen Wege der Bastardanalyse mangels der Sexualität nicht entscheiden. Vorerst dürfen wir auf Grund der gefundenen Form der Zeitfunktion wohl mit ziemlicher Sicherheit annehmen, daß die untersuchten Erbvariationen des *Bact. prodigiosum* Prozesse von der gleichen Art darstellen, wie wir sie als Genmutationen von den höheren Organismen her kennen. Ihre relativ große spontane Häufigkeit im vorliegenden Falle, auch unter den Bakterien keine Normalerscheinung, läßt sie nicht den normal stabilen, sondern den mutablen Genen zuordnen.

Ein drittes Problem wurde durch die Abhängigkeit der Zeitfunktion von der Temperatur angeschnitten. Es wurden r - und w -Stammpatten aus den Linien $(r)\mu_{30} = 0,019$ bzw. $(w)\mu_{30} = 0,11$ zunächst bei 30°C 2 bzw. 1,5 Tage bebrütet, dann aber bei 15°C weitergehalten. Die tiefere Temperatur bewirkte eine Senkung der Mutationskonstanten (\times = empirische Punkte, - - - = Zeitfunktion), jedoch konnten bei dem w -Typ die zwei gefundenen 15° -Linien wegen dessen häufigerer Intraphänmutationen nicht sicher bestimmten 30° -Linien zugeordnet werden. Am wahrscheinlichsten, auf Grund der bisher beobachteten Übergänge, ist die Zuordnung von $(w_1)\mu_{15} = 0,038$ zu $(w_1)\mu_{30} = 0,11$ und $(w_2)\mu_{15} = 0,020$ zu $(w_2)\mu_{30} = 0,065$.

Für die Gene von *Drosophila*⁴ konnte unter Anwendung des van 't Hoff'schen Gesetzes aus der Temperaturabhängigkeit der Mutabilität die Aktivierungsenergie $U = 1,98 \cdot 10^{-4} (T_1 \cdot T_2 / T_1 - T_2) \lg (\mu_1 / \mu_2)$ eV errechnet werden, die eine Wärmeschwingung des Genmoleküls zur Entstehung einer Mutation überschreiten muß. Nach⁵ ergibt

⁴ N. W. Timoféeff-Ressovsky u. K. G. Zimmer, Z. Vererbungsl. 79, 530 [1941].

⁵ K. Patau u. N. W. Timoféeff-Ressovsky, Z. Vererbungsl. 81, 62 [1943].

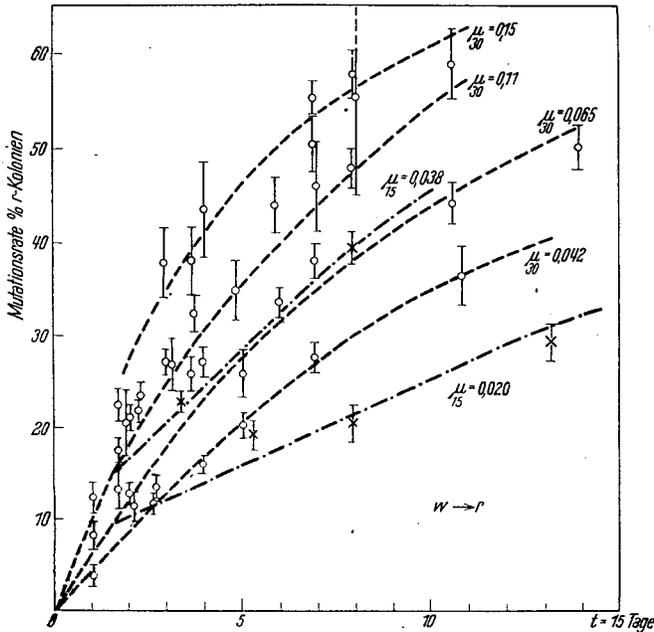


Abb. 2. Abhängigkeit der Mutationsrate $w \rightarrow r$ (% rote Kolonien) vom Alter weißer Stammkolonien.

tionskonstanten μ_r und μ_w bestimmt würde: $m = m_\infty - (m_\infty - m_0) \cdot e^{-(\mu_r + \mu_w)t}$, mit m_0 = Ausgangsmutationsrate und $m_\infty = \mu_r / \mu_r + \mu_w$ = Endmutationsrate. Setzen wir, was dem Fall der Versuche entspräche, $m_0 = 0$ und $e^{-x} \approx 1 - x$, also $m \approx \mu_r \cdot t$, so ließen sich die Mutationskonstanten μ_r und μ_w aus dem Anstieg der Kurven im Nullpunkt bestimmen. In unserem Falle müssen wir aber jeder gefundenen Zeitfunktion einen anderen Genotyp zuordnen, da ein bestimmter Genotyp (Gen, Allel) ja nicht nur durch sein von ihm erzeugtes Phän (hier also Koloniefarbe), sondern auch durch seine Mutabilität (charakterisiert ist. Ferner hatten wir gesehen, daß zwischen den „Zeitlinien“ innerhalb eines Phäns mutative Übergänge stattfinden, die sich also nicht durch Umschlagen der Koloniefärbung, sondern nur

sich für die *ClB*-Letalgene 1,35 eV, für ein relativ mutables *bb*-Allel 0,95 eV. Die gleiche Rechnung für unsere *r* → *w*-Mutation mit $^{(r)}\mu_{30} = 0,019$ und $^{(r)}\mu_{15} = 0,0060$ Mut./Tag liefert $U_r = 0,58$ eV. Ordnet man den beiden 15°-*w*-Linien die beiden oben erwähnten 30°-Linien zu, so erhält man für diese Gene oder Allele $U_{w_1} = 0,53$ eV und $U_{w_2} = 0,59$ eV. Die gefundenen niederen Aktivierungsenergien der *Prodigiosum*-Gene entsprechen also den Erwartungen, die man auf Grund der Befunde an den stabileren *Drosophila*-Genen haben kann.

Das Temperaturgesetz monomolekularer Reaktionen erlaubt eine noch etwas weitergehende Analyse der Befunde. Bei bekannter Aktivierungsenergie *U* ergibt sich danach für die Mutationskonstante $\mu = nC \cdot e^{-U/kT}$; dabei ist *n* die Gesamtzahl der Allele aller beteiligten Gene, $k = 0,86 \cdot 10^{-4}$ eV und *C* eine Zahl, die von der Molekülstruktur bestimmt ist und für normale Moleküle auf höchstens $5 \cdot 10^{17} \cdot \text{Tag}^{-1}$ geschätzt wird⁴. Setzen wir die bekannten Werte für die *ClB*-Gene ($\mu_{20} = 1,0 \cdot 10^{-4} \cdot \text{Tag}^{-1}$, $U = 1,35$ eV) ein, so erhalten wir $nC = 2 \cdot 10^{19} \cdot \text{Tag}^{-1}$. Die in Frage kommende Allelenzahl *n* im X-Chromosom wird⁴ auf etwa 10^4 geschätzt, so daß sich für *C* etwa 10^{15} ergibt, was der erwähnten Schätzung nicht widersprechen würde. Für das besagte *bb*-Gen erhält man auf gleiche Weise ($\mu_{20} = 6,5 \cdot 10^{-6}$, $U = 0,95$) für $nC = 1,6 \cdot 10^{11}$. Da die Allelenzahl von *bb* wahrscheinlich innerhalb einer Zehnerpotenz liegt, dürfte *C* um 10^{11} betragen. Dies liegt aber trotz der großen Ungenauigkeit der Bestimmungen unter dem Wert der normalen *ClB*-Gene. Für unsere *Prodigiosum*-Mutationen erhalten wir $nC = 8 \cdot 10^7$ (*r*), $6 \cdot 10^7$ (w_1) und $4 \cdot 10^8$ (w_2). Diese Werte liegen also wiederum unterhalb von *bb*. Tragen wir die Aktivierungsenergie *U* gegen den der Aktivierungsentropie proportionalen Ausdruck $\log(nC)$ auf (siehe Abb. 3), so scheinen sich die Werte aller behandelten Gene einer Geraden einzuordnen. Insbesondere liegen die *Prodigiosum*-Punkte etwa auf der Geraden durch die beiden für *Einzelgene* von *Drosophila* geltenden Punkte. Der für die *ClB*-„Gensummen“-Muta-

tionsraten geltende Punkt fällt dagegen deutlich heraus. Man kann somit vermuten, daß bei den untersuchten *Prodigiosum*-Mutationen zumindest nicht sehr viele Gene im Spiele sind, möglicherweise nur eines. Diese Vermutung wird gestützt durch demnächst zu veröffentlichende Ergebnisse von UV-Bestrahlungen: Eine Dosis, welche ein Überlebendenverhältnis von 10^{-5} ergibt, erzeugt eine „Gensummen“-Mutationsrate verschiedenartiger Mutanten von 10%, während die Mutations-

