



Eiwitten in electrolytoplossingen

<https://hdl.handle.net/1874/292939>

Ch. qu. 192, 1924

EIWITTEN IN ELECTROLYT-OPLOSSINGEN

A. B. BOELMAN

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

EIWITTEN IN ELECTROLYT- OPLOSSINGEN

PROEFSCHRIFT

TER VERVOLGING VAN HET OORDEEL VAN
DOCTOR IN DE WIS- EN NATUURKUNDE
AAN DE RIJKE UNIVERSITEIT TE EINDHOVEN
OF GEBR. VAN DER KAMMEN
DOOR
DR. H. TH. VAN DER KAMMEN
DE FACULTEIT DER WIS- EN NATUUR-
KUNDE VAN DE UNIVERSITEIT TE EINDHOVEN
IN JANUARI 1909, DER RECTORAAL A VAN
DER KAMMEN

ARISSA HANCOCK BOGEMAN

ALUMNA VAN DE UNIVERSITEIT

DRUKKERIJ VAN DE WIS- EN NATUURKUNDE, EINDHOVEN

DRUKKERIJ VAN DE
WIS- EN NATUURKUNDE
EINDHOVEN

OPLOSSINGEN
ELEKTROLYT
KIWITTEN IN

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK UTRECHT



3969 4322

EIWITTEN IN ELECTROLYT- OPLOSSINGEN

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN
DOCTOR IN DE WIS- EN NATUURKUNDE
AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT
OP GEZAG VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS
DR. H. TH. OBBINK, HOOGLEERAAR IN
DE FACULTEIT DER GODGELEERDHEID,
VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAT DER
UNIVERSITEIT TEGEN DE BEDENKINGEN
VAN DE FACULTEIT DER WIS- EN NATUUR-
KUNDE TE VERDEDIGEN OP DONDERDAG
17 JANUARI 1929, DES NAMIDDAGS 4 UUR

DOOR

AEISSO BERNARD BOELMAN

GEBOREN TE GIETERVEEN

DRUKKERIJ J. VAN BOEKHOVEN — UTRECHT, AMSTERDAM

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

Bij het afsluiten mijner studiën dank ik U, Hoogleeraren in de Faculteit der Wis- en Natuurkunde, voor het vele, dat ik van U heb ontvangen.

Tot U, Hooggeleerde KRUYT, Hooggeachte Promotor, wend ik mij daarbij in de eerste plaats. Wanneer wij studenten U voor het eerst leeren kennen, geven ons Uwe boeiende, helder voorgedragen colleges reeds een indruk van Uwe buitengewone persoonlijkheid. De tijd, waarin ik onder Uwe leiding mijn proefschrift bewerkte en waarin ik op het laatst nog gedurende korten tijd Uw assistent mocht zijn, heeft dezen eersten indruk nog versterkt. Niet alleen Uw vermogen direct de essentiele punten van een probleem eruit te grijpen, ook Uw lijfspreuk: „Ik laat mij steeds door de feiten overtuigen” stempelen U tot den wetenschappelijken leidsman aan wien Uwe leerlingen zooveel te danken hebben. Ook als mensch echter leeft Gij met hen mede en voor hetgeen ik op dit gebied van U mocht ondervinden, dank ik U nog in het bijzonder.

Hooggeleerde VAN ROMBURGH, indien Uwe leerlingen in staat zijn op de juiste wijze opbouwende kritiek te leveren en nauwgezet wetenschappelijk te werken, danken zij dit voor een zeker niet gering deel aan U. Dat Gij ook nog na mijn assistentstijd onder U steeds een welgemeende belangstelling in mij zijt blijven toonen, zal ik in dankbare herinnering houden.

Hooggeleerde COHEN, Gij waart een der eersten, die mij niet alleen door Uwe colleges en practica maar met Uw geheele persoon de meest fundamenteele les voor wetenschappelijk werken hebt gegeven, nl. dat een wetenschappelijk man in de eerste plaats een eerlijk man moet zijn. Ik hoop mij den naam, ook hierin Uw leerling te zijn geweest, steeds waardig te zullen betoonen.

Voor Uwe lessen in de theoretische Natuurkunde betuig ik U, Hooggeleerde ORNSTEIN, mijn oprechten dank.

Zeergeleerde MOESVELD, ik wil niet nalaten op deze plaats ook U mijn dank te brengen zoowel daarvoor, dat Gij mij steeds met Uw kennis hulpvaardig terzijde hebt gestaan, alsook voor den gewonen dagelijkschen omgang, dien Gij in zulk een prettigen kameraadschappelijken toon wist te houden.

Ten slotte een woord van dank aan het personeel in het van 't Hoff-laboratorium, niet het minst aan den Heer KISJES, voor de bereidwillige wijze, waarop het mij steeds bij het vervaardigen van toestellen behulpzaam is geweest.

INHOUD.

Kritisch overzicht der literatuur	1
Kolloid-chemische opvatting der eiwitsolen	50
Meetmethode voor de concentratie-elementen . . .	59
Methode der kataphoresemetingen	70
De zuivering der eiwitten	74
De resultaten der metingen	78
Samenvatting en bespreking der resultaten	104

KRITISCH OVERZICHT DER LITERATUUR.

Zooals bekend bestaan over de fysisch-chemische eigenschappen der eiwitsolen twee verschillende opvattingen. Dispergeert men eiwitten in water, dan krijgt men systemen, die door de eene groep van onderzoekers op grond der met verschillende reagentia optredende omzettingen als een-phasesystemen worden beschouwd, waarin de eiwitten dus in ware oplossing zijn, terwijl de andere in hen twee-phasesystemen ziet.

Van de eerste beschouwingswijze kan men als de voornaamste voorstanders beschouwen LOEB, PAULI en SÖRENSEN met hunne leerlingen; de tweede wordt door b.v. FODOR en GORTNER verdedigd, terwijl ook onderzoekingen uit het VAN 'T HOFF-laboratorium der laatste jaren door KRUYT en zijne leerlingen een zeer sterken steun hieraan gegeven hebben.

Gaan we de argumenten der „ware oplossingen”-auteurs na en beginnen we daarbij met LOEB, als den belangrijkste.

Deze leidt allereerst af, dat de reacties der eiwitten met basen en zuren volgens stoechiometrische verhoudingen verlopen, waarbij hij vooral den nadruk legt op de waarde van p_H -bepalingen bij deze proeven. Bij gelijke p_H worden volgens hem n.l. aequivalente hoeveelheden zuur of base gebonden en men mag bij het bepalen

der eigenschappen van eiwitoplossingen met verschillende zuren of basen deze oplossingen dus alleen onderling vergelijken, indien hunne p_H gelijk is. Het is zeker een verdienste van hem, dat hij op den grooten invloed van dezen factor gewezen heeft. Want deze is van zeer groot belang, hoe men de eiwitoplossingen ook moge beschouwen. Zoowel als men ze opvat als ampholyten in ware oplossing, als wanneer men ze beschouwt als deeltjes waarvan alleen de oppervlaktmoleculen kunnen reageeren, altijd heeft men te doen met een specifieke werking der H^+ - en OH^- -ionen op de carboxyl- en aminogroepen. Een andere quaestie is echter of het geoorloofd is om, wanneer men stoechiometrie gevonden heeft bij de reacties met zuren en basen, hieruit direct te concluderen tot een systeem in ware oplossing. Immers ook bij een kolloïdchemische opvatting komt men tot stoechiometrie, maar dan in de grenslaag.

Bovendien moet men hier wat voorzichtig zijn, want LOEB werkt bij de meeste van deze proeven met eiwitten, die steeds op een bepaalde wijze gezuiverd zijn. Daardoor is de kans op het verkrijgen van analoge preparaten zeer groot, wat gelijke uitkomsten bij de proeven zeer in de hand werkt. Juist bij solen weten we immers, hoezeer de eigenschappen van de voorgeschiedenis af kunnen hangen.

Deze p_H bepalingen zijn ook van belang bij het vaststellen van het isoelectrisch punt. Zooals de definitie al aangeeft, is dit het punt, waar de lading der eiwitten door het nulpunt gaat en het is gekarakteriseerd door minima in viscositeit, alcoholgetal, osmotischen druk, geleidings-

vermogen en zwelling. Er blijkt nu, dat bij werken met zuren dit isoelectrisch punt voor de verschillende eiwitten bij een voor ieder van hen karakteristieke p_H ligt. Ook dit is natuurlijk zeer goed in te zien, zoowel van 't standpunt van de voorstanders eener theorie van ware oplossingen, als van die eener kolloidchemische opvatting. Immers de eiwitten zullen zoowel H^+ - als OH^- -ionen afsplitsen. Overweegt bij een eiwit de eerste tendens (en dat schijnt bij vrijwel alle het geval te zijn), dan hebben we bij een van alle onzuiverheden bevrijd eiwit te doen met een negatief geladen deeltje. Om dit te ontladen hebben we zuur nodig, dat eensdeels van de NH_2 -groepen zouten maakt, die in het algemeen sterker dissociëren dan de hydroxylverbindingen dezer groepen zelf (dus de positieve lading versterken), anderdeels de ionisatie der carboxylgroepen terugdringt (dus de negatieve ladingen verzwakt). Er zal nu natuurlijk een punt zijn, waarin de afgedissocieerde positieve en negatieve ionen, dus ook de op het deeltje achterblijvende negatieve en positieve ladingen, elkaar juist opheffen: het eiwit in zijn geheel dus isoelectrisch is. Deze redeneering geldt dus voor beide opvattingen. Geldt het echter systemen in ware oplossing, dan is niet in te zien, waarom ook zouten in staat zouden zijn eiwitten op hun isoelectrisch punt te brengen, terwijl van kolloidchemisch standpunt uit, waarbij we conglomeraten aannemen met een oppervlak, waaraan adsorptie kan plaats grijpen, dit past in het kader van wat we algemeen bij solen opmerken.

Nu heeft een onderzoek van KRUYT en TENDELOO ¹⁾

¹⁾ KRUYT en TENDELOO, Journ. phys. Chem. **29**, 1303 (1925).

bewezen, dat het isoelectrisch punt geen functie is van de p_H alleen, maar dat men integendeel, afhankelijk van het zout, dat men gebruikt, het eiwit bij verschillende p_H op zijn isoelectrisch punt kan brengen. Is men aan de alkalische zijde van het isoelectrisch punt, dan zullen de kationen ontladend werken, en wel de hoogerwaardige het meest; aan de zure zijde daarentegen zal het de invloed der anionen zijn, die een ontlading der deeltjes bewerkstelligt. Bovendien blijkt, dat bij meerwaardige ionen niet alleen een ontladingseffect, maar zelfs een omlading kan plaats hebben, terwijl de werking der ionen, die evenzoo geladen zijn als het sol zelf, de ontladende werking der tegengesteld geladen ionen tegenwerkt, en wel des te meer, naarmate hun lading grooter is, m. a. w. zij hebben de neiging de oorspronkelijke lading van het sol te versterken.

Deze verschijnselen nu zijn alle ook bij andere solen, zoowel hydrophobe als hydrophiele bekend, en passen dus geheel in een kolloidchemische beschouwingswijze, terwijl zij met de theorie der ware oplossingen zeer moeilijk te rijmen zijn.

LOEB zelf gaat ook den invloed van zouten op de lading na, ziet ook de ontladende en omladende werking der meerwaardige ionen, welke hij met adsorptie verklaart. De naam adsorptie vindt hij echter zoo onaangenaam, dat hij deze niet gebruiken wil, vermoedelijk omdat zij van kolloidchemische afkomst is.

Zijne redeneering loopt als volgt: bij een grensvlak water-lucht, en evenzoo bij een tusschen water en een indifferente stof, wordt er een electrische dubbellaag ge-

vormd, welke hare eigenschappen alleen aan het water te danken heeft.²⁾ Dat het ook nog wel aan de eigenschappen van de tweede stof, die het grensvlak mee helpt opbouwen, kan liggen, hoe deze dubbellaag geconstitueerd zal zijn, geeft hij in het begin ook wel toe, maar later negeert hij dit toch geheel en spreekt alleen over het water als de eenige verantwoordelijke voor het verschijnsel van oplading of ontlading door meerwaardige ionen³⁾. Deze verschijnselen geeft hij echter alleen toe waar het de kataphorese-potentialen betreft. Zoodra hij maar even de kans krijgt, bij de membraanpotentialen⁴⁾ b.v., waar ook een dergelijk effect optreedt, schrijft hij het toe aan de verandering in p_H , die bij langer staan door de hydrolyse van deze zouten van meerwaardige kat- en anionen optreedt.

Deze membraanpotentialen zijn ook een van zijne specialiteiten, en wel een zeer belangrijke.

Hij bewijst n.l., dat deze tengevolge van een Donnan-evenwicht optreden en denkt hiermee tegelijkertijd een verder bewijs geleverd te hebben voor de geldigheid zijner theorie. Daarbij neemt hij aan, dat een Donnan-evenwicht alleen tot stand kan komen, indien er aan de eene zijde der membraan zich niet diffusibele ionen bevinden, tengevolge waarvan er aan weerszijden der membraan een ongelijke verdeeling ontstaat der wel-diffundeerende.

Nemen we echter niet-diffundeerende deeltjes, waaraan

²⁾ LOEB, Die Eiweisskörper. pag. 64 e. vgl.

³⁾ LOEB loc. cit. pag. 255.

⁴⁾ LOEB loc. cit. pag. 253.

ionen geadsorbeerd kunnen worden, welke ionen dan dus ook van de vrijheid door het membraan te gaan beroofd zijn, dan ontstaat er eveneens een Donnan-evenwicht.

Tot de conclusie, dat LOEB's resultaten bij het HCl + gelatine evengoed als adsorptieverschijnsels verklaard kunnen worden, komt dan ook RINDE⁵⁾, een der leerlingen van DONNAN, die dit als voorbeeld uitrekende. Ook dit argument van LOEB ten gunste zijner opvattingen blijkt dus geen steek te houden.

Trouwens wie LOEB's boek doorleest, merkt dat hij tegen het eind hoe langer hoe meer tot een kolloidchemische opvatting der eiwitten neigt, al zegt hij het nergens in zooveel woorden.

De viscositeitstoename b.v. van gelatine bij toevoeging van base of zuur verklaart hij met een kolloidchemisch beeld. Hij voegt aan gelatine een zuur of base toe en bepaalt dan de viscositeitstoename vergeleken met de waarde in zuiver water. Daargelaten of dit procédé werkelijk een meten van viscositeit is, dan wel een verstopingsmeting der capillair (de metingen worden bij gewone temp. gedaan), zullen we zien, hoe zijn voorstelling van het mechanisme is. Door de grootere electrolyt-concentratie in de gelatinedeeltjes, vergeleken met die buiten, treedt er een Donnan-evenwicht op en als gevolg hiervan een zwelling. Het gelatine in de deeltjes is in ware oplossing en is van de buitenvloeistof gescheiden door een gelatine membraan. Waar blijft echter in dit geval de ware oplossing, en hebben we hier

⁵⁾ RINDE. Phil. Mag. 7th Ser. 1, 46 (1926).

niet met een oppervlak, dus ook met oppervlakteverschijnselen, te doen?

Dat viscositeitsverandering ook nog op andere wijze te verklaren is, indien we met een eiwit te doen hebben, blijkt uit de onderzoeken van LIER ⁶⁾ aan het caseinesol. Hier zien we, dat er wel een quantitatief verschil is tusschen de H' - en OH' -ionen met de andere, maar dat kwalitatief dezelfde effecten optreden als bij deze laatste. Dat er quantitatief verschil zou zijn is iets, wat men al van te voren mag verwachten, daar de werking der H' - en OH' -ionen toch al veel sterker is dan die der andere eenwaardige ionen, en hier bij de eiwitten door het aanwezig zijn der basische en zure groepen dit verschil nog veel geprononceerder wordt. Dat er echter kwalitatief geen verschil is, blijkt ten duidelijkste uit het feit, dat we dezelfde ontladende en opladende werking ook met andere ionen teweeg kunnen brengen.

Dit verschijnsel komt ook voor den dag bij het agarsol, waar een dergelijke voorkeur voor H' - en OH' -ionen lang niet zoo op den voorgrond treedt als bij de eiwitten en waarvan de viscositeit ten gevolge van ontlading en oplading der deeltjes denzelfden gang vertoont ⁷⁾.

Waar het onderzoek van DE JONG aan dit sol aange-toond heeft, dat men hier met een kolloid systeem te doen heeft, kunnen we ditzelfde mutatis mutandis ook op onze eiwitten overbrengen. Bij het agarsol bleek de stabiliteit door twee factoren beheerscht te worden : lading en hy-

⁶⁾ LIER. Het caseinesol. Diss. Utrecht. pags. 64, 66 en 105.

⁷⁾ KRUYT en BUNGENBERG DE JONG. Koll. Chem. Beih. **28**, pags. 28 en 31 (1928).

dratatie. Neemt men een van beide weg, dan is het sol nog stabiel; bij het ontladen *en* dehydrateeren te zamen echter is het met de stabiliteit gedaan, en krijgt men uitvlokking.

Ook bij het caseïne vindt men iets dergelijks, echter is daar de hydratatie alleen niet *geheel* voldoende en is er dus nog een zekere lading noodig om het sol in suspensie te houden. Dit sol blijkt in zijn eigenschappen dus het midden te houden tusschen de hydrophobe en hydrophiele kolloiden.

Er zijn echter eiwitten, die, op hun isoelectrisch punt gebracht, toch nog stabiel zijn.

Voorbeelden hiervan zijn het gelatine en de verschillende albuminesoorten. Dat hier een hydratatiemantel de deeltjes in oplossing houdt, kunnen we zien aan het feit, dat een dehydratatiemiddel als alcohol bij gelatine dit uitvlokt^{s)}, hetzelfde verschijnsel dat we ook bij het agarsol aantreffen.

LOEB weet met dit verschijnsel geen raad. Hij geeft het in samenhang met den invloed van verschillende zouten hierop en dan blijkt, dat meerwaardige ionen, zowel positieve als negatieve het tegenwerken, en wel des te sterker, naarmate de valentie grooter is.

Waar we bij de hydrophobe solen, die we kennen, dezelfde verschijnsels van oplading tegenkomen, ligt het ook hier voor de hand een zoodanig verschijnsel als verklaring der feiten te aanvaarden.

