Über die Berechnung der Diffusionskonstanten gelöster Stoffe.

VON HANS VON EULER und ARVID HEDELIUS.

Mit 3 Figuren im Text.

Anlässlich neuer Versuche, das Molekulargewicht eines Enzyms aus dessen Diffusionsgeschwindigkeit in wässriger Lösung zu bestimmen¹⁾, hat sich die Frage ergeben, in welchem Grade die bei Anwendung einer enzymhaltigen wässrigen Flüssigkeit direkt erhaltenen Diffusionskonstanten von anderen, gleichzeitig gelösten Stoffen beeinflusst sind. Da die Diffusionsgeschwindigkeit noch in vielen Fällen imstande sein wird, wertvolle orientierende Aufschlüsse über die Molekulargröße von chemisch noch unbekannten Bestandteilen des Tier- und Pflanzenkörpers zu geben, und da diese Stoffe meist in Gemeinschaft mit zahlreichen Begleitsubstanzen in Lösung gehen, so kommt die Aufgabe vermutlich noch häufig in Betracht, an den aus analytischen Daten direkt berechneten Diffusionskonstanten die erforderliche Korrektur wegen des Einflusses gleichzeitig gelöster Stoffe anzubringen.

Die Geschwindigkeit dM/dt , mit welcher eine gelöste Stoffmenge dM durch den Querschnitt eines Flüssigkeitszylinders diffundiert, in welchem dieser Stoff bei der Höhe x den osmotischen Druck p , bei $x + dx$ den Druck $p + dp$ besitzt, ist proportional dem Gefälle des osmotischen Druckes dp/dx und umgekehrt proportional der Reibung, welche die Moleküle des gelösten Stoffes auf ihrem Weg durch die Lösung erfahren. NERNST.²⁾

In sehr großer Verdünnung ist die Reibung sehr angenähert gleich derjenigen, welche durch das reine Lösungsmittel erzeugt wird.

Das Gefälle des osmotischen Druckes ist in sehr verdünnten Lösungen, wenn osmotischer Druck und Konzentration proportional sind, einerseits proportional dem Konzentrationsgefälle dc/dx , andererseits, wenn auch das Gesetz der unabhängigen Partialdrucke

¹⁾ EULER, HEDELIUS u. SVANBERG, *Z. phys. Chem.* **110** (1920), 175.

²⁾ NERNST, *Z. phys. Chem.* **2** (1888), 613.

gilt, unabhängig von der Gegenwart gleichzeitig gelöster Substanzen.¹⁾

Gehen wir zu mäßig konzentrierten Lösungen über, so machen sich zweierlei Einflüsse geltend:

Erstens ist die innere Reibung der Lösung erheblich verschieden von derjenigen des reinen Lösungsmittels, und demgemäß auch der Reibungswiderstand, welchen die gelösten Molekeln auf ihrem Weg durch die Lösung erfahren.

Zweitens ist der osmotische Druck nicht mehr der Konzentration proportional, sondern steigt stärker als diese.

Wir wollen im folgenden zunächst mäßig konzentrierte Lösungen eines einzelnen Stoffes betrachten, und dann zu Lösungen übergehen, welche zwei Stoffe enthalten.

1. Mäßig konzentrierte Lösungen eines Stoffes.

Wir wählen als Beispiel Rohrzucker. Die Diffusion desselben in wäßrigen Lösungen verschiedener Konzentrationen ist von ARRHENIUS²⁾, THOVERT³⁾ und ÖHOLM⁴⁾ untersucht worden. Selbst haben wir ebenfalls einige Versuche angestellt, welche gut mit den Werten von ARRHENIUS und ÖHOLM übereinstimmen; die Zahlen von

¹⁾ Hierbei ist die Voraussetzung gemacht, daß zwischen den zwei gleichzeitig gelösten Stoffen keine chemische Reaktion eintritt.

Falls chemische Reaktion statthat, können wir zwei Fälle unterscheiden, von welchen übrigens bis jetzt noch keiner experimentell behandelt worden ist.