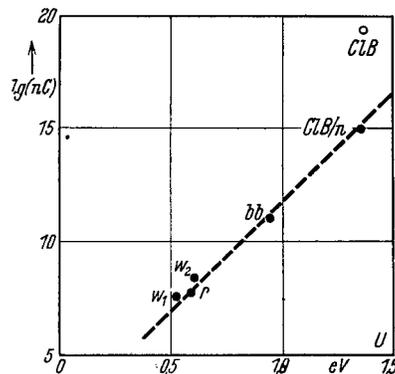


Abb. 3. Zusammenhang zwischen Aktivierungsenergie (*U*) und -entropie ($\lg C$) bei Genen von *Drosophila melanogaster* (*ClB*, *bb*) und *Bacterium prodigiosum* (*r*, w_1 , w_2).

rate *r* → *w* nicht nachweisbar erhöht ist und demnach unter 1% liegt. Die Zahl der *r* → *w*-Gene entspricht also höchstens 1/10 der an der Gensummenrate beteiligten Gene.

Wegen der großen Fehler in der Bestimmung der beiden Konstanten *U* und *C* erscheint es unsicher, daß der gefundene Zusammenhang real ist. Möglicherweise ist die Zahl der *ClB*-Gene wesentlich unterschätzt, sind die Temperaturkoeffizienten sehr ungenau bestimmt und die μ für *Prodigiosum* wegen der (nicht gezählten) Intraphänmutationen zu niedrig eingesetzt. Dadurch würden sich die *C*-Werte vielleicht denen von *bb* nähern, wenn auch eine solche Verschiebung kaum eine Konstanz von *C* gegenüber *U* ergeben dürfte.

Über morphologische Geschlechtsunterschiede bei *Valeriana dioica*

Von FRANZ MOEWUS

Aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für medizinische Forschung in Heidelberg

(Z. Naturforschg. 2 b, 313—316 [1947]; eingegangen am 27. Mai 1947)

In der Umgebung von Heidelberg ist *Valeriana dioica* L. streng diözisch. Zählungen am Standort ergaben 20,65% ♂♂, Aussaatversuche führten gleichfalls zum Überwiegen der ♀♀, während im Bayrischen Wald 91,2% ♂♂ gefunden wurden. Durch Messungen wurden folgende morphologische Geschlechtsunterschiede erfaßt: 1. Die ♀♀ sind etwa doppelt so lang wie die ♂♂. 2. Die ♀♀ haben 3, selten 4, die ♂♂ 2, selten 1 oder 3 Internodien. 3. Der Unterschied in der Sproßlänge kommt erst durch das 3. Internodium der ♀♀ zustande, da die 1. und 2. Internodien bei ♀♀ und ♂♂ gleich lang sind. 4. Die Sprosse der ♀♀ sind etwa 1,5-mal dicker als die der ♂♂. 5. Die Blätter der ♀♀ sind durchschnittlich doppelt so lang wie die der ♂♂. Es ist zu vermuten, daß alle diese Größenunterschiede auf verschiedene Wuchsstoff- bzw. Hemmstoffproduktion zurückzuführen sind.

I. Zahlenverhältnis der Geschlechter

Nach Correns¹ ist *Valeriana dioica* L. subdiözisch. In Kochs Synopsis² wird eine f. *silvatica* von *V. dioica* angegeben, deren Blüten alle oder größtenteils zwittrig sein sollen. Die bei Heidelberg in den Jahren 1941 und 1942 untersuchten Pflanzen waren ausnahmslos rein weiblich oder rein männlich. Auch bei Waldmünchen (Bayr. Wald) im Jahre 1943 gesammelte Exemplare wiesen eine rein diözische Geschlechtsverteilung auf. Tab. 1 gibt die Auszählung von 5806 Pflanzen wieder. Die an acht verschiedenen Stellen (1—8) bei Heidelberg gemachten Zählungen ergeben ein deutliches Überwiegen der ♀♀: 79,35%. Die ungleiche Augenfälligkeit der beiden Geschlechter kann nicht die Ursache sein. 3 ♀♀ und 3 ♂♂, deren Blüten im Frühjahr 1941 noch geschlossen waren, wurden am Standort ausgegraben und weiter kultiviert. Jedes ♀♀ wurde mit dem Pollen eines ♂♂ belegt; die Samen der 3 Pflanzen wurden getrennt geerntet. Die Aussaatversuche (Tab. 1, Reihe 9—11) lieferten wieder eine Minderzahl an ♂♂; auch die Aussaat der Samen von im Freien abgeblühten ♀♀ gab 25,6% ♂♂, trotz wesentlich ungünstigerer Bodenverhältnisse als am Standort (Tab. 1, Ziffer 12). Bei den im Frühjahr 1943 in Herzogau bei Waldmünchen gesammelten Pflanzen wurden 91,2% ♂♂ gefunden. Hier ist also das Zahlenverhältnis gerade in das andere Extrem verschoben. Da nach Meurman³ bei *V. dioica* das männ-

liche Geschlecht das heterogametische ist, wäre zu prüfen, ob sich weiblich bestimmender und männlich bestimmender Pollen unter verschiedenen Außenbedingungen verschieden verhält oder ob spezifische genotypische Ursachen für das Zustandekommen der Zahlenverhältnisse an den verschiedenen Standorten verantwortlich sind.

Herkunft	Zahl der untersuchten Pflanzen	davon		% ♂	m
		♀	♂		
1. Schriesheimer Tal A	1125	879	246	21,87	1,23
2. Schriesheimer Tal B	422	351	71	16,82	1,82
3. Schriesheimer Tal C	1612	1284	328	20,35	1,00
4. Kreuzgrund A	48	32	16	33,33	6,80
5. Kreuzgrund B	234	177	57	24,36	2,81
6. Kreuzgrund C	1222	978	244	19,97	1,14
7. Mausbachtal A	43	30	13	30,23	7,00
8. Mausbachtal B	30	27	3	10,00	5,48
	4736	3758	978	20,65	0,59
9. Aussaat Pflanze 1	112	87	25	22,32	3,93
10. Aussaat Pflanze 2	136	118	18	13,24	2,91
11. Aussaat Pflanze 3	78	56	22	28,20	5,09
12. Aussaat	234	174	60	25,60	2,85
13. Waldmünchen (Bayr. Wald)	510	45	465	91,20	1,25

Tab. 1. Zahlenverhältnis der Geschlechter bei *Valeriana dioica*.

II. Morphologische Geschlechtsunterschiede

1. Unterschiede im Bereich der Blüte

Seit langem ist bekannt, daß die Blumenkrone der männlichen Blüten von *V. dioica* größer ist als die der weiblichen Blüten, und zwar ist die der männlichen etwa 3 mm, die der weiblichen

³ Meurman, Soc. Sci. fenn. Comment. biol. II, 3 [1925].