Wat de onderzoekingen uit de school van PAULI betreft, daarvan zijn in de laatste jaren over verschillende

^{s)} LOEB loc. cit. pag. 284.

eiwitten publicaties verschenen. MONA ADOLF deed een reeks over het globuline verschijnen en wel voornamelijk over globuline uit menschelijk exudaatserum, bereid door dit laatste eerst grondig te dialyseeren en het dan neergeslagen globuline met gedestilleerd water te wasschen om het van de laatste sporen oplosbaar eiwit te bevrijden. Haar eerste publicatie ⁹⁾ gaat over de verbindingen met loog. Zij schudt eerst met verschillende basen van 0.01 N zoolang, tot potentiometrisch een p_H van de grootte-orde 7 bereikt is. Hierbij vindt zij, dat door de eenwaardige basen NaOH, KOH en NH_4OH dezelfde hoeveelheid globuline wordt opgelost, nl. 3 gr. op 100 c.c. De tweewaardige base $Ba(OH)_2$ geeft echter bij twee verschillende bepalingen een oplosbaarheid van 2.4 en 1.8 gr.; $Ca(OH)_2$ geeft 2 gr. Bij analyse blijkt in deze verschillende oplossingen de verhouding

$$\frac{\text{globuline in } \%}{\text{normaliteit in 0.01 aequivalent base}} = 3$$

te zijn. Haar conclusie is dus: de een- en tweewaardige basen lossen globuline in aequivalente verhouding op.

Gaat zij de bindingscurve van NaOH door middel van p_H bepalingen na, dan blijkt dat er met den tijd een sterkere binding van de loog plaats vindt. Men vergelijke hiermee het reeds door HARDY en in een latere publicatie ¹⁰⁾ door haarzelf gevonden feit, dat de oplosbaarheid van globuline in zoutoplossingen afhankelijk is van den tijd gedurende welken het in gepraecipiteerden toestand

⁹⁾ Koll. Beih. **17**, 1 (1923).

¹⁰⁾ Koll. Beih. **18**, 275 (1923).

heeft verkeerd, evenals dat van anorganische kolloid-neerslagen bekend is.¹¹⁾

Evenals we bij de anorganische kolloïden dan een grover worden der conglomeraten en daarmee een moeilijker peptisatie aannemen, ligt dat hier dus bij het globulineneerslag ook voor de hand. En vanuit dat gezichtspunt beschouwd zien we ook als mogelijke verklaring van het met den tijd toenemen der loogbinding een verder opensplitsen der globulinedeeltjes, dat dus tot vergrooting

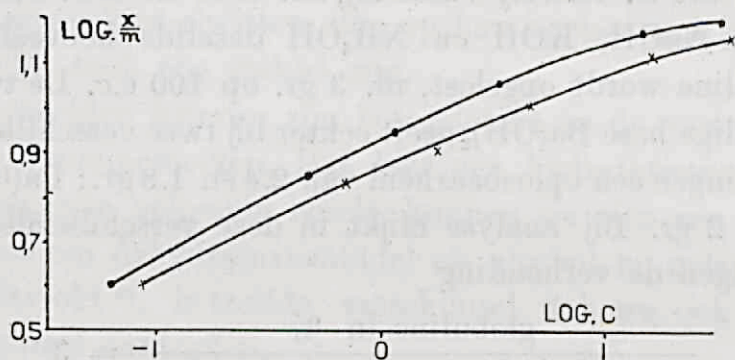


Fig. 1.

Verandering NaOH-binding aan globuline met den tijd.
 x Direct gemeten. • Na 14 à 29 uur gemeten.

van het oppervlak en daardoor van de binding, hetzij chemisch of meer physisch, voert. De gelogarithmeerde curven van de gebonden hoeveelheid (y as) en van het in oplossing achtergebleven gedeelte (x as), waarbij deze hoeveelheden in millimolen zijn uitgedrukt, geeft fig. 1 (zie tabel III harer publicatie).

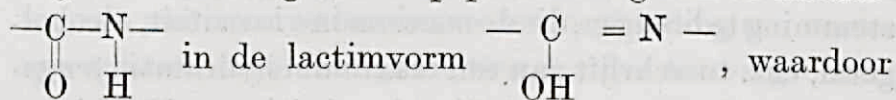
Voor een dergelijke opvatting pleit nog meer. Zij vindt nl. bij de bepaling der viscositeitscurve voor de verschil-

¹¹⁾ Zie FREUNDLICH en LEONHARDT. Koll. Beih. 7, 172 (1915).

lende loogconcentraties, zoo men deze vergelijkt met de curve voor het restgeleidingsvermogen (dat dan dus het geleidingsvermogen der eiwitdeeltjes voorstelt), als opvallend verschijnsel, dat de maxima in deze beide curven niet samenvallen. De viscositeitscurve heeft haar maximum nl. bij kleiner p_H dan het restgeleidingsvermogen. Nu is dit met de theorie van PAULI's school niet goed in overeenstemming te brengen, die de maxima in viscositeit, alcoholgetal, enz. toeschrijft aan een maximum hydratatie tengevolge van de toenemende lading der eiwit-ionen. Het hierop volgende dalen der curven zou aan een terugdringen der ionisatie te danken zijn. MONA ADOLF tracht nu het afwijkende van het verschijnsel hier als volgt te verklaren: het geleidingsvermogen der deeltjes alleen neemt eerst toe door grooter worden der lading bij constant blijven van het aantal (dit betreft dan het eerste deel van het stijgend stuk der restgeleidingsvermogencurve en het stijgend stuk der viscositeitscurve). Dan zou het hierop volgend dalen in de viscositeit, terwijl het geleidingsvermogen nog blijft toenemen, toe te schrijven zijn aan een reeds beginnende terugdringing der ionisatie (dalen der viscositeit), terwijl tevens de lading nog gedeeltelijk toeneemt en deze ionisatievermindering, wat het geleidingsvermogen betreft, overcompenseert. Bij haar opvatting der eiwitten als stoffen in ware oplossing valt het natuurlijk niet aan te nemen, dat er een proces van in kleinere eenheden uiteenvallen der eiwitdeeltjes zou plaats grijpen. Zij noemt dit wel even, maar verwerpt het als verklaringsmogelijkheid.

Met deze, door haar verworpen, voorstelling is echter,

behalve het reeds eerst genoemde toenemen der loogbinding en het hierboven aangehaalde, nog een ander verschijnsel in overeenstemming en wel dat van het met den tijd toenemen en vervolgens weer dalen van de viscositeit in loogmilieu. PAULI, die ditzelfde verschijnsel bij het caseïne opmerkte¹²⁾, geeft als verklaring een omzetting van de peptidbinding van de lactam-



de binding van loog mogelijk wordt. Behalve de viscositeitsverandering met den tijd was nl. ook bij caseïne een toenemende loogbinding met den tijd aangetoond.

Dat er dan door de vrijkomende bindingsmogelijkheden een met den tijd stijgen der loogbinding te constateeren zal zijn, zoowel als een toenemen der hydratatie (en dus der viscositeit) door de hoogere lading, is begrijpelijk. Maar waarom dan later een afnemen van deze hydratatie, waar de daling in viscositeit op zou wijzen? PAULI constateert het feit, maar weet er verder geen raad mee.

Stellen we ons de eiwitdeeltjes van het caseïne en het globuline echter als complexen van meer of minder eiwitmoleculen voor, dan is het geheel van uit één gezichtspunt te verklaren.

We zien in dat geval in het met den tijd eerst toe- en daarna afnemen der viscositeit, waarbij we ook nog moeten voegen het met den tijd toenemen der loogbinding, de volgende mogelijke verklaringswijze. De deeltjes worden eerst aan het oppervlak opgeladen, daarna dringt

¹²⁾ Kolloidchemie der Eiweisskörper. STEINKOPF. Dresden u. Leipzig 1920, pag. 89 e. vgl.

er loog in het inwendige door, die daar carboxylgroepen aantreft en ze door zoutvorming tot sterker geioniseerde groepen maakt, waarvan dan weer een ontstaan van hydratatie of een toenemen hiervan op die plaatsen het gevolg is. Dat brengt op deze punten een opengesplitst worden der deeltjes met zich mee, wat, zoolang de samenhang nog bewaard blijft, een zwellen ten gevolge heeft en daardoor een nog sterker toenemen der viscositeit. Vallen deze deelen echter uiteen in kleinere eenheden, dan vindt men een afnemen der viscositeit, daar de samenhangende deeltjes een grooter volume innemen tengevolge van ingesloten water, dat niet direct als hydratiewater kan worden opgevat, en dan ook vrijkomt bij het uiteenvallen¹³⁾.

We zien, dat dit ook een mogelijke verklaring aan de hand kan doen voor de verschillende p_H , waarbij de maxima van viscositeit resp. restgeleidingsvermogen van het globuline liggen. De viscositeit kan op deze wijze door een steeds sterker uiteenvallen der deeltjes wel degelijk al aan het verminderen zijn, terwijl het geleidingsvermogen (product van aantal en beweeglijkheid) toch nog blijft toenemen.

Bovendien zal door het kleiner volume der deeltjes t. o. v. de ladingseenheid, vergeleken met het sol met nog niet uiteengevallen deeltjes, die dus nog ingesloten water bevatten, ook de beweeglijkheid en daarmee het geleidingsvermogen nog toenemen. De daling van het geleidingsvermogen en het laatste stuk van de dalende curve van de viscositeit zal dan wel een gevolg zijn van een verminderde lading der deeltjes, wat door een terugdringen

¹³⁾ KRUYT en BUNGENBERG DE JONG loc. cit. pag. 53.

der ionisatie bewerkstelligd wordt, maar dan van de ionisatie der oppervlaktegroepen in de grenslaag der deeltjes.

Nu komen we tot de proeven, waarmee MONA ADOLF waarden tracht af te leiden 1°. voor het aequivalentgewicht, 2°. voor de beweeglijkheid en 3°. voor de waardigheid van hetgeen zij het „globulinaation” noemt. Het hiervoor noodige feitenmateriaal haalt zij uit de bepalingen van het geleidingsvermogen en de oplosbaarheid in 0.01 N loog.

Wat ten eerste het aequivalentgewicht betreft, komt zij, zooals wij reeds zagen, voor het globuline uit menschen serum exudaat tot een oplosbaarheid van 3 % globuline in 0.01 N loog, waarbij de eindreactie van dit mengsel bij $p_H \pm 7$ ligt.¹⁴⁾ Hieruit is dus een aequivalentgewicht van 3000 te halen.

Gaan we echter haar gegevens voor het paarden- en runderserum globuline¹⁵⁾ na, dan blijkt hier bij eenzelfde eind- p_H en eenzelfde eindnormaliteit der gebruikte loog een oplosbaarheid van 4 % globuline te bestaan. Wat deze twee globulinen betreft, zouden we dus tot het aequivalentgewicht 4000 komen, wat, gecombineerd met ongeveer dezelfde waardigheid (hierover later), tot een moleculairgewicht zou voeren 4000 hooger dan zij zelf bepaalt.

Nu haar resultaten over de beweeglijkheid.

Zij begint met de verschillen in aequivalentgeleidingsvermogen bij oneindige verdunning te vergelijken van de op dezelfde wijze bereide Na-, K- en NH_4 -globuline-zouten en vindt hierbij, dat deze kloppen met de verschillen in beweeglijkheid tusschen deze kationen, zooals zij

¹⁴⁾ loc. cit. Tabel I.

¹⁵⁾ loc. cit. tabellen XIV en XVI.

uit andere onderzoeken reeds bekend zijn. Het aandeel, dat het globuline tot het geleidingsvermogen bijdraagt, is bij al deze verbindingen dus hetzelfde. In deze speciale gevallen¹⁶⁾ komt zij, aannemend dat de beweeg-

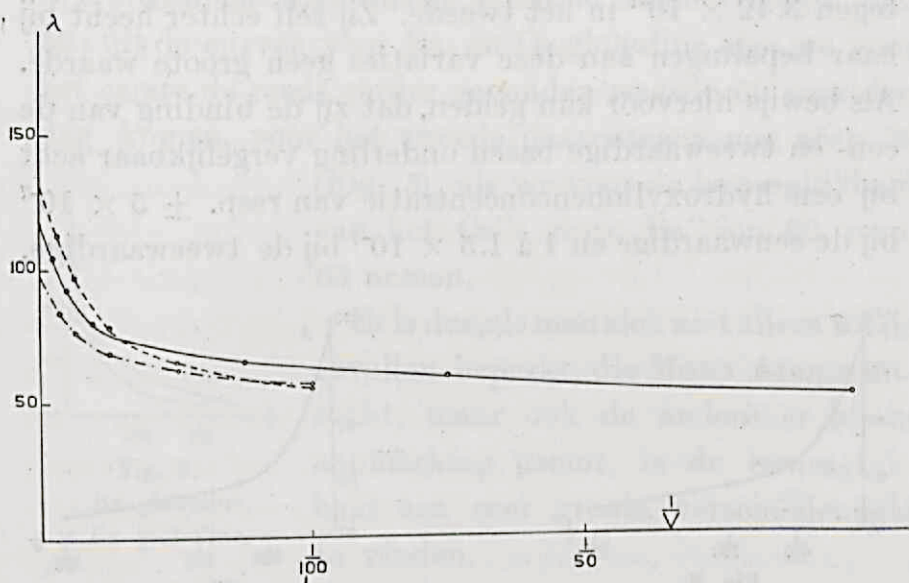


Fig. 2.

- | | | |
|-----------|-----------------------------|---------------------------|
| ————— | 9% globuline in 0.03 N NaOH | } (uit menscheijk serum). |
| ----- | 3% globuline in 0.01 N NaOH | |
| - · - · - | 3% globuline in 0.01 N NaOH | |

lijkheid van het Na-ion 50 is (temperatuur 25°), tot een beweeglijkheid van het globuline uit het exudaat van ± 50 . Vergelijken we hiermee haar eigen curven bij het boven aangehaalde 4 % globuline van paarden- en runder-serum, dan vinden we daar getallen van de grootte-orde van ruim 60 (Fig. 3 en 4), en, indien we het 3 % paarden-serumglobuline nemen, komen we zelfs tot een grootte van 85 (Fig. 2). (In deze figuren stelt λ als gewoonlijk

¹⁶⁾ loc. cit. tabellen IX tot en met XII.

het aequivalentgeleidingsvermogen en $\frac{1}{V}$ de verdunning voor.) Nu scheelt daar de C_{OH} in de oplossing bijna 6 eenheden in de grootte-orde 10^{-7} van de C_{OH} bij het 4 % paardenglobuline, nl. 9.25×10^{-7} in het eerste geval tegen 3.42×10^{-7} in het tweede. Zij zelf echter hecht bij haar bepalingen aan deze variaties geen groote waarde. Als bewijs hiervoor kan gelden, dat zij de binding van de een- en tweewaardige basen onderling vergelijkbaar acht bij een hydroxylionenconcentratie van resp. $\pm 5 \times 10^{-7}$ bij de eenwaardige en 1 à 1.5×10^{-7} bij de tweewaardige.

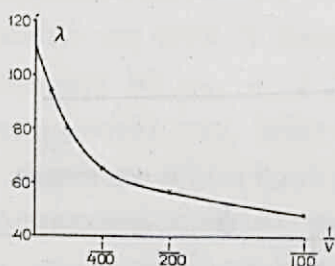


Fig. 3.

4% paardenserumglobuline.

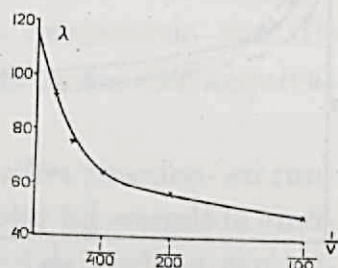


Fig. 4.

4% runderserumglobuline

Bovendien heeft de oplossing van globuline in NaOH, waarmee zij de waardigheid van het globuline gaat bepalen, een C_{OH} van 9.77×10^{-7} . Bepalen we van dit laatste 9 % globuline de λ_{∞} , dan komen we op een waarde van ± 115 , wat dan dus voor de beweeglijkheid van het globuline ± 65 geeft (Fig. 2). Afhankelijk dus van de voorgeschiedenis vinden we voor hetzelfde globulinepraeparaat een andere beweeglijkheid. Het globuline van 9 % heeft per eenheid globuline evenveel loog (de bruto eindconcentratie hiervan is nl. 0.03 N) als bij haar Na-, K- en NH_4 -globulinen van 3 % (eindconcentratie

loog 0.01 N, zie boven). Maar terwijl zij deze laatste maakte door schudden tot er niets meer oploste, werd de eerste bereid door eenigen tijd tot 45° op een waterbad te verwarmen „behufs vollständiger Sättigung”.

We kunnen niet alleen waarden vinden *hooger* dan 50: uit de curven voor Ba- en Ca-globuline zien we voor het eerste de reeds eerder gevonden waarde 50 voor den dag komen, voor het tweede daarentegen nog geen 30 (Fig. 5), als we voor de beweeglijkheid van het Ca^{++} - resp. Ba^{++} -ion 60, resp. 65 nemen.

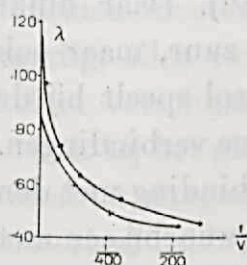


Fig. 5.

• Ba globuline.
× Ca globuline.

Er is dus, als men zich niet alleen tot de gevallen beperkt, die MONA ADOLF uitzocht, maar ook de andere er bij in aanmerking neemt, in de beweeglijkheid een zeer groote verscheidenheid te vinden.

De waardigheid wordt met den regel van OSTWALD bij het reeds eerder genoemde 9 % globuline bepaald door de bekende empirisch gevonden betrekking, dat $\lambda_{1024} - \lambda_{32} = 10 \times n$, waarbij n de gezochte waardigheid voorstelt. Bij het genoemde globuline krijgt zij hiervoor de waarde 4×10.1 , dus hieruit de waardigheid 4, wat, gecombineerd met het aequivalentgewicht 3000, een moleculairgewicht van 12000 geeft.

Haar waarden voor paarden- en runderglobuline geven echter, zooals we reeds zagen, een aequivalentgewicht van 4000. Dit blijkt ten duidelijkste uit haar getallen, maar zelf negeert zij dit. De waardigheid is hier ook 4, wat dan dus het moleculair gewicht 16000 oplevert.

Hieruit zou men dus, haar redeneering volgende, tot een verschil in aequivalentgewicht concludeeren tusschen menschelijk en dierlijk globuline. Deze conclusie trekt zijzelf echter allerminst, integendeel tracht zij met eenige oplosbaarheids- en geleidingsvermogenbepalingen juist de identiteit der globulinen van verschillende herkomst te bewijzen.

