

FINSKA SUOMEN
KEMISTSAMFUNDETS KEMISTISEURAN
MEDDELANDEN TIEDONANTOJA

REDAKTÖR — TOIMITTAJA

Tor-Magnus Enari

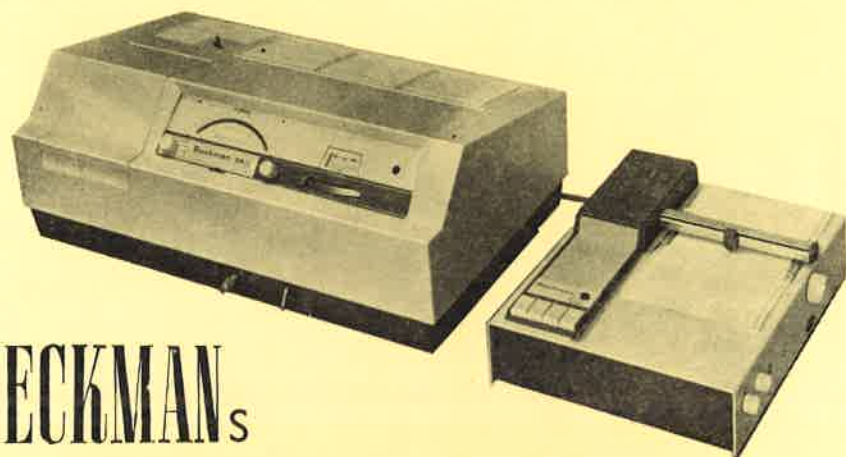
INNEHÅLL — SISÄLTÖ

Per Ekwall, Ignvar Danielsson, Krister Fontell und Leo Mandell: Einige Bemerkungen über die Form und Grösse der Mizellen konzentrierter Assoziationskolloidlösungen	51
Aneri Penttilä and Jacobus Sundman: Phloroglucinol Derivatives from <i>Dryopteris</i> Ferns Phlorobutyrophenone methyl ethers	61
Nils-Erik Saris: Immunoelktrofores — en ny teknik i protein- kemin	65
Tor-Magnus Enari: Jonbyteskromatografi av proteiner	73
Finska Kemistsamfundets verksamhet	80
A. Alm: Magnefitmetoden — en ny modifikation av sulficellulosapro- cessen (referat)	80
N. H. Simberg: Den biokemiska industrin vid Rajamäki fabriker (referat)	81
Veronica Sundman: Aspekter på ligninets biologiska nedbrytning (referat)	82



BECKMANS SPINCO

MIKROANALYSAPPARATER I DEN MODERNA FORSKNINGENS TJÄNST



BECKMAN_s

SPEKTROFOTOMETER modell DB

En ritande eller manuell spektrofotometer, mätningssområde 205 — 770 millimikroner.

ou Control ab

ERIKSGATAN 24
HELSINGFORS
Tel. 640 311 (växel)

FINSKA
KEMISTSAMFUNDETS
MEDDELANDEN

SUOMEN
KEMISTISEURAN
TIEDONANTOJA

70 årg.

1961 N:o 2

70 vuosik.

Utgiven av — Julkaisija
Finska Kemistsamfundet — Suomen Kemistiseura

Styrelse — Hallitus

CHARLEY GUSTAFSSON — MAGNUS ALFTHAN — TERJE ENKVIST
OLOF FORSANDER — NILS-ERIK SARIS — TOR SMEDSLUND
ALBERT SUNDGRÉN — JACOBUS SUNDMAN

Sekreterare — Sihteeri

TOR-MAGNUS ENARI, Färdemannastigen 2 Matkamiehenpolku tel 55 022, 47 35 37 puh

Kassör — Rahastonhoitaja

KARIN SANDELIN, Universitetets Virologiska institution — Yliopiston Virusopin laitos
Fabiansg. 24 Fabianink. tel 34 803 puh

Arkivarie — Arkistonhoitaja

ANNA GRÖNVIK, S. Hesperlag. 4 E. Hesperiank. tel 44 01 01, 44 73 99 puh

Redaktör — Toimittaja

TOR-MAGNUS ENARI, Färdemannastigen 2 Matkamiehenpolku tel 55 022, 47 35 37 puh

Einige Bemerkungen über die Form und Grösse der Mizellen konzentrierter Assoziationskolloidlösungen

Per Ekwall, Ingvar Danielsson, Krister Fontell und Leo Mandell

Institut für Physikalische Chemie, Åbo Akademi

Die Frage nach der Mizellenform und Mizellengrösse in verschiedenen Konzentrationsgebieten der Assoziationskolloidlösungen ist noch immer als ein im grossen ganzen ungelöstes Problem anzusehen. Zur Zeit muss man jedoch diese Frage zu den aktuellsten der gesamten Mizellenforschung rechnen, und jede neue Beleuchtung dürfte deshalb von Interesse sein. Hier möchten wir einige Gesichtspunkte zu diesem Problem anführen.

In den letzten Jahren wurden immer zahlreichere Beobachtungen gemacht, die zeigen, die mizellare Substanz hat in verschiedenen Konzentrationsgebieten verschiedene Eigenschaften. Während diese innerhalb eines recht weiten Gebiets oberhalb der CMC konstant bleiben, treten bei höheren Konzentrationen mehr oder weniger deutliche Veränderungen auf.

Am auffallendsten sind jedoch diejenigen, denen das Solubilizierungsvermögen der mizellaren Substanz unterliegt; diese Veränderungen gelten sowohl für die Solubilizierung von Kohlenwasserstoffen, wie für diejenige amphiphiler Substanzen¹⁻¹¹. Parallel hiermit ändern sich aber auch viele andere Eigenschaften, sowohl solche reiner Assoziationskolloidlösungen wie solche derjenigen Lösungen, die die genannten solubilisierten Substanzen enthalten. Das seit langem bekannte, recht distinkte früher als "I-Band" bezeichnete Interferenzmaximum im Kleinwinkel-Röntgendiagramm von Assoziationskolloidlösungen tritt erst oberhalb einer gewissen Konzentration auf^{12, 13, 14, 2, 3, 7, 8}. Die osmotische Aktivität sowie die Leitfähigkeit der Lösungen hängt bei höheren Konzentrationen vom Kolloidgehalt in ganz anderer Weise ab als bei niedrigeren^{15, 16, 3, 7, 8, 10, 17}. Ausserdem konnte kürzlich ein Anisotropieeffekt des Leitvermögens bei höheren Konzentrationen nachgewiesen werden^{18, 19, 20}. Ferner wurde das Auftreten einer Strömungsdoppelbrechung²¹ und charakteristischer Änderungen der inneren Reibung²² bei höheren Konzentrationen beobachtet. Schon vor mehreren Jahren wurde hervorgehoben, viele dieser Veränderungen kämen innerhalb eines und desselben Konzentrationsintervalls zum Vorschein^{2, 3, 5, 7, 8, 10}. In diesen Intervall hinein haben wir die sog. zweite kritische Konzentration (2:te CMC) verlegt. Es liegt nun in der Natur der Sache, dass diese 2:te CMC nicht so scharf markiert sein kann wie die CMC selbst; im vorliegenden Fall hat man nämlich noch weniger als bei CMC mit einer scharf fixierten Konzentration zu tun, sondern, wie schon gesagt, mit einem Konzentrationsintervall. Dass die 2:te CMC in einigen Fällen trotzdem als scharf definierte Konzentration hervortreten kann, geht aus unseren Beobachtungen über die Phasengleichgewichte gewisser Dreikomponentensysteme hervor, die aus Seife, Wasser und einer nicht ionisierten amphiphilen Substanz bestehen²³. In diesen Systemen tritt die 2:te CMC als genau fixierte, durch die Lage der Ecke eines 3-Phasen-Dreiecks bestimmte Konzentration auf. Das 3-Phasendreieck trennt ein Konzentrationsgebiet, in dem sich eine mesomorphe Phase eines bestimmten Typs bildet, von einem anderen Gebiet ab, in dem eine mesomorphe Phase eines anderen Typus entsteht.

Von verschiedenen Seiten wurde nun die Vermutung ausgesprochen, die Veränderungen der Eigenschaften der mizellaren Substanz würden dadurch verursacht, dass die Mizellen mit ihren elektrisch geladenen Oberflächen bei höheren Konzentrationen einander so nahe kämen, dass Störungen bzw. Wechselwirkungen eintreten müssten^{24, 25, 19, 10}, und dass dies eventuell einen allmählichen Umbau der Mizellen erzwingt. Die bei niedrigeren Konzentrationen mehr oder weniger sphäroidischen "Kleinmizellen" wüchsen bei höheren Konzentrationen

zu zylindrischen oder scheibenförmigen "Grossmizellen" an. Diese Auffassung wurde u. a. durch Beobachtungen der Strömungsdoppelbrechung und der Viskosität gestützt^{21, 22, 26}. Vor einigen Jahren führte dann die Untersuchung der Anisotropie der Leitfähigkeit von Heckmann und Götz zu dem Schluss, in Natriumoleat- und Cetyl-trimethyl-ammoniumbromid-Lösungen treten bei höherer Konzentration zylindrische Mizellen auf, deren Länge mit steigender Konzentration anwächst^{18, 19, 20}. Zu einer analogen Auffassung kamen wir selbst hinsichtlich der Mizellen reiner und dekanolhaltiger Natriumkaprylatlösungen oberhalb der 2:ten CMC auf ganz anderem Weg, nämlich durch das Studium der Gleichgewichte zwischen den genannten Lösungen und den aus ihnen gebildeten mesomorphen Phasen²³. Unsere diesbezüglichen Erwägungen werden hier kurz wieder gegeben.

Wie bekannt, fanden Luzzati und seine Mitarbeiter, die mesomorphe Klumpseife (Middle Soap) der Natrium- und Kaliumseife höherer Fettsäuren sind aus langen einander parallelgestellten zylindrischen Aggregaten in hexagonaler Packung aufgebaut^{27, 28}. Zwischen den Zylindern liegt Wasser. Auch unsere experimentellen Daten (Röntgen, 1°—10°, Cu-Strahlung, kombiniert mit Dichtemessungen und mikroskopischen Beobachtungen) für die Klumpseife des Natriumkaprylats sind mit einer derartigen Struktur am besten vereinbar (Fig. 1. Gebiet E)²³. Die Anordnung der unendlich langen Zylinder, der Durchmesser des Kohlenwasserstoffteils der Zylinder (2r) sowie die Dicke der Wasserschicht zwischen diesen Zylindern in dekanolfreier Klumpseife, die mit der Kaprylatlösung bei MSSC (d.h. der jetzigen Konzentration, bei welcher Klumpseife sich abzuschneiden beginnt) in Gleichgewicht steht, wird durch Fig. 2A, veranschaulicht.