¹ C. Correns, Handwörterb. Naturwiss. 1913, Bd. 4, S. 975; Handb. Vererbungswiss. 1928, Bd. II C.

² W. D. J. Kochs Synopsis der Deutschen und Schweizer Flora. 3. Aufl. 1902, Bd. II, S. 1206.

Blüten nur 1 mm lang. Während die weiblichen Blütenblätter in der Regel weiß gefärbt sind, haben die männlichen eine rosa bis rötliche Farbe. Wieweit die Verschiedenheiten in der Blütenfarbe konstant sind, läßt sich nicht sagen. An manchen Standorten waren sowohl die weiblichen als auch die männlichen Blüten rein weiß gefärbt, an anderen rosa (unabhängig vom Alter der Blüte). Beachtenswert ist weiter, daß die weiblichen Blüten viel dichter zusammengedrängt stehen als die männlichen.

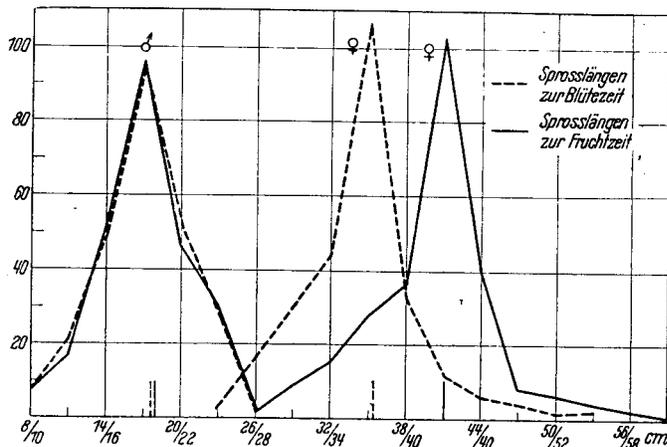


Abb. 1. Längenmessung von 250 ♀♀ und 250 ♂♂ zur Blütezeit (---) und zur Fruktifikationszeit (—). Mittelwert der ♂♂ 17,8 bzw. 18,0 cm, der ♀♀ 35,6 bzw. 41,2 cm.

2. Unterschiede in der Sproßlänge

Bereits Goebel⁴ erwähnt, daß die ♂♂ von *V. dioica* unter denselben Vegetationsbedingungen kleiner sind als die ♀♀. Steckhan⁵ fand dagegen keinen Größenunterschied. Die bei Heidelberg ausgemessenen Pflanzen wiesen aber einen deutlichen Größenunterschied auf. Die Messungen wurden zur Blütezeit und zur Fruktifikationszeit vorgenommen. Zur Fruktifikationszeit werden die Unterschiede noch größer, da sich die weiblichen Infloreszenzen durch postflorales Wachstum stark strecken. Die Höhe der Pflanzen wird gemessen vom obersten Grundblatt bis zum obersten Ende des Blütenstandes. Zur Blütezeit wurden 3696, zur Fruktifikationszeit 3884 Pflanzen gemessen. Nur Pflanzen mit geöffneten Blüten wurden verwendet. Eine Messung (vom Standort

⁴ K. Goebel, Organographie der Pflanze, 3. Aufl. 1923, 1. TL, S. 190.

⁵ H. Steckhan, Z. ind. Abst. Vererbungsl. 73, 198 [1937].

Kreuzgrund C) von 250 ♀♀ und 250 ♂♂ zur Blüte- und zur Fruktifikationszeit ist in Abb. 1 wiedergegeben. Die Länge der ♀♀ (28—62 cm) variiert stärker als die der ♂♂ (9—26 cm). Die beiden Variationskurven unterscheiden sich zur Fruktifikationszeit deutlich. Der Quotient Länge ♀♀ : Länge ♂♂ ist fast 2,3. Vergleicht man diese Messungen mit den zur Blütezeit vorgenommenen, dann sieht man, daß die ♀♀ im Durchschnitt 5,6 cm kürzer sind. Die Infloreszenzen der ♀♀ strecken sich also nach der Blüte um fast 20%. Der Quotient Länge ♀♀: Länge ♂♂ zur Blütezeit ist gerade 2,0. Die ♀♀ sind demnach bereits zur Blütezeit durchschnittlich doppelt so lang wie die ♂♂. Eingebeutelte ♀♀ wachsen nach der Blüte nicht weiter, da die Befruchtung ausgeblieben ist. Zur Blütezeit war der niedrigste Quotient 1,50, der höchste 2,79; zur Fruktifikationszeit sind die Werte 1,67 bzw. 3,10. Damit ist das Ausgangsmaterial zur weiteren Analyse dieses morphologischen Geschlechtsunterschiedes (Sproßlänge) gegeben. Geplant sind Wuchsstoff- und Hemmstoffbestimmungen.

3. Zahl der Internodien

Die Sprosse der ♀♀ und ♂♂ von *V. dioica* unterscheiden sich nicht nur in ihrer Länge, sondern auch in der Zahl der Internodien bzw. in der Zahl der Blattpaare. In Tab. 2 ist die Zahl der Internodien von ♀♀ und ♂♂ zweier Standorte wiedergegeben. ♀♀ mit 1 oder 2 Internodien wurden nicht beobachtet. Die ♀♀ haben meist 3, selten 4, die ♂♂ meist 2, selten 1 oder 3 Internodien. Da sich die Zahl der Internodien schon frühzeitig erkennen läßt, kann man an diesem Merkmal bereits an noch nicht blühenden Pflanzen in der Regel unterscheiden, ob sie ♀♀ oder ♂♂ sind. Zwischen Sproßhöhe und Internodienzahl bestehen folgende Korrelationen. ♀♀, die länger als 59 cm sind, haben

Herkunft	Zahl der untersuchten Pflanzen	Zahl der Internodien			
		4	3	2	1
Schriesheimer Tal A ♀♀	172	10	162	—	—
Schriesheimer Tal A ♂♂	59	—	1	58	—
Kreuzgrund C ♀♀	367	18	349	—	—
Kreuzgrund C ♂♂	109	—	1	104	4

Tab. 2. Zahl der Internodien von *Valeriana dioica*.

4 Internodien. Unter den Pflanzen von 55—59 cm Länge befanden sich 12, die 4 Internodien besaßen, 17 hatten 3. Alle ♀♀ unter 55 cm setzten sich aus 3 Internodien zusammen. Die 2 ♂♂ mit 3 Internodien waren 30 bzw. 31,5 cm lang, die 4 ♂♂ mit 1 Internodium unter 10 cm.

4. Internodienlänge

An einer Anzahl Pflanzen wurde auch die Länge der Internodien bestimmt. Das 1. Internodium wurde gerechnet vom obersten Grundblatt bis zum 1. Blattpaar. Für diese Messungen wurden 400 ♀♀ mit 3 und 400 ♂♂ mit 2 Internodien verwendet. Die Ergebnisse sind in Abb. 2 veranschaulicht. Vergleichen wir die Internodienlängen der ♀♀ — 5,5 cm das 1., 10,9 cm das 2., 16,5 cm das 3. — und die der ♂♂ — 5,2 cm das 1., 10,2 cm das 2. —, dann fällt auf, daß bei den ♀♀ und den ♂♂ die 1. Internodien gleich lang sind: 5,5 bzw. 5,2 cm. Dasselbe gilt für die 2. Internodien: 10,9 bzw. 10,2 cm. Der Unterschied in der Sproßlänge kommt erst durch das 3. Internodium der ♀♀ zustande; es ist durchschnittlich 16,5 cm lang. Weiterhin ergibt sich aus den Messungen, daß sich die Internodienlängen der ♀♀ wie 1 : 2 : 3 verhalten. Ob diese Verhältniszahlen reell sind, kann wegen der geringen Größe des Beobachtungsmaterials noch nicht gesagt werden. Jedenfalls müßten auch hier Wuchsstoffbestimmungen an den verschiedenen Internodien zu interessanten Feststellungen führen.

