Ein Beitrag zum Verständnis der empfindlichen Kristallisation

Leendert W. J. Holleman

Durch die grundlegende Arbeit von *Ehrenfried Pfeiffer* und die späteren ausführlichen Untersuchungen von *Frieda Bessenich, Alla* und *Oleg Selawry* und letztlich von *Ate Koopmans* (1965) sind wir über die Versuchsbedingungen, die zu einer «empfindlichen Kristallisation» führen, gut unterrichtet. Aus diesen Arbeiten geht deutlich hervor, dass der Charakter der Empfindlichkeit dieser Kristallbildung für organische Zusätze an einen sehr engen Spielraum der äusseren Faktoren wie Temperatur, Luftfeuchtigkeit, Massverhältnisse der Kristallisierschalen usw. gebunden ist.

Dabei scheint es in erster Linie darauf anzukommen, dass der Ablauf des Prozesses bestimmte zeitliche Grenzen nicht überschreitet. Eine 10% betragende Abweichung von der optimalen Dauer eines Versuchs macht sich schon in einem teilweisen Verlust der Empfindlichkeit bemerkbar. Diese Erfahrung weist darauf hin, dass die *Wachstumsgeschwindigkeit* des Kristallaggregats eine für den Charakter der Empfindlichkeit besonders kritische Grösse ist.

Der zeitliche Verlauf des Versuchs bedingt aber noch ein wichtiges Merkmal der empfindlichen Kristallisation: die sogenannte *Zentrierung* des Bildes, die namentlich bei Kristallisationen mit Blutzusatz zur diagnostischen Untersuchung von Bedeutung ist. Diese kommt dadurch zustande, dass stets von einer ungesättigten Kupferchloridlösung ausgegangen wird, die erst nach Verlauf einer ca. 13 Stunden dauernden Verdampfung den Sättigungspunkt erreicht. Die Kristallisation setzt darauf fast immer an einer oder an wenigen Stellen in der Nähe der Mitte des Behälters an und breitet sich von da mehr oder weniger deutlich strahlend nach der Peripherie aus. In der Bildung eines solchen Zentrums oder Schwerpunktes unterscheidet sich diese Art der Kristallisation grundsätzlich von der für praktische Zwecke zumeist verwendeten durch Abkühlung einer gesättigten Lösung. In letzterem Fall wird gewöhnlich der ganze Boden des Gefässes gleichzeitig mit Kristallen übersät und es zeigt sich nichts von einer Orientierung des zuletzt entstandenen Aggregats auf ein Zentrum.

Es wird nun im Untenstehenden zu zeigen sein, dass die beiden genannten Merkmale der empfindlichen Kristallisation zusammenhängen mit der besonderen Art der Verdampfung des Lösungsmittels, welche zum Entstehen eines *Konzentrationsgefälles* in der verdampfenden Lösung führt. – Das Bestehen eines solchen Gradienten vor Beginn der Kristallisation ist bereits von *A. Neuhaus* bemerkt worden an Farbunterschieden in der Flüssigkeitsschicht auf dem Boden der Schale (siehe *Selawry* 1957, S. XXXVI). Man kann es auch durch einen einfachen Versuch zeigen: wenn man die Schale direkt nach dem Erscheinen der ersten Kristalle mit einer Glasplatte bedeckt und damit die Verdampfung unterbricht, so nimmt man nach einiger Zeit wahr, dass diese Kristalle wieder verschwunden sind. Sie haben sich offenbar in der umgebenden Flüssigkeit wieder gelöst. Dies ist nur begreiflich, wenn man annimmt, dass letztere den Sättigungspunkt noch nicht erreicht hatte. Das Lösungsmittel konnte so nach der Stelle der anfangenden Kristallbildung hindiffundieren und diese wieder rückgängig machen.