1. Ein Stoff M diffundiert in einer Lösung eines Stoffes V , welcher zu M durch ein Gleichgewicht $[M][V] = \text{konst.} [MV]$ in Beziehung steht. Offenbar tritt in einem solchen Fall zu der treibenden Kraft des Konzentrationsausgleiches noch eine zweite treibende Kraft, welche um so größer wird, je größer die Affinitätskonstante zwischen M und V ist.

2. Diffundieren zwei gleichzeitig gelöste Stoffe, zwischen denen ein chemisches Gleichgewicht besteht, in ein reines Lösungsmittel, so werden die Verhältnisse ähnlich denjenigen, welche nach NERNST bei der Diffusion eines Elektrolyten auftreten, dessen Ionen verschiedene Wanderungsgeschwindigkeit besitzen, nur daß als Bedingung anstelle der elektrischen Neutralität die Gleichgewichtsgleichung der betr. Reaktion tritt. Handelt es sich um zwei Stoffe von stark verschiedener Beweglichkeit bzw. stark verschiedenem Molekulargewicht, so wird die gegenseitige Beeinflussung beträchtlich.

Näher soll hierauf erst im Anschluß an eine experimentelle Untersuchung eingegangen werden.

²⁾ ARRHENIUS, *Z. physik. Chem.* **1** (1887), 285; **10** (1892), 51.

³⁾ THOVERT, *C. r.* **133** (1901), 1197; **134** (1902), 594; **135** (1902), 579; *Ann. de Chim. et de Phys.* [7] **26** (1902), 366.

⁴⁾ ÖHOLM, *Z. phys. Chem.* **70** (1910), 378.

THOVERT weichen, wie schon ÖHOLM bemerkt, erheblich von den übrigen Ergebnissen ab.

In der Fig. 1 sind die Werte von ARRHENIUS (Δ), ÖHOLM ($\times$) und THOVERT ($\square$) mit unseren Werten ($\circ$) für die Konzentrationen 0—1,0 normal zusammengestellt.¹⁾

Wie ersichtlich, nimmt der Diffusionskoeffizient des Rohrzuckers mit steigender Konzentration ab, und zwar im Bereich 0—1,0 norm. um 16,5⁰/₀.

Fig. 1.

Die Abnahme ist geradlinig, wie dies ÖHOLM auch für eine Reihe anderer Stoffe gefunden hat.²⁾

¹⁾ Die angegebenen 0-Werte hat der eine von uns (v. E.) vor längerer Zeit bei Temperaturen von 12—13° gewonnen. Sie sind mittels des Temperaturkoeffizienten $\alpha = 0,034$ auf 20° umgerechnet worden. Der von uns früher bestimmte Temperaturkoeffizient 0,036 ist vermutlich zu hoch, wir haben deswegen das Mittel aus diesem und ÖHOLMs Wert 0,032 genommen, welches übrigens gut mit der sehr zuverlässigen Formel von ÖHOLM (*Medd. Nob. Inst.* 2 [1912], Nr. 23, S. 25) übereinstimmt. Der Temperaturkoeffizient scheint übrigens mit steigender Konzentration etwas zu steigen.

²⁾ Es scheinen aber auch andere Konzentrationskurven vorzukommen. Vgl. hierzu ARRHENIUS, *Z. phys. Chem.* 10 (1892), 51, welche daselbst den Einfluß der Konzentration bespricht. Weitere experimentelle Daten über den Einfluß der Konzentration auf die Diffusionsgeschwindigkeit findet man bei ÖHOLM, *Medd. Nob. Inst.* 2 (1912), Nr. 23, S. 27 ff.

Diese Abnahme der Diffusionsgeschwindigkeit wird in erster Linie der mit der Konzentration steigenden inneren Reibung zugeschrieben.