5. Stengeldurchmesser

Da sich herausgestellt hat, daß die 1. und 2. Internodien der ♀♀ und ♂♂ durchschnittlich gleich lang sind, kann man vergleichbare Werte erhalten, wenn der Durchmesser des Sprosses kurz unterhalb der Blattpaare bestimmt wird. Die Messungen wurden mit einem Mikrometer ($\frac{1}{100}$ mm) vorgenommen. In Abb. 3 ist eine Messungsreihe wiedergegeben. Danach unterscheiden sich die ♀♀ und ♂♂ deutlich im Sproßdurchmesser. Die Quotienten Durchmesser ♀♀ : Durchmesser ♂♂ sind unterhalb des 1. Blattpaares 1,6, unterhalb des 2. Blattpaares 1,7. Die Sprosse der ♀♀ sind demnach unterhalb des 1. und 2. Blattpaares, also in

ungefähr gleicher Höhe über dem obersten Grundblatt, 1,6—1,7-mal dicker als die Sprosse der ♂♂.

6. Blattlängen

Als letztes Unterscheidungsmerkmal wurde die Blattlänge untersucht, und zwar auch wieder an

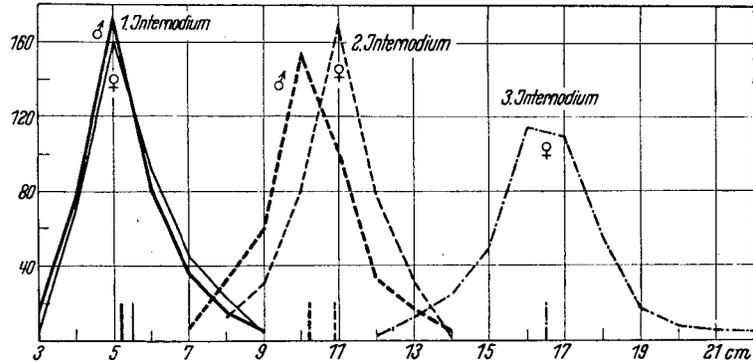


Abb. 2. Messung der Internodienlänge von 400 ♀♀ und 400 ♂♂. — = 1. Internodium (M ♀♀ = 5,5 cm, M ♂♂ = 5,2 cm), --- = 2. Internodium (M ♀♀ = 10,9 cm, M ♂♂ = 10,2 cm), - · - · - = 3. Internodium (M ♀♀ = 16,5 cm).

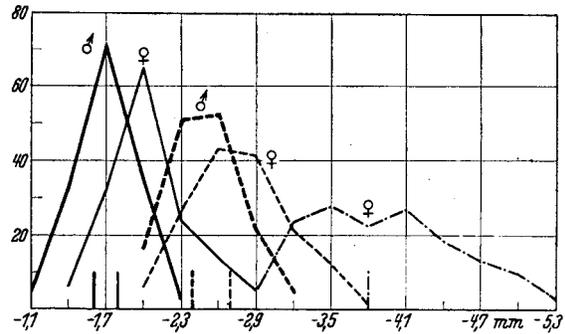


Abb. 3. Messung des Stengeldurchmessers von 151 ♀♀ und 145 ♂♂ unterhalb des 1., 2. und 3. Internodiums. — ♀♀: 1. Internodium --- (M = 3,8 mm); 2. Internodium - - - (M = 2,7 mm); 3. Internodium - · - · - (M = 1,8 mm). ♂♂: 1. Internodium - - - (M = 2,4 mm); 2. Internodium — (M = 1,6 mm).

♀ mit 3 und ♂♂ mit 2 Internodien bzw. Blattpaaren. In Abb. 4 ist eine Messungsreihe dargestellt. Die Blattlängen der ♀♀, in der Reihenfolge 1., 2., 3. Blattpaar, verhalten sich wie 1 : 2 : 3, die der ♂♂ wie 1 : 2. Die Quotienten Blattlänge ♀♀ : Blattlänge ♂♂ sind für das 1. Blattpaar 2,0, für das 2. Blattpaar 2,2. Die Blätter der ♀♀ sind demnach durchschnittlich doppelt so lang wie die der ♂♂. Während sich die Variationskurven der Blattlängen vom 1. Paar noch etwas überschneiden, ist das bei den Längen vom 2. Blattpaar nicht mehr

der Fall. Daraus können wir den Schluß ziehen, daß wir an den Blattlängen des 2. Blattpaares ♀♀ und ♂♂ gut unterscheiden können. Daß dies möglich ist, zeigten zahlreiche daraufhin unternommene Stichproben an Pflanzen anderer Standorte. Jedoch muß noch geprüft werden, wie sich die Blattlängen im Laufe der Entwicklung bis zur Blütezeit ändern. Dies gilt auch für die Internodienlänge, die ja auch eine deutliche Unterscheidung beiderlei Geschlechter ermöglicht, ehe zu erkennen ist, ob weibliche oder männliche Blüten entstehen. Demgegenüber erlaubt die Internodienzahl ziemlich eindeutig die Feststellung, ob es sich um ♀♀ oder um ♂♂ handelt.

7. Kurze Besprechung der Ergebnisse

Die an *Valeriana dioica* genauer untersuchten Merkmale sind sekundäre Geschlechtsmerkmale, die mit der geschlechtlichen Fortpflanzung selbst nichts zu tun haben. Eine Zusammenstellung von sekundären Geschlechtsmerkmalen bringen Correns¹ und Steckhan², auf die verwiesen sei. Besonderer Wert wurde auf die Erfassung von Größenunterschieden gelegt (Sproßlänge, Internodienlänge, Stengeldurchmesser, Blattlänge), denn diese sollten es erlauben, mit Hilfe physiologischer Methoden die Verschiedenheiten genauer zu analysieren. Letzten Endes müssen ja Größen-

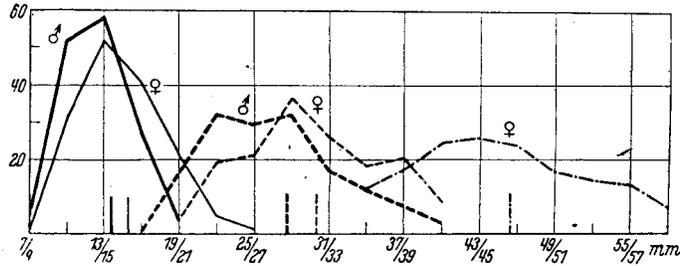


Abb. 4. Messung der Blattlängen von 151 ♀♀ und 145 ♂♂. ♀♀: 1. Internodium -·-·- (M = 45,5 mm); 2. Internodium - - - (M = 30,3 mm); 3. Internodium - - - (M = 15,2 mm). ♂♂: 1. Internodium - - - (M = 27,7 mm), 2. Internodium - - - (M = 13,6 mm).

unterschiede durch Wachstumsregulatoren, Wachstumsstoffe und Hemmstoffe, zustande kommen. Der Kausalzusammenhang wäre folgendermaßen vorstellbar: Durch ein Gen ist z. B. die Blattlänge festgelegt. Die Realisatoren wirken derart ein, daß bei den ♀♀ die Blätter doppelt so lang werden wie bei den ♂♂. Die Realisatoren sollten also irgendeinen Einfluß auf die Wachstums- bzw. Hemmstoffproduktion haben. Entweder könnte bei gleichbleibender Wachstumsstoffmenge die Hemmstoffbildung geändert werden oder bei gleichbleibender Hemmstoffmenge die Wachstumsstoffbildung, oder es ändern sich beide Wachstumsregulatoren. Diese Veränderungen sollten mit Hilfe genauer Wachstumsstoff- und Hemmstoff-Teste erfaßt werden können und damit einen Einblick in die Wirkungsweise der Realisatoren erlauben.