1. Ermittlung des Konzentrationsgradienten.

Durch quantitative Bestimmung des Kupferchlorids in der Lösung an verschiedenen Stellen der Schale und in verschiedenen Stadien der Verdampfung konnte

der obige Tatbestand erhärtet werden. Zu diesem Zweck wurde eine in bekannter Weise hergestellte Schale (siehe *Bessenich* 1960) mit 10 ml reiner Kupferchloridlösung in der für Blutkristallisationen üblichen Konzentration (1:1 Molar) beschickt. Die Verdampfung geschah in einem Kristallisationsraum nach der Vorschrift *Pfeiffers*. Mit Zwischenpausen von mehreren Stunden wurde die Schale zur Probeentnahme zeitweilig mit einer Maske bedeckt, die in zwei senkrecht aufeinander stehenden Richtungen mit einer Reihe von runden Löchern in Abständen von je 1 cm versehen war, durch die gerade eine Kapillarpipette von 1 mm^3 Inhalt durchgeführt werden konnte. Die mittlere Öffnung stand senkrecht über dem Mittelpunkt der Schale; die Maske wurde bei jeder Probeentnahme in derselben Stellung auf die Schale gelegt, wobei die eine Löcherreihe Nord-Süd, die andere West-Ost orientiert war. An den durch die Löcher markierten Stellen wurde unter möglichst geringer Störung der Flüssigkeit je 1 mm^3 der Lösung aufgesaugt. Nach Abwischen der Spitze wurde diese in 1 ml destilliertes Wasser, das sich in einer kleinen Porzellanschale befand, ausgeblasen und die Pipette mit diesem Wasser nachgespült. Es wurden dann jeweils 0.5 ml einer 20%igen Jodkalilösung hinzugefügt und das freigemachte Jod mit eingestellter 0.002 n–Thiosulfatlösung und Stärke als Indikator aus einer Mikrobürette titriert. Durch Vorversuche mit Kupferlösung bekannter Konzentration wurde festgestellt, dass in dieser Weise die Menge des Kupfers quantitativ erfasst wird.

Das Ergebnis dieses Versuchs ist in Abb. 1 a wiedergegeben. Der Abfall der Salzkonzentration vom zentralen Teil der Schale nach der Peripherie hin ist bereits deutlich bemerkbar $4^1/_2$ Stunden nach Beginn der Verdampfung, wo die mittlere Konzentration in der Schale kaum 30% des Sättigungswertes erreicht hat. Der Effekt wird im Verlauf der Verdampfung immer stärker, bis nach 12 Stunden, kurz vor dem Beginn der Kristallisation, die Konzentration in 6 mm Entfernung vom Rande nur noch etwa halb so gross ist wie im Zentrum.

2. Die räumliche Verteilung der Dampfbewegung bei verschiedener Form der Schale.

Es wurde gefunden, dass das Erscheinen des Konzentrationsgradienten vollständig begreiflich zu machen ist durch eine eingehende Betrachtung der Bewegung des Wasserdampfes über der Lösungsoberfläche in der Schale. Dazu konnte angeknüpft werden an frühere grundlegende Arbeiten über diesen Gegenstand. Das Problem der Verdampfung aus Behältern ist bereits im vorigen Jahrhundert von *Maxwell* bei der Behandlung des Psychrometers erörtert worden. Später haben *Stefan* (1882), *Larmor* (1918) und *Jeffreys* (1918) die Theorie näher ausgearbeitet. Eine wichtige Anwendung fand diese Behandlung auf dem Gebiet der Botanik in den klassischen Untersuchungen von *Brown* und *Escombe* (1900) über die Diffusion der Kohlensäure und des Wasserdampfes der Luft durch die Spaltöffnungen des Pflanzenblattes.

Die Verdampfungsgeschwindigkeit einer Flüssigkeit, die sich in einer Schale befindet, ist keineswegs an jeder Stelle der Oberfläche gleich gross. Sie wird im Gegenteil stark beeinflusst durch die Nähe eines aufstehenden oder auch flachen Randes. Beim Eindampfen einer Salzlösung müssen dadurch momentan lokale Konzentrationsunterschiede auftreten; diese bleiben aber gewöhnlich unbemerkt, weil sie durch Konvektion innerhalb der Flüssigkeit schnell ausgeglichen werden. Im empfindlichen Kristallisationsversuch aber ist diese Art des Ausgleichs wegen der geringen Dicke der Flüssigkeitsschicht (1.5 mm) und der erschütterungsfreien Aufstellung nicht möglich. Einem entstehenden Konzentrationsgradienten wirkt