Unsere Röntgenuntersuchung zeigt, innerhalb der dekanolhaltigen mesomorphen Phase E (dekanolhaltige Klumpseife) nimmt der Netzebenenabstand mit steigendem Dekanolgehalt zu, und zwar viel schneller, als es das Einverleiben der längeren Dekanolmolekeln mit den Kaprylatzylindern bewirken könnte. Die Erklärung dieses Verhaltens ist unserer Meinung nach in der seit langem bekannten Tatsache zu suchen, dass die Packungsdichte anwächst, wenn Alkohol- bzw. unionisierte Karboxylgruppen zwischen ionisierte Karboxylgruppen eingelagert werden; dies wird bekanntlich durch Ion-Dipol-Wirkung bzw. durch Bildung von Wasserstoffbrücken bewirkt. In dekanolhaltiger Klumpseife ist nun ein derartiger Effekt infolge des Einbaus von Dekanolmolekeln in die Kaprylatzylinder zu erwarten. (Eine Anordnung, bei der die Dekanolmolekeln und die Kaprylationen in verschiedenen Schichten innerhalb der Zylinder angeordnet wäre, erscheint uns aus mehreren Gründen völlig unwahrscheinlich.) Dies muss jedoch zu einer gewissen Abplattung

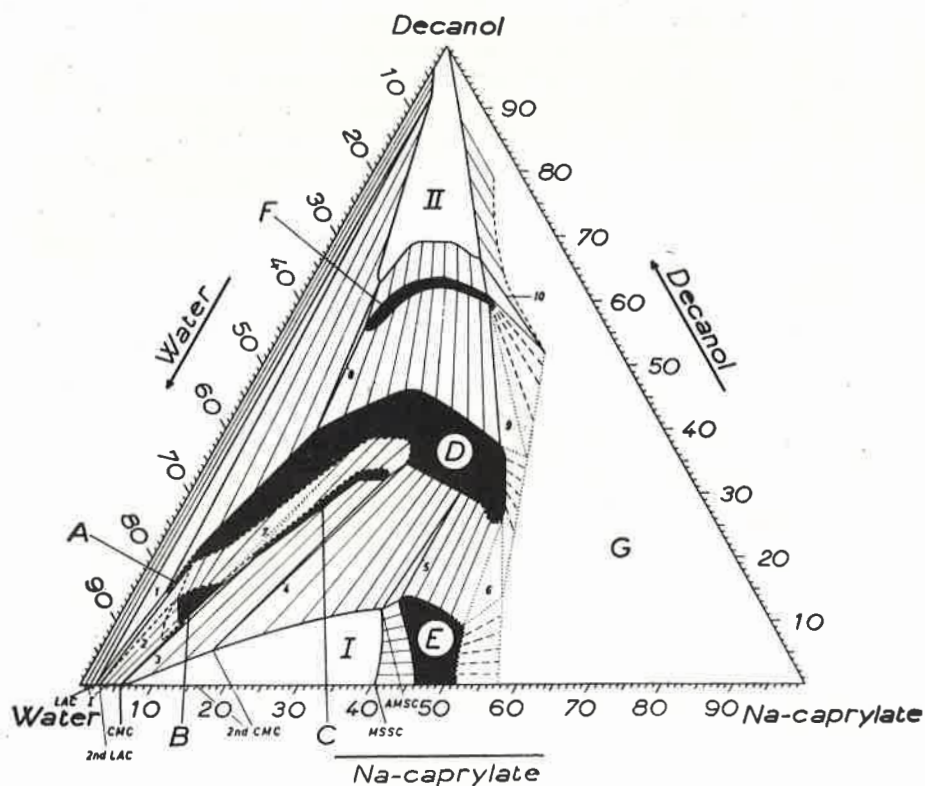


Fig. 1. Phasengleichgewichte im Dreikomponentensystem Natriumkaprylat-n-Decanol-Wasser bei 20°C.

- I Gebiet homogener, isotroper Wasserlösungen.
- E, Gebiet homogener, mesomorpher Klumpseife (Middle Soap).
- MSSC, Diejenige Natriumkaprylatkonzentration, bei der sich dekanolfreie Klumpseife aus den dekanolfreien Kaprylatlösungen abzuscheiden beginnt. Zwischen MSSC und AMSC scheidet sich dekanolhaltige Klumpseife aus den dekanolhaltigen Kaprylatlösungen ab.
- 2nd CMC, Die zweite kritische Konzentration in dekanolfreien bzw. dekanolhaltigen Kaprylatlösungen.
- CMC, Die kritische Konzentration in dekanolfreien bzw. dekanolhaltigen Kaprylatlösungen.
- D, C, B, A, Gebiete homogener mesomorpher Phasen.

der Zylinder führen; ihr kreisförmiger Querschnitt geht mit anderen Worten verloren und wird mehr oder weniger oval. In dekanolhaltiger Klumpseife sind die Zylinder oder Stäbchen, in gleicher Weise wie in dekanolfreier, unendlich lang, erhalten aber jetzt einen Querschnitt, der in der einen Richtung zweimal der Kettenlänge ($2r$) entspricht, in der anderen Richtung dagegen grösser ($2r + b$) ist, und zwar mit steigendem Dekanol-

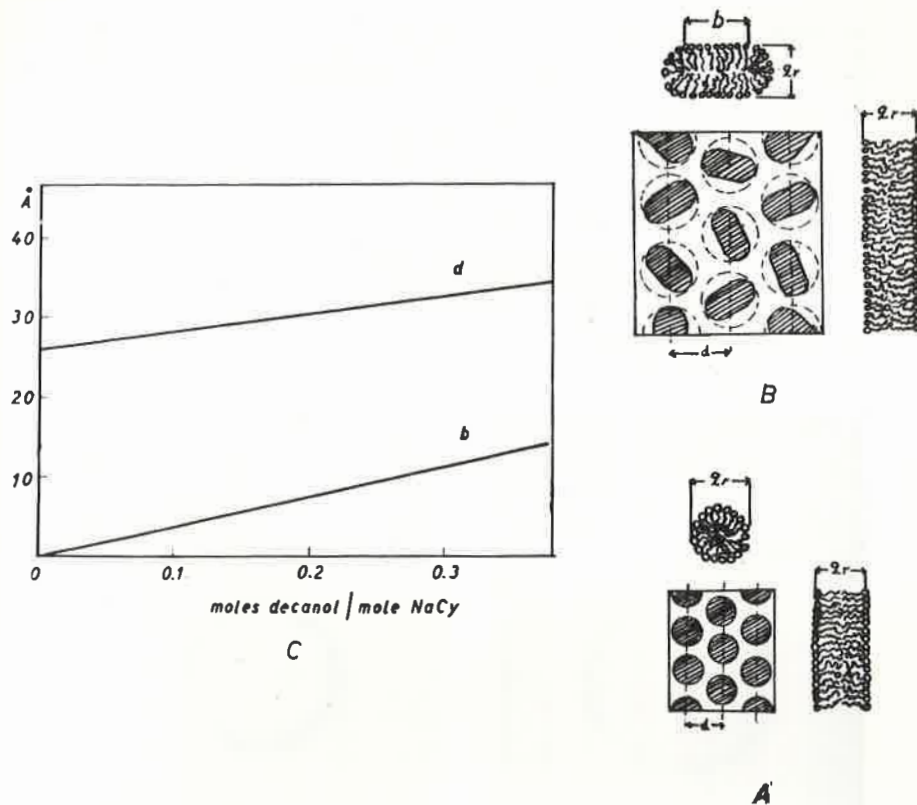


Fig. 2. Schematische Darstellung der Struktur der Phase E, dekanolfreie und dekanolhaltige Klumpseife (Middle Soap).

- A, Dekanolfreie Klumpseife.
- B, Dekanolhaltige Klumpseife.
- C, Veränderung des Netzebenenabstands d , und der Abplattung b , der Stäbchen mit steigendem Dekanolgehalt.

gehalt anwächst. Diese abgeplatteten Zylinder können um ihre Längsachse rotieren, was dazu führt, dass sich die Zylinder weiter voneinander entfernt finden müssen als in dekanolfreier Klumpseife: Dies zeigt sich in den mit steigendem Dekanolgehalt wachsenden Netzebenenabständen. Fig. 2 B veranschaulicht die Struktur der dekanolhaltigen Klumpseife, Fig. 2, C die Abhängigkeit des Netzebenenabstands (d) und der Abplattung (b) der Stäbchen mit steigendem Dekanolgehalt dekanolhaltiger Klumpseifen, die mit dekanolhaltigen Kaprylatlösungen zwischen MSSC und AMSC in Gleichgewicht stehen.

Wir haben gefunden, die mizellare Substanz der Kaprylatlösungen zwischen MSSC und AMSC (Fig. 1, Gebiet I, homogene,

isotrope Wasserlösungen) hat dieselbe Zusammensetzung wie die der Klumpseife, die sich aus ihnen abscheidet^{23, 31, 32, 17}. Unser Studium der Abscheidungsverhältnisse hat gezeigt, die Abscheidung der Mizellen selbst führt zur Bildung der mesomorphen Phase E und hat uns davon überzeugt, die Mizellen gehen nicht nur mit unveränderter Zusammensetzung, sondern wahrscheinlich auch mit recht unveränderter Form in die neue Phase über. Sie dürften also einen ähnlichen Bau und eine ähnliche Form wie die Bauelemente der Klumpseife haben und somit aus langen, zylindrischen bzw. abgeplattet-zylindrischen Stäbchen bestehen. Da der Wassergehalt dieser gesättigten Lösungen nur wenig grösser als der der Klumpseife ist, muss auch in diesen eine Ordnung herrschen, obgleich es sich um

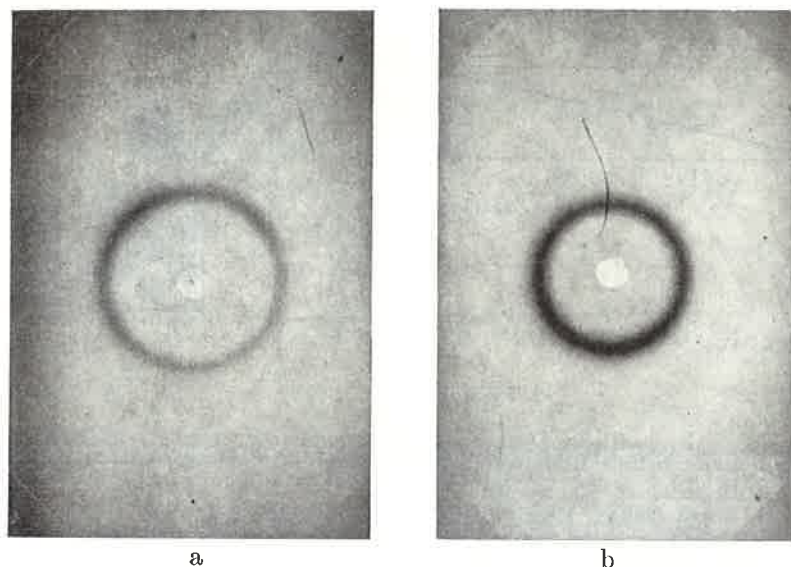


Fig. 3. A. Röntgenaufnahmen von homogenen, isotropen, an mizellarer Substanz beinahe gesättigten Natriumkaprylatlösungen.

Röntgen-Vakuumkamera mit Filmabstand 212 mm und zirkularen Blenden. Philips Norelco Röntgenapparat mit Kupfer $K\alpha$ -Strahlung, 40 k V, 15 mA und Nickelfilter.

isotrope Lösungen handelt, die an die hexagonale Anordnung der langgestreckten, parallelen Zylinder der Klumpseife erinnert.