BERICHTE

Über die Struktur der bei Vögeln vorkommenden Porphyrine

In der Klasse der Vögel sind Porphyrine recht weit verbreitet. So ist Porphyrin ein regelmäßiger Bestandteil der gefleckten Eischalen. Indessen beschränkt sich sein Vorkommen keineswegs nur auf diese, da auch bei einer Anzahl ungefleckter und selbst weißer Schalen Porphyrin spektroskopisch nachweisbar ist¹.

Weniger weit verbreitet und weniger auffällig als in den Schalenflecken der Eier ist das Porphyrin in Federn vorhanden. Immerhin sind bis jetzt Porphyrine in den Federn zahlreicher Vogelarten nachgewiesen, die 13 verschiedenen Ordnungen des Systems angehören². Infolge der geringen Farbstoffmengen, um die es sich hier handelt, ist das Porphyrin in den weitaus meisten Fällen nur durch die Fluoreszenzreaktion nachweisbar. Bezeichnenderweise beschränkt sich der Porphyringehalt der Federn in der Regel auf

verborgene Gefiederregionen, also auf Federn und Federabschnitte, die weitgehend vor der Einwirkung des Lichtes geschützt sind. Um so überraschender ist es daher, daß durch die reichliche Einlagerung von freiem Porphyrin in einem einzigen bisher bekannten Fall auch eine Gefiederfarbe (Schmuckfarbe) entstehen kann, wie die weinroten Genickfedern der Schopptrappe, *Lophotis ruficrista*, zeigen³.

Den am besten und längsten bekannten Fall der Federpigmentierung durch Porphyrin finden wir bei den Turakos (Musophagen). Hier ist der hauptsächlich in den Schwungfedern dieser Vögel auftre-

¹ O. Völker, J. Ornithol. 88, 604 [1940]; Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 273, 277 [1942].

² O. Völker, Biol. Zbl. 64, 184 [1944].

³ O. Völker, Ornithol. Mber. 46, 107 [1938].

Ausgangsmaterial	Farbstoff	Bemerkung
Eischalen von:		
<i>Larus ridibundus</i> (Lachmöwe)	Protoporphyrin	} 7
<i>Vanellus vanellus</i> (Kiebitz)	"	
Federn von:		
<i>Lophotis r. ruficrista</i> (Schopfftrappe)	Koproporphyrin III	} 8
<i>Lophotis r. gindiana</i> (Schopfftrappe)	" "	
<i>Lissotis melanogaster</i> (Schwarzbauchtrappe)	" "	
Federn von:		
<i>Turacus corythaix</i>	Koproporphyrin III	} Nach Entkupferung und Decarboxylierung des nativen Uroporphyrin-kupfersalzes (Turacin) ⁹
" <i>leucolophus</i>	" "	
" <i>hartlaubi</i>	" "	
" <i>l. leucotis</i> (Turakos,	" "	
" <i>l. livingstoni</i> Musophagiden,	" "	
" <i>persa zenkeri</i> (Helmvögel)	" "	
" <i>macrorhynchus verreauxi</i>	" "	
" <i>schalowi marungensis</i>	" "	
<i>Musophaga rossae</i>	" "	
<i>Gallirex porphyreolophus</i>	" "	
<i>Ruwenzorornis j. johnstoni</i>	" "	

Tabelle. Übersicht der aus adulten Vögeln isolierten und identifizierten Porphyrine.

tende, lichtbeständige rote Farbstoff, das Turacin, geradezu als systematisches Merkmal zu werten, da er nur dieser kleinen, rein afrikanischen Gruppe von Vögeln eigen ist⁴. Da im Turacin nach H. Fischer⁵ das Porphyrin an Metall gebunden ist, so stellt der rote Federfarbstoff der Turakos gleichsam einen Sonderfall der Porphyrinablagerung in Federn dar.

Außer in den Eischalen und den Federn vieler Vögel finden sich Porphyrine auch noch in den normalen Fäces dieser Tiere. In den Exkrementen der Trappen und Eulen sind diese jedenfalls regelmäßig nachweisbar⁶.

Das *Ooporphyrin*, wie der rote Farbstoff in den Schalenflecken der Eier zunächst genannt wurde, erhielten erstmalig H. Fischer u. F. Kögl⁷ aus Kiebitz- und Möweneierschalen in kristallisiertem Zustand. Nach erfolgter Reindarstellung erwies sich dieser Farbstoff schließlich als *identisch mit Protoporphyrin*, also der eisenfreien Stammverbindung des Hämins. Das Protoporphyrin der Eischalen ist somit nur durch den Mangel an Eisen von der Farbkomponente des Hämoglobins unterschieden.

Aus den rosenroten, lichtempfindlichen Federn der Trappen (vergl. Tab.), die als die porphyrinreichsten der Vögel zu gelten haben, konnte Völker⁸ nach weitgehender chromatographischer Reinigung ein Porphyrin zur Kristallisation bringen und mit *Koproporphyrin III* identifizieren. Das Koproporphyrin der Trappenfedern entspricht somit in seiner Struktur, d. h. der Stellung der Seitenketten am Porphinkern,

ebenfalls dem normalen Hämin bzw. dem Protoporphyrin der Eischalen.

Hinsichtlich seiner Struktur schien bisher das Porphyrin des roten Federfarbstoffes der Turakos eine Ausnahme zu machen, da nach den Befunden von H. Fischer und J. Hilger⁵ im Turacin das Uroporphyrin-Kupfersalz der Isomerenreihe I vorliegen sollte. Rimington⁹, der in neuester Zeit die Frage nach der Struktur dieses Uroporphyrins erneut an einem umfangreichen Material prüfte, machte dabei die überraschende Feststellung, daß aus dem Turacin aller von ihm untersuchten 11 *Turacus*-Arten (vergl. Tab.) nach Entkupferung und Decarboxylierung *ausschließlich Koproporphyrin III* erhalten wird. Dabei ist hervorzuheben, daß der Abbau des Uroporphyrins zum Koproporphyrin auch nach dem Urteile von Hans Fischer viel schärfere Unterscheidungsmöglichkeiten der Isomeren (Schmelzpunkte, Löslichkeit) gestattet, als dies bei den Uroporphyrinen möglich ist. H. Fischer mußte seinerzeit infolge des wenigen ihm zur Verfügung stehenden Materials auf diesen entscheidenden Abbau verzichten.

Diese Ermittlung Rimingtons, wonach also auch das Porphyrin der Turakosvögel dem Typ III angehört (Uroporphyrin III als Kupferkomplexsalz), ergänzt die Vorstellung, die man bisher von der Biogenese der Porphyrine bei den Vögeln hatte, in wünschenswerter Weise. Denn nunmehr lassen sich alle bisher aus adulten Vögeln isolierten Porphyrine, das

⁴ E. Stresemann, Handb. d. Zoologie (Künten-thal-Krumbach) 7. Bd., 2. Hälfte, Aves, 1927 bis 1934.

⁵ H. Fischer u. J. Hilger, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 138, 49 [1924].

⁶ O. Völker, J. Ornithol. 86, 436. [1938].

⁷ H. Fischer u. F. Kögl, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 131, 241 [1923]; 138, 262 [1924].

⁸ O. Völker, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 258, 1 [1939].

⁹ C. Rimington, Proc. Roy. Soc. [London], Ser. B 127, 106 [1939]; Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 259, 45 [1939].