Die innere Reibung η des Lösungsmittels geht bekanntlich in die von EINSTEIN¹⁾ aufgestellte Formel für den Diffusionskoeffizienten D ein:

$$D = \frac{RT}{N} \cdot \frac{1}{6\pi\eta\rho},$$

wo R = Gaskonstante,

T = absolute Temperatur,

N = die wirkliche Anzahl Moleküle in einem Mol,

ρ = der Radius der kugelförmig gedachten Moleküle.

Fig. 2.

Diese Formel ist hinsichtlich der inneren Reibung verschiedener organischer Lösungsmittel besonders von SVEDBERG²⁾, ÖHOLM³⁾ und neuerdings von DUMMER⁴⁾ geprüft worden. ÖHOLM findet einen ziemlich guten Anschluß an diese Theorie. Welchen Einfluß die Reibung ausübt, wenn es sich um eine Lösung als Medium handelt, ist noch nicht genau untersucht.

¹⁾ EINSTEIN, *Ann. d. Phys.* (4) **17** (1905), 549; **19** (1906), 371. Vgl. auch SUTHERLAND, *Phil. Mag.* **9** (1905), 781.

²⁾ SVEDBERG, **76** (1911), 145.

³⁾ ÖHOLM, *Medd. Vet. Akad. Nobel-Inst.* **2** (1913), 24.

⁴⁾ DUMMER, *Z. anorg. u. allg. Chem.* **109** (1919), 31.

Die Änderung der inneren Reibung mit Konzentrationen von wäßriger Rohrzuckerlösung, wie sie hier in Betracht kommen, haben wir selbst festgestellt, und zwar für die gleiche Temperatur, für welche die Diffusionswerte berechnet sind, nämlich 20° (vgl. S. 61).

Die in der folgenden Tabelle angegebenen Resultate sind in der Fig. 2 graphisch dargestellt.

Normalität des Rohrzuckers	0,20	0,40	0,50	0,75	1,00	1,15
Rel. innere Reibung (20°)	1,206 ₂	1,448 ₉	1,628 ₅	2,249 ₆	3,258 ₇	4,236 ₄

Die angegebenen Zahlen sind Mittelwerte aus 4 voneinander ganz unabhängigen Versuchsreihen, welche zwischen 19,5 und 20,5° angestellt wurden. Die Messungen sind mit 3 Ausflußviskosimetern angestellt worden, welche sich in einem auf 0,03° konstanten Wasserbade befanden.¹⁾ Die drei Viskosimeter deren kapillarer Teil verschiedenen Durchmesser besaß, wurden unter Benutzung einer etwa 0,70 n. Lösung im Verhältnis zueinander genau kalibriert.

Die Konzentrationen sind in Molen per Liter Lösung angegeben.

Will man nun auf Grund der gefundenen Viskositätszahlen an den Diffusionskoeffizienten eine Korrektur anbringen²⁾, so ist zunächst in Erwägung zu ziehen, daß nur die unterste der vier Diffusionsschichten die dieser Konzentration entsprechende innere Reibung besitzt, daß aber zunächst die gelösten Moleküle in das reine Lösungsmittel hineindiffundieren. Mit fortschreitender Dif-

¹⁾ Die Interpolation auf die gemeinsame Temperatur 20° geschah mit den von HOSKING angegebenen Temperaturkoeffizienten (*Phil. Mag.* (5) 49 [1900], 274), was bei dem kleinen Temperaturbereich der Interpolation unbedenklich geschehen konnte, obgleich HOSKINGS absolute Werte teilweise beträchtlich von den oben angegebenen abweichen.

²⁾ Was überhaupt die Korrektur wegen der inneren Reibung des Mediums betrifft, für den Fall, daß dasselbe eine Lösung ist, so liegen an Rohrzucker ein paar Daten von ARRHENIUS vor, welcher diesen Stoff teils in reines Wasser, teils in eine 0,5 norm. Zuckerlösung diffundieren ließ (*Z. phys. Chem.* 10, S. 90). Die Diffusionskoeffizienten betrugen bei 12° 0,256 bzw. 0,219, wenn der Rohrzucker aus 1 norm. Lösung diffundierte. Wurde eine 0,5 norm. Lösung gegen reines Wasser untersucht, so betrug der Diffusionskoeffizient 0,284.