Das Aussehen der Kleinwinkelröntgendiagramme der an mizellarer Substanz gesättigten oder beinahe gesättigten Lösungen geht aus Fig. 3, A und B hervor; die Diagramme zeigen einen zwar diffusen, trotzdem aber recht markierten Ring, dessen Durchmesser mit steigendem Dekanolgehalt der Mizellen regelmässig, und zwar in derselben Weise wie die Durchmesser

des Haupttrings der entsprechenden dekanolhaltigen Klumpseife, abnimmt. Dieser Unterschied bleibt fast konstant. Wir neigen deshalb zur Auffassung, der Ring der Mizellenlösungen entspreche insofern dem Haupttring der Klumpseifen, als er irgendwie vom Abstand zwischen den Partikeln abhängt. Wie man nun zu dem vorherrschenden Durchschnittsabstand dieses Systems vom Röntgendiagramm aus kommen soll, ist nicht ganz klar. In ähnlichen Fällen von Röntgendiagrammen mit diffuser Schwärzung hat man die Radialdistributionsanalyse angewandt. Diese wurde in ihrer einfachsten Form für Systeme entwickelt, die aus willkürlich angeordneten Partikeln bestehen,

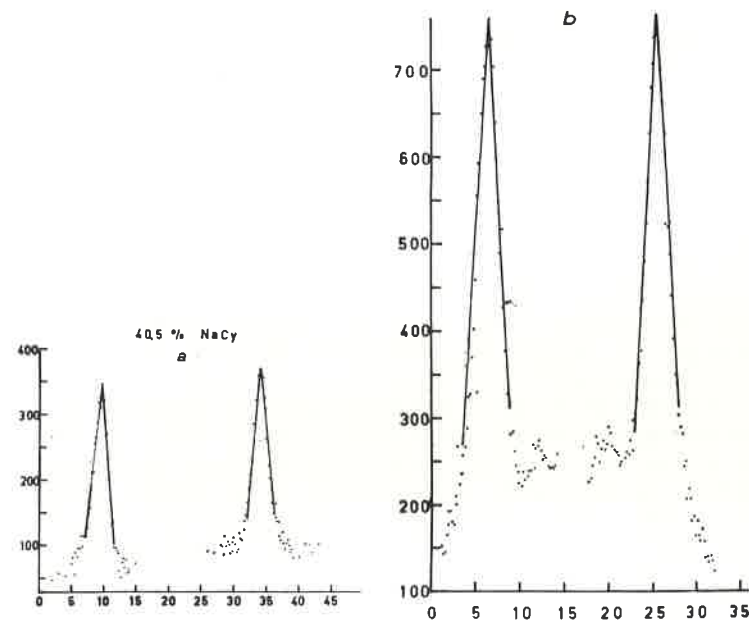


Fig. 3. B. Photometerkurven der Röntgenaufnahmen. (relative Intensität versus mm.).

a) 40,5 % Natriumkaprylat, 59,5 % Wasser.

b) 35,4 % Natriumkaprylat, 12,4 % Dekanol, 52,2 % Wasser.

welche unabhängig voneinander eine "Partikelstreuung" verursachen. Man hat sie aber auch auf diffuse Röntgendiagramme viel komplizierterer Systeme anzuwenden versucht. Nun haben wir eine Radialdistributionsanalyse nach denselben Prinzipien wie sie Brady²⁹, Andersen und Carpenter³⁰ früher auf Röntgendiagramme einiger Assoziationskolloidlösungen anwandten, ausgeführt. Den auf diesem Weg berechneten vorherrschenden Abstand (R) des Systems haben wir als den mittleren Abstand von Mizelle zu Mizelle innerhalb der Lösung aufgefasst und nun

weiteruntersucht, ob man auf Grund der ermittelten Abstände und unserer oben skizzierten Modellvorstellung zu einem völlig unmöglichen oder zu einem plausiblen Ergebnis gelangt. Das Letztere war der Fall. Weiter haben wir angenommen, das Vorkommen eines ähnlichen Kleinwinkelröntgendiagramms wie bei gesättigten Lösungen deute auch bei niedrigeren Konzentrationen auf das Vorkommen langgestreckter Mizellen in einer ähnlichen Anordnung wie dort hin. Wir erachteten es von Interesse zu ermitteln, wie schnell die Länge der Mizellen mit abnehmender Konzentration abnehmen würde, falls man die Berechnung in der oben angedeuteten Weise durchführte. In Fig. 4, B und E zeigen die mit 1 bezeichneten Kurven unsere Ergebnisse: Wir sehen, man würde bis zu einer Konzentration von etwa 1,4 Mol/Kg Lösung abwärts in dekanolfreien Kaprylatlösungen mit mehr oder weniger langgestreckten Mizellen zu rechnen haben, d.h. etwa bis zu der experimentell festgelegten 2:ten CMC hinab.

Es steht kaum zu erwarten, dass diese erste Prüfung unserer Modellvorstellung zu einem in quantitativer Hinsicht richtigen Ergebnis hat führen können; es will uns aber scheinen, als stütze es die Annahme, diese Vorstellung spiegle die Verhältnisse qualitativ richtig wieder. Nun müsste man also die Radialdistributionsanalyse aufs neue durchführen und hierbei die Konsequenzen unserer Hypothese der Struktur der Lösungen mitberücksichtigen.

In Anbetracht der verhältnismässig grossen Schärfe des Intensitätsmaximums unserer Röntgendiagramme (Fig. 3) könnte man fragen, ob es nicht doch möglich wäre, die Braggsche Gleichung anzuwenden, obgleich man es in unseren Systemen nicht mit eigentlichen Netzebenen, sondern nur mit wahrscheinlichen Durchschnittsabständen zu tun hat. Auch die aus dem Ergebnis der Radialdistributionsanalyse sowie aus anderen experimentellen Daten hervorgegangene dichte Packung der Mizellen motiviert vielleicht einen solchen Versuch. Es zeigt sich, die auf diesem Weg berechneten "Netzebenenabstände" können durch einen Ausdruck $k \times R$ wiedergegeben werden, in dem R mit dem durch die Radialdistributionsanalyse gefundenen Durchschnittsabstand (34 Å in dekanolfreien Lösungen) identisch und k eine Konstante = 0.84 ist. Nimmt man an, was wir oben taten, die Distributionsanalyse gebe den Durchschnittsabstand zwischen den Mizellen an, und weiter, die Bragg-Berechnung führe zum "Netzebenenabstand" in einer hexagonalen Packung von zylindrischen Mizellen, so müsste die Konstante k den Wert $\frac{\sqrt{3}}{2} = 0.866$ haben. Die Übereinstimmung der beiden k-Werte könnte dann auch u. U. als Stütze für unsere Modellvorstellung aufgefasst werden.

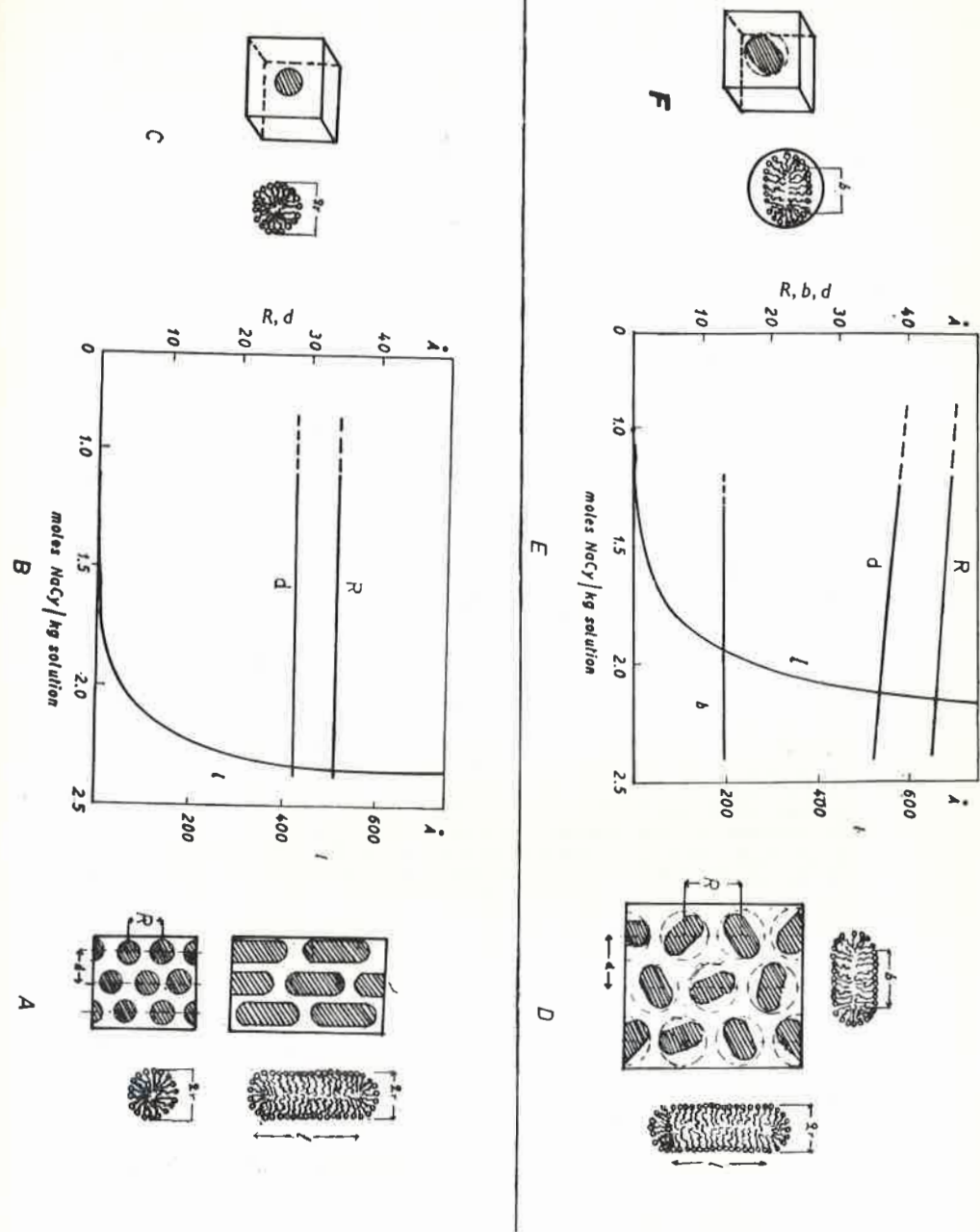


Fig. 4. Schematische Darstellung der Struktur der homogenen, isotropen Natriumkaprylatlösungen des Konzentrationsgebiets I.

A,B,C, Dekanolfreie Kaprylatlösungen.
 D,E,F, Dekanolhaltige Kaprylatlösungen mit 35 Mol Dekanol pro 100 Mol mizellares Kaprylat.
 A und D, Konzentrationen oberhalb der 2:ten CMC.
 C und F, Konzentrationen zwischen der CMC und der 2:ten CMC.

Die oben entwickelte Vorstellung sagt somit, man dürfte es bis zum 2:ten CMC hinauf nur mit sphäroidischen Kleinmizellen, bei höheren Konzentrationen dagegen mit langgestreckten, mehr oder weniger zylindrischen Grossmizellen, deren Länge in den konzentriertesten Lösungen schnell anwächst, zu tun haben. Diese Modellvorstellung scheint uns als wertvolle Arbeits-hypothese der weiteren Forschung auf diesem Gebiet dienen zu können.

Schrifttum

1. Ekwall, P., 6:tte Nord. Kemistmötet, Lund, 1947, 179.
2. Ekwall, P., Sv. Kemisk Tidskr. 63 (1951) 277.
3. Ekwall, P., Hasan, A. und Danielsson, I., Acta Chem. Scand. 6 (1952) 440.
4. Ekwall, P. und Smeds, K., Acta Chem. Scand. 6 (1952) 441.
5. Ekwall, P. und Passinen, K., Acta Chem. Scand. 7 (1953) 1098.
6. Ekwall, P., Passinen, K. und Danielsson, I., Finska Kemistsamf. Medd. 63 (1954) 1.
7. Ekwall, P., J. Coll. Sci. Suppl. I (1954) 66.
8. Ekwall, P., Kolloid-Z. 156 (1954) 37.
9. Markina, S. N., Posspelova, K. A. und Rehbinder, P. A., Chem. Zentr. 126 (1955) 7852.
10. Passinen, K. und Ekwall, P., Acta Chem. Scand. 10 (1956), 1215.
11. Passinen, K. und Ekwall, P., Acta Chem. Scand. 10 (1956), 1228.
12. Hess, K., Philippoff, W. und Kiessig, H., Kolloid-Z. 88 (1939) 40.
13. Klevens, H. B., Chem. Rev. 47 (1950) 1, 15.
14. McBain, E. und Hutchinson, E., Solubilization and related Phenomena, Academic Press, New York 1955.
15. McBain, I. W., Colloid Science, Heath & Co. Boston (1950).
16. Smith, E. R. und Robinson, R. A., Trans. Faraday Soc. 38 (1942) 74.
17. Ekwall, P. und Mitarbeiter, Unveröffentlichte Messungen.
18. Heckmann, K., Naturwiss. 40 (1953) 478.
19. Heckmann, K., Z. phys. Ch. 9 (1956) 318.
20. Götz, K. G. und Heckmann, K., Z. phys. Ch. 20 (1959) 42.
21. Snellman, O., Ark. Mineral. Geol. 19 B (1945) Nr. 5.
22. Hess, K., Kiessig, H. und Philippoff, W., Naturwiss. 26 (1938) 184.
23. Ekwall, P., Danielsson, I. und Mandell, L., Kolloid-Z. 169 (1960) 113.
24. Harkins, W. P., J. Chem. Phys. 16 (1948) 156.
25. Joly, M., Kolloid-Z. 126 (1952) 77.
26. Passinen, K. und Ekwall, P., Acta Chem. Scand. 10 (1956) 215.
27. Luzzati, V., Mustachi, H. und Skoulios, A., Nature 180 (1957) 600.
28. Luzzati, V., Mustachi, H. und Skoulios, A., Faraday Soc. Disc. 25 (1958) 43.
29. Brady, C. W., J. Chem. Phys. 19 (1951) 1547.
30. Andersen, D. E. und Carpenter, G. B., J. Am. Chem. Soc. 75 (1953) 850.
31. Ekwall, P., Danielsson, I. und Mandell, L. IIIrd Internat. Congress of Surface Activity, Cologne 1960 A II/2 S. 193.
32. Ekwall, P., Danielsson, I. und Mandell, L. IIIrd International Congress of Surface Activity, Cologne 1960, A II/2 S. 190.