Over de inwerking van verschillende zuren op het globuline gaat een volgende publicatie¹⁷⁾. Daar blijkt o. a. dat niet alleen de sterkte van het zuur, maar ook de aard van het anion een zeer groote rol speelt bij de bepaling der eigenschappen van de ontstane verbindingen. Een analogon van het toenemen der loogbinding met den tijd vinden we bij de zuren HCl en H₂SO₄, waarbij een met den tijd toenemen der H⁺-ionenbinding blijkt te bestaan. Nu blijkt dit bij het HCl gepaard te gaan met een verandering der viscositeit met den tijd, welke dan ook door een maximum gaat. Bij het H₂SO₄ treedt echter in het geheel geen viscositeitsverandering op. Op grond hiervan besluit zij tot een andere bindingswijze van de meerdere gebonden H⁺-ionen. Want haar redeneering is, dat de peptidbinding hiervoor niet in aanmerking komt, aangezien dan de zoo ontstane ionen met hun hooge hydratatie een sterken invloed op de viscositeit moesten uitoefenen. Bij het HCl is dat wel het geval, bij het H₂SO₄ niet: dan moet er dus een andere soort binding, b.v. een moleculaire, in het spel zijn. Bij de loogverbindingen had zij dan echter ook moeten nagaan of er een derge-

¹⁷⁾ M. ADOLF. Koll. Beih. **18**, 223 (1923).

lijke viscositeitsverandering bij de tweewaardige basen als bij de eenwaardige optreedt.

Zij heeft dit niet gedaan; het is echter in het geheel niet uitgesloten (zelfs zeer waarschijnlijk), dat daar de kationen een dergelijken invloed zouden blijken te hebben bij het negatief geladen sol, als hier de anionen bij het positieve. En zij zou dan wellicht ook daar, op grond van dit verschil tusschen een- en meerwaardige basen, tot de conclusie moeten komen, dat men hier niet men een eenvoudig, alles verklarend chemisme, maar met ingewikkelder verschijnselen te doen heeft.

Ook bij het globuline is de invloed der zouten het interessantst, aangezien we daarbij het beste beoordeelingsmateriaal hebben ter beantwoording van de vraag, of wij met een systeem in ware oplossing, dan wel met een van kolloidchemische dimensies te doen hebben. De eerste mededeeling hierover betreft verbindingen met alkalizouten¹⁸⁾. Zooals al eerder bij de loogverbindingen van globuline medegedeeld is, kon zij het door electro dialyse gezuiverde eiwit niet tot dezelfde concentratie in oplossing brengen, als het in het menscheijk serum aanwezig is, wanneer het alleen geschud werd met een KCl-oplossing van dezelfde concentratie, als isotonisch is met de serumoplossing. En, zooals ook reeds vroeger werd gememoreerd, vergelijkt zij deze vermindering in oplosbaarheid met die, welke optreedt bij de neerslagen van anorganische solen, speciaal de hydroxydsolen. Die is afhankelijk van den tijd, gedurende welken deze in neerslagvorm hebben verkeerd

¹⁸⁾ M. ADOLF. Koll. Beih. **18**, 275 (1923).

en van de intensiteit, waarmede zij met zuiver water zijn gewasschen.

Deze hydroxyden zijn dan met verdunde zuren zeer moeilijk weer te peptiseeren, maar herkrijgen hun gemakkelijke peptiseerbaarheid door behandeling met sterke zuren. Want uit de zoo ontstane metaalzouten is dan door neerslaan weer een makkelijk peptiseerbaar hydroxyd te krijgen. Naar analogie hiermede werd eerst een globuline-oplossing in loog bereid en deze daarna met de berekende hoeveelheid zuur geneutraliseerd. Hierbij bleek er een bepaalde minimum-concentratie zout noodig te zijn voor het in oplossing houden van het globuline. Van te voren werd dus zooveel zout toegevoegd aan het loogmengsel, dat na neutralisatie deze concentratie aanwezig was. Zoo was het mogelijk globuline-oplossingen te maken, nog geconcentreerder dan het serum ze bevatte.

Maar waarom dan niet uit deze gegevens de logische consequentie getrokken en het globuline verklaard tot een kolloid in oplossing te brengen stof, waarvan de deeltjes-grootte, en dus de meerder of minder gemakkelijke peptisatie van de voorgeschiedenis afhangt?

In verband hiermee moeten we ook wijzen op onderzoeken van FODOR¹⁹⁾, die een eiwit uit de hop en het fibrine onderzocht op hun vermogen om na sterke droging in oplossing te gaan. Het bleek, dat sterk gedroogd eiwit niet met *verdunde* loog of zuur te peptiseeren was, daarentegen wel met *sterke* loog. Werd deze oplossing met zuur uitgevlokt en het neerslag uitgewasschen met water, dan bezaten de zoo gezuiverde vlokken nu wel de eigenschap

¹⁹⁾ Koll.Z. **27**, 58 (1920) en **30**, 313 (1922).

om in verdund zuur of alkali makkelijk peptiseerbaar te zijn. Waren ze echter eerst weer met alcohol gewasschen en sterk gedroogd (3 weken in een exsiccator), dan was dit product weer alleen in sterke loog peptiseerbaar. Dit proces nu kon, zonder verandering van het eiwit, zoo dikwijls herhaald worden als men wilde. Hierop grondt FODOR, als een van de voornaamste argumenten, zijn opvatting van de eiwitten als stoffen van verschillende dispersiteitsgraad in waterige oplossing, al naarmate der voorbehandeling.

Ook een onderzoek van GORTNER, HOFFMAN en SINCLAIR²⁰⁾ over de oplosbaarheid van de globulinefractie uit het meel, bij gebruikmaken van verschillende zoutoplossingen, moet hier in dit verband even besproken worden. Uit de gegevens daar kan men zien, dat vooral het anion bij deze oplosbaarheidsbeïnvloeding een zeer groote rol speelt, zoodat men, afhankelijk van de zouten, die men neemt, verschillende hoeveelheden eiwit uit het meel kan extraheeren.

Nog een tweede belangrijk verschijnsel doet zich voor. Peptiseeren zij met KCl, dan verkrijgen zij een minder geconcentreerde oplossing dan met KBr. Wordt nu echter dit laatste met KBr gepeptiseerde deel gedialyseerd, waarbij het na verwijdering van het zout neerslaat, dan is dit zoo gezuiverde eiwit *wel* in zijn geheel met KCl te peptiseeren, waarbij dus nu ook die fractie blijkbaar mee in oplossing gaat, die vóór de behandeling met KBr hier niet toe te krijgen was. Ook

²⁰⁾ Koll.Z. 44, 97 (1928).

hier dus een afhankelijkheid van het ontstane sol van zijn voorgeschiedenis.

Om terug te komen op het onderzoek van MONA ADOLF: met het op deze wijze met zout gepeptiseerde sol deed zij kataphoreseproeven, waarbij zij voor het KCl-globuline complex een positieve lading vond. FODOR, die een gedialyseerd globuline sol kataphoretiseerde, en eveneens een met NaCl gepeptiseerd sol, vond bij deze beide een negatieve lading; bij het met NaCl gepeptiseerde sol viel echter ook een geringe verschuiving naar de kathode te constateeren. Bij het gedialyseerde globuline had hij echter met een uitvlokkend, dus niet meer stabiel systeem te doen. Misschien is dit verschil tusschen de twee onderzoekers te verklaren uit de verschillende voorbehandeling van hun globuline. MONA ADOLF bereidt dit door direct het serum te dialyseeren, terwijl FODOR het door uitzouten met ammoniumsulfaat en hierop volgende dialyse zuivert. Nu zijn echter de laatste sporen van een electrolyt zeer moeilijk te verwijderen. Dat ze niet heelemaal weggedialyseerd waren, daarvoor is misschien een aanwijzing, dat het globuline weliswaar reeds uitvlokke, maar dus toch nog, althans voor een gedeelte, in oplossing was. Het dan nog aanwezige SO_4^{--} -ion echter heeft een negatief opladende werking, zooals ook bij proeven van MONA ADOLF bleek. Deze bepaalde nl. ook de kataphorese in een met Na_2SO_4 gepeptiseerd globuline sol en vond daarbij ook een gedeeltelijken gang naar de anode, al overwoog wel de beweging naar de kathode.

Viscositeitsmetingen aan globulinesolen met verschil-

lende zouten gaven geen erg goed beeld van hetgeen er zich afspeelde, daar zij van drie verschillende zouten slechts één concentratie van ieder mat. Om op grond daarvan te durven zeggen, dat er geen invloed van het anion te constateeren valt, zooals zij doet, is wel wat erg boud, vooral waar het sol met het eene tweewaardige ion (SO_4'') een grooter viscositeitstoename vertoonde dan die met de beide eenwaardige (Cl' en acetaat').

Aan de hand van den verschillenden invloed, dien een toevoeging van zout bij een zout-, resp. alkali- of zuur-globulineverbinding heeft, concludeert M. ADOLF tot een principieel verschillend bindingsmechanisme in zuur- of loogmilieu, vergeleken met dat in zoutmilieu.

Bij de zouttoevoeging in zuur- of alkaliglobulineoplossing daalt de viscositeit veel sterker dan in een zoutglobulineoplossing. Nu is echter b.v. in een zure eiwitoplossing het eiwit zeer sterk positief opgeladen. Toevoegen van een zout, waarvan het kation niet door zijn hogere lading sterk opladend kan werken, zal tengevolge hebben, dat het anion nu zijn ontladende werking kan uitoefenen en, daar het door het sterk positief geladen eiwit krachtig geadsorbeerd wordt, dat de ontladende werking ook sterk zal zijn. Bij toevoeging van zuur zou in zoo'n geval de ontladende werking van het anion nog belangrijk door het H^+ -ion, dat ook nog geadsorbeerd of gebonden wordt, worden tegengewerkt. Hebben we met toevoeging van zout aan een zout-eiwitsysteem te doen, dan zullen hier, waar het eiwit lang zoo sterk niet opgeladen is, de effecten ook quantitatief zeer verschillen.

Bovendien hangt het er in al deze gevallen ook nog van

af, op welk deel der bindingscurve men zich bevindt, wat de invloed van toevoeging van meer electrolyt zal zijn.

Een voorstelling van de wijze, waarop het zout aan het globuline gebonden zit, leidt de schrijfster af uit de p_H verandering, die er bij verdunning van een zout-globuline-oplossing optreedt. Zij vindt hierbij een verschuiving in de p_H naar kleiner waarden, dus een zuurder worden der oplossing. Dit zou dan een gevolg zijn van een zich instellend hydrolyse-evenwicht.

Gaan we echter alle gegevens in dit stuk na, en niet alleen de tabel, waarop zij haar conclusie bouwt, dan blijkt de keus ook hier weer vrij willekeurig te zijn.

De waarden der p_H voor KCl-globuline zijn dan als volgt (de cijfers der tabellen zijn die uit haar publicatie):

Conc. KCl	Eiwit %	$C_H \times 10^{-6}$
	<i>Tabel 1.</i>	
0.1	1.5	7.2
	<i>Tabel 3.</i>	
0.1	0.7	5.26
	<i>Tabel 4.</i>	
0.1045	2.3	5.14
	<i>Tabel 8.</i>	
0.1	2.8	5.76
0.05	1.4	7.79
0.025	0.7	9.39
	<i>Tabel 12.</i>	
0.2	1.8	5.26
0.1	0.7	4.75
0.6	0.9	5.97

Haar redeneering baseert zij op tabel 8, die voor een globulinezoutoplossing de verandering in p_H bij verdunning met water aangeeft.

Gaan we ook even van deze praemisse uit maar beschouwen we bovendien de andere in bovenstaande tabellen weergegeven waarden.

De waarde van tabel 4 met de eerste van tabel 8 vergelijkende zouden we kunnen zeggen, dat de eerste een lager C_H heeft dan de laatste, omdat de ionisatie (en dus de hydrolyse) van de eiwitverbinding daarin, door de naar verhouding hooger zoutconcentratie, is teruggedrongen. Evenzoo zou de tweede waarde uit tabel 12 nog lager C_H hebben, aangezien daar de verhouding zoutglobuline nog sterker naar den kant van het zout verschoven is.

Vergelijken we echter de waarde van tabel 3 met die van tabel 4, dan zien we een ongeveer even zure reactie (eigenlijk iets zuurder, maar dat zou men aan de proef-fout kunnen toeschrijven) bij *minder* eiwit en *zelfde* zoutconcentratie; de laatste waarde van tabel 12 geeft een duidelijk sterker zure reactie bij hooger zoutconcentratie en minder eiwit, dan de eerste van tabel 8; bij een vergelijking van de waarde van tabel 1 met b.v. de waarde van tabel 4 of de eerste van tabel 8, is dit verschil nog sterker bij gelijke zoutconcentratie en kleiner eiwitgehalte. Ook hier kunnen we dus genoeg waarden uit haar eigen bepalingen aanhalen, die niet met haar theorie kloppen.

Zou niet een eenvoudige oplossing der moeilijkheid gelegen zijn in het feit, dat bij verdunning met gedestilleerd water, dat door opgelost koolzuur een p_H van ± 5 heeft, de reactie van het mengsel verschuift naar

den kant van het verdunningsmiddel, wat hier wil zeggen naar lager p_H ? De heele gewrongen theorie der hydrolyse van zoutverbindingen (en wel bij een zout als KCl uit een sterk zuur en een sterke base) wordt dan overbodig.

Niet alleen de invloed van een- en tweewaardige ionen, ook die van van driewaardige, is door MONA ADOLF bestudeerd ²¹⁾ en wel van het $AlCl_3$ en van het Na-citraat.

Hierbij komt zij met haar chemische verklaringswijze erg in het gedrang. $AlCl_3$ blijkt b.v. een nog sterker oplossend vermogen te hebben t. o. v. globuline dan HCl van dezelfde concentratie. Vergeleken met globuline-oplossingen der alkalichloriden zijn de oplossingen met deze meerwaardige ionen ook veel helderder (sterker gedispergeerd, maar dat mag M. ADOLF natuurlijk niet zeggen) en veel stabiel, daar zij bij verdunning *niet* uitvlokken, wat de oplossingen der alkalichloriden wel doen. Ook dit laatste is bij oppervlakteverschijnsels te verwachten, aangezien de laatstgenoemde solen, bij gelijke hoeveelheid geadsorbeerd zout, slechts een derde deel der lading van de eerstgenoemde kunnen bezitten. Wat de lading betreft, deze is voor de globuline- $AlCl_3$ -verbinding sterk positief en voor de Na-citraatverbinding overwegend negatief, hetgeen zoowel kataphoretisch (wat het teeken betreft) als viscosimetrish (wat de mate van oplading en dus van hydratatie aangaat) aangetoond werd.

Ook vindt zij hierbij, zoowel voor $AlCl_3$ als voor Na-citraat, volgens de methode van het geleidingsvermogen een toenemen der binding met den tijd, hetzelfde wat dus zoowel voor zuur- als voor loog-globuline gevonden was. Zij

²¹⁾ Koll. Chem. Beih. **20**, 138 (1925).

komt zeer logisch tot de conclusie, dat er hier dus een analoge reden voor moet zijn als bij die andere verbindingen.

In de publicatie over het zuur-globuline heeft zij echter reeds betoogd, dat hier geen verandering in de peptidbinding als verklaring kon dienen, zooals zij wel op zoo gewrongen wijze bij de loog-globuline-systemen aannam. Wat dan bij die zuurbinding wel de oorzaak was, liet zij, zooals we zagen, in het midden. Ook hier wacht zij zich er wel voor, bij deze verbindingen met meerwaardige ionen, een verklaring van de wijze te geven, waarop het bindingsmechanisme er uit zou zien. Wel voert zij als gronden voor een *chemische* opvatting aan: 1°. dat de hoeveelheden AlCl_3 en Na-citraat, noodig om een bepaalde hoeveelheid globuline op te lossen, ongeveer het tiende deel bedragen van wat er aan chloriden der alkalimetalen in die omstandigheden noodig is en zoowat evenveel als van zuur of loog en 2°. de vermindering van het geleidingsvermogen. Zij moet, zoodra zij een binding constateert, deze wel chemisch verklaren, omdat er in haar gedachtengang van geen oppervlaktereacties in deze systemen sprake kan zijn.

Zoodra men deze echter wel aanneemt, laat alles zich veel ongedwongener verklaren en voegen zich ook de met de andere theorie niet te verklaren verschijnselen ongedwongen in het geheel. Ook b.v. het toenemen der binding met den tijd is op een analoge wijze als bij loog- en zuurglobuline te verklaren. (vgl. pag. 12).

In aansluiting aan de z.g.n. hydrolyse der globuline-verbindingen met alkalichloriden, vindt zij bij verdunning van het AlCl_3 -globuline een verschuiving der p_H

naar *hooger* waarden. Hier ligt de beginwaarde in de buurt van $p_H = 4$, zoodat we, evenals al eerder betoogd werd, met een verschuiving dezer waarden naar den kant van die van het verdunningsmiddel te doen hebben. Zij nam daar, bij de oplossingen in alkalichloriden, een op deze z.g.n. hydrolyse gesteunde speciale binding aan. Nu het verschijnsel hier zijn normale te verwachten aspect vertoont, moet zij dus wel tot een andere bindingswijze dan bij de zouten met *een*waardig kat- en anion besluiten.

Bij een bijeenbrengen van de in $AlCl_3$ en de in Na-citraat stabiele eiwitoplossingen verschijnt een zwaar praecipitaat, zooals we ook zouden verwachten, indien we door meerwaardige ionen opgeladen solen hebben van tegengesteld teeken en wij deze samenbrengen.

Het eenige, wat M. ADOLF in dit geval kan zeggen, is, dat blijkbaar het Al-citraat een even weinig oplossend vermogen heeft als de zouten der alkalichloriden (er blijft nl. nog wel een *gedeelte* in oplossing).

Ook de vlokkingsproeven met HCl en NaOH geven de bij dergelijke solen te verwachten verschijnselen: het citraat-sol (negatief) slaat neer met HCl, daarentegen niet met NaOH; het $AlCl_3$ -sol (positief) slaat niet neer met HCl. De reeks met NaOH kon hier niet doorgezet worden (tenminste niet boven ± 3 m. mol), aangezien $AlCl_3$ zelf met NaOH reeds een neerslag geeft.