Die innere Reibung der 0,5 norm. Rohrzuckerlösung verhält sich zu derjenigen des Wassers wie 1,67 zu 1. Würde sich diese Rohrzuckerlösung nur als Medium von der inneren Reibung 1,67 geltend machen, so müßte der Diffusionskoeffizient in dieser Lösung entsprechend kleiner sein als in reinem Wasser, also $0,256 : 1,67 = 0,153$, anstatt wie gefunden 0,219.

Die Erhöhung des relativen osmotischen Druckes beträgt zwischen den Konzentrationen 1,0 norm. und 1,5 norm. rund 20%, wodurch sich der Diffusionskoeffizient in der 0,5 n-Zuckerlösung zu 1,83 berechnen würde. Zunächst ist hier eine Erweiterung der experimentellen Daten erforderlich.

fusion nimmt die innere Reibung allerdings auch in den übrigen Schichten zu, aber in der untersten entsprechend ab. Es liegt nun nahe, eine annähernde Korrektur in der Weise anzubringen, daß eine mittlere Viskosität für jeden Flüssigkeitszylinder ausgerechnet wird, welchen die Moleküle einer jeden Schicht zu durchdringen haben. Sei beispielsweise die Konzentration in der untersten Schicht anfangs A , bei Abbruch eines Diffusionsversuches a , in den folgenden Schichten b , c und d , so wäre bei Berechnung des Diffusionskoeffizienten der untersten Schicht mit derjenigen Viskosität zu rechnen, welche der Konzentration $\frac{A+a}{2}$ entspricht, bei der Berechnung der nächsten Schicht wäre die Konzentration $\frac{A+a+b}{4}$ in Betracht zu ziehen usw. In ähnlicher Weise könnte man wegen des relativen osmotischen Druckes korrigieren. Einwandfrei sind solche Korrekturen jedenfalls nicht.

Die Beziehung zwischen osmotischem Druck von Rohrzuckerlösungen zu ihrer Konzentration hatte der eine von uns (v. E.) schon vor längerer Zeit gelegentlich einer Untersuchung über Löslichkeitsbeeinflussungen studiert, und zwar durch Messung der molekularen Gefrierpunktserniedrigungen. Dividieren wir die für eine endliche Konzentration gefundenen molekularen Gefrierpunktserniedrigungen E mit dem für unendliche Verdünnung geltenden Grenzwert 1,85, so ergibt sich, um wie viel die osmotische Arbeit per Mol bei der betreffenden Konzentration größer ist, als in sehr verdünnter Lösung. Diese Quotienten E_c/E_0 sind in der letzten Spalte der folgenden Tabelle verzeichnet. Für E_0 ist der Wert 1,85 angenommen worden.

Konzentration des Rohrzuckers	$E_c : E_0$	
	gefunden	interpoliert
0,196	1,090	1
0,200		1,085
0,332	1,147	
0,400	1,167	1,177
0,406	1,185	
0,499	1,228	
0,500		1,226
0,750		1,329
0,797	1,354	
1,00		1,436
1,012	1,435	

In der Fig. 3 sind die aus den untersuchten Zuckerkonzentrationen gewonnenen Werte mit $\times$, die interpolierten Werte mit o bezeichnet.

Es wäre wohl theoretisch einwandfreier, die Korrektion wegen des anormalen osmotischen Druckes mit Hilfe des Gradienten von E (den man aus der Fig. 3 entnimmt) anzubringen. Wir haben dies nicht getan, da sich der Gradient von E mit der Konzentration stark ändert, und da eine schichtenweise Korrektion auf Widersprüche stößt.