Eingegangen am 28. April 1961.

Phloroglucinol Derivatives from *Dryopteris* Ferns

Phlorobutyrophenone methyl ethers

Aneri Penttilä and Jacobus Sundman

From the Research Laboratories, Medica Ltd., Helsingfors.

The phloroglucinol derivatives isolated from different *Dryopteris* species have since years been studied extensively. Among the results of the investigations carried out at Medica Ltd. the chemical structure of phloropyron¹, phloraspin² and para-aspidin³ and the synthesis of desaspidin can be mentioned. For the identification of the decomposition products of phloraspin and for the synthesis of the same and of desaspidin, phlorobutyrophenone-4-methyl ether (I) was needed. This substance is reported by Karrer⁴ to have a melting point of 113°, whereas a melting point of 130° is given for the 2-methyl ether isomer (II). In a later paper Karrer and Widmer⁵ questioned the correctness of their earlier report concerning the two phlorobutyrophenone methyl ethers and their respective melting points, and preferred to leave unsettled which one of the two isomers had the lower and which one the higher melting point mentioned. Aebi, Kapoor and Büchi⁶ report a melting point of 121–123° for phlorobutyrophenone-4-methyl ether.

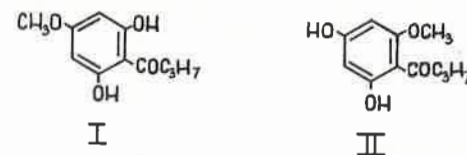


Fig. I, II

A synthetically prepared mixture yielded by purification the two phlorobutyrophenone methyl ethers in a pure state showing the melting points of 127–128° and 133–134°. Both melting points are considerably higher than that previously reported for the 4-methyl ether isomer.

In an earlier report⁶ the ultraviolet absorption maxima are given for the 4-methyl ether isomer. Now it appeared that both isomers have nearly similar absorption curves with the maxima at about 225 $m\mu$ and about 285 $m\mu$ and the minimum at 246 $m\mu$. This, of course, was of no avail in distinguishing them from each other.

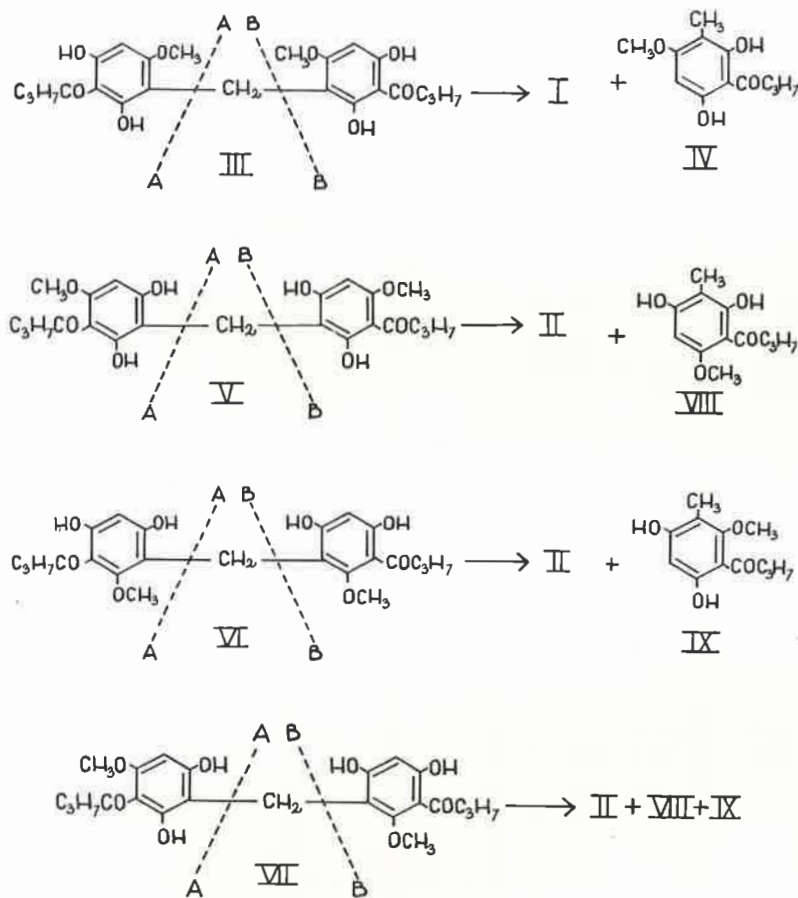
These facts forced us to produce a conclusive proof of the identity of the two substances with regard to their melting points. The evidence was based on the fact that phlorobutyrophenone methyl ethers can be condensed with formaldehyde to form methylene-bis compounds, and these again decomposed by an alkaline treatment to give the methyl ether itself together with its higher methyl homologue.

The condensation of phlorobutyrophenone-4-methyl ether (I) with formaldehyde yields only one methylene-bis compound (III) which by an alkaline cleavage either along A—A or along B—B gives the 4-methyl ether itself and aspidinol (IV). The 2-methyl ether (II), on the other hand, can be condensed to form three different methylene-bis compounds (V, VI, VII) none of which by an alkaline treatment can yield aspidinol (IV), but well isomers of the same as follows: the symmetrical methylene-bis compound (V) yields by the cleavage along A—A or B—B the 2-methyl ether (II) itself and iso-aspidinol (VIII) whereas the likewise symmetrical methylene-bis compound (VI) yields in the same way the 2-methyl ether and *p*-aspidinol (IX). The third methylene-bis compound (VII), which is unsymmetrical, yields besides the 2-methyl ether both *p*-aspidinol (A—A) and iso-aspidinol (B—B), depending upon on which side the methylene bridge is broken off.

The unoccupied CH-group theoretically enables a further condensation whereby a three or more nuclei molecule could be formed, but the decomposition of such products does not alter the situation. Therefore, that one of our substances which on successive condensation and decomposition yields aspidinol, is without doubt the 4-methyl ether isomer.

The phlorobutyrophenone methyl ethers were condensed to methylene-bis compounds by a method described elsewhere⁷. The condensation products were decomposed by heating on a steam bath in sodium hydroxide solution containing zinc dust and the decomposition mixtures were chromatographed on a paper buffered to pH 8.8 and impregnated with formamide⁸. The paper was developed by chloroform-benzene (1:1) solvent and the spots detected by spraying with tetrazotized di-*o*-anisidine reagent, whereby in the case of the phlorobutyrophenone methyl ether melting at 127–128° two purple spots with the Rf-values of 0.64 and 0.83 were obtained. The latter Rf-value, as well as the purple colour of the spot were identical

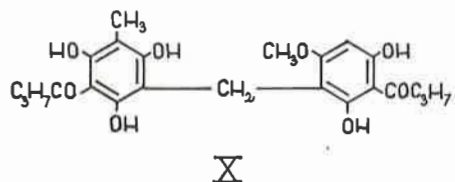
with the Rf-value and colour of an authentic specimen of aspidinol, m.p. 142–143°. The other spot with the Rf-value 0.64 was identical with the spot obtained by chromatographing phlorobutyrophenone methyl ether itself.



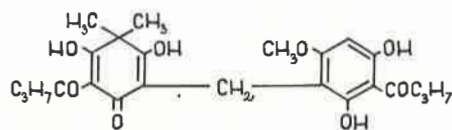
By chromatographing the decomposition mixture derived from the condensation product of the phlorobutyrophenone methyl ether melting at 133–134° no traces of aspidinol could be detected. The main spot, having a blue colour and the Rf-value 0.52, was identical with the spot obtained from the phlorobutyrophenone methyl ether itself. Two minor spots with the Rf-values 0.66 (red brown) and 0.72 (yellow) could also be de-

ected. These were shown to be identical with the spots obtained from *ψ*-aspidinol, m.p. 72–73°, and iso-aspidinol, m.p. 152–153°, respectively.

The experiment gave a conclusive proof of our substance melting at 127–128° being the phlorobutyrophenone-4-methyl ether and that one melting at 133–134° being the 2-methyl ether isomer.



X



XI

Fig. X – XI

Phlorobutyrophenone-4-methyl ether, m.p. 127–128°, was made use of as one of the starting materials in the syntheses of phloraspin (X)² and desaspidin (XI)⁹. The purified synthetic substances were identical with the respective natural compounds isolated from *Dryopteris* fern species.

References

1. Penttilä, A. and Sundman, J. Acta Chem. Scand. 15 (1961) 839.
2. Penttilä, A. and Sundman, J. To be published in Acta Chem. Scand. 1961 – 62.
3. Penttilä, A. and Sundman, J. To be published in Acta Chem. Scand. 1961 – 62.
4. Karrer, P. Helv. Chim. Acta 2 (1919) 466.
5. Karrer, P. and Widmer, Fr. Helv. Chim. Acta 3 (1920) 392.
6. Aebi, A., Kapoor, A. L. and Büchi, J. Helv. Chim. Acta 40 (1957) 572.
7. Boehm, R. Ann. 318 (1901) 253.
8. Penttilä, A. and Sundman, J. J. Pharm. Pharmacol. 13 (1961) 531.
9. Penttilä, A. and Sundman, J. Unpublished results.

Immunoelektrofores — en ny teknik i proteinkemin

(Immunelectrophoresis — a New Technique in Protein Chemistry)

Nils-Erik Saris

Aurorasjukhuset, Helsingfors

Proteinkemisterna har efterhand fått allt fler hjälpmedel för att påvisa, bestämma och isolera äggviteämnen. Till de klassiska metoderna hör utfällning med salter, alkohol eller aceton. För att man skall erhålla kvantitativa, reproducerbara värden måste temperatur, pH, utfällningstid m.m. noggrannt standardiseras. Elektroforesen är en annan klassisk metod för fraktionering och bestämning av äggviteämnen. Med dess tillhjälp kan man uppdelade människans serumproteiner i sex fraktioner: albumin, α_1 -, α_2 -, β_1 -, β_2 - och γ -globulin. Med speciella buffertlösningar kan antalet fraktioner utökas till 8–10, Aronsson & Grönvall¹. Smithies¹⁷ erhöi över 20 fraktioner genom att utföra elektroforesen i stärkelsegel. En rätt god fraktionering kan man få till stånd med jonbytkromatografi, Sober med medarbetare¹⁸, i vissa fall med gelfiltrering, Porath & Flodin¹⁴, och motströmsfördelning, Rasmussen¹⁵. I alla dessa förfaranden utnyttjar man skillnader i proteinernas fysikaliska egenskaper; löslighet, laddning, massa och form.

När en proteinblandning väl uppdelats i fraktioner, kan man med fysikaliska och kemiska metoder bestämma den totala proteinhalten i dem. Man kan också med speciella metoder visa, i vilken fraktion något visst äggviteämne, såsom ett enzym eller t.ex. ett järnhaltigt protein, förekommer. Grabar och Williams⁸ publicerade år 1953 en metod, där äggviteämnen efter fraktionering medels elektrofores påvisades med tillhjälp av en serologisk utfällning. Denna metod har fått benämningen immunoelektrofores.