Zooals we vooral bij de zoutverbindingen, maar ook reeds bij de zuur- en loogverbindingen uit deze reeks publicaties over het globuline zien, komt men bij een zuiver chemische beschouwingswijze, die hier alleen ware oplossingen wenscht te zien, tot allerlei gewrongen ver-

klaringen, dikwijls tot niet weg te praten tegenstrijdigheden, en ook — vooral wanneer er geen specifiek met carboxyl- of aminogroepen reageerende hydroxyl- of waterstof-ionen zijn — tot een bekentenis van onvermogen om een bevredigende verklaring te geven.

Deze bovengenoemde onderzoekingen hielden zich bezig met een minder lyophiel eiwit, d.w.z. een eiwit, dat, bij zijn isoelectrisch punt gebracht, in zuiveren toestand niet in oplossing is te houden. Wel kan het dan gepeptiseerd worden met electrolyt, maar daarmee is het ook in geladen toestand gebracht, dus niet meer isoelectrisch.

Ook eiwitten van het hydrophiele type zijn door PAULI en zijn leerlingen bestudeerd en wel voornamelijk het albumine en het gelatine. MANABE en MATULA²²⁾ onderzochten de binding van H'- en Cl'-ionen potentiometrisch aan runderserum, runderalbumine en gelatine.

Bij runderserum met een eindconcentratie van 1.61 % vinden de schrijvers in de lage concentraties een sterker binding van H' vergeleken met die van Cl', die dan bij hooger concentraties hoe langer hoe minder gaan verschillen, om bij ± 50 m. mol HCl (bruto eindconcentratie) vrijwel gelijk te worden. Hiervan wordt dan ook een mooie curve geteekend.

Maar iets verderop in deze publicatie vindt men bij dezelfde serumconcentratie en dezelfde bruto-eindconcentraties aan HCl, dat, terwijl de potentiometrisch gebonden Cl'-ionen dezelfde waarde toonen, de hoeveelheid gebonden H'-ionen bij 20 m. mol, in plaats van 15.9 m. mol, 16.7 geworden is; bij 50 m. mol is i. pl. van 15.8 m. mol de

²²⁾ Biochem. Z. 52, 369 (1913).

waarde 24 m. mol bereikt (Fig. 6). De proeffout is ± 2 m. volt en de verschillen bedragen hier 6, resp. 7 m. volt tusschen de beide metingsreeksen.

Bij een verdundere serumoplossing (0.8 %) komt er zelfs bij 40 m. mol een sterkere binding van de Cl'- dan

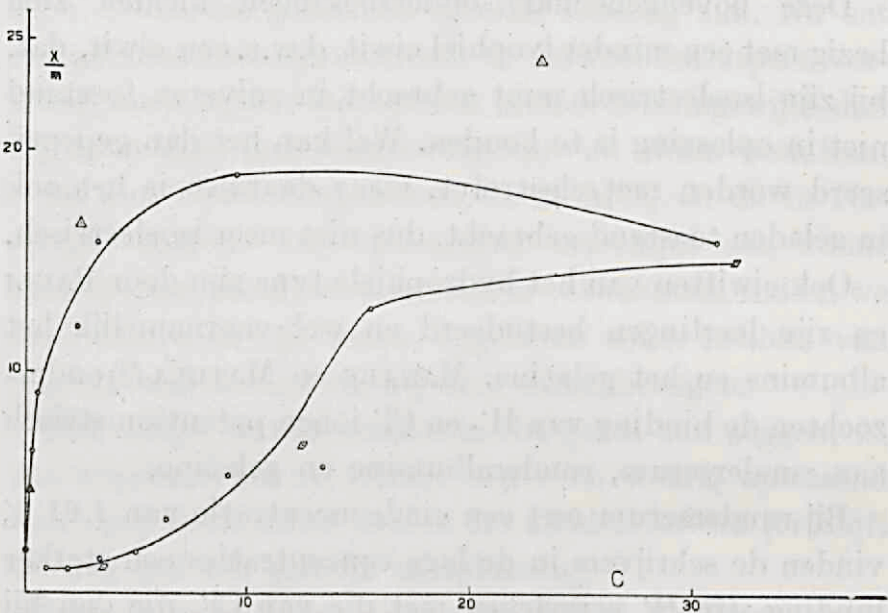


Fig. 6.

Bovenste curve: H⁺-ionen binding } aan 1.61% runderserum.
 Benedenste curve: Cl⁻-ionen binding }
 Δ 2e proevenreeks voor H⁺-ionen binding } aan 1.61% runderserum.
 □ 2e „ „ Cl⁻-ionen binding }
 $\frac{x}{m}$: gebonden hoeveelheid; C: evenwichtsc. in vloeistof (beide in millimolen).

van de H⁺-ionen voor den dag, terwijl bij 50 m. mol de Cl⁻-ionen weer verminderd zijn wat hun binding betreft, en dat niet alleen procentueel, maar absoluut.

Op hun curve, die bij 50 m. mol een evengroote binding der H⁺- en der Cl⁻-ionen vertoont, bouwen zij een heele theorie over de eiwitonen en hun dissociatie. Deze laatste

grootheid zou in de kleinere concentraties belangrijk zijn, om dan af te nemen en bij 50 m. mol vrijwel 0 te worden.

Maar dan zouden we bij de tweede proevenreeks in dezen gedachtengang bij hetzelfde serum bij 50 m. mol nog een zeer groote dissociatie hebben en bij het serum van 0.8 % bij 40 m. mol zelfs een terugdringen der dissociatie van over de 100 %. Hetzelfde serum zou dus bij dezelfde HCl-concentratie de eene keer meer geïoniseerd zijn dan de andere, wat toch wel een beetje vreemd lijkt.

Het verschijnsel, dat we al eerder bij de onderzoekingen van MONA ADOLF tegenkwamen, van een variatie der binding met den tijd, komen we hier bij het serum weer tegen. Hier echter is het het Cl'-ion, dat met den tijd een afnemende binding blijkt te ondergaan. Metingen over de viscositeit en over een mogelijk dergelijk effect bij de H'-ionen, zijn niet gedaan, zoodat hierover op zichzelf weinig te zeggen valt.

Van het albumine met HCl werd slechts één proevenreeks gedaan, zoodat hier geen vergelijking als contrôle met andere metingen mogelijk is.

Gelatine met HCl geeft een, van serum en albumine met hetzelfde zuur, zeer verschillend beeld. De binding der H'-ionen neemt met de concentratie toe, evenals bij de beide andere voorbeelden, om een bepaalde verzadigingswaarde te bereiken; de Cl'-ionen daarentegen worden in *kleine* concentraties iets gebonden, in de *hoogere* in het geheel niet. Houdt men rekening met de proeffouten, dan kan men veilig zeggen, dat MANABE en MATULA ook in de lagere concentraties geen binding voor de Cl'-ionen hebben aangetoond. Bij 3 en 5 m. mol is er een verschil in E.M.K.

tusschen de proeven met en zonder gelatine van 6 m. volt. Maar dit is blijkbaar hier de grootte van de proeffout, immers, waar bij 5 m. mol deze afwijking naar de goede richting ligt, zoodat we minder Cl-ionen in de gelatine-oplossing vinden dan bij de blancoproef zonder gelatine, ligt deze bij 3 m. mol naar den verkeerden kant, wat dus op meer Cl'-ionen in oplossing, m. a. w. op een negatieve binding zou wijzen. In dit laatste geval besluiten zij wijselijk tot de binding 0.

Vanuit hun standpunt geredeneerd zou dus het gelatinechloride steeds totaal geïoniseerd zijn. Vroegere onderzoeken van PAULI en FALEK²³⁾ over de viscositeit van het gelatinechloride toonden aan, dat deze door een maximum ging, op grond waarvan zij tot een ionisatierugdringing bij dit systeem besloten. Maar op grond van de hier genoemde proeven komen MANABE en MATULA tot de conclusie, dat het hier geen terugdringen der ionisatie, maar een afbreken van het molecuul van het zoo zuur-gevoelige gelatine geldt.

De enkele bepalingen aan het systeem KCl-eiwit in deze publicatie geven ook niet veel vertrouwen in de waarde, die we aan de reproduceerbaarheid der resultaten mogen hechten. De blancoproeven alleen al van de verschillende series geven onderling een verschil van 7 à 10 m. volt te zien. Dit zijn echter nog slechts orienteerende onderzoeken. Hierop gaat het nu volgende onderzoek van ORYNG en PAULI²⁴⁾ verder in. Evenals bij de onderzoeken van MANABE en MATULA

²³⁾ Biochem. Z. **47** (1912).

²⁴⁾ Biochem. Z. **70**, 368 (1915).

wordt hier bij de onderzoeken over de Cl' -ionen binding in de „Neutralsalzeiweisverbindungen” de calomelelectrode gebruikt. Teneinde na te gaan hoe de invloed van de eiwitten zelf op het calomel was, werden naast metingen aan zuiver gedestilleerd water tegen calomel ook metingen aan zuivere eiwitten hiertegen gedaan. Daarbij kwam voor den dag, dat de waarden met gedestilleerd water eerst na ± 24 uur constant werden en dan, tegen de 1 N calomelelectrode gemeten, de E.M.K. 231 m. volt gaven. D.w.z. deze eindwaarde werd meestal bereikt, maar niet altijd. Hierover later meer.

Maten zij nu het zuivere runderserum, dan bleek, dat geen constante eindwaarde bereikt werd, maar een die schommelde tusschen 183 en 192 m. volt, waarvan dan het gemiddelde werd genomen.

Bekijken we deze twee waarden, nl. die voor zuiver water en die voor serum, dan zouden we hieruit concludeeren, dat het serum een hooger Cl' -ionen gehalte dan het gedestilleerde water heeft. Volgens hen is dit onwaarschijnlijk, aangezien zij hun eiwit zoo goed gezuiverd hadden. Nu is dit wel aan te nemen, maar beter ware geweest, dat zij ook eens analyses gedaan hadden, waarbij werd aangetoond, dat ook kwalitatief geen Cl' -ionen te vinden waren. Indien we hen hier dus op hun woord gelooven, dan is er nog een tweede mogelijkheid voor dit verschil in E. M. K. en wel, dat er Hg' -ionen weggenomen zijn.

Zij bespreken de mogelijkheid hiervan en voeren nog andere redenen aan, die hiervoor pleiten. In de eerste plaats pleit ervoor, dat, wanneer zij aan hun serum H_2SO_4 toevoegden, het verschil in E. M. K., zooals het eerst

zich vertoonde, van teeken veranderde en zij dus een waarde vonden hooger dan die van gedestilleerd water en wel van 269 m. volt. Dit zou wijzen op een binding van Cl' -ionen, terwijl tegelijkertijd het Hg' -ion van het eiwit was verdrongen.

Is alles zoo, zooals het hier wordt voorgesteld, dan moeten we ons toch afvragen of men nog iets definitiefs kan zeggen over de Cl' binding, zoodra er nu nog chloriden, andere dan het calomel, aan het eiwit worden toegevoegd. Immers, om nog niet eens te spreken van de zeer schommelende waarden der E. M. K. voor de calomel-eiwitcombinatie, weten we in het geheel niet zeker hoeveel Hg' -ionen van het eiwit worden verdrongen door het H_2SO_4 en hoeveel Cl' wordt gebonden. Gaat men van KCl nu met deze methode de gebonden Cl' -ionen berekenen, dan moet men in het oog houden, dat niet zonder meer mag worden aangenomen, dat de hoeveelheid gebonden Hg' -ionen steeds gelijk blijft, onafhankelijk van de KCl -concentratie. Immers proeven met NaNO_3 hebben bewezen, dat er wel degelijk een verdringing van de Hg' -ionen uit het eiwit plaats vindt en dat zal dus ook bij het KCl gebeuren.

Voor al is dit van zoo groot belang, omdat de verschillen tusschen hun blanco-proeven met KCl en de proeven met $\text{KCl} + \text{eiwit}$ binnen de proeffouten liggen.

Beschouwen we den invloed, dien zoowel H_2SO_4 als NaNO_3 op de binding van Hg' -ionen aan het eiwit hebben, dan komen we tot de conclusie, dat hier toch blijkbaar kwalitatief hetzelfde aan de hand is, al moge er dan ook kwantitatief een groot verschil zijn.

Zoowel het mercurio- als het natrium- en waterstofion zijn blijkbaar in staat elkaar van de plaats, waar ze gebonden zitten, te verdringen, m. a. w. de binding maakt sterk den indruk in al deze drie gevallen op analoge wijze te geschieden.

Wat de eindwaarden betreft, die zij voor de calomel-electrode tegen zuiver water vinden, deze zijn ook niet van alle smetten vrij. In de meeste gevallen bereiken deze wel de waarde 231 m. volt, maar ook waarden van 222 en 219 m. volt komen voor. Deze laatste waarde gebruiken zij om aan te toonen, dat glycol, waarvan zij met KCl ook een adsorptiecurve beweren te vinden, „niet merklich mit Kalomel reageert”, aangezien de waarde glycol tegen calomel 203 m. volt is. Evenals bij de eiwitten moet op de waarden, die zij voor glycol beweren te vinden en de daaruit geconstrueerde curve de kritiek geöfend worden, dat het niet verantwoord is deze zoo af te leiden en hierop conclusies te bouwen, daar we veel te weinig weten van hetgeen zich afspeelt. Een binding glycol + zout is allerm minst onmogelijk, waar het bekend is, dat verschillende aminozuren met zouten dubbelzouten geven. Maar quantitatief over de wijze van binding te besluiten is op grond van deze metingen ontoelaatbaar.

Een lapsus moeten we ook nog even memoreeren, daar waar PAULI op grond van de hoeveelheid gebonden Hg^+ ionen tot een schatting van het moleculairgewicht van het eiwit in het serum komt. Hij berekent, dat het equivalentgewicht van het eiwit in quaestie (grootendeels albumine, daar het zeer grondig gedialyseerd was) 35000 moet zijn, d. w. z. dat op 1 gr. atoom Hg^+ 35000 gram

eiwit komt, daar een oplossing van 1.27 % eiwit 3.6×10^{-4} gr. aeq. Hg⁺ bindt. Volgens dezelfde redeneering komt men (PAULI zelf deed dit niet) uit zijn getallen voor hetgeen albumine en gelatine aan Hg⁺-ionen wegnemen (2.7×10^{-4} gr. aeq. op 1.2 % albumine en 3.7×10^{-4} gr. aeq. op 2.15 % gelatine) tot een equivalentgewicht voor albumine van 44000 en voor gelatine van 58000.

PAULI heeft tegen het mol. gewicht van het serum het bezwaar, dat het te hoog zou zijn.

Hier moeten we opmerken, dat daaraan dan alleen te ontkomen zou zijn, door op één atoom Hg *meerdere* moleculen *eiwit* aan te nemen; maar hij komt tot de conclusie, dat de oplossing te vinden is door *meerdere* Hg⁺-ionen op één eiwitmolecuul aan te nemen.

Hij heeft zich dus blijkbaar niet gerealiseerd, dat we dan juist nog hogere moleculairgewichten krijgen.

Over de verbindingen van zware metalen en de hierbij optredende onregelmatige reeksen bestaat een onderzoek van PAULI en FLECKER²⁵⁾ en wel aan het albumine met verschillende zouten, waarbij dat met het FeCl₃ het uitvoerigst gedaan is.

Hierbij zijn zoowel vlokkingsproeven als viscositeitsmetingen en kataphoresebepalingen verricht. In de laagste concentraties FeCl₃ treedt vlokking op, dan volgt een zône van oplossen en daarna weer een van vlokking, die irreversibel is. Wat de viscositeit betreft, die natuurlijk alleen in het niet-vlokkingsgebied bestudeerd kon worden, bleek deze hier door een maximum te gaan, evenals de kataphoretisch vastgestelde positieve lading. PAULI'S

²⁵⁾ Biochem.Z. 41, 461 (1912).

voorstelling is, dat in de laagste concentraties hydrolytisch gevormd $\text{Fe}(\text{OH})_3$ zich tot een onoplosbaar zout verbindt met het eiwit; vervolgens zou er in hooger concentraties een complexvorming met het Fe^{+++} -ion optreden, dat een oplosbare verbinding zou doen ontstaan, welke vervolgens in overmaat FeCl_3 door het terugdringen der ionisatie een afnemen der viscositeit en kataphorese zou tengevolge hebben.

Nu zijn echter dergelijke gevallen van onregelmatige reeksen veel meer bekend en ook aan anorganische kolloïden. Wat het ontladings- en omladingsvermogen van FeCl_3 betreft, dit is aan het Ptsol bestudeerd door BUXTON en TEAGUE²⁶⁾ en in dit geval is niet goed in te zien hoe een inwendige zoutvorming met het Pt deeltje de verklaringsmogelijkheid zou leveren van de eerste vlokkingzone. Bovendien, als PAULI deze verklaring voor de FeCl_3 werking geven wil, moet hij consequent blijven en dit ook op het UO_2Cl_2 , op de Cu-zouten en de andere onderzochte electrolyten toepassen. En van alle kan gezegd worden dat hun hydrolyse, zooal aanwezig, uiterst klein is en bij lange na niet het hoge bedrag vertoont der Fe^{+++} -zouten, op het uranylzout na, dat een hydrolysegraad heeft tusschen het Fe^{+++} -zout en de andere in. Ieder mag natuurlijk een bij de anorganische (lyophobic zoowel als lyophile) kolloïden bekend verschijnsel, zoodra het zich bij eiwitten voordoet, op allerlei andere wijzen trachten te verklaren dan als een oppervlakteverschijnsel, zooals bij de eerstgenoemde klasse systemen het geval bleek te zijn. Maar eenvoudiger

²⁶⁾ Z.f. physik. Chem. **57**, 72 en 79 (1904).

wordt de voorstelling er niet op, wel gewrongener.

Niet alleen blijkt hier echter de ontladende en opladende werking der meerwaardige kationen, maar evenzeer, in de beide gevallen, waar een kation met verschillendwaardig anion gecombineerd werd, de groote invloed van dit laatste. Zoo strekt zich het eerste vlokkingengebied van CuSO_4 tot veel hogere concentraties uit dan dat van het CuCl_2 (tot 250 resp. 5 m. mol), hetgeen te begrijpen is, daar het SO_4^{--} -ion de positieve oplading veel sterker tegenwerkt dan het eenwaardige Cl' -ion. Een dergelijk verschijnsel zien we bij de Fe^{+++} -zouten, waar het SO_4^{--} -ion veel eerder de 2e vlokkingiszône doet optreden (10 m. mol) dan het NO_3' -ion (250 m. mol). Niet alle onderzochte zouten geven de 2e vlokkingiszône te zien, alleen de Fe^{+++} -, UO_2^{++} -, Zn^{++} - en Pb^{++} -zouten doen dit. De Cu^{++} -, Hg^{++} - en Ag' -verbindingen geven slechts een vlokking in lage concentraties, die in de hogere weer oplost, maar waarop geen tweede vlokkingiszône volgt.