Gegen die Zweckmäßigkeit einer besonderen Korrektion für jede der 4 Diffusionsschichten spricht besonders der Umstand, daß in den genauesten der bis jetzt vorliegenden Versuche, nämlich den-

Fig. 3.

jenigen von ÖHOLM, die aus den 4 Schichten erhaltenen Konstanten keinen „Gang“ zeigen, und zwar auch nicht bei so konzentrierten Lösungen wie 2 n. Rohr-zucker, wo die innere Reibung der einzelnen Schichten nach Abbruch des Versuches sehr stark verschieden ist.¹⁾

So gibt ÖHOLM beispielsweise an:

2 n. Rohr-zucker.			1 n. Rohr-zucker.		
Schicht	Versuch 1 D	Versuch 2 D	Schicht	Versuch 1 D	Versuch 2 D
1	0,215	0,263	1	0,248	0,319
2	0,226	0,306	2	0,263	0,337
3	0,210	0,259	3	0,246	0,315
4	0,221	0,278	4	0,253	0,326

¹⁾ ÖHOLM, l. c., S. 391–397.

Da die Theorie dieser Vorgänge von molekularkinetischen Gesichtspunkten aus noch nicht genügend durchgearbeitet ist, so müssen wir uns damit begnügen, auf experimentellem Weg Anhaltspunkte darüber zu suchen, wie in den besprochenen Fällen Reibung und osmotische Arbeit in Rechnung zu setzen sind.

Um nun die Konzentrationsfunktion der drei in Betracht kommenden Größen direkt zum Ausdruck zu bringen, extrapolieren wir die betreffenden Werte für die Rohrzuckerkonzentration = 0 und setzen jeden dieser drei Werte = 1.

Konstante	Absol. 0-Wert	Konzentration des Rohrzuckers				
		0,20 n.	0,40 n.	0,50 n.	0,75 n.	1,00 n.
Diffusionskonstante D_{20} . . .	383	0,97	0,94	0,925	0,89	0,85
Rel. innere Reibung	0,01007	1,206	1,45	1,63	2,25	3,26
Rel. osmotischer Druck . . .	1,85	1,085	1,18	1,23	1,33	1,44

Nun ist, wie schon S. 63 erwähnt, offenbar, daß wir bei einem Diffusionsversuche, bei welchem eine 1 n. Lösung als unterste Schicht in 3 Schichten Wasser diffundiert nicht der inneren Reibung einer 1 n. Rohrzuckerlösung in Rechnung setzen dürfen. Da die Korrektur der einzelnen Schichten auf Widersprüche stößt, haben wir versucht, die mittlere Konzentration des gesamten Flüssigkeitszylinders der Korrektur zugrunde zu legen, also $\frac{1}{4}$ der Konzentration der untersten Schicht. In dieser Weise ist die folgende Tabelle zusammengestellt:

Nr.	Konstante	Konz. des Rohrzuckers der unteren Schicht					
		0	0,20 n.	0,40 n.	0,50 n.	0,75 n.	1,00 n.
I	Diffusionskonstante . . .	1	0,97	0,94	0,925	0,89	0,85
II	Relat. innere Reibung . .	1	1,05	1,10	1,15	1,19	1,25
III	Rel. osmotischer Druck . .	1	1,02	1,04 ₅	1,05 ₆	1,08 ₅	1,11
	II : III	1	1,03	1,05 ₂	1,09	1,10	1,13
	I $\times$ II : III	1	1,00	0,99	1,01 ₅	0,99	0,98

Wie ersichtlich, läßt die Konstanz der Werte der letzten Zeile (I $\times$ II : III) nichts zu wünschen übrig.

Natürlich handelt es sich hier um eine rein empirische Beziehung. Leider liegen für keine andere Substanz so vollständige Versuchsreihen hinsichtlich Diffusion, innerer Reibung und osmotischem Druck vor, wie für Rohrzucker, so daß wir uns einstweilen auf die obigen Ergebnisse stützen müssen.