Den serologiska utfällningen baserar sig på reaktionen mellan antigener och antikroppar (antibodies). Då proteinernas antigenetiska egenskaper är mycket specifika, är det möjligt att i ett immunoelektroferogram av serum påvisa över 20 äggviteämnen.

En immunoelktroforetisk analys utföres i huvuddrag på följande sätt (för detaljer se Grabar⁵):

Speciellt renad agar löses med försiktig uppvärmning i en buffertlösning. Den varma, 1-2-procent agar innehållande lösningen pipetteras på glasskivor för att stelna; i mikrometoderna (Scheidegger¹⁶) används vanliga objektglas. Hål stansas ut i gelet och fylls med proteinlösningarna, som skall undersökas. Sedan den elektroforetiska fraktioneringen slutförts, skärs en skåra ut parallellt med elektroforesriktningen, fig. 1. Den fylls med antiserum. Genom diffusion under $\frac{1}{2}$ –5 dygn möts antigenerna, d.v.s. proteinerna i proteinlösningen och antikropparna i antiserum, och fälls ut i bågformade precipitationslinjer. Icke utfälda äggviteämnen sköljs ut ur gelet, som sedan torkas och eventuellt färgas med proteinfärgämnen. Immunoelktroferogrammet kan fotograferas eller direkt användas som negativ.

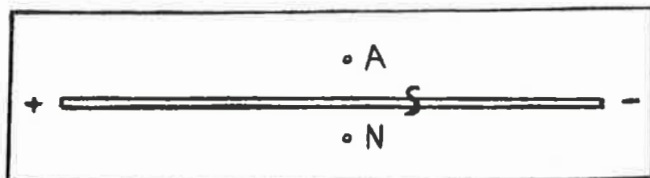


Fig. 1. Gelplatta för immunoelktroforetisk analys. A. Appliceringsställe för det undersökta provet. N. Appliceringsställe för normalserum. S. Antiserumskåra. + och - anger det elektriska fältets riktning.

Antiserumet, som här används som reagens, får man genom att i ett försöksdjur injicera proteiner av det slag, som skall undersökas. Det immuniserade djuret bildar antikroppar mot de insprutade äggviteämnena. Dess serum kan då användas som antiserum. I handeln finns antisera mot människans serumproteiner.

Teorin för serologisk utfällning genom diffusion av antigener och antikroppar i agargel har utarbetats av Oudin¹³. Fällningen mellan antigen och antikropp bildas vid ett bestämt förhållande mellan antigen och antikropp. Fällningen kan lösas i ett överskott av antigen och även i ett överskott av antikropp, då man använder antiserum från en häst. Detta leder till, att fällningen bildar en skarpt avgränsad precipitationslinje eller -zon. Ju större förhållandet antigen/antikropp är, desto närmare antiserumskåran når fällningen. Av precipitationslinjens läge och utsträckning kan man därför grovt uppskatta mängden antigenprotein.

Det stora antalet precipitationslinjer i ett immunoelktroferogram av serum kan göra tydningen vansklig. Man har nu-

mera isolerat så gott som alla de proteiner i serum, som bildar egna linjer, trots att ett flertal av dem var okända, då den immunoelktroforetiska tekniken avslöjade deras existens. När man vill få reda på, till vilket äggviteämne en linje hör, kan man förfara på tre sätt:

1. Man immuniserar försöksdjuret med rena äggviteämnen för att se, vilka linjer man då får vid immunoelktroforetisk analys. Detta är vanskligt, ty även »kemiskt» rena preparat kan innehålla minimala mängder antigenetiskt högaktiva föroreningar och då bildar försöksdjuret antikroppar mot flere äggviteämnen.

2. Man kan specifikt »absorbiera» en bestämd antikropp i antiserum med dess speciella antigen. Detta går så till, att man till antiserum sätter små mängder av ett kemiskt rent protein, t.ex. siderofilin, som då förenas med sin speciella antikropp, antisiderofilin. Använder man detta absorberade antiserum vid en immunoelktroforetisk analys, bildas inte längre en linje för siderofilin. Den saknade precipitationslinjen svarar alltså mot det äggviteämne man satt till antiserum. Denna metod är vida använd, enär små föroreningar i proteinpreparatet inte har någon betydelse.

3. Man kan absorbiera antiserum med ett serum, som saknar ett bestämt äggviteämne. Man erhåller då ett antiserum, som bildar en precipitationslinje blott med detta protein.

Den immunoelktroforetiska tekniken kan med fördel användas av biokemisten i många sammanhang:

1. Den kompletterar kemiska och fysikaliska metoder, när det gäller att karakterisera en proteinblandning.

2. Den är ett utmärkt hjälpmedel att bedöma renhetsgraden hos ett preparat. Man bör då använda antiserum, som erhållits genom immunisering med ett orent preparat eller med utgångsmaterialet för proteinpreparatet. Med ett sådant antiserum kan man också bekvämt följa isoleringen av ett äggviteämne under renframställningens olika stadier.

3. Den är väl lämpad för att påvisa små mängder av något speciellt protein i en proteinblandning. Den kan sålunda användas för lösandet av otaliga problem i biokemin.

4. Den kan användas för att karakterisera antikroppar.

Vid immunoelktroforesen låder en del nackdelar. Man använder ju biologiskt framställda reagens, antisera, vilket inför en ofta icke önskvärd variation. Immunoelktroferogrammet utseende varierar både med det undersökta provets sammansättning och med det använda antiserumet. Man måste väl känna till egenskaperna hos ett antiserum för att kunna fullt utnyttja det. Tar ett antiserum slut, kan man inte erhålla ett exakt likadant antiserum. Immuniserar man t.ex. olika kaniner med samma serum, medför den individuella variationen, att de erhållna

antiserumen ändå har rätt olika antikroppinnehåll. Även successiv immunisering av samma individ medför ständiga förändringar i antiserumets antikroppmönster.

Den biologiska variationen medför nog också en fördel. Man kan erhålla ett helt batteri av olika, ofta rätt speciella antisera, vilket hjälper en att identifiera precipitationslinjer, vars upphov man är osäker om.

En annan allvarlig nackdel är immunoelktroforesens kvalitativa natur. Man kan använda sig av i serologin vedertagna metoder för att få semikvantitativa eller kvantitativa värden på immunoelktroforetiskt påvisbara äggviteämnen. Man kan sålunda utröna, hur mycket provet måste spädas ut för att få en viss precipitationslinje att försvinna, eller man kan bestämma, hur mycket av provet behövs för att fullständigt absorbera en antikropp. Båda sätten fordrar en hel serie av elktroforetiska analyser. På allra senaste tid har det dock utvecklats andra kvantitativa metoder, Ouchterlony¹².

Den immunoelktroforetiska analysen har redan sin givna uppgift i ett kliniskt laboratorium. Med dess tillhjälp kan man få en fullständigare uppfattning av störningar i en patients proteinämnesomsättning än med enbart en papperselktroforetisk undersökning av hennes blodserum. Fig. 2 visar ett immunoelktroferogram av serum från en patient med långt utvecklad lungkräfta. Man ser, att proteinsyntesen är svag; de flesta proteiners koncentration har minskats, se t.ex. albuminet och γ -globulinet. Flere linjer i α - och β -globulinområdet saknas helt. Haptoglobinet och α_2 -makroglobulinet är däremot kraftigt ökade i jämförelse med ett normalserum.

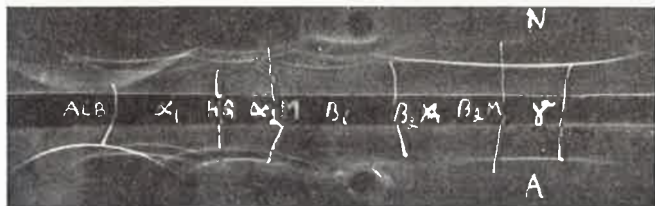


Fig. 2. Immunoelktroferogram vid långt utvecklad lungkräfta. A. Det undersökta provet. N. Normalserum. Alb. = Albumin. α_1 = α_1 -globulinområdet. HG = Haptoglobin. α_2 M = α_2 -makroglobulin. β_1 = β_1 -globulinområdet. β_2 A = β_2 A-globulin. β_2 M = β_2 -makroglobulin. γ = γ -globulin.

Sin största betydelse har denna metod fått vid studiet av de proteiner, som tillhör γ -globulinsystemet, se t.ex. Clausen⁴. Dessa äggviteämnen, som själva verkar som antikroppar, utgörs av tre immunoelktroforetiskt påvisbara komponenter, det egentliga γ -globulinet,⁸ β_2 M-globulinet² och β_2 A-globulinet⁸, för vilka man alltmer börjat bruka benämningen immunglobuliner,

Heremans¹⁰. Dessa tre proteinslag är kemiskt mycket olika; γ -globulinet är fattigt på kolhydrater, dess sedimentationskonstant är omkring 7 Svedberg-enheter; β_2 A-globulinet påminner om γ -globulin, men innehåller mycket kolhydrat¹¹; β_2 M har en hög molekylvikt, över en miljon, och en sedimentationskonstant över 15 S, det faller lätt ut, om lösningens jonstyrka minskas. Immunologiskt finns det anknätningspunkter mellan alla tre proteinslag¹⁰.

Immunglobulinerna bildas i celler, som tillhör det retikulo-endoteliala systemet. Detta cell- och vävnadssystem har överhuvud till uppgift att avvärja infektioner. Sjukdomar, som påverkar detta system, inverkar också på bildningen av immunglobuliner.

En långvarig infektion eller inflammation medför, att det immuniserande systemet stimuleras och vissa celler i det retikulo-endoteliala systemet börjar föröka sig. Då antikroppmängden ökas som en följd av stimulationen, visar en immunoelktroforetisk undersökning av patientens serum en ökning av γ -globulinet och oftast också en ökning av β_2 M- och β_2 A-globulinerna, fig. 3.



Fig. 3. Immunoelktroferogram vid levercirrhos.

Med tillhjälp av denna analys kan man sluta sig till, att en antigenstimulering av det antikroppbildande systemet ägt eller äger rum. Läkaren är mest intresserad av frågan, vilket det stimulerande agenset är, men den frågan kan inte besvaras på basen av denna analys.

En mycket sällsynt sjukdomsgrupp, agammaglobulinemi, karakteriseras av, att immunglobulinerna nästan helt saknas⁶,



Fig. 4. Immunoelktroferogram vid agammaglobulinemi.

fig. 4. Samtidigt är antalet plasmaceller nedsatt. De hör till det retikulo-endoteliala systemet.

I ovannämnda fall är immunglobulinernas koncentration generellt förhöjd eller sänkt. Till en skild kategori kan man hänföra de sjukdomar, där en fraktion av immunglobulinartade proteiner specifikt ökas. Då kan man ofta se en minskning av övriga immunglobulinfraktioner¹⁰. Så är fallet med patienter, som lider av myelom, en elakartad sjukdom, där plasmacell-liknande celler okontrollerat ökas. Då är oftast en γ -globulinfraktion med en starkt avgränsad elektroforetisk mobilitet ökad på de andra immunglobulinernas bekostnad⁷ fig. 5. Ibland är det β_2A -fraktionen, som är starkt ökad⁹ (Fig. 6), ibland förekommer s.k.

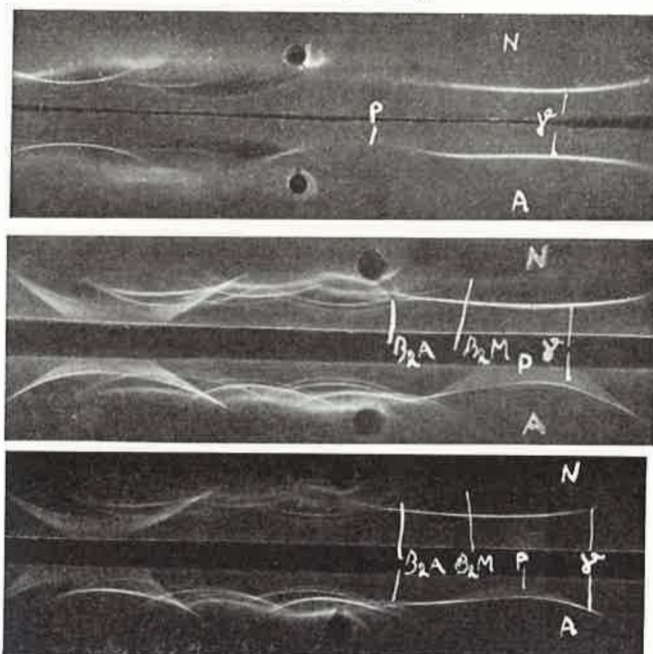


Fig. 5. Immunoelktroferogram vid myelom med γ -paraproteiner (=P) med olika elektroforetisk mobilitet.