Protoporphyrin der Eischalen, das Koproporphyrin III der Trappenfedern und schließlich das Uroporphyrin III der Turakos, auf ihren gemeinsamen Grundfarbstoff, das Ätioporphyrin III, zurückführen. Die Entstehung von Porphyrinen des Typs III ist in der Klasse der Vögel nach den vorliegenden Erfahrungen eine auffallend einseitige. Ist es doch bisher noch in keinem Falle gelungen, Porphyrine des Typs I vom Typ III abzutrennen und in Substanz zu fassen. Auch lassen die bei der Aufarbeitung der Porphyrine der Vögel gemachten Erfahrungen ein spurenweises Vorkommen von Vertretern des Typs I neben solchen vom Typ III praktisch ausschließen. Lediglich während des embryonalen Lebens ist bei den Vögeln die Fähigkeit zur Synthese von Farbstoffen beider Isomerenreihen nebeneinander noch vorhanden, wie die Isolierung von Koproporphyrin I aus dem wachsenden Hühnerembryo zeigt (vergl. Schönheyder¹⁰).

Dieses ist dort gleichzeitig mit dem Auftreten von Hämoglobin (Porphyrin Typ III) nachweisbar.

Eine weitere Bestätigung des ausschließlichen Vorkommens von Porphyrinen der Isomerenreihe III bei den Vögeln dürfte noch von der Identifizierung jener Porphyrine zu erwarten sein, die sich regelmäßig in den Fäces der Trappen und der Eulen finden.

Demgegenüber ist für den Menschen wie für den höheren Säuger der Dualismus der Porphyrine, d. h. die grundsätzliche Fähigkeit des Organismus zur Synthese isomerer Porphyrine nebeneinander, die Regel. Dieser ist im normalen wie im pathologischen Geschehen für eine große Zahl von Fällen nachgewiesen.

Otto Völker,
Gießen, Zoolog. Institut.

¹⁰ F. Schönheyder, J. biol. Chemistry **123**, 491 [1938].

BUCHBESPRECHUNGEN

Botanische Bakteriologie und Stickstoffhaushalt der Pflanzen auf neuer Grundlage von Hugo Schanderl. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart 1946. 198 S., 46 Abb.; Preis karton. 7 RM.

Die Untersuchungen von Schanderl über das Vorkommen von Bakterien in allen pflanzlichen Geweben sowie die angebliche Symbiose beider, zusammen mit seinen Behauptungen über die Aufnahme atmosphärischen Stickstoffs durch viele höhere, grüne Pflanzen sind ein neuartiger Beitrag auf einem Gebiet, das zumindest in den Grundzügen durch viele Arbeiten bereits als weitgehend geklärt angesehen wird. Die z. Tl. schon aus früheren Veröffentlichungen bekannt gewordenen Anschauungen des Verfassers sind daher, wie kaum anders zu erwarten, auf sehr großes Mißtrauen gestoßen und konnten bisher auch in vieler Hinsicht nicht bestätigt werden. Dieses Mißtrauen wird noch erhöht durch eine viel zu generelle Ablehnung von sorgfältig ausgeführten Kontrollversuchen anderer Autoren. Man vergleiche etwa die Ablehnung der Arbeit von K. Rippel seitens des Verfassers. Andererseits darf nicht verhehlt werden, daß die aus den Beobachtungen des Verfassers entwickelten Hypothesen neue Gesichtspunkte enthalten, die die weitere Nachprüfung der Beobachtungen als wichtig erscheinen lassen; es sei nur an manche noch nicht überwundenen Schwierigkeiten bei der Theorie der Knöllchenbakterien erinnert.

Die Überlegungen des Verfassers gruppieren sich im wesentlichen um zwei Beobachtungen: Nach seinen Ausführungen gelang es ihm erstens, sowohl aus Früchten und Samen als auch aus pflanzlichen Geweben der verschiedensten Herkunft, unter sterilen Bedingungen in neutralem bis basischem Medium, Bakterien zu kultivieren. Und zweitens glaubt er, die Fähigkeit zur Assimilation von atmosphärischem Stickstoff bei den verschiedensten höheren und niederen Pflanzen, insbesondere Nicht-Leguminosen, wie Buchweizen, Sonnenblumen, Kartoffeln oder Hafer,

nachgewiesen zu haben. Die Bakterien sollen sich als Symbionten im Plasma der Zellen in Form von Chondriosomen befinden, wo sie nichts anderes als Standortmodifikationen von Bakterien darstellen sollen, die durch geeignete Kulturmethoden wieder zu echten Bakterien regeneriert werden können. Dagegen erfährt die bisherige, im wesentlichen aber nur für die Leguminosen gültige Theorie der Stickstoffversorgung durch die Bakterien der Wurzelknöllchen eine völlige Ablehnung. Die Knöllchen seien Mißbildungen, ein Zeichen von N-Hypertrophie.

Wie sind diese Ergebnisse Schanderls nun zu bewerten? Was zunächst die Frage nach der Isolierung von Bakterien aus Samen und Früchten anbelangt, so konnte von verschiedener Seite bestätigt werden, daß im Inneren von gesunden, fleischigen Früchten, allerdings nur in deren Hohlraum, sowie im lockeren Fruchtfleisch, Bakterien und Hefen vorkommen (Marcus, Romwalter u. von Kiraly, Mische). In Getreidekörnern ließen sich, zwischen Frucht- und Samenschale intrazellulär wachsend, Pilze nachweisen (außer Niehammer vor allem Marcus). In beiden Fällen handelt es sich sogar z. Tl. um regelmäßige Erscheinungen.

Auf der anderen Seite aber gelang es bisher bei Nachprüfungen der Ergebnisse des Verf. nicht, Mikroorganismen aus dem festen Fruchtfleisch oder gar aus dem Inneren von Samen zu kultivieren. Der vom Verf. besonders herangezogene Befund von Stührk, der aus sterilisierten und dann steril zerquetschten Erbsen Bakterien züchtete, läßt sich auch durch Nahrungsmangel von zunächst nicht ausgewachsenen Keimen oder durch anhaftende Luftsäcke, die das Auskeimen der Bakterien zunächst verhinderten, erklären. Auch konnte bisher in Nachuntersuchungen unter Zugrundelegung der Schanderlschen Methodik das allgemeine Vorhandensein von Bakterien im Innern von äußerlich steril gemachtem Gewebe nicht festgestellt werden (vergl. die kritischen Nachunter-

suchungen von Burzik, K. Rippel u. a.). Nur in einem Fall fand Geßner (nach Marcus) bei allen sonstigen negativen Prüfungsergebnissen bei *Honkenya* im Mesophyll in 98% der Fälle Bakterien. Weitere Untersuchungen sind also notwendig: denn „nicht gefunden“ ist noch nicht mit „nicht vorhanden“ gleichzusetzen, wie Schanderl einwenden kann. Auch andere Angaben, z. B. von Szilvasi über das Vorkommen von derartigen Bakterien, zeigen die Notwendigkeit der weiteren Arbeit.