2. Mäßig konzentrierte Lösungen zweier Stoffe.

Bezüglich der Diffusion eines Stoffes in der Lösung eines anderen besitzen wir bis jetzt nur einige Daten von ARRHENIUS (l. c.). Einstweilen soll an einem Beispiel gezeigt werden, daß eine Berechnung analog der oben für verschieden konzentrierte Lösungen angewandten zu einem ziemlich befriedigenden Anschluß an die Erfahrung führt.

Nach ARRHENIUS beträgt die Diffusionskonstante des Rohrzuckers, wenn er aus $\frac{1}{2}$ n. Lösung in reines Wasser diffundiert, bei 12° 0,284.

Ist der Rohrzucker nicht in reinem Wasser, sondern in 2 n. Alkohol gelöst, und zwar ebenfalls $\frac{1}{2}$ n., so beträgt die Diffusionskonstante bei der gleichen Temperatur 0,199.

Nun findet man für die hier in Betracht kommenden Lösungen folgende Zahlen:

Lösung	Gefrierp.- Erniedrigung	Rel. osmot. Druck	Innere Reibung	
			unverdünnt	verdünnt 1/4
0,5 n. Rohrzucker . . .	1,130	1,22	1,64	1,125
2 n. Äthylalkohol . . .	3,963	1,08	1,45	
0,5 n. Rohrzucker in 2 n. Äthylalkohol	5,334	1,32 1,11	2,48	1,700

Die Zahlen der letzten Spalte beziehen sich auf eine Lösung, welche an Rohrzucker 0,125 n., an Äthylalkohol 2 n. ist.

Die relativen osmotischen Drucke im Gemisch von Rohrzucker und Äthylalkohol sind in der Weise berechnet, daß der Überschuß der Gefrierpunktserniedrigung des Gemisches über die Summe der Gefrierpunktserniedrigung der Komponenten ($5,334 - 5,093 = 0,241$) zwischen den beiden Komponenten im Verhältnis des Produktes aus relativ osmotischem Druck und Konzentration geteilt wurde.

Der relative osmotische Druck des Rohrzuckers steigt durch den Zusatz des Alkohols von 1,22 auf 1,32, also um rund 8%.

Reduziert man die innere Reibung der Lösung $\frac{1}{8}$ n. Rohrzucker 2 n. Alkohol in der Weise, daß man die innere Reibung der wäßrigen Lösung des $\frac{1}{8}$ n. Rohrzuckers gleich 1 setzt, so ergibt sich $1,700 : 1,125 = 1,51$.

Setzt man die Diffusionskonstante in der reinen Wasserlösung ebenfalls gleich 1, so wird diejenige in der 2 n. Alkohollösung $0,199 : 0,284 = 0,701$.

Führt man nun die beiden Korrekturen wegen des relativen osmotischen Druckes und der inneren Reibung in derselben Weise ein wie im vorigen Abschnitt, so erhält man:

$$\frac{0,701 \cdot 1,51}{1,08} = 0,98$$

statt des Wertes 1.

Auch hier ist natürlich die Entscheidung, ob ein solches Korrektungsverfahren in einem größeren Bereich zu brauchbaren Resultaten führt, erst durch weitere Versuche zu erbringen.

Einstweilen können wir zusammenfassend unsere Korrektionsmethode für die an mäßig konzentrierten Lösungen erhaltenen Diffusionskonstanten in folgender Weise angeben:

Man multipliziert die mit einer Lösung der Konzentration a erhaltene Diffusionskonstante mit dem auf Wasser bezogenen Koeffizienten der inneren Reibung der auf das Vierfache verdünnten Lösung und dividiert mit dem für diese Verdünnung ermittelten Wert des relativen osmotischen Druckes.

Für die Rohrzuckerkonzentrationen 0 bis 1 n. werden die Konzentrationskurven

a) der relativen inneren Reibung (S. 62)

b) des relativen osmotischen Druckes (S. 65)

angegeben.

Stockholm, Biochemisches Laboratorium der Universität.

Bei der Redaktion eingegangen am 18. Mai 1920.