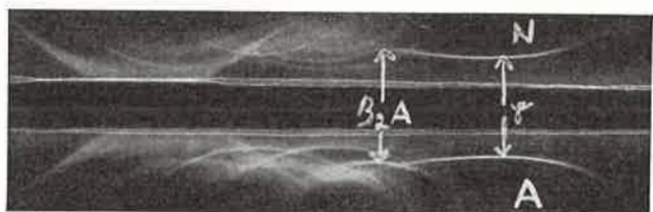


Fig. 6. Immunoelktroferogram vid myelom med β_2A -paraproteinemi.

Bence-Jones-proteiner i serum. Det är äggviteämnen med låg molekylvikt, som immunologiskt är besläktade med γ - och/eller β_2A -globulinerna.

Patienter, vars serum innehåller ökade mängder β_2M -globulin medan övriga immunglobuliner minskat i koncentration, lider av Waldenströms sjukdom, som även den är synnerligen sällsynt³, fig. 7.

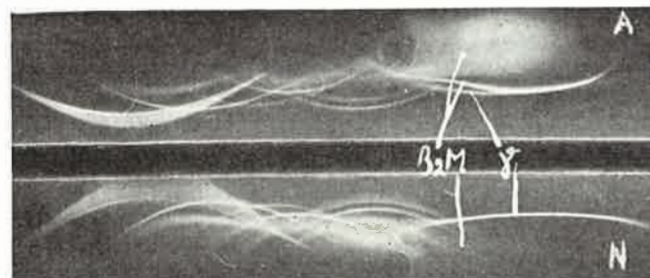


Fig. 7. Immunoelktroferogram vid Waldenströms sjukdom.

Vid leukemier kan någon gång förekomma bristande balans mellan immunglobulinerna så, att något slag av dem saknas¹⁰.

När det gäller att påvisa, att någon fraktion av immunglobulinerna specifikt ökas, är en immunoelktroforetisk analys av nytta.

Summary

This paper is a lecture delivered before the Finnish Chemical Society November 14th 1960. The technique of immunoelectrophoresis is described, and its use by the protein chemist and the clinical chemist are discussed.

Litteratur

1. Aronsson, T. & Grönvall, A., Scand. J. Clin. & Lab. Invest. 9 338, 1957.
2. Burtin, P., Hartmann, L., Heremans, J., Scheidegger, J. J., Westendorp-Boerma, F., Wieme, R., Wunderly, Ch., Fauvert, R., & Grabar, P. Rev. franc. ét. clin. biol. 1 175, 1956.
3. Ibid. 2 161, 1957.
4. Clausen, J. Immunoelktroforesens teoretiske grundlag og praktiske anvendelse. Dissertation. Köpenhamn 1960, Dansk Videnskabs Forlag.
5. Grabar, P. sid. 1. i D. Glick: Methods of Biochemical Analysis. VII. 1959. Interscience Publishers, New York.
6. Grabar, P., Burtin, P. & Seligmann, M. Rev. franc. ét. clin. biol. 3 41, 1958.
7. Grabar, P., Fauvert, R., Burtin, P. & Hartmann, L. Ibid. 1 175, 1956.
8. Grabar, P. & Williams Jr., C. A. Biochim. Biophys. Acta 10 193, 1953.

9. Heremans, J., Proc. 7th Congr. Intern. Soc. Hematol., Rome 1958.
10. Heremans, J., Clin. Chim. Acta 4 639, 1959.
11. Heremans, J. F., Heremans, M.-Th. & Schultze, H. E. Ibid. 96, 1959.
12. Ouchterlony, O., Acta Pathol. & Microbiol. Scand. 1961, under tryckning.
13. Oudin, J., Compt. rend. Acad. Sci. 228 1890, 1949. Sid. 335 i Methods in Medical Research. V. The Year Book Publishers, Chicago 1952.
14. Porath, J. & Flodin, P., Nature 183 1657, 1959.
15. Rasmussen, H., Scientific American, April 1961, sid. 56.
16. Scheidegger, J. J., Intern. Arch. Allergy 7 103, 1955.
17. Smithies, O., Biochem. J. 61 629, 1955.
18. Sober, H. A., Gutter, F. J., Wyckoff, M. M. & Peterson, E. A., J. Am. Chem. Soc. 78 756, 1956.
19. Wallenius, G., Trautman, R., Kunkel, H. G. och Franklin, E. L., J. Biol. Chem. 225 253, 1957.

Jonbyteskromatografi av proteiner

(Ion-exchange Chromatography of Proteins)

Tor-Magnus Enari

Bryggerilaboratorium, Helsingfors.

Jonbyteskromatografien har visat sig vara en synnerligen lämplig metod för analys av många inom biokemin viktiga föreningar. Så gott som alla småmolekylära föreningar kan fraktioneras och analyseras kvantitativt med tillhjälp av dessa metoder. Vid analys av stormolekylära föreningar såsom proteiner, har däremot icke tidigare jonbyteskromatografien kunnat tillämpas i större utsträckning. Först de nyligen utvecklade cellulosa-jonbytarna har möjliggjort en allmänare användning av jonbyteskromatografien inom proteinkemin.

Proteinernas särställning, i jämförelse med småmolekylära föreningar, beror på tre egenskaper nämligen deras stora molekylstorlek och deras polyvalens samt molekylernas tendens att lätt denatureras¹.

En jonbytesthartspartikel kan tänkas vara ett klot som består av ett nätverk bildat av polystyrenkeder sammanbundna av divinylbenzenbryggor. Ju större hartsets »cross linking» är desto tätare är nätverket och desto mindre hålen. Den största delen av jonbytarens joniserbara grupper befinner sig inne i detta nätverk och för att reagera med dem måste en molekyl tränga in i detta. Proteinmolekylerna är, med några få undantag, för stora för att kunna göra detta. Proteinmolekylerna reagerar endast med de joniserade grupper som befinner sig på jonbytestpartikelns yta. På grund av detta minskar jonbytarens kapacitet till en bråkdel av vad den normalt är. Som en följd av kapacitetsminskningen minskar även separationsförmågan. I någon mån kan kapacitetsminskningen motverkas genom att använda möjligast finfördelat jonbytestharts. Vanligen använder man för proteiner harts av minst 200 mesh finhet.

Cellulosa-jonbytarna har en helt annorlunda byggnad. De består av cellulosa-fibrer som bärande material på vilket joniserbara grupper kopplats. De har inte jonbytesthartsernas nätstruktur och därför är alla joniserbara grupper lätt åtkomliga också för stora molekyler.

Proteinmolekylen är en polyvalent molekyl som binds vid jonbytarens med flere bindningar. När proteinet elueras ur jon-

bytaren måste alla bindningar mellan en proteinmolekyl och jonbytaren brytas samtidigt för att proteinmolekylen skall lossna och flytta sig till följande bindningsställe. Den för eluering använda lösningen bör alltså effektivt bryta alla dessa bindningar. I praktiken betyder detta att man har en »allt eller intet»-process d.v.s. proteinets R_f -värde i eluanten är antingen 0 eller 1. Därför kan man vid jonbyteskromatografi av proteiner vanligen inte använda en enda lösning för eluering utan man måste använda varierande pH och jonkoncentration. I allmänhet uppnås det bästa resultatet om man använder en kontinuerlig pH- och jonkoncentrationsgradient. Proteinerna adsorberas alltså på jonbytaren ur en utspädd buffertlösning och elueras med stigande jonkoncentration. Därvid är alla proteiners R_f -värden först 0 och när jonkoncentrationerna ökar övergår de vid en viss punkt till 1. Då denna övergång för olika proteiner sker vid olika jonkoncentrationer kan proteinerna på detta sätt separeras från varandra. Naturligt är att om man vill ha reproducibla kromatogram bör man kunna reproducera jonkoncentrations- och pH-gradienterna med mycket stor noggrannhet.

En svårighet vid kromatografi av proteiner är att de lätt denatureras. Denaturering kan förorsakas av relativt små pH-förändringar eller av reaktioner mellan jonbytaren och proteinmolekylerna. För att eluera proteiner ur en stark jonbytare fordras koncentrerade saltlösningar och höga eller låga pH-värden. Vid stora saltkoncentrationer fälls proteinerna ut och vid extrema pH-värden denatureras de. Av dessa orsaker undviker man i allmänhet starka jonbytare vid proteinarbeten. Endast i några specialfall har goda resultat uppnåtts med starka jonbytare medan man vanligen använder svaga katjon- eller anjonbytare. Av de vanliga jonbyteshartserna, vilka ha ett hydrofobt matrix, har de svaga katjonbytare visat sig vara de lämpligaste vid kromatografi av proteiner. Mest använd är Amberlite IRC-50 eller XE-64 som har karboxylgrupper som joniserbara grupper.

Jonbyteshartser

Jonbyteskromatografien av proteiner skiljer sig från t.ex. aminosyornas kromatografi däri att processen inte är en ren jonbytesprocess utan att också adsorption av protein på jonbyteshartset i hög grad inverkar på resultatet. T.ex. den basiska aminosyran lysin binds av en karboxyl-jonbytare bäst vid pH 7.3. Om eluantens pH höjes närmar det sig lycinets isoelektriska punkt (9.3) och aminosyrans dissociationsgrad minskar; som en följd härav elueras lycinet ur kolonnen. Om eluantens pH däremot sänkes minskar åter jonbytarens karboxylgruppers dissociationsgrad och igen elueras lycinet. Även ett basiskt protein, t.ex. cytokrom c, binds vid pH 7.3 av jonbytaren och elueras

om lösningens pH höjes till proteinets isoelektriska punkt (10.1). Om eluantens pH sänkes till 5 binds däremot proteinet bara starkare vid jonbyteshartset. Man trodde tidigare att detta berodde på att vätebryggor bildades mellan odissocierade karboxylgrupper och proteinmolekylerna. Denna hypotes kullkastades när man fann samma effekt även hos sulfonsyra-jonbytare, vilka är helt dissocierade vid pH 5. Å andra sidan förkommer denna effekt icke hos cellulosa-jonbytare. Man förklarar nu detta fenomen med att anta att proteinet vid lägre pH-värden upptar protoner och övergår i en annan form som binds starkt av karboxyl-jonbyteshartset. En dylik oselectiv bindning vid pH 5 har observerats hos alla undersökta proteiner. Det hydrofoba hartsmatrixet deltar på något sätt i denna process och i extrema fall är reaktionen irreversibel. Labila proteiner kan ofta inte mera elueras utan att de samtidigt denatureras.

Karboxyl-jonbyteshartserna kan således användas för kromatografi av relativt stabila, småmolekylära ($M \sim 10\,000$) och basiska proteiner. Dyliga proteiner binds, tack vare sin höga isoelektriska punkt vid pH-värden större än 5 varvid ingen irreversibel bindning sker.

Med tillhjälp av Amberlite IRC-50 har några enzymer framgångsrikt fraktionerats eller renats. Sådana är t.ex. cytokrom c, chymotrypsin, chymotrypsinogen, lysozym, ribonukleas och papain.