Die Vorstellung einer allgemeinen Symbiose solcher Bakterien, in der Form der Bakterioiden bzw. der Chondriosomen, soll durch den behaupteten Nachweis der Assimilation des atmosphärischen Stickstoffs bei den verschiedensten Pflanzen besonders nahegelegt werden. Diese Versuche wurden großenteils mit Pflanzen durchgeführt, die in Mitscherlich-Gefäßen aufgewachsen waren. Es wurde der N-Gehalt des Bodens sowie der Samen und der des Pflanzenmaterials vor und nach dem Versuch bestimmt und aus diesem Unterschied der oft erstaunlich hohe N-Gewinn solcher Kulturen, der dann aus der Luft aufgenommen sein mußte, festgestellt. Leider wurde der allergrößte Teil dieser Versuche mit nicht sterilen Kulturen durchgeführt, da es nach der Ansicht des Verfassers sterile Kulturen wegen des behaupteten Auswanderns der in der Pflanze selbst vorkommenden Bakterien nicht gibt. Damit ist aber der N-Gewinn durch Luftstickstoff assimilierende Bodenorganismen nicht ausgeschaltet. Abgesehen von den unbepflanzten Vergleichskulturen zur Bestimmung ihres N-Gewinnes im Boden, dürften die Pflanzen selbst durch die wahrscheinliche Förderung des Mikroorganismuswachstums in der Umgebung ihrer Wurzeln (vergl. die Rhizosphäre nach Stille, auch A. Rippel-Baldes, nicht Rippel-Behrens, wie Schanderl schreibt) den N-Gewinn im Boden in unkontrollierbarer Weise erhöhen. Zusätzlich gegebener „Startstickstoff“, der vom Verf. für einen besseren N-Gewinn aus der Luft als förderlich und oft als notwendig erachtet wird, kann ebenso gut auch für die Vermehrung der Bodenorganismen wichtig sein und deren N-Gewinn verbessern. Einige Versuche liegen aber auch mit sterilen Kulturen vor. Deren Ergebnisse wären besonders beweisend, befänden sich nicht gerade unter diesen Gefäßen mit Nicht-Leguminosen (soweit ich sehe, insgesamt nur 7 von etwa 200 aufgeführten vergleichbaren Gefäßversuchen) gerade die beiden einzigen Versuche, die einen N-Verlust bzw. annähernde Gleichheit des N-Gehaltes aufweisen. Schließlich wird noch, als besonders entscheidend, ein steril durchgeführter „Fruchtfolgeversuch“, der ebenfalls N-Gewinne ergab, dargestellt. Dieser eine Versuch könnte in der Tat, falls er wirklich steril, ohne den Zutritt von Luftkeimen, durchgeführt wurde, für die behauptete Assimilation des Luftstickstoffs herangezogen werden. Die bisher bei solchen Versuchen selbstverständlich auch noch nach Versuchsende erforderliche Sterilität des Bodens — wurde diese am Ende der einzelnen Teilversuche überprüft? — wird vom Verf. nun aber gerade wegen des behaupteten Auswanderns der Bakterien aus den

Pflanzen für unmöglich gehalten. Da weiterhin alle entgegenstehenden Versuche, soweit sie mit N-Mangelkulturen durchgeführt wurden, vom Verf. wegen des möglicherweise zum Anlaufen benötigten Startstickstoffs abgelehnt werden, sind auch hier noch kritische Nachuntersuchungen erforderlich.

So ergibt sich also: Die Isolierung von Bakterien aus Samen und Früchten erscheint gesichert. Eine exakte Bestätigung für das regelmäßige Vorkommen von Bakterien in beliebigen pflanzlichen Geweben ist jedoch nicht vorhanden, gelegentliche Vorkommen scheint es aber zu geben. Der saubere Nachweis, daß es sich bei solchem Vorkommen um eine echte Symbiose handelt, wie der Verf. annimmt, ist, abgesehen von Leguminosen und wenigen ähnlichen Fällen, bisher nicht gelungen. Der Nachweis der Assimilation des Luftstickstoffs durch grüne, höhere Pflanzen erscheint mir nach kritischer Durchsicht seiner Experimente, obwohl ein Versuch vielleicht dafür sprechen könnte, nicht endgültig erbracht. Die Ergebnisse des Verfassers bedürfen also weitgehend der Bestätigung, und es ist einstweilen, vor allem in Hinsicht auf die Praxis, nicht angebracht, bewährte Anschauungen aufzugeben.

Wilhelm Simonis.

Schwermetalle als Wirkungsgruppen von Fermenten
von Otto Warburg, Berlin-Dahlem. Arbeitsgemeinschaft Medizinischer Verlage G. m. b. H., Verlag Dr. Werner Saenger, Berlin 1946. 195 S., Preis geh. 20 RM.

Es ist sehr unwahrscheinlich, daß sich die Arbeiten eines Forschers über anderthalb Jahrzehnte hin so folgerichtig eine aus der anderen entwickeln, daß sie am Schluß, in Gruppen unterteilt und chronologisch geordnet, die einzelnen Kapitel eines systematischen Lehrbuches über ein fundamentales Forschungsgebiet darstellen. Solch unwahrscheinliches Buch erschien bei Springer 1928! Es war das Buch von Otto Warburg „Über die katalytischen Wirkungen der lebendigen Substanz“. Es war das Jahr, mit dem die Einwendungen der führenden Chemiker Wieland, Willstätter und von Euler gegen die Existenz und die sauerstoffaktivierenden Eigenschaften des Fermenteisens einschließen. 35 Arbeiten in drei Hauptabschnitten zeigten, daß die Katalyse anscheinend aller energetisch bedeutsamen Reaktionsketten der Schwermetalle bedürfe, und entwickelten die Gesetzmäßigkeiten, an denen man erkennt, daß das so ist: Empfindlichkeit der Reaktionsketten gegen Schwermetallkomplexbildner, gegen CO und im „Falle des Eisens“ Lichtempfindlichkeit der CO-Vergiftung.

Die heuristische Fruchtbarkeit dieser Gesetzmäßigkeiten brachte es mit sich, daß das dramatische Buch schon während der Drucklegung überholt war: 1928¹ konnte Otto Warburg bereits das relative und absolute Wirkungsspektrum des sogenannten Warburgschen Atmungsfermentes mitteilen. In den nächsten Jahren folgte die Zusammenordnung der Eisenfermente zu Reaktionsketten der Elektronenübertragung, die Zuordnung der Oxydationsgifte zu den beiden Wertigkeitsstufen des Eisens, die Bestätigung

¹ Naturforscher- und Ärztetagung Hamburg 1928.

der Wirkungsspektren durch unmittelbare Messung der Absorptionsspektren auch des Atmungsfermentes bei Essigbakterien, Azotobakter und Herzmuskel in den Laboratorien von Otto Warburg und Keilin. Schließlich wurde der Geltungsbereich der so gefundenen katalytischen Prinzipien erweitert durch die Entdeckung des wasserstoffentwickelnden Eisens der Buttersäurebakterien, des Schwermetalls der Hefezymohexase als Schwermetallfaktor der Hefegärung und des Schwermetalls der Chloroplasten als Schwermetallfaktor der Photoreduktion der grünen Pflanzen.

Fügt man hinzu, daß gleichzeitig die Gesetzmäßigkeiten dieser Vorgänge durch zahlreiche neue Modellversuche über photochemische Konstanten und Ausbeuten gesichert und in breiter Front an die allgemeine Photochemie angeschlossen wurden, so wird man mit außerordentlicher Spannung nach dem neuen Buch von Otto Warburg greifen.

Dieses Buch ist ganz anders aufgebaut als der Vorgänger von 1928. Es ordnet in 20 Kapiteln die alten und die neuen Erkenntnisse zu einem strengen Lehrgebäude. Es beginnt in Kapitel I mit dem Platinmodell von Davy und dem Palladiummodell von Wieland und endet in Kapitel XV und XVI über das Atmungseisen mit der Diskussion der Häminformeln und der wahrscheinlichen „chemischen Konstitution des Fermenteisens“. In den Kapiteln XVII bis XX werden dann die anderen oben erwähnten schwermetallhaltigen Fermente erörtert. In Kapitel XXI sind Versuche über den Quantenbedarf der Kohlensäureassimilation mehr äußerlich angehängt, da diese Versuche mit Schwermetallen nichts zu tun haben.

Sonst ist in strenger Beschränkung auf das Thema des Buches alles weggelassen, was nicht unmittelbar mit Schwermetall zusammenhängt: sogar die eigenen Eiweißkomponenten der Schwermetallproteide selbst, die in Warburgschen Laboratorien so vielfältig isoliert und kristallisiert worden sind, und erst recht alle die Fermente, die nicht selbst Schwermetalle enthalten, auch wenn metallfreies und Metallferment Glieder derselben Reaktionskette sind.