Dit is echter, zooals we zien, evenzeer een verschijnsel van ontlading van het negatieve sol, gevolgd door een positieve oplading. Alleen is in dit geval, evengoed als bij de zouten der alkalichloriden b.v., de ontladende werking der anionen in hooge concentraties niet genoeg om tot uitvlokking te geraken.

Een ander onderzoek, dat zich met onregelmatige reeksen bezighoudt, is dat van THOMAS en NORRIS ²⁷⁾. Deze gaan ook van een chemische beschouwingswijze uit. In aanmerking nemend het anion- of kation-karakter der eiwitten aan de alkalische resp. zure zijde van het isoe-

²⁷⁾ J. Am. Chem. Soc. 47, 501 (1925).

lectrische punt, zou men een praecipitatie aan de alkalische zijde van dit punt krijgen bij toevoeging van een polyvalent kation, indien deze verbinding onoplosbaar is (en men is bij de door dialyse goed gezuiverde eiwitten aan de alkalische zijde). Dat is dus hetzelfde wat PAULI beweert, die alleen het beeld wat verder uitwerkt. Dan krijgt men bij verder toevoegen van zout tengevolge van het zuurder worden der oplossing (door hydrolyse van het zout) een weer in oplossing gaan van het neerslag, tenzij het anion van het toegevoegde zout een onoplosbaar complex geeft met het positief geladen eiwit. Zoo zijn dus volgens hen de eerste vlokingszône en het hierop volgend niet-vlokkingsgebied te verklaren.

Deze hypothese toetsten zij aan het experiment, waarbij voor den dag kwam, dat de tweede vlokingszône een denatureeren van het eiwit is.

Zij werken met eieralbumine, volgens SÖRENSEN gekristalliseerd, daarna gedialyseerd.

In al hun proeven is de p_H van het eiwit aan den alkalischen kant van het isoelectrisch punt, zoolang er geen zout- of bufferoplossing aan is toegevoegd. In groote trekken krijgen zij dezelfde resultaten als vroegere onderzoekers. Het eerste onderzoek betreft de thorium- en zinkchloriden. Er was hier een minimum-concentratie aan zout nodig voor de praecipitatie begon; dan treedt een uitvlokking op, die toeneemt hoe meer we het isoelectrisch punt naderen, terwijl na het passeeren hiervan het neerslag weer spoedig oplost.

Dit is hun voorstelling van zaken; zien we echter de

curve ²⁸⁾ die zij trekken (cijfers worden voor dit gedeelte niet gegeven) eens nader onder de oogen, dan blijkt vooral bij het ZnCl_2 duidelijk, dat we hier eerst met een ontlading en een daarop volgende oplading te doen hebben, die niet van de met zuurtoevoeging vastgestelde p_H van het isoelectrisch punt afhankelijk is. Het opladen van het eiwit begint nog aan de alkalische zijde van wat gewoonlijk het isoelectrisch punt genoemd wordt (hier p_H 4.8), wat we daaraan zien, dat het punt van maximum praecipitatie bij hooger p_H ligt dan het isoelectrisch punt.

- Hierop volgt een proevenreeks, waarbij het albumine met bufferoplossingen van 0.2 Na-citraat op bepaalde p_H gebracht werd, waarbij zij dan ZnCl_2 in wisselende concentraties voegden.

- Er bleek dat het uitvlokken dan veel later begon — bij dezelfde p_H — dan zonder buffermengsel en ook dat het, als het plaats had, veel minder sterk optrad. Bovendien — en daar wijzen zij ook niet op — verdween het oplosingsgebied, wat van hun standpunt in het geheel niet te verklaren is. Kolloidchemisch bezien is wat hier gebeurt zeer goed verklaarbaar, daar we met ladingsverschijnselen te doen hebben. Bij het aschvrije en niet met bufferoplossing behandelde albumine is dit het sterkst uitgesproken. Werken we echter in buffermengsels, en dat nog wel van zoo hooge concentratie, dan krijgen we met verdringingsadsorptie te doen; daarbij vindt het zwaarmetaalion al een gedeelte van het oppervlak bezet en hiervan kan het nu wel een gedeelte, maar niet alles, van de oorspronkelijke ionen afdringen. De geadsorbeerde

²⁸⁾ loc. cit. pag. 504.

hoeveelheid zwaarmetaalionen en dus ook hun ontladings- en omladingsvermogen is hier veel kleiner dan zonder de ionen van het buffermengsel. Dat in het zure gebied (d. w. z. als we met het buffermengsel van het begin af aan de zure zijde van het isoelectrische punt zijn) geen praecipitatie plaats heeft, tenzij in hooge zoutconcentraties, is ook te begrijpen. Het eiwit is daar al positief geladen en wordt door het Zn^{++} -ion mogelijk eerst nog sterker opgeladen, in elk geval niet eerst ontladen, zoodat er van geen eerste vlokingszône sprake kan zijn; eerst later werkt de overmaat Cl^- -ionen uitvlokkend. Hun fout is, dat ze hier geen kataphoreseproeven gedaan hebben, waardoor zij hunne onderstelling, dat eerst voorbij het isoelectrisch punt — aan den zuren kant dus — het eiwit positief geladen zou zijn, aan de feiten hadden kunnen toetsen.

Ook hier hebben we een dergelijke overschatting van de belangrijkheid der p_{H} als indertijd in het werk van LOEB en zijn leerlingen. Vooral met het oog op de reeds door PAULI aan dit soort verbindingen gedane kataphoresebepalingen, waardoor duidelijk de ladingsquaestie voor den dag kwam, moet men betreuren, dat zij deze hier niet uitgevoerd hebben.

Een klein proefje met AgNO_3 toont ook hier (in tegenstelling met wat we bij het geciteerde onderzoek van PAULI en FLECKER zagen en hierna bij het onderzoek van PAULI en MATULA zullen opmerken) het bestaan van een onregelmatige reeks aan.

De p_{H} kon hier niet scherp bepaald worden, daar zij met de indicatormethode moeilijkheden hadden. Trouwens het is niet goed in te zien, hoe door toevoeging van

AgNO_3 de p_H op een dergelijke wijze als bij de Th- en Zn-zouten zou kunnen veranderen, daar we bij dit zout geen zoover gaande hydrolyse kunnen aannemen. Zij beginnen ook hier met een negatief geladen eiwit en hun proeven wijzen hier dus weer op het bestaan van ladingsverschijnselen. Dat het geheel in dit geval nog een graad ingewikkelder is, zullen we later zien.

Nadere onderzoekingen over de binding van AgNO_3 aan verschillende eiwitten werden door PAULI en MATULA²⁹⁾ verricht.

Zoowel potentiometrisch als conductometrisch en kataphoretisch is hierbij de binding van AgNO_3 aan gelatine, albumine en caseïne bepaald. Wat albumine en gelatine betreft, komen zij — zoowel langs potentiometrischen als conductometrischen weg — tot het resultaat, dat we hier met een adsorptiecurve te doen hebben. In de vorige publicaties lieten zij zien dat, indien een zout als KCl aan een aminozuur werd toegevoegd, een dergelijke curve voor den dag komt als bij adsorptieverschijnselen, wanneer men de gebonden hoeveelheid Cl' -ionen afzet tegen de in oplossing achtergeblevene. Wij zagen reeds dat de conclusie in dezen vorm niet verantwoord is. Uit dit feit nu en omdat zij kataphoretisch geen verandering van lading bij het eiwit konden constateeren, kwamen zij voor deze chloriden tot de conclusie, dat het geen binding van een der ionen aan het eiwit betrof, maar van beide ionen in even sterke mate, het zout dus in zijn geheel moleculair in het molecuul gebonden werd. Wat de binding van AgNO_3 aan gelatine en albumine betreft,

²⁹⁾ Biochem. Z. **80**, 187 (1917).

hier komen zij tot dezelfde conclusie, daar zij ook hier geen ladingsverandering in hun oorspronkelijk negatief geladen sol (dit wat het albumine aangaat) konden waarnemen.

Bij de maximaal gebonden hoeveelheid AgNO_3 komen zij, zoowel voor gelatine als albumine, tot een hoeveelheid, die aequivalent zou zijn aan de hoeveelheid chloride, welke deze eiwitten maximaal uit een alkalichloride opnemen. Waar zij (in tegenstelling met THOMAS en NORRIS) bij het albumine geen onregelmatige reeks met AgNO_3 vonden, concludeeren zij op grond hiervan tot een andere bindingswijze dan bij de verbindingen met zware metalen. Hier moeten we op een verschijnsel de aandacht vestigen, waarop zijzelf niet wijzen, maar dat een goeden indruk geeft van de niet bijzonder groote reproduceerbaarheid hunner proeven. Bij de onderzoeken van PAULI en FLECKER vonden deze voor 0.808 % albumine vlokking bij toevoegen van AgNO_3 in hoeveelheden van 0.1 tot 500 millimol en daarboven peptisatie. Hier echter vinden PAULI en MATULA een uitvlokking, die voor 0.7 % albumine pas *begint* bij 40 m. mol AgNO_3 .

De proeven aan een suspensie van caseine gedaan, waarbij op het eind nog caseine onopgelost achterbleef, gaven ook, zoowel potentiometrisch als conductometrisch, een binding van Ag^+ -ionen te zien.

Wat de binding van AgNO_3 aan albumine en gelatine betreft, komen zij, in aanmerking nemend wat zij voor de binding van KCl aan deze eiwitten vonden, tot het resultaat, dat beide zouten moleculair en niet ionogeen opgenomen worden. Dit baseeren zij op het feit, dat 1°. evenveel Ag^+ - als Cl^- -ionen gebonden worden en 2°.

geen verschil in kataphoreserichting te constateeren is. Zij hebben echter de binding van een kat- en anion bij *verschillende* zouten bepaald en de conclusie, die tot een even sterke binding van deze twee in *hetzelfde* zout leidt, is dus niet verantwoord.

Dat dit zoo zou zijn is daarom al onwaarschijnlijk, omdat de beide eiwitten in het gebied, waar zij onderzocht worden, negatief geladen zijn, waarbij men dus een verschillende binding der ionen verwachten mag, zooals LOEB bewees ³⁰⁾.

Bovendien bewezen, zooals we zagen, onderzoekingen van MONA ADOLF aan het globuline, dat de adsorptie hier — al hebben we dan met een ander eiwit te doen — ionogeen is. Ook zijn de kataphorese metingen van PAULI en MATULA slechts kwalitatief en is hieruit niet op te maken of quantitatief misschien toch wel een vermindering in lading optreedt.

Hoe zich hun opvatting over een moleculaire binding rijmen laat met de volgens hen optredende hydrolyse bij verdunning, is niet goed te begrijpen. M. ADOLF heeft bij haar voorstelling nog eenig recht van spreken, al is de voorstelling, zooals we zagen, waarschijnlijk fout. De begrippen zijn hier trouwens tamelijk verward en worden, al naar mate het noodig blijkt voor hun stoechiometrisch-chemische opvatting, gevarieerd. Zoo neemt M. ADOLF voor de zouten met eenwaardig kat- en anion een ionogene binding aan; PAULI daarentegen neemt een moleculaire binding aan, die hij ergens anders ³¹⁾ nog omschrijft als

³⁰⁾ LOEB Eiweisskörper pag. 33 en 34.

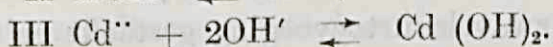
³¹⁾ Koll.Z. **31**, 252 (1922).

„nach Art einer Legierung mit einander verbunden”. Bij de meerwaardige ionen krijgen we het woord „complex” dat alles verklaren moet, of een hydrolyse waarmee de vlokkingzônes verklaard worden.

Binding van ionen aan eiwit hebben langs electromotorischen weg ook AUDUBERT en Mlle QUINTIN geconstateerd ³²⁾.

Zij vinden, indien zij de logarithmen der gebonden en in oplossing achtergebleven Ag' -ionen voor gelatine tegen elkaar afzetten, een rechte lijn en beweren hetzelfde te vinden voor de binding van Cd'' -ionen aan gelatine. Bepaalden zij de Cd'' -ionen concentratie potentiometrisch voor en na toevoeging van gelatine, dan bleek er geen verandering in de E. M. K. op te treden. Maar volgens hun meening is de variatie in p_{H} , die *wel* optreedt, toe te schrijven aan een door het hydrolyse-evenwicht naleveren van geadsorbeerde Cd'' -ionen en wel als volgt.

Er bestaan in de vloeistof de volgende evenwichten:



Wordt er nu Cd'' gebonden, dan zullen evenwichten I en III dit naleveren (en dit zou dus zoo moeten gebeuren, dat er potentiometrisch niets van een Cd'' concentratieverandering te merken is), waarvan tevens het gevolg is, dat de reactie in de vloeistof (door verschijnen van meer OH' -ionen) naar hoger p_{H} gaat.

Het kan natuurlijk zijn, dat er iets dergelijks aan de hand is. Alleen is het ongelukkig, dat een uit de oplossing

³²⁾ J. de chim. phys. **23**, 176 (1926).

wegvangen van H^+ -ionen hetzelfde effect zou hebben. En wat wij potentiometrisch te zien krijgen is juist een verdwijnen hiervan. Volgens de beide onderzoekers zou dit dus een secundair effect zijn, maar voor de opvatting, dat dit verschijnsel primair is, is evenveel te zeggen. *Bewezen* dat hun opvatting juist is, hebben zij dus niet.

Tot slot een kort overzicht over het werk en de opvattingen van SÖRENSEN. Deze heeft zijn onderzoekingen aan het albumine uit kippeneiwit gedaan.

De bereiding is als volgt³³⁾: door toevoegen van een gelijk volume verzadigde ammoniumsulfaatoplossing aan de eiwitoplossing worden de globulinen neergeslagen en afgefiltreerd.

Hierna wordt zooveel verzadigde ammoniumsulfaatoplossing toegevoegd, dat er een blijvende troebeling ontstaat en hierna zwavelzuur. Dit doet eerst de troebeling verdwijnen, maar bij verder toevoegen vormt zich een neerslag, dat bij omroeren hoe langer hoe slechter oplost.

Op dat punt waar de troebeling nog juist volledig oplost wordt de zwavelzuurtoevoeging gestaakt en de nu sterk opalesceerende vloeistof aan zichzelf overgelaten.

Hieruit „kristalliseert” dan het eiwit en wordt na eenige dagen staan afgefiltreerd.

Dit neerslag wordt weer in oplossing gebracht en aan dezelfde bewerking van „kristallisatie” onderworpen, wat in het geheel zesmaal herhaald wordt. Zoo heeft SÖRENSEN dan dus een eiwitfractie verkregen, die door een heel bepaalde ammoniumsulfaat-concentratie bij een bepaalde

³³⁾ Z.f. physiol. Chemie **103**, 16 (1918).

p_H uitgezouten wordt. Volgens hem is het zoo verkregen eiwit kristtallijn en van een zeer bepaald watergehalte. De kristallen werden door BÖGGILD onderzocht ³⁴⁾, die ze „scheinbar rhombisch” noemde en enkele kristalhoeken ongeveer bepaalde. Nu zijn deze metingen ook waarschijnlijk niet eenvoudig, aangezien de „grössere Kristalle” de afmetingen van $\pm 0.2 \times 0.015 \times 0.001$ m.m. hebben. In drogen toestand zijn ze niet te krijgen.

Wat het watergehalte betreft, uit een reeks proeven wordt als gemiddelde waarde afgeleid 22.8 %, berekend op het droge albumine en dit zou in het geheel niet variëren. Nu heeft hij vrijwel alle onderzoeken gedaan bij hetzelfde sulfaat- en zwavelzuurgehalte maar ook dan schommelen ze tusschen 21.7 % en 24.1 %.

Indien hij gefractioneerd kristalliseeren ging, d. w. z. eerst een kleinere sulfaatconcentratie dan gewoonlijk toevoegde, affiltreerde van het neerslag, wat meer sulfaat bij het filtraat deed, weer affiltreerde en deze bewerking nog eens herhaalde, vindt hij (maar daarop wijst hij zelf niet) een duidelijken gang in de watergehalten en wel minder watergehalte naarmate de sulfaatconcentratie grooter was, t. w. 22.8, 22.5 en 22.0 % (berekend uit waarden 10, 11 en 12 van tabel 34, pag. 225 loc. cit.). Over den invloed der p_H op het watergehalte van het neerslag wordt slechts één proef gedaan en dan daaruit geconcludeerd tot een geringen invloed hiervan. Nu is dat in een milieu met zoo'n groot sulfaatgehalte ook allermint te verwonderen. Het eiwit zal daar sterk gedehydrateerd

³⁴⁾ Z. f. physiol. Chemie, **103**, 263 (1918).

zijn en ook de ladingseffecten der H^+ -ionen op de hydrata-tie zullen slechts weinig effect sorteeran, daar de invloed hiervan niet alleen door de dehydrateerende invloed van het SO_4^{--} -ion, maar ook nog door zijn sterk ontladende werking wordt tegengegaan.

Dat we bij deze verschijnselen met ladingsquaesties te doen hebben, al zullen deze zich in dit zoo sterk zout-houdende milieu natuurlijk slechts zwak kunnen doen gelden, zien we aan de veel sterker stijging der „oplos-baarheidscurve” naar den alkalischen kant der p_H , verge-leken met het deel der curve aan den zuren kant. Dit komt overeen met het feit, dat in het eerste geval het SO_4^{--} -ion aan een negatief geladen eiwit zijn sterk ontladende werking niet tot haar recht kan doen komen, wat in meer zuur milieu bij een positief geladen eiwit natuurlijk wel het geval is. Het voornaamste argument van SÖRENSEN voor een opvatting der eiwitoplossingen als systemen in ware oplossing is het volgende: uitgaande van een wille-keurige beginconcentratie aan albumine, vindt hij, wan-neer de uitkristallisatie plaats heeft op de wijze als boven beschreven, dat de hoeveelheid in oplossing achterge-bleven eiwit steeds even groot is. Dit zal volgens hem alleen het geval kunnen zijn voor niet-kolloide syste-men, omdat alleen daar de fasenregel van GIBBS van toepassing is. Dat het bovengenoemde echter een be-wijs zou zijn voor het bestaan van een ware oplossing, moeten wij bestrijden. Door zijn bereidingswijze heeft hij een eiwitfractie gekregen met een zeer speciale „op-losbaarheid” in zoutmilieu; zorgt hij nu bij al deze „kris-tallisatieproeven” voor dezelfde eindconcentratie aan

zout en zuur in zijn oplossing (en dat doet hij) dan zal na een bepaalden tijd bij dit proces, dat eigenlijk een langzaam uitvlokken van het eiwit is, onafhankelijk van de begin concentratie albumine, overal ongeveer dezelfde hoeveelheid in oplossing zijn achtergebleven.