Cellulosajonbytare

Kromatografi av alla proteiner har blivit möjligt först under de senaste tio åren då cellulosa-jonbytare som utvecklats av Sober och Peterson^{2,3} samt Porath⁴ blivit tillgängliga. Cellulosajonbytare framställs ur alkali-cellulosa som får reagera med lämpliga halogenderivat. Jonbytaren består alltså av sura eller basiska grupper som med en ester- eller eterbindning kopplats till α -cellulosa. Vid framställningen förändras inte cellulosans fiberstruktur varför jonbytaren är olöslig och icke sväller i högre grad i utspädda syra- eller baslösningar. Jonbytesegenskaperna hos dessa cellulosa-jonbytare är likadana som hos vanliga jonbyteshartser men de har vissa betydande fördelar vid kromatografi av proteiner. Deras matrix består icke av ett nätverk utan de har en öppen fiberstruktur så att även stora molekyler kommer åt att reagera med alla joniserade grupper. Därför är deras kapacitet vid bindning av proteiner relativt stor. De viktigaste cellulosa-jonbytare finns upptagna i Tabell 1.

Dietylaminoetylcellulosa (DEAE-cellulosa) och trietylaminoetylcellulosa (TEAE-cellulosa) är basiska jonbytare som har fått den största användningen inom proteinkemin. ECTOLA-cellulosa är en reaktionsprodukt av epiklorhydrin, trietanol-

Tabell 1. Cellulosajonbytare och deras viktigaste användningsområde.

Jonbytare	Aktiv grupp	Användning
<i>Anjonbytare</i>		
DEAE-cellulosa	$\cdot O \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot N \begin{array}{l} \diagup C_2H_5 \\ \diagdown C_2H_5 \end{array}$	Proteiner, Enzymer Hormoner
TEAE-cellulosa	$\cdot O \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot N^+ \begin{array}{l} \diagup C_2H_5 \\ \diagdown C_2H_5 \\ \diagup C_2H_5 \end{array}$	Proteiner, Enzymer
ECTEOA-cellulosa	okänd	Nukleinsyror, Virus
PAB-cellulosa	$\cdot O \cdot CH_2 \cdot C_6H_4 \cdot NH_2$	Stormolekylära nukleinsyror
<i>Katjonbytare</i>		
CM-cellulosa	$\cdot O \cdot CH_2 \cdot COOH$	Basiska proteiner Hormoner
P-cellulosa	$\cdot O \cdot PO_3H_2$	Basiska proteiner
SE-cellulosa	$\cdot O \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot SO_3H$	Proteiner

amin och natriumcellulosa. Den är svagare basisk än DEAE- och TEAE-cellulosa. Den svagaste anjonbytaren är p-aminobenzylcellulosa (PAB-cellulosa) som har visat sig speciellt lämplig för kromatografi av högmolekylära nukleinsyror vilka inte kan elueras ur ECTEOA-cellulosa utan att nedbrytas.

Carboxymetylcellulosa (CM-cellulosa) är en svagt sur jonbytare och har visat sig vara mycket användbar för kromatografering av proteiner. Fosforylerad cellulosa (P-cellulosa) och sulfoetylcellulosa (SE-cellulosa) är starkare katjonbytare.

Cellulosajonbytarens kapacitet är i allmänhet 0.5–1 mekv/g. Detta tal verkar litet i jämförelse med jonbyteshartsernas kapacitet som vanligen är 5–10 mekv/g. Cellulosajonbytare förklarar dock tack vare sin öppna fiberstruktur, binda mera protein än jonbyteshartserna. Då dessutom proteinernas molekylvikt är stor kommer cellulosajonbytarens kapacitet att vara fullt tillräcklig för kromatografi av proteiner. I allmänhet förklarar cellulosajonbytarens binda nästan sin egen vikt protein. Den största fördelen med cellulosajonbytare är i alla fall att deras

hydrofila matrix icke irreversibelt binder proteiner och icke försakar denaturering av dem.

Cellulosajonbytare har först använts för kromatografi av blodserum⁵ och andra djurproteiner^{1,5,6} men i några fall har de även använts för undersökningar av växtproteiner, t.ex. från kålblad⁶ och sojaböner⁷ samt mikroorganismer, t.ex. olika enzymer från *E.coli*⁸.

Vid en undersökning av albuminer hos olika sädeslag^{9,10}, användes kromatografi på DEAE-cellulosa. Ett vattenextrakt på finmalet, acetonbehandlat mjöl renades först med tillhjälp av gelfiltrering på Sephadex G-25. Genom att utföra gelfiltreringen i en 5 mM fosfatbuffert pH 7 överfördes albuminerna samtidigt i denna buffert ur vilken de bäst adsorberades på jonbytar-kolonnen. Ca. 20–35 % av proteinerna passerade genom kolonnen. Dessa proteiner är tydligen basiska med en isoelektrisk punkt högre än pH 7. De av jonbytarens bundna proteinerna eluerades med tillhjälp av gradienteluerung med stigande jonkoncentration och sjunkande pH (Fig. 1). Därvid erhöles av samtliga sädeslag en liknande bild. Resultatet visar att albuminfraktionen i alla dessa fall består av en basisk fraktion och

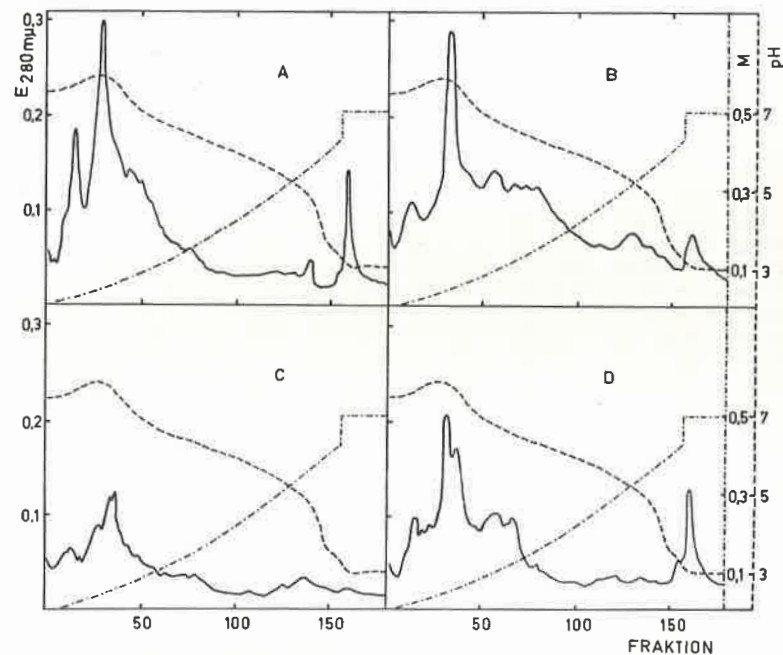


Fig. 1. DEAE-cellulosa-jonbyteskromatografi av albuminer hos olika sädeslag. A = vete, B = havre, C = råg, D = korn. Eluering med fosfatbuffertlösning. Fraktionernas storlek 2.7 ml.

minst 15 olika neutrala eller sura proteiner. Den totala albuminmängden var störst i vete och havre och minst i råg. Vete innehåller minst sura albuminer, och havre innehåller minst (20 %) basiska proteiner.

En jämförelse av albuminerna hos olika kornsorter¹² visade att en tydlig skillnad med denna metod kan påvisas mellan sexradskorn och tvåradskorn. Däremot synes skillnaderna mellan olika tvåradskorn bero i högre grad på växtplatsen än på kornsorten.

Då likadana kornextrakt även undersökts elektroforetiskt¹³ erbjuder detta en god möjlighet till jämförelse av olika metoder. Med papperselektrofores erhöles 8 olika fraktioner ur extraktet med fri elektrofores erhöles 3 fraktioner och med stärkelseelektrofores 10 fraktioner. Extraktet uppdelades med tillhjälp av DEAE-cellulosa i tre grupper: basiska, neutrala och sura proteiner och dessa fraktioner analyserades med tillhjälp av papperselektrofores. Därvid erhöles ur den basiska proteinerna 3 ur den neutrala 4 och ur sura 2 fraktioner. DEAE-cellulosa-kromatografins separationsförmåga är alltså mycket bättre än elektroforesens. Endast de basiska proteinerna kunde inte uppdelas med DEAE-cellulosa medan papperselektrofores gav 3 fraktioner. För kromatografering av dessa basiska proteiner bör man naturligtvis använda en katjonbytare t.ex. CM-cellulosa och försök med denna har också redan påbörjats.

Summary

The special properties of the proteins affecting their behaviour in ion-exchange chromatography i.e. their great molecular size, their high valency and their denaturation, have been shortly described. Chromatography on ion-exchange resins yields good results only when applied to basic proteins of low molecular weight ($M \sim 10\,000$) and relatively high stability¹. The cellulose ion-exchangers developed by Sober and Peterson^{2,3} and Porath⁴ are more widely applicable. The types of cellulose ion-exchangers are presented in Table 1. They have been used for chromatography of blood serum⁵ and other animal proteins^{1,5,6} but in some cases also vegetable proteins such as cabbage⁶ and soybeans⁷ and proteins from microorganisms e.g. enzymes of *E. coli*⁸.

In the Laboratory of Brewing we have studied cereal albumins^{9,10,11,12} using chromatography on DEAE-cellulose. Patterns obtained by chromatography of wheat (A), oats (B) rye (C) and barley (D) are shown in Fig. 1.

Litteratur

1. Turba, F. Adv. Enzymol. 22 (1960) 417.
2. Sober, H. A. och Peterson, E. A. J. Am. Chem. Soc. 76 (1954) 1711.
3. Peterson, E. A. och Sober, H. A. J. Am. Chem. Soc. 78 (1956) 751.
4. Porath, J. Arkiv Kemi 11 (1957) 97.
5. Sober, H. A. och Peterson, E. A. Federation Proc. 17 (1958) 1116.

6. Mandeles, S. J. Chromatography 3 (1960) 256.
7. Rackis, J. J., Sasame, H. A., Anderson, R. L. och Smith, A. K. J. Am. Chem. Soc. 81 (1959) 6265.
8. Cowie, D. B., Cohen, G. N., Bolton, E. T. och de Robichon-Szulmajster, H. Biochim. Biophys. Acta 34 (1959) 39.
9. Enari, T.-M. Finska Kemistsamf. Medd. 70 (1961) 48.
10. Enari, T.-M. och Mikola, J. Suomen Kemistilehti 33 B (1960) 206.
11. Enari, T.-M. och Mikola, J. Acta Chem. Scand. 15 (1961) 1206.
12. Enari, T.-M. och Mikola, J. Proc. Eur. Brew. Convention, Wien 1961, i press.
13. Enari, T.-M., Nummi, M. och Mikola, J. Vth International Congress of Biochemistry, Moskva 1961, i press.

Finska Kemistfundets verksamhet

Protokoll fört vid Finska Kemistsamfundets ordinarie möte den 13 mars 1961 i Tekniska Föreningens i Finland lokal. Förhandlingarna leddes av ordföranden dr *Gustafsson* med undertecknad *Enari* vid protokollet. Närvarande 24 personer.

§ 1. Stadgarna för Förlagsföreningen Acta Chemica Scandinavica upplästes och godkändes.

§ 2. Stadgarna för redaktionen för Acta Chemica Scandinavica upplästes och godkändes.

§ 3. Överenskommelsen med Suomalaisten Kemistien Seura angående fördelningen av den finländska ägorätten i Acta Chemica Scandinavica upplästes och godkändes.

§ 4. Centralrådets för Finlands Kemister bokslut för år 1960 och revisionsberättelsen upplästes. Bokslutet godkändes.

§ 5. Till ny medlem i Samfundet invaldes fil.mag. Tor Stolpe på förslag av dr *Gustafsson* och dr *Smedslund*.

§ 6. Dipl.ing. A. Alm höll ett föredrag om magnefitmetoden. I anledning av föredraget yttrade sig herrarna *Enkvist*, *Rosenqvist*, *Örnholm*, *von Konow*, *Gustafsson* och *Klingstedt* samt föredragshållaren.

§ 7. Dos. J. J. Lindberg höll ett föredrag om dimetylsulfoxidens fysikaliska kemi. I anledning av föredraget yttrade sig herrarna *Enkvist*, *Gustafsson* och *von Konow* samt föredragshållaren. Föredraget publiceras i Finska Kemistsamfundets Meddelanden.

§ 8. Efter mötet följde samkväm.