Der materielle Inhalt des Buches geht für den Kenner der Originalarbeiten aus den angeführten Entdeckungen hervor; er kann nicht in Kürze referiert werden. Dies gilt nicht für die letzten beiden Kapitel. Die in Kapitel XX behandelte Originalarbeit ist recht unzugänglich in den Berichten der Moskauer Akademie der Wissenschaften veröffentlicht. Es handelt sich um „die Reduktion von Chinon in grünen Zellen und Granula“. Es gilt bei Belichtung grüner Preßsäfte die Summengleichung $2 \text{ Chinon} + 2 \text{ H}_2\text{O} = 2 \text{ Hydrochinon} + \text{O}_2 - 52000 \text{ kal}$. Die Lichtabsorption erfolgt durch das Chlorophyll. Katalysator der Reduk-

tion dürfte Schwermetall sein. Denn der Komplexbildner Phenanthrolin wirkt hemmend. CO hemmt nicht, Blausäure und Cystein werden durch Chinon oxydiert. Die vollständig hemmende Giftmenge würde nur zur Bindung des Zinks der Granula ausreichen — nicht ihrer übrigen Metalle. Die Reduktion ist an die Gegenwart von Chlorid \sim Bromid $>$ Jodid \sim Nitrat gebunden; die anderen Anionen und alle Kationen sind wirkungslos.

Die bisher unveröffentlichten Versuche über Kohlensäureassimilation (Kap. XXI) beschäftigen sich mit dem Emerson-Effekt und führen zu dem Ergebnis, daß die photochemische Ausbeute von Chlorella-Suspensionen, die keine toten Zellen enthalten, auch bei Berücksichtigung dieses Effektes 0,25 ϕ bleibt. Der minimale Quantenbedarf bei Reduktion eines O₂-Moleküls bliebe also 4.

Während der Aufbau des neuen Buches in seinem systematischen Fortschreiten vom Einfacheren zum Komplizierteren beinahe lehrbuchmäßig streng gegliedert ist, bleibt ihm doch der erregende Reiz des dramatischen Kampfes zwischen dem Geist des Forschers und der spröden Verwickeltheit des Objektes erhalten. Das beruht auf der beinahe einzigartigen Fähigkeit Warburgs, von fremden wie eigenen klassischen Experimenten zur Induktion des Gesetzes und vom induzierten Gesetz zur Deduktion neuer Experimente weiterzuschreiten. Es dürfte in dem ganzen Buch wohl nicht eine Tatsache stehen, die nicht in den Fluß dieses analytischen und synthetischen Denkens lebendig eingebaut ist. Diese Art der Diskussion ist auch auf falsche Experimente und Folgerungen überall da ausgedehnt, wo diese geeignet waren, das wieder zu trüben, „was mit Mühe experimentell geklärt war“ (S. 149). Die Prägnanz, mit der es geschieht, mag auf konziliante Naturen leicht etwas erbarungslos wirken. Obwohl diese Prägnanz amüsan ist, beruht sie nicht allein darauf, daß Warburg des sowieso nicht trockenen Tones allzu schnell satt ist. Einen wesentlichen Teil seiner Motive gibt er anlässlich der alten Diskussion zwischen Hoppe-Seyler und Mac Munn über die Histohämatine an: „Ich führe diese Diskussion hier an, weil sie lehrt, wie gefährlich es ist, wenn man falsche Einwendungen auf sich beruhen läßt. Mac Munn schwieg. Die Folge davon war, daß in den nächsten 33 Jahren von den Histohämatischen nicht mehr die Rede war“ (S. 61).

Das Buch ist so geschlossen, daß es dadurch wie ein Abschluß aussieht; es ist so beziehungsreich und anregend, daß es wie ein Anfang wirkt. Wir hoffen, daß es auch für Warburg selbst den Anfang einer neuen Periode des Forschers bedeutet. Das Buch zu empfehlen, dürfte überflüssig sein.

H. H. Weber.

Herausgeber: H. Friedrich-Freksa und A. Klemm
unter Mitwirkung verschiedener Fachgenossen.

Einsendungen und Zuschriften sind zu richten an die
Redaktion der Zeitschrift für Naturforschung, Tübingen, Johannesweg 11.

Die Zeitschrift soll 1947 in 2 Bänden zu je 12 Heften erscheinen, von denen Band 2a Astrophysik, Physik und physikalische Chemie, Band 2b anorganische, organische und biologische Chemie, Botanik, Zoologie und verwandte Gebiete enthält. Es werden aufgenommen:

1. Originalarbeiten in knapper, sachlicher Darstellung;
2. Kurze Mitteilungen wichtiger Forschungsergebnisse, die unter der Rubrik „Notizen“ beschleunigt erscheinen werden;
3. Berichte über wichtige, in Deutschland zur Zeit schwer zugängliche ausländische Arbeiten gegen Honorierung;
4. Mitteilungen über deutsche und ausländische Wissenschaftler, Hochschulen und Institute;
5. Besprechungen eingehender Fachliteratur;
6. Anzeigen, die der Beschaffung von Forschungsmitteln dienen.

Redaktionelle Anweisungen

1. Die Autoren werden auf Anordnung der amerikanischen Militärbehörde gebeten, ihre Vornamen sowie Geburtstage und Geburtsorte mitzuteilen.
2. Der Ursprungsort der Arbeit ist am Kopf des Manuskripts anzugeben.
3. In Zweifelsfällen wird gebeten, bei der Einsendung des Manuskripts anzugeben, ob die Aufnahme in Band 2a oder Band 2b erwünscht ist.
4. Eine Zusammenfassung soll der Arbeit vorangehen.
5. Zitate und Anmerkungen sind durchlaufend nummeriert als Fußnoten zu bringen. Die im Chemischen Zentralblatt festgelegten Zeitschriftenabkürzungen sind möglichst zu benutzen.
6. Es wird gebeten, die Abbildungen auf das Notwendigste zu beschränken und durch Strichätzung reproduzierbare zu bevorzugen.

Den Autoren werden 2 Fahnenabzüge übersandt, von denen der eine korrigiert, mit dem Manuskript, umgehend an die Redaktion zurückzusenden ist. Wird im Interesse des raschen Erscheinens, insbesondere bei kurzen Mitteilungen, das Lesen der Korrekturen durch die Redaktion gewünscht, so ist dies bei der Einsendung des Manuskriptes zu vermerken.

Von jeder Arbeit werden 75 Sonderabdrucke unentgeltlich geliefert. Werden weitere Sonderabdrucke gewünscht, so sind diese bei der Einsendung des Manuskripts oder der ersten Korrektur zu bestellen.

Geschäftliche Hinweise

Der Preis des Heftes wird vorerst von Fall zu Fall bekanntgegeben.

Das Heft 7/8 kostet RM. 5.—. Die Anzeigengebühr beträgt für $\frac{1}{16}$ Seite (45 mm hoch, 57 mm breit) für Teil a oder b RM. 40.—, für die Gesamtausgabe RM. 70.—.

Abonnenten erhalten die Hefte laufend unter Einzelberechnung geliefert.

Bestellungen nimmt jede Sortimentsbuchhandlung entgegen, ebenso zur Weiterleitung Redaktion und Verlag.

Anzeigenaufträge bitten wir der Redaktion, (14b) Tübingen, Johannesweg 11, zu überweisen.

**Dieterich'sche Verlagsbuchhandlung, Inhaber: W. Klemm,
Wiesbaden, Spiegelgasse 9**

Veröffentlicht unter der Zulassung Nr. 20 der Nachrichtenkontrolle der Militärregierung

Auflagenhöhe 7500. Ausgegeben im November 1947