Immers, gaan we van een geconcentreerde oplossing uit, dan zal daar de botsings- en dus de kleefkans door de kleinere gemiddelde weglengte, grooter zijn dan in de meer verdunde oplossingen. Daardoor is de uitvlokkingssnelheid dus grooter, maar hoe meer de concentratie die van de minder geconcentreerde nadert, hoe meer de uitvlokkingssnelheid aan die van deze systemen gelijk zal worden, aangezien de in oplossing achtergebleven hoeveelheden hoe langer hoe minder van elkander zullen verschillen. *Indien* er na een bepaalden tijd van systemen met verschillende beginconcentratie tusschen de in oplossing achtergebleven gedeelten nog eenig verschil zal zijn overgebleven, kunnen we zeggen, dat bij deze langzame uitvlokking dit verschil zoo zal zijn, dat de systemen met de grootste beginconcentratie aan albumine dan ook de grootste concentratie in de bovenstaande vloeistof zullen bezitten. *En dit is juist wat SÖRENSEN vindt.* Zijn voornaamste argument voor de „ware oplossingen”-theorie vervalst dus hiermee.

KOLLOID-CHEMISCHE OPVATTING DER EIWITSOLEN.

- Nu we gezien hebben welke bezwaren een theorie bezit, die alle bekende eigenschappen van een eiwitoplossing van zuiver stoechiometrisch-chemisch standpunt tracht te verklaren en gerechtigd meent te zijn hierop zonder meer de voor homogene oplossingen geldende wetten toe te passen, moeten we ons de vraag stellen of het dan op een andere wijze mogelijk is zich een bevredigende voorstelling van het complex der besproken verschijnselen te vormen.

- Wat de minder lyophiele eiwitten betreft, hiervoor is het nog het gemakkelijkst om hun op grond hunner eigenschappen een plaats onder de kolloid-chemische oplossingen aan te wijzen. Het zijn stoffen, die, dank zij hun amphoteer karakter, zoowel met zuren als met basen te peptiseeren zijn; maar ook zouten hebben, zooals we bijv. bij het globuline zagen, deze eigenschap. Van deze groep electrolyten hebben weer de meerwaardige ionen dit vermogen in sterkere mate dan de eenwaardige. Dat bleek bij het globuline niet alleen aan de hoeveelheid die zoo gepeptiseerd kon worden, maar ook aan het uiterlijk van het verkregen sol, dat veel helderder, dus blijkbaar veel hooger dispers was bij de meerwaardige

ionen dan bij de eenwaardige. Dat deze solen werkelijk verschillenden dispersiteitsgraad kunnen hebben, zagen we ook aan de geleidingsvermogen-metingen, die bij het Al^{+++} - en citraation op een met den tijd toenemende binding, dus op een vergrooting van het oppervlak wezen. Misschien mogen in dezen geest ook de resultaten bij de loog- en zuursolen worden uitgelegd, welke zoowel potentiometrisch een grooter worden der gebonden hoeveelheid ionen, als viscosimetrisch een met den tijd varieeren van het totaal volume aangaven. Maar hierbij moet men toch steeds eenige voorzichtigheid betrachten, omdat in deze gevallen een chemisch afbraakproces niet uitgesloten is. En om met zekerheid te constateeren, dat werkelijk niets van de eiwitten in lagere producten is overgegaan, is analytisch niet zoo eenvoudig als op het eerste gezicht zou lijken. Dan pleiten ook de proeven van FODOR, wat de oplosbaarheid van sterk gedroogde eiwitten betreft, en die van MONA ADOLF over de oplosbaarheid in zoutoplossingen, zooals we zagen, voor een van de voorbehandeling afhankelijken dispersiteitsgraad en dus van de eigenschappen der solen.

Deze enkele feiten wijzen reeds in de richting, die we voor een verklaringswijze moeten inslaan. We hebben hier te doen met lichamen, die voor hun stabiliteit in oplossing een elektrische lading noodig hebben. Dat daarvoor vooral zuren en basen met voordeel gebruikt kunnen worden, is niet te verwonderen, als we ons den waarschijnlijk bouw van zoo'n eiwitdeeltje voor den geest halen. Daarbij zullen de oppervlaktemoleculen hun carboxyl- en aminogroepen naar het omgevende water richten,

aangezien dit de sterkst polaire groepen zijn. De onderzoeken van LANGMUIR³⁵⁾ en HARKINS³⁶⁾ wezen op een orientatie van de moleculen in het oppervlak tusschen twee fasen op zoodanige wijze, dat de analoge gedeelten te zamen komen, wat in een geval als dit — waar de eene phase water is — wil zeggen, dat het polaire gedeelte zich naar het water richt en de organische kant naar het eiwitdeeltje. Bewezen is zulk een orientatie strikt genomen slechts aan de oppervlakken tusschen twee vloeistoffen en tusschen vloeistof-gasphase, maar we mogen met groote waarschijnlijkheid deze verschijnselen ook bij een oppervlak vast-vloeistof aannemen.

De in het oppervlak aanwezige polaire groepen zullen dus met zuur en loog kunnen reageeren en we zien ook, dat hier in dit geval zich een stoechiometrische reactie zal afspelen, stoechiometrisch voor zoover het de vrijliggende groepen betreft. Krijgen we met een doordringen van zuur of base in de deeltjes te doen, dan zal een verdere binding van zuur en base daarvan het gevolg zijn, wat dan natuurlijk een tijdreactie is. De hydratatie om de zoo sterker polair gemaakte groepen zal toenemen en met het op die plaatsen zoo binnendringende water en de krachtiger electrostatische afstooting van de sterker polair gemaakte groepen onderling, zal de samenhang daar lossen worden en tot een splitsen in kleiner eenheden kunnen voeren. Ook andere ionen echter, die wel niet in staat zijn chemisch te reageeren onder zoutvorming, maar wel een oppervlak door adsorptie kunnen opladen,

³⁵⁾ J. Am. Chem. Soc. **39**, 1848 (1917).

³⁶⁾ J. Am. Chem. Soc. **39**, 354 en 541 (1917).

zullen nu deze verschijnselen in meerder of minder mate kunnen doen optreden. Eenwaardige ionen zullen hierbij niet in die mate als meerwaardige ionen de lading kunnen verhoogen en dus ook solen geven, die minder stabiel en grover dispers zijn. Dit waren dan ook twee eigenschappen, waarin we zagen, dat de globuline-solen met AlCl_3 en Na-citraat gedispergeerd verschilden van die, welke met b.v. KCl gepeptiseerd waren. Waarom bij de proeven van FODOR voor de peptisatie van de sterk gedroogde eiwitten sterke loog noodig was en dit niet met sterk zuur of verdunde loog of zuur te doen was, kan in samenhang met het bovenvermelde wellicht het beste als volgt verklaard worden. Door de sterke droging, waarbij vrijwel alle water verdwenen zal zijn, zijn de eiwitdeeltjes zoo dicht bij elkaar gekomen, dat nu de intermoleculaire attractie zich buitengewoon sterk doet gelden. Om nu weer een lossere samenhang te laten ontstaan zullen de electrostatisch afstootende werkingen der polaire groepen zeer sterk moeten zijn en nu is blijkbaar alleen sterke loog, die dus zeer vele carboxylgroepen tot zouten kan maken, in staat tot deze werking. Dat sterk zuur niet kan peptiseeren, is dus blijkbaar een gevolg van minder sterke ionisatie der $-\text{NH}_3 \text{ Cl}$ groepen, als we HCl gebruiken, vergeleken met die der $-\text{COO Na}$ groepen, als we NaOH gebruiken. Een verdunde loog doet blijkbaar niet genoeg zoutgroepen ontstaan, zoodat de in totaal aanwezige electrostatische lading niet sterk genoeg is om de cohaesiekrachten te overwinnen.

Wat de lyophiele eiwitten betreft, hier hebben we een groep stoffen voor ons, die, om in water gedispergeerd te

kunnen worden, geen electrolyt noodig hebben. Op hun isoelectrisch punt gebracht vlokken zij niet uit en er bestaat dus nog een tweede stabiliteitsfactor. Nu heeft DE JONG indertijd, zooals al werd besproken, aan het agarsol aangetoond, dat we hier een systeem voor ons hebben met dezelfde eigenschappen, als we ook bij de lyophiele eiwitten tegenkomen, nl. met twee stabilisatiefactoren 1°. de lading 2°. de hydratatie. Op ieder afzonderlijk of op beide tezamen is het sol stabiel; onttrekt men het echter beide, dan vlokt het uit. Nu zijn in zooverre de eiwitsolen nog iets ingewikkelder, doordat zij met hun zure en basische groepen t.o.v. loogen en zuren specifiek reageeren. Maar principieel doet dit aan de zaak niets af. Een van LOEB's voornaamste argumenten indertijd tegen een opvatting van deze oplossingen als solen was, dat, terwijl de anorganische solen al bij betrekkelijk kleine electrolyt-concentraties uitvlokten, deze eiwitten dit eerst bij zeer hoge concentratie aan speciale zouten, liefst sulfaten b.v., deden. Zooals het reeds genoemde onderzoek van KRUYT en TENDELOO al bewees, hebben echter ook *lage* zoutconcentraties bij deze solen een invloed en wel op de lading van het sol, welke invloed viscosimetrisch aangetoond werd. Dit is hetzelfde verschijnsel, dat we ook reeds bij het agarsol tegenkwamen. Dat er dan geen uitvlokking optreedt, komt dus, omdat we dan de tweede stabilisatiefactor (de hydratatie) nog onaangetast hebben gelaten. Deze kunnen we nu met sterk dehydrateerende zouten, als de sulfaten zijn, wegnemen en daarvoor hebben we natuurlijk groote concentraties noodig. *Evengoed* kunnen we echter een ander

dehydratatiemiddel nemen, b.v. alcohol. En dit zijn dan ook de proeven, die LOEB op het eind van zijn boek aanhaalt en waarmee hij geen weg weet, die echter in het bovengeschilderde beeld heel goed op hun plaats zijn. Zijn proevenreeks³⁷⁾ van met alcohol gedehydrateerd gelatine geeft een goed beeld van de afhankelijkheid der stabiliteit van de lading. De eenwaardige ionen zijn in geen enkele concentratie in staat te peptiseeren, hebben dus niet genoeg opladende werking (vergeten we niet, dat de gelatine zonder zout ook uitvlokt, want LOEB doet al zijn proeven immers met isoelectrische gelatine), terwijl de meerwaardige — zoowel kationen als anionen — een des te stabielere en hooger dispers sol geven naarmate de lading grooter is.

Dat het isoelectrisch punt, dus dat punt waar het deeltje als geheel ongeladen is, een minimum in alcoholgetal, viscositeit, enz. vertoont, is op grond van onze voorstelling begrijpelijk, aangezien daar de lading nul is, de hydratatie dus *alleen* als stabilisatiefactor aanwezig is. Een vergroting der viscositeit aan weerszijden hiervan is een gevolg der ladingstoename en aan de hiermee gepaard gaande hoogere hydratatie. Dat er dan een grootere alcoholhoeveelheid tot uitvlokken in deze gebieden noodig is, ligt natuurlijk aan de door lading grooter geworden hydratatie en vermeerderde stabiliteit.

Een albumine sol, dat we door zeer intensieve dialyse van de oorspronkelijk aanwezige electrolyt bevrijd hebben, zal dus het volgende beeld opleveren.

In de eerste plaats zal het negatief geladen zijn, aan-

³⁷⁾ LOEB Eiweisskörper pag. 285.

gezien de p_H van het isoelectrisch punt bij ± 4.8 ligt. Anders gezegd: het eiwit, dat meer waterstof- dan hydroxylionen afdissocieert, is electrisch neutraal te maken door toevoegen van kationen, b.v. H^+ -ionen.

Wordt nu bij een dergelijk negatief sol een zuur of zout (dit laatste liefst met meerwaardig kation) gevoegd, dan gaan we dus door het nul-punt van lading heen en vervolgens naar hoe langer hoe hoger positief geladen solen. Dit hooger opladen gaat niet onbepaald door, daar langzamerhand de lading der tegelijkertijd toegevoegde negatieve ionen zich zal doen gelden en tot een vermindering der lading op de eiwitdeeltjes moet leiden. Dan zullen de hiervan afhankelijke grootheden tegelijkertijd afnemen.

Zoo eenvoudig als hier wordt voorgesteld behoeft alles niet te verlopen, want we namen nu maar aan, dat de deeltjes niet gesplitst werden, dus het beschikbare oppervlak hetzelfde bleef. Blijft echter het oppervlak niet gelijk, dan kan hetgeen men te zien krijgt natuurlijk ingewikkelder worden. Maar ook kan, wanneer men bij een sol van gegeven zuurconcentratie (dus gegeven positieve lading) een andere electrolyt voegt, de lading verder verhoogd of wel verlaagd worden, afhankelijk van het punt der opladingscurve, waar we ons bevinden en de waardigheid van kat- en anion der toegevoegde electrolyt. Het kation zal, zooals men in ziet, de lading trachten te vergrooten en het anion zal juist het tegenovergestelde trachten te bewerken, zoodat het van de valentie van elk dezer ionen zal afhangen, wat het eindresultaat zal zijn.

Wat hier van het positieve sol gezegd werd geldt.

mutatis mutandis voor het negatieve, evenals we, wat voor het albumine geldt, kunnen toepassen op andere lyophile eiwitten. Alleen quantitatief zullen er natuurlijk verschillen te constateeren zijn.

De lyophile en minder lyophile eiwitten werden hierboven zoo scherp tegen over elkaar geplaatst, maar in werkelijkheid zullen er natuurlijk allerlei overgangstypen tusschen deze twee uitersten bestaan. Zeker bij de minder lyophile eiwitten is het de vraag of van deze klasse wel een representant te vinden zal zijn, die in het geheel geen hydratatie-water bezit. Tengevolge der reeds oorspronkelijk aanwezige geringe ladingen op het eiwit bestaat immers toch wel eenige hydratatie, al is de grootte-orde hiervan dan zoo gering, dat zij voor een in oplossing houden van het eiwit bij lange na niet toereikend is.

Het doel van het hierna volgend onderzoek is nu in de eerste plaats geweest om uit te maken, of de bewering van LOEB, dat kationen alleen aan den alkalischen kant van het isoelectrisch punt (d.w.z. die p_H waarbij het eiwit met *zuren* in den electrisch neutralen toestand is gebracht) door eiwitten gebonden kunnen worden, juist is.

Verder wilden we ook constateeren, of een verschillende voorbehandeling van de eiwitten op hun eigenschappen in sol-toestand van invloed was.

Daarvoor werden metingen van de Ag^+ -ionenconcentratie voor en na toevoeging van albumine en gelatine gedaan en hieruit de hoeveelheden gebonden Ag^+ -ionen berekend. Deze metingen waren, zooals vermeld, wel al door PAULI verricht, maar aan negatief geladen solen; en dat daar een binding van kationen plaats vindt, had

LOEB met enkele handproefjes ook reeds bewezen. Zijn bewering is nu getoetst, voor het gelatine aan een isoelectrisch sol, voor het albumine zoowel aan een isoelectrisch sol als aan solen, die positief en negatief geladen waren.

Den invloed der voorgeschiedenis op het adsorptievermogen gingen wij aan het gelatine na.

Ten slotte werd van isoelectrische en van positieve albumine-solen de kataphorese bepaald en ook de stabiliteit dezer solen in aceton-milieu.

MEETMETHODE VOOR DE CONCENTRATIE- ELEMENTEN.

Het principe voor de meting der E.M.K. van de cellen was de gewone Poggendorfschakeling. Slechts was in dien tak, waar anders de galvanometer of capillair-electrometer ingeschakeld staat voor het constateeren van 't al of niet stroomloos zijn hiervan, nu als nulpunts-instrument een radiolamp ingeschakeld. We hadden eerst wel een capillair-electrometer gebruikt, maar de uitslag hiervan was door den hoogen weerstand in de lage electrolyt-concentraties niet scherp genoeg.

L. W. JANSSEN, die voor het meten van stroomings-potentialen reeds van deze radiolamp gebruik maakte, en de meeste der hierbij optredende moeilijkheden reeds had overwonnen, maakte ons toen op de mogelijkheid, om de methode ook bij deze metingen toe te passen, opmerkzaam. Zooals bekend is het principe van deze lampen, dat men een draad tot gloeien brengt in een geevacueerde lamp, welke draad dan electronen uitzendt. Verder heeft men in zoo'n lamp de plaat, die t.o.v. den gloeidraad positief geladen kan worden en het rooster, tusschen gloeidraad en plaat in, dat men t.o.v. den gloeidraad een negatieve potentiaal kan geven. Geeft men nu de plaat een positieve spanning t. o. v. den gloeidraad, dan zal zich een electronenstroom door de lamp heen naar

de plaat bewegen. De sterkte van dezen stroom kan men in de eerste plaats regelen door de gloeispanning, die de temperatuur van den gloeidraad en daarmee de per tijdseenheid door den gloeidraad uitgezonden hoeveelheid electronen bepaalt. De tweede factor, die op deze stroomsterkte van invloed is, is de plaatspanning, want hoe hoger deze is bij een bepaalde gloeispanning, hoe meer electronen per tijdseenheid op de plaat zullen worden opgevangen. Hierbij krijgen we op zeker moment den z.g. verzadigingsstroom, want, slaan er in de tijdseenheid evenveel electronen op de plaat neer als er door den gloeidraad worden uitgezonden, dan zal een hoger opladen der plaat geen vergrooting in den stroom meer kunnen teweeg brengen. Als derde variabele heeft men dan nog de roosterspanning. Geeft men nl. het rooster een negatieve lading t.o.v. den gloeidraad, dan zal de meerdere of mindere grootte dezer lading een meer of minder krachtig remmende werking op den electronenstroom uitoefenen. Schakelen we den roosterketen thans in in den keten van de te meten E.M.K. der Poggendorfschakeling, dan zullen we uit het al of niet constant blijven van de roosterspanning en dus van den plaatstroom kunnen besluiten tot het al of niet gecompenseerd zijn van onze te meten cel.