Charley Gustafsson

T.-M. Enari

Dipl.ing. A. Alm: »Magnefitmetoden — en ny modifikation av sulfitecellulosa-processen». (Referat). I avsikt att förbättra sulfitprocessen har vid ett flertal omfattande forskningsarbeten undersökts vilka resultat man kan uppnå genom att byta ut kalcium mot någon av de s.k. lösliga baserna magnesium, natrium eller ammonium. Dessa bisulfitföreningar erfordrar till åtskillnad från kalcium inte något svaveldioxidöverskott för att lösa sig i vatten. Kokvätskans surhetsgrad, pH, är därför flexibelt och kan varieras inom ett vidsträckt område speciellt vid natrium och ammonium som bas. Vid ett konventionellt sulfitkok är pH ca 1.5. Det har visat sig att man med en kokvätska som innehåller en vattenlösning av de lösliga basernas bisulfitföreningar och utan svaveldioxidöverskott vid pH 3–5 kan koka massor med avsevärt bättre styrkeegenskaper än vanliga sulfitmässor.

Vid den s.k. magnefitprocessen användes magnesium som bas och kokningen sker vid pH 3.5–4.5. Förfarandet har utvecklats av kanadensarna *Tomlinson*, *Tomlinson II*, *Bryce* och *Tuck*. Orsaken till det stora intresset för magnefitprocessen betingas delvis av förbättrade massaegenskaper och delvis av tekniska och ekonomiska skäl. De mest väsentliga fördelarna är följande:

1. frånvaron av fri svaveldioxid möjliggör en avsevärt förenklad koksyrframställning och -hantering.
2. kortare koktider än vid vanliga sulfitkok är möjliga med ökad kokarkapacitet som följd.
3. kemikalieåtervinningsprocessen är enkel och sedan flera år i användning vid vanliga sulfitfabriker med magnesium som bas.
4. massans styrkeegenskaper är avsevärt bättre än hos vanlig sulfitmassa och t.o.m. i vissa avseenden jämförbara med sulfatmassans.
5. massaavbytet är åtminstone lika högt som vid sulfitförfarandet och betydligt högre än vid sulfatmetoden.

6. magnefitmassa är som oblekt ungefär lika ljus och lättblekt som sulfitmassa. Sulfatmassa är mörk och fordrar en rätt komplicerad blekning.
7. magnefitkokningen är rätt flexibel och olika massatyper kan erhållas. Tallved kan användas med bättre resultat än vid vanliga sulfitkok.

Magnefitprocessen synes avsevärt ha ökat sulfitecellulosaindustrins framtidsutsikter men om nya och ännu bättre metoder kan utarbetas så över flyttas tyngdpunkten givetvis på dem. Cellulosaforskningen arbetar intensivt på att utveckla nya förfaranden och redan nu är intresset för olika slag av flerstegskokning stort. Detta slag av kokning erbjuder bättre möjligheter att anpassa betingelserna och leda de olika uppslutningsreaktionerna så att bästa möjliga resultat uppnås.

Protokoll fört vid Finska Kemistsamfundets ordinarie möte den 10 april 1961 i Tekniska Föreningens i Finland lokal. Förhandlingarna leddes av ordföranden dr *Gustafsson* med undertecknad *Enari* vid protokollet. Närvarande 28 personer.

§ 1. Till ny medlem i Samfundet invaldes fil.mag. Carl-Gustaf Gref på förslag av prof. *Enkvist* och lic. *Saris*.

§ 2. Sekreteraren meddelade att The Chemical Society, London ordnar ett »Symposium on Inorganic Polymers» i Nottingham 18–21. 7. 61.

§ 3. Dipl.ing. N. H. Simberg höll ett föredrag om den biokemiska industrin vid *Rajamäki* fabriker. I anledning av föredraget yttrade sig herrarna *Enkvist* och *Gustafsson* samt föredragshållaren.

§ 4. En färgfilm från *Rajamäki* fabriker förevisades. Filmen levandegjorde dipl.ing. *Simbergs* föredrag.

§ 5. Fil.lic. *Veronica Sundman* höll ett föredrag om aspekter på ligninets biologiska sönderdelning. I anledning av föredraget yttrade sig herrarna *Enkvist*, *Gadd* och *Gustafsson* samt föredragshållaren.

§ 6. Efter mötet följde samkväm

Charley Gustafsson

T.-M. Enari

Dipl.ing. N. H. Simberg: Biokemisk industri vid Rajamäki fabriker (referat). *Rajamäki* fabriker grundades år 1888, då *Hyvinge Fabriks Aktiebolag* uppförde en jästfabrik i *Rajamäki* intill järnvägen *Hyvinge—Hangö*. Vid jästframställningen uppstod ansevärliga mängder alkohol, vilken togs tillvara i en destillationsanläggning i anslutning till jästfabriken.

Den s.k. *Wiener-metoden*, som då tillämpades, gav ett utbyte av endast 10–12 %, räknat på den inmäsade spannmålen, men däremot 25 % alkohol. Jästen togs tillvara genom skumning av den jäsande vörten. Ett kvarts sekel senare infördes luftningsförfarandet, varvid jästutbytet steg till det dubbla. Tillopsmetoden slutligen, som infördes på 1920-talet med melass som substrat, ger ett utbyte på upp till 100 %, varvid uppkomsten av alkohol helt kan undvikas.

Under själva framställningsprocessen sker en kraftig ökning av jästcellmassan, under 1 veckas effektiv jäsning upp till 500 000 gånger. Serien startar från renkultur och i början är jäsningarna helt anaeroba, luftningen ökar efter hand och försäljningsjästen tillverkas under helt aeroba förhållanden i jäsningkaren. Under dessa olika stadier sker förändringar i jästens såväl kväve- och fosforhalt som i kolhydratsammansättningen. Likaså förändras också jästens enzymaktivitet och halt av olika enzymer.

De höga krav på jästens kvalitet, som husmödrarna och bagerierna idag ställer kräver en modern teknisk utrustning. Melassen steriliseras i värmeväxlare och klarifieras med separatorer, melassmatningen sker automatiskt, likaså tillsatsen av närsalter och luften filtreras före inblåsning. Efter separeringen avvattnas jästen medels vakuumsrumma och förpackningen sker helt maskinellt.

Jästproduktionen vid Rajamäki är 5700 tn/år eller 65 % av landets hela produktion.

Avfallsvattnet från jästfabriken renas först genom anaerob rötning varvid i dygnet bildas 1000 m³ gas, som brännes under pannorna. Efter sedimentering passerar avloppsvattnet två biologiska bäddar, av vilka den ena med 1000 m³ krossen torde vara det största biologiska filtret i landet. Under reningen nedgår den biologiska syreförbrukningen till en hundraedel.

Ättiksframställningen sker genom en luftad oxidationsjäsning av utspädd etanollösning. Härvid erhåller man 10 %ig hushållsättika, som även innehåller vissa aromämnen, ss. estrar. I Rajamäki används som aktiv bakterie en renkultur av *Acetobacter suboxydans*, som lever på ytan av björkspånor. Genom att använda sig av renkultur, behärskar man lättare processen såväl biologiskt som tekniskt. Ättikproduktionen är c. 1 milj. l/år, varav hälften går till konserverindustrin och hälften säljs tappad på flaskor till hushållen.

I bränneriet tillverkas sprit genom jäsning av stärkelsen i potatis eller säd, vanligen korn eller vete. Efter förklistringen, som sker genom kokning med ånga under övertryck, försöckras mäsken med malt eller mögelsuspension. Mäsken förjäses med speciell brännerijäst, men också vanlig bagerijäst kan användas. Efter jäsningen innehåller mäsken 7–8 % etanol, vilken frändestilleras i fraktioneringskolonn. Dranken går till kreatursfoder till jordbrukarna i omnejden.

För att förenkla försöckningsproceduren har i Rajamäki utarbetats en metod för submersframställning av mögel, vilket ersätter grönmaltet, som hittills har använts. Möglet, *Aspergillus niger*, har nämligen förmågan att bilda amylasenzym, som behövs vid försöckringen. Det har lyckats att uppnå fullgoda resultat vid fabriksdrift.

Fil.lit. Veronica Sundman: Aspekter på ligninets biologiska nedbrytning (referat).

De gröna växterna på jorden assimilerar atmosfärens koldioxid (CO₂) och bygger ur denna upp organisk substans i sådan mängd, att atmosfärens reserv av CO₂ skulle vara uttömd på ca 25 år. Livet på jorden skulle därför avstanna om inte motsvarande mängd organisk substans skulle sönderdelas och åter förvandlas till koldioxid. För denna livsviktiga sönderdelningsprocess, som går via matjordens humusbildning, svarar jordens mikroorganismer.

Ligninet, som utgör ända upp till en tredje del av de förvedade växternas substans, sönderdelas relativt långsamt och omvandlas i jorden till mörkfärgade huminsyror. Man har icke någon klar bild av vilka mikroorganismer det är som i jorden utför denna humifiering.

Det finns ett stort antal svampar, dels rötsvampar, som angriper trä, dels marksvampar av olika slag, de flesta bekanta genom sina hattformiga fruktkroppar, som förmår sönderdela lignin. En del av dessa är mycket effektiva ligninnedbrytare. Svamparna angriper ligninet med hjälp av ett enzym — lac-cas —, som utsöndras från svamphyferna.

Trots upprepade försök att påvisa en bakteriell nedbrytning av lignin är resultaten av tidigare arbeten rätt osäkra och motstridiga. Bakteriernas stora antal i jorden och deras förmåga att nedbryta de mest växlande substanserna talar dock för att speciellt den sk. autoktona delen av jordens mikroflora skulle vara delaktig i ligninnedbrytningen. För att närmare utreda frågan om bakterier förmår angripa lignin har ett längre forskningsprogram, finansierat med amerikanska medel, igångsatts vid Universitetets mikrobiologiska inrättning. Det ligninpreparat, som använts har isolerats så skonsamt som möjligt, med alkalisk etanollösning, ur naturligt anrikat lignin, d.v.s. ur brunrötat trä. Det har lyckats att i jord påvisa bakterier som växer på detta ligninpreparat som enda kolkälla. Ligninet demetoxyleras och oxideras av bakterierna, men alla närmare detaljer om huru oxidationen sker saknas ännu. En stor del av de bakterier som förmår tillgodogöra sig ligninet utgörs av polymorfa, Gram-positiva arter, typiska representanter för den autoktona jordfloran, om vars funktion i jorden man hittills icke haft någon klar föreställning.

Finska Kemistsamfundets Meddelanden

Annonspris för 1/1 sida

på annonssidor	8.000:—
på sidor mot text	10.000:—
på bakpärmen	10.000:—

Prenumerationspris

i Finland	800:—
till utlandet	1000:—

Annons- och prenumerationsärenden

Fil.mag. Karin Sandelin

Universitetets Virologiska institution, Fabiansg. 24, tel. 34 803

Suomen Kemistiseuran Tiedonantoja

Ilmoitushinnat 1/1 sivulla

ilmoitussivuilla	8.000:—
tekstin vastaisella sivulla	10.000:—
takakannessa	10.000:—

Tilaushinta vuosikerralta

Suomessa	800:—
Ulkomailla	1000:—

Ilmoitus- ja tilausasiat

Fil.maist. Karin Sandelin

Yliopiston Virusopin laitos, Fabianink. 24, puh. 34 803



BECKMAN DB SPEKTROFOTOMETERN
med
BECKMANS POTENTIOMETRISKA
SKRIVARE

är den billigaste skrivande spektrofotometerkombinationen. Apparaturen kan användas både som dubbel- och enkelstrålinstrument inom området 220—770 $m\mu$, för manuell drift eller kopplad till skrivaren.

Upplösningsförmåga: 0,3 $m\mu$ i UV-området
Reproducerbarhet: bättre än $\pm 1\%$ T
100 % stabilitet: $\pm 2\%$
Fotometrisk noggrannhet: bättre än 0,5 % T

Försäljning
Installation
Service



G. W. BERG & Co

Fabiansg. 14. Tel. 11 541