Er zijn bij deze wijze van meting twee voornamere factoren, waarop wij letten moeten. Wil men een groote nauwkeurigheid bereiken, dan zal men ervoor moeten zorgen, dat een betrekkelijk kleine variatie in de roosterspanning een groote variatie in den plaatstroom geeft. We zullen dus moeten nagaan bij welke gloeistroom-

spanning, plaatspanning en roosterpotential de curve, die de afhankelijkheid van plaatstroom (als ordinaat) met de roosterpotential (als abscis) aangeeft, een zoo steil mogelijk verloop heeft (fig. 7).

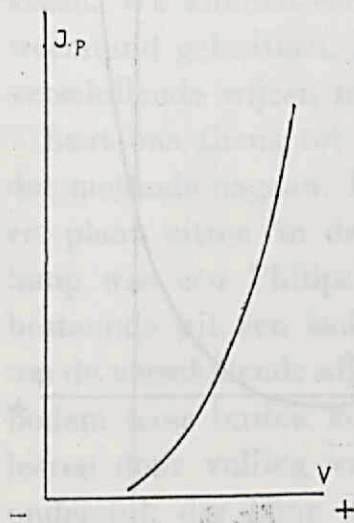


Fig. 7.

Dan is er echter nog een tweede factor, waarop we moeten letten en wel vooral bij systemen met laag electrolyt-gehalte — en dus grooten weerstand — in de cellen. In gewone omstandigheden zal een gedeelte der electronen, die door de buis heenvliegen, reeds op het *rooster* neerslaan en we zullen dus een roosterstroom zien optreden. Deze zal des te kleiner zijn, naarmate het rooster een hoo-

ger negatieve lading draagt. Bestond er werkelijk een absoluut vacuum in de buis, dan zou de roosterstroom asymptotisch op de nul-waarde uitloopen, daar het transport van electriciteit dan alleen door electronen geschiedt. Is er echter — wat altijd het geval is — nog eenig gas in de buis, dan zullen hierdoor positieve gasionen geleverd worden, die natuurlijk op het rooster neerslaande ook een roosterstroom zullen opleveren. Maar dan krijgen we de mogelijkheid van een roosterstroom geleverd voornamelijk door electronen — een negatieven dus — en een geleverd door positieve ionen — een positieven stroom. De roosterstroom zal in dit geval niet asymptotisch vanaf de hogere waarden naderen, maar de as snijden, dan

beneden de as weer ombuigen en asymptotisch van de positieve zijde de as naderen. (Fig. 8).

Men moet nu — tenminste bij metingen met hoo- gen weerstand — trachten dit nulpunt van den roosterstroom te krijgen. Want is er een roosterstroom, dan zal bij inschakelen van een grooten weerstand in de roosterketen om dezen weerstand heen een potentiaalverschil optreden. Daarvan zal het gevolg zijn, dat de rooster- potentiaal en dus de plaat-

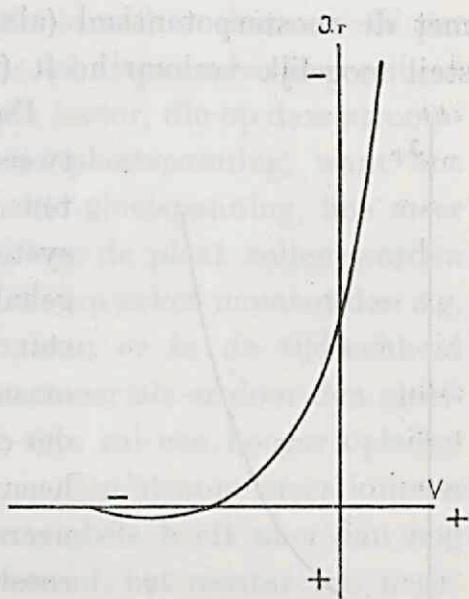


Fig. 8.

stroom verandert. Is de roosterstroom echter op zijn nulpunt, dan zal ook geen potentiaalverschil om een eventueelen weerstand heen optreden en de plaatstroom dus ook gelijk blijven. Willen we dus de E.M.K. van een cel met grooten weerstand meten, dan zien we, dat ook bij gecompenseerd staan van de Poggendorf-schakeling (verder P. sch. afgekort) de roosterspanning en dus de plaatstroom een andere waarde zal hebben bij ingeschakeld zijn der te meten cel dan bij kort gesloten staan der roosterketen, indien er tenminste een roosterstroom is. Bij afwezigheid van dezen stroom echter zal bij gecompenseerd staan der P. sch. de plaatstroom dezelfde waarde hebben, zoowel bij ingeschakeld staan der te meten cel, als wanneer de roosterketen kort-

gesloten is. Om dit nulpunt van den roosterstroom te vinden zouden we een aparten hoogen weerstand in de roosterketen kunnen schakelen en zien, of de plaatstroom dan dezelfde waarde heeft als bij kortgesloten roosterketen. We kunnen echter evengoed de te meten cel als weerstand gebruiken. Daartoe moet zij echter op twee verschillende wijzen ingeschakeld kunnen worden.

Laat ons thans tot beter begrip eerst de schakeling der methode nagaan. De gloeidraad, voorrooster, rooster en plaat zitten in de lamp opgeborgen. De gebruikte lamp was een Philipslamp (A 141). De voet hiervan, bestaande uit een isolatiemateriaal, wordt stukgezaagd om de verschillende afleidingsdraden, die door den glazen bodem naar buiten komen, onderling nog beter te isoleeren door vulling van het conisch ingestulpte glazen onderstuk der lamp met paraffine. Vooral de roosterdraad wordt goed geïsoleerd door hem, vanaf het punt waar hij naar buiten komt, door een glazen capillair te leiden, welke aan het eene einde afgesloten is door de paraffinemassa, waarin ook zij gebed is, en aan den anderen kant, waar de draad er weer uit te voorschijn komt, met piceine. Deze piceine wordt ook aan de buitenzijde der lamp als bekleedsel aangebracht om geen last te hebben van lichteffecten, die ook op den plaatstroom invloed hebben.

Aan de hand van fig. 9 kunnen we nu nagaan hoe de schakeling in elkaar zit. De gloeidraad D wordt door een accu A_3 tot gloeien gebracht, waarbij de gloeispanning kan worden geregeld door een weerstand W_4 . De positieve pool van den gloeidraad is verbonden met de negatieve pool

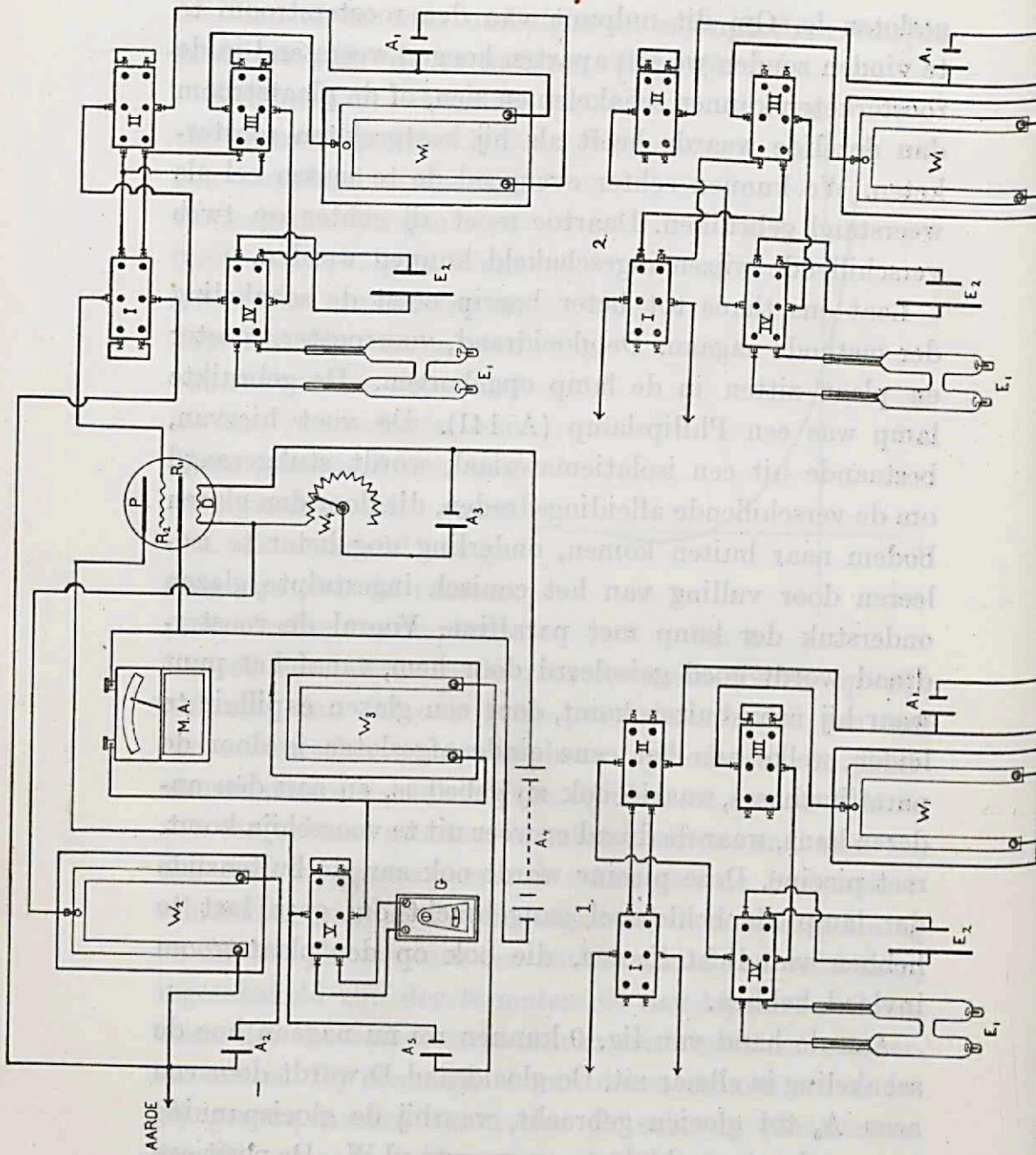


Fig. 9.

van een hoogspanningsbatterij A_4 die met haar positieve pool direct geschakeld is aan het voorrooster R_1 , en via een milli-ampèremeter $M. A.$ en de wip V (welke den stroom òf door den galvanometer G kan leiden òf kort kan sluiten) aan de plaat P .

De wip V met galvanometer dient om de intensiteitsverandering van den plaatstroom te meten. Hiertoe is op de beide plaatsen der wip, waar de draden van hoogspanningsbatterij en plaat aangesloten zijn, ook een accu A_5 met weerstand W_3 ingeschakeld en wel met den negatieven kant aan de zijde der positieve pool van de hoogspanningsbatterij, met den positieven kant aan de zijde der plaat. We kunnen zoo met een stroom — waarvan we de sterkte kunnen regelen — den plaatstroom, die door den galvanometer loopt, compenseeren.

Aan de negatieve pool van den gloeidraad is via een accu A_2 met weerstand W_2 , waarmee we dus een gewenschte negatieve spanning aan het rooster kunnen geven, het rooster R_2 geschakeld, hetzij kortgesloten, hetzij via de $P.sch.$ rechts op de figuur. In deze schakeling zijn 4 wippen aangebracht om de cel op 2 verschillende wijzen in de roosterketen te kunnen opnemen. De schakeling met *al* de verbindingen is aangegeven daar, waar ze geteekend is in samenhang met de rest van de meetmethode. In de beide standen 1 en 2 daarbeneden is alleen het gedeelte der $P.sch.$ zonder lamp aangegeven, met voor iederen stand alleen die draden geteekend, waarlangs de verbinding tusschen rooster en gloeidraad tot stand wordt gebracht.

In stand 1 passeeren we, komende van het rooster R_2 , wip I en II, belanden dan op IV, ontmoeten nu de

negatieve pool van hetzij E_1 of E_2 (ervan afhankelijk, welke we willen meten en dus ingeschakeld hebben) en bereiken dan via dit element over III, een gedeelte der weerstand van de P.sch., II en I de *negatieve* pool van de voorspanningsaccu A_2 met weerstand W_2 .

In stand 2 daarentegen krijgen we, komende van het rooster, via I en III, op IV eerst de *positieve* pool van een der beide elementen om van daar via II, W_1 , III en I naar de *negatieve* pool der voorspanningsaccu A_2 te komen. We zien, dat het op deze wijze mogelijk is de P.sch. op 2 verschillende manieren in de roosterketen op te nemen, waarbij 't verschil daarin bestaat, dat de *negatieve* pool van de te meten cel (E_2) resp. het Weston-normalelement (E_1) in stand 1 aan de zijde van het rooster en in stand 2 aan die van den gloeidraad is.

Aangezien we bij een grooten weerstand in de roosterketen last kunnen krijgen van electrostatische invloeden op de roosterpotential, zorgen we ervoor dat gedeelte van de installatie, waarop die invloeden zich kunnen doen gelden, hiertegen te beschermen. Daartoe plaatsen we zoowel de lamp als de wippen met de cellen in een blikken kooi, die, evenals de *negatieve* pool der voorspanningsbatterij, met de aarde is verbonden.

Stellen we ons nu eens voor, dat er een electronenstroom door de roosterketen loopt vanaf rooster naar gloeidraad. Dan zal bij grooten weerstand in deze keten daaromheen een potentiaalsprong ontstaan, die in dit geval het rooster een hoogere *negatieve* potential geeft dan oorspronkelijk. De sterkte der plaatstroom zal hierdoor verminderen. Hadden we dus bij kort gesloten rooster-

stroom (kortgesloten over wip I) den galvanometer G door middel van de compensatieaccu A_5 met weerstand W_3 op zijn nul-stand gebracht, dan zal deze nu een uitslag vertoonen. En wel zal, voor het geval de P.sch. gecompenseerd staat, deze uitslag op den galvanometer even groot zijn, en naar denzelfden kant, onverschillig hoe we de P.sch. in de roosterketen inschakelen. We zouden ons er dus mee tevreden kunnen stellen om de E.M.K. van de cel te meten door dat punt op W_1 te zoeken, waarbij deze uitslag van den galvanometer even groot en naar dezelfde zijde gericht is, onverschillig op welke wijze we de P.sch. in den keten opnemen. Het is echter nauwkeuriger om te meten door *dat* punt te zoeken, waarbij de galvanometer-naald bij inschakeling van de te meten cel geen uitslag vertoont en daartoe moeten we met onzen roosterstroom op het nul-punt zijn. Dit nul-punt kunnen we verkrijgen door hetzij gloeispanning, hetzij roosterspanning of plaatspanning te varieeren en wel ieder afzonderlijk of in combinatie. We hebben echter gezien, dat, om een groote nauwkeurigheid te verkrijgen, ook een groote verandering van plaatstroom bij variatie van de roosterspanning gewenscht is. Deze beide condities moeten we dus in het oog houden.

Zal de meting beginnen, dan is het zaak eerst gedurende eenigen tijd de lamp te laten branden, omdat in het begin de sterkte van den plaatstroom nogal varieert. Als verschillende oorzaken hiervoor kan men o.a. aangeven de E.M.K. der verschillende batterijen, die eerst na eenigen tijd in werking te zijn geweest een constante waarde aannemen. Ook zullen, wat de lamp zelf betreft, de warmte-ontwik-

keling hierin en de uitstraling van deze warmte pas na eenigen tijd een evenwichtstoestand hebben bereikt.

Bij het meten der cellen gebruikten wij voor het op constante temperatuur houden een oliebad, waarin cel en Weston-normaalelement gehangen waren. Dit bad behield zijn temperatuur door een er zich in bevindende looden slang in verscheiden wikkelingen, waardoorheen uit een thermostaat water werd gepompt. De temperatuur van het oliebad konden wij op deze wijze zeker op 1° C. constant houden, wat voor de nauwkeurigheid der metingen voldoende is. Meestal lagen de schommelingen binnen 0.5° C.

De vaatjes met ronden bodem voor de halfelementen waren uit een buis van ± 4 c.M. doorsnede gemaakt. Vlak bij dezen bodem was een capillair aangesmolten, die eerst verticaal naar boven gebogen was, dan ter hoogte van den bovenrand van het vat horizontaal omhoog (in dit deel was een kraantje aangebracht) en tenslotte weer verticaal naar beneden liep tot even voorbij den bodem. Zoo konden zij — in het oliebad gehangen — met hunne capillairen in een uitvlokglasje, dat ook in het bad stond, uitmonden. Bij de eerste metingen kwam elke capillair in een eigen uitvlokglasje, waarin een weinig der vloeistof uit het vaatje zelf zich bevond. Door een hevel werd dan de verbinding tusschen de verschillende glaasjes tot stand gebracht. Later mondden ze allen in hetzelfde glaasje uit, dat dan met een verzadigde zoutoplossing gevuld was en op constant niveau gehouden kon worden door een overloopinrichting. De zilverelectroden gingen door een boring in de gummistop, die het vat afsloot. Door een tweede

boring in deze stop was een capillair met kraan aangebracht. Bij de laatste metingen met verzadigde zoutoplossing als tusschenvloeistof werden de capillairen voor iedere meting even doorgespoeld. Dit geschiedde door eerst de kraan in de capillair in de kurk te openen en te sluiten en daarna de kraan in de aan den bodem van het vat aangesmolten capillair te openen.

METHODE DER KATAPHORESEMETINGEN.

Voor de kataphoretische metingen is ongeveer de schakeling gebruikt zooals deze door JANSSEN³⁸⁾ uitgewerkt werd; de kataphoresesnelheid werd volgens KRUYT en VAN DER WILLIGEN³⁹⁾ berekend. Daar het sol met gewone belichting niet te zien was, werd op de wijze als door TENDELOO⁴⁰⁾ aangegeven — door een smallen lichtbundel in elk van de beenen der U-buis te werpen — het grensvlak door zijn Tyndalllicht zichtbaar gemaakt.

Voor den hoofdstroom gebruikten wij den stadsgelijkstroom. Zooals fig. 10 aangeeft kunnen wij daarvan, door regelen der beide rheostaten W_1 en W_2 , aan de uiteinden van W_1 de gewenschte spanning afnemen, waarvan de stroom dan via wip I en den milli-ampèremeter M.A. naar de beide electroden A en B in de aan de beenen der U-buis aangesmolten zijstukken werd geleid. De spanning werd gemeten door den voltmeter V_1 , om ongeveer een indruk te hebben van het voltage en de verandering hiervan tijdens de proef.

De hulpelectroden a en b waren in de U buis ingesmolten en door middel van twee met kwik gevulde aangesmolten buisjes kon contact gemaakt worden met de hulp-E. M. K. Deze werd geleverd door een aantal accumulatoren E_1 , waartegen een gewenschte tegen-E. M. K. door E_2 kon worden ingeschakeld. In het begin der proef stelden

³⁸⁾ BENDIEN en JANSSEN. Rec. Trav. Chim. **46**, 739 (1927).

³⁹⁾ KRUYT en VAN DER WILLIGEN. Koll.Z. **44**, 22 (1928).

⁴⁰⁾ TENDELOO. Diss. Utrecht 1926.

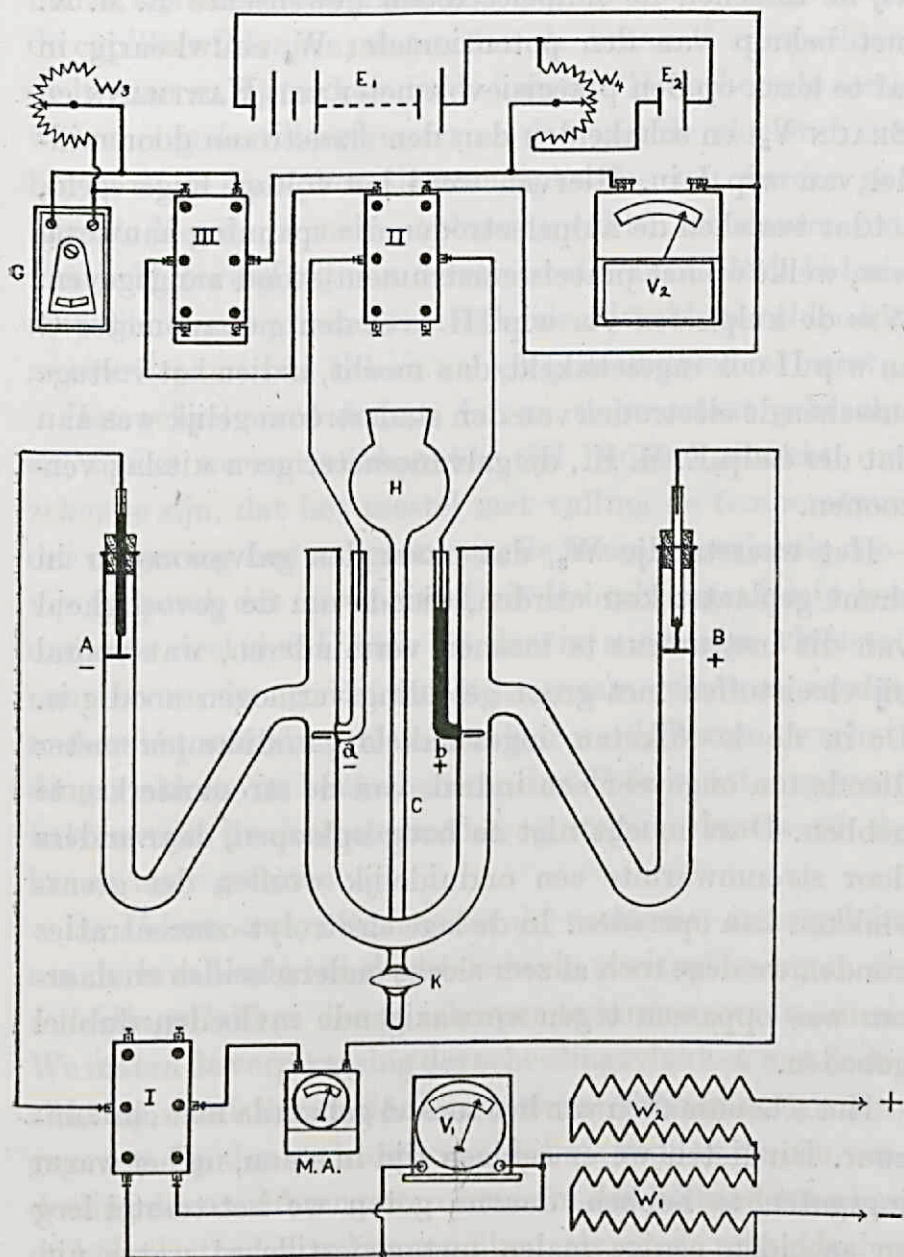


Fig. 10.

wij de tusschen de hulpelectroden gewenschte E. M. K. met behulp van den potentiometer W_4 nauwkeurig in (af te lezen op den praecisievoltmeter van HARTMANN en BRAUN V_2) en schakelden dan den stadstroom door middel van wip I in. Hiervan werd het voltage bijgesteld, totdat tusschen de hulpelectroden die spanning aanwezig was, welke op het praecisieinstrument stond aangegeven. Was de hulpketen via wip III over den galvanometer G en wip II ook ingeschakeld, dan mocht, indien het voltage tusschen de electroden van den stadstroom gelijk was aan dat der hulp-E. M. K., de galvanometer geen uitslag vertoonen.

Het weerstandje W_3 , dat naast den galvanometer in shunt geplaatst kon worden, diende om de gevoeligheid van dit instrument te kunnen verminderen, wat vooral bij vloeistoffen met groot geleidingsvermogen noodig is. De in de hoofdketen ingeschakelde milli-ampèremeter diende om ongeveer een indruk van de stroomsterkte te hebben. Deze mocht niet te hoog oploopen, daar anders door stroomwarmte een onduidelijk worden der grensvlakken kan optreden. In de lage electrolyt-concentraties konden we deze toch al zeer slecht onderscheiden en daarom was oppassen tegen verwazigende invloeden dubbel geboden.

Het schoonmaken van het toestel gebeurde met chroomzuur. Dit lieten we er eenigen tijd in staan, na het warm ingegoten te hebben, daarna goten we het toestel leeg en spoelden eenige malen met gedestilleerd water uit. Van de oplossing, waarvan de kataphoresesnelheid bepaald zou worden, lieten we, als dit afgeloopen was, eenige

malen achtereen een klein gedeelte door het vaatje H en de capillair C loopen, sloten dan de kraan K en spoelden de beenen en zijstukken der U-buis uit. Dit gebeurde eerst weer met gedestilleerd water en dan met de vloeistof, die boven de te kataphoretiseeren oplossing zou worden gebracht. Met de te meten oplossing vulden wij daarna het vaatje H, terwijl wij met de vloeistof, waarmede de U-buis met zijbuizen gereinigd was, de beide zijstukken vulden tot ze overliepen in de U-buis en ook gedeeltelijk deze laatste.

Het geheel werd daarna in een thermostaat gebracht en, nadat we een voldoende tijd hadden gewacht om zeker te zijn, dat het toestel met vulling de temperatuur der omgeving had aangenomen, de kraan voorzichtig zoover geopend, dat de vloeistof uit H heel langzaam in het onderste deel der U-buis de daarin aanwezige vloeistof naar boven drong. Dit moest langzaam gebeuren, omdat anders het scheidingsvlak onzuiver werd. Waren de scheidingsvlakken in beide beenen der U-buis tot ongeveer halverwege de hulpelectroden gestegen, dan werd de kraan weer gesloten.

De U-buis was, uitgenomen de voorkant, zwartgelakt om de invallende lichtbundels in de eiwitoplossing en de scheidingsvlakken des te scherper te kunnen waarnemen. We maten de verplaatsing der scheidingsvlakken met de inrichting, zooals deze in de dissertatie van TENDELOO⁴¹⁾ is aangegeven. Op den voorkant van de buis hadden we een verdeling doen aanbrengen, zoowel om den afstand tusschen de hulpelectroden te kunnen ijken, als om de schaaldeelen der meetlatjes op de schaal der buis te kunnen herleiden.

⁴¹⁾ loc. cit. pag. 65 en vgl.

DE ZUIVERING DER EIWITTEN.

Het albumine en gelatine werden op de volgende wijze van electrolyt gezuiverd. Het gelatine werd volgens het door LOEB⁴²⁾ aangegeven procédé op haar isoelectrisch punt gebracht en gezuiverd door 50 gr. gekorrelde gelatine onder omroeren bij 3 L. van een azijnzuur-oplossing van 0.00779 N te brengen bij een temperatuur van 10° C.; hierna liet men onder zoo nu en dan roeren $\frac{1}{2}$ uur staan, decanteerde de bovenstaande vloeistof, vulde tot 3 L. aan met azijnzuur van dezelfde normaliteit en temperatuur, liet weer $\frac{1}{2}$ uur staan onder omroeren en filtreerde af door een gazen doekje. Het neerslag werd $5 \times$ met 1 L. gedestilleerd water van 5° uitgewasschen en het neerslag vervolgens door flink persen van het aanwezige water zooveel mogelijk bevrijd. Hierna werd het gelatine *of* direct opgelost tot een concentratie, waarvan de sterkte door indampen tot droog op het waterbad en dan eenigen tijd in de droogstoof op 100° verhitten werd vastgesteld, *of* het werd uitgespreid op een plaat van spiegelglas en dan, onder de noodige voorzorgen tegen verontreiniging met stof, door overblazen van heete lucht gedroogd. Van het op deze wijze gedroogde gelatine, die in zorgvuldig schoongemaakte stopflesschen bewaard werd, konden dan later de oplossingen van gewenschte sterkte gemaakt worden. Het

⁴²⁾ Eiweisskörper pag. 39.

zoo bereide gelatine was vrij van chloride en sulfaat, wat we constateerden door het te verasschen met CaO p.a. (dat we zelf eerst op mogelijk aanwezig zijn van deze verontreinigingen onderzochten) en de asch op bovengenoemde ionen te onderzoeken.

Verder werd ook nog van het gelatine een praeparaat gemaakt op de bovengeschetste wijze maar nu met 0.003N HCl en dit ook met heete lucht gedroogd.

Het albumine werd in twee verschillende stappen gezuiverd. Eerst volgden we een procédé van PIETTRE en VILA⁴³), die uit het serum alle eiwitten neerslaan door eerst HCl tot „neutrale reactie” (neutraal op lakmoes) en vervolgens $2\frac{1}{2} \times$ het volume aan aceton toe te voegen. Dit neerslag wordt afgefiltreerd, $2 \times$ met 1 L. aceton gewasschen en daarna met aether. Dit dient om zooveel mogelijk van de electrolyten en ook van de in aceton en aether oplosbare organische bijmengsels te verwijderen. Daar wij echter de adsorptieproeven aan albumine ook met AgNO_3 wilden doen, wijzigden wij de methode in zooverre, dat wij geen HCl gebruikten, maar dat het serum met CO_2 werd verzadigd, nadat de aceton was toegevoegd en wel, om de hoeveelheid opgenomen CO_2 zoo groot mogelijk te doen zijn, bij lage temperatuur. Het geheel lieten we een nacht in de ijskist staan en hevelden den volgenden dag zooveel mogelijk bovenstaande vloeistof af. Het neerslag werd verder als boven omschreven behandeld en hierna met zoo weinig mogelijk water uitgetrokken, om zooveel mogelijk de in water alleen reeds oplosbare eiwitten te scheiden van diegene, die slechts in

⁴³) PIETTRE en VILA. *Compt. rend.* **170**, 1466 (1920).

electrolythoudend milieu peptiseerbaar zijn. Met de verkregen oplossing herhaalden we nu nog $2 \times$ dezelfde bewerking om de electrolyten zooveel mogelijk eerst op deze wijze te verwijderen, daarmee meteen het gehalte aan minder lyophiele eiwitten te verkleinen en dus dat van het albumine te vergrooten. Ten slotte werd de oplossing ge-electrodialyseerd om de laatste resten electrolyt op deze wijze, sneller dan door gewone dialyse mogelijk was, geheel te verwijderen. Als criterium, dat we zoover waren, diende het feit, dat de op een milli-ampèremeter afgelezen stroomsterkte niet meer daalde. Was dit het geval dan werd nog gedurende 2 opeenvolgende dagen de electro-dialyse voortgezet en dan opgehouden. Van het ook nu nog neergeslagen globuline werd afgeheveld en de oplossing verder in de ijskast bewaard. Tegen mogelijke ontleding door bacteriën hadden wij reeds vóór de dialyse thymol toegevoegd.

De oplossing, waarmede de laatste serie proeven gedaan is, hebben wij, zonder eerst het procédé van PIETTRE en VILA toe te passen, door serum alleen te electro-dialyseeren van de globulinen en electrolyten bevrijd.

Bij de electro-dialyse moet men er voor zorgen, dat de stroomwarmte de oplossing niet op te hooge temperatuur brengt, wat een denatureeren van het albumine ten gevolge zou kunnen hebben. We zorgden dus, dat de temperatuur niet boven $\pm 25^\circ \text{C}$. steeg door in het begin met kleine spanningen te werken, die we, naarmate de dialyse langer geduurd had en daarmee het electrolytgehalte verder gedaald was, hooger opvoerden. Tegen het einde van het proces was het zoo mogelijk de volle spanning van

den stadsstroom (220 volt) te gebruiken. Vooral om een zich aan de eene pool ophoopen der globulinen, die zich dan aan de membraan afzetten en daardoor den weerstand verhoogen, tegen te gaan, hielden we de oplossing met een electrisch gedreven glazen roerder steeds goed homogeen. Het op deze wijze gezuiverde albumine was vrij van chloride en gaf een zeer zwakke sulfaatreactie, wanneer zij hierop werd onderzocht langs den reeds bij het gelatine beschreven weg. Het sulfaat kan natuurlijk herkomstig zijn uit organisch gebonden zwavel, die geoxydeerd werd gedurende het verasschen.

DE RESULTATEN DER METINGEN.

Daar het onderzoek bedoelt de adsorptie van ionen aan eiwitten te bepalen, was het dus zaak een ion te kiezen waarvan we konden vermoeden, dat het betrekkelijk sterk geadsorbeerd zou worden. Als zoodanig viel de keus eerst op het Cd^{++} . De Cd amalgaam electrode is echter zeer gevoelig voor sporen zuurstof, die we dus voor de meting grondig moesten verwijderen. Dit is nu met electrolytoplossingen alleen nog betrekkelijk eenvoudig, omdat men om dit te bereiken deze eerst kan verhitten, daarna een stroom zuurstofvrije waterstof doorleiden en zoo de laatste resten zuurstof uitdrijven. Verhitten kunnen we echter een albumineoplossing niet zonder de eigenschappen grondig te veranderen (het z.g.n. denatureeren) en doorleiden van een gasstroom stuit op het ernstige bezwaar, dat daarbij de eiwitoplossingen sterk gaan schuimen. Na een reeks voorloopige proeven in die richting besloten wij daarom bij een eenvoudiger ion, en wel het Cl' -ion, na te gaan of hiervan misschien een binding electromotorisch kon worden vastgesteld. Wel voelden wij direct het bezwaar, dat de hierbij optredende effecten waarschijnlijk veel kleiner zouden zijn en de proeffouten dus een veel grooter invloed zouden hebben.

Deze metingen werden uitgevoerd door met de AgCl electrode de E. M. K. van een NaCl oplossing te meten,

eerst zonder eiwit (in het vervolg de blancoproef genoemd) en dan nadat eiwit toegevoegd was.

Als ander halfelement diende een 0.1 N calomelelektrode, terwijl als tusschenvloeistof een verzadigde KCl oplossing gebruikt werd.

Bij azijnzure isoelectrische gelatine was tusschen deze twee oplossingen geen verschil te constateeren, indien we met een NaCl concentratie van 2.5 m. mol werkten. Ook proeven waarbij dit gelatine met zuur en loog positief resp. negatief geladen was, gaven geen verschil te zien. Dezelfde metingen aan albumine gaven bij 2.5 m. mol NaCl haast geen verschil. De proeffout is, zooals tabel 1 leert, te groot om tot een binding van het Cl'-ion te mogen besluiten.

TABEL 1.

E. M. K. in millivolts van 2.5 m. mol NaCl zonder (blanco) en met albumine.

Oplossing.	Vulling.	Eindwaarden E. M. K. vulling.	Grootste schommeling der eind- waarden.	Bereiding.
Blanco I . . .	<i>a</i>	97.3	0.2	25 c.c. 10 m. mol NaCl + 75 c.c. water.
	<i>b</i>	96.7	0	
	<i>c</i>	97.5	0	als boven.
	<i>a</i>	96.7	0	
Blanco II . .	<i>b</i>	97.3	0	25 c.c. 10 m. mol NaCl, in maatkolf tot 100 c.c. met water aange- vuld.
	<i>c</i>	96.9	0	
	<i>a</i>	97.3	0	
	<i>b</i>	97.5	0	
Blanco III . .	<i>c</i>	97.7	0	25 c.c. 10 m. mol NaCl, 50 c.c. albumine, aan- gevuld tot 100 c.c. met water.
	<i>d</i>	97.5	0.5	
	<i>a</i>	98.0		
	<i>b</i>	97.5		
2.5 m. mol NaCl + albumine .				

De temperatuur bij de metingen aan I, IIa en IIb was 19° C.; bij IIc, IIIa en IIIb 21° C.; bij IIIc, IIId en de beide albuminemetingen 23° C.

De halfelementen waren door een verzadigde KCl agar-hevel met elkaar verbonden.

De eindwaarden der metingen bij iedere vulling zijn goed constant zooals uit de kolom „Grootste schommeling der eindwaarden” te zien is. Tusschen de verschillende vullingen van een oplossing echter is de afwijking zoo groot, dat men uit het feit, dat het gemiddelde van de albumine oplossing (97.8) iets hooger ligt dan die der 3 blancoproeven (97.2, resp. 97.0 en 97.5 voor I, resp. II en III), toch geen conclusies mag trekken.

Om geheel zeker te zijn, dat bij het Cl'-ion geen belangrijke afwijkingen te vinden zijn, waaruit waarden voor adsorptie berekend konden worden, maten we ook nog 25 m. mol NaCl met en zonder albumine in dezelfde opstelling. De hiervoor gevonden waarden geeft tabel 2.

TABEL 2
*E.M.K. in millivolts van 25 m. mol. NaCl
zonder (blanco) en met albumine.*

Oplossing.	Vulling.	Eindwaarden E. M. K. van iedere vulling.	Bereiding.	Opmerkingen.
Blanco I . . .	$\left\{ \begin{array}{l} a \\ b \\ c \end{array} \right.$	$\begin{array}{l} 42.5 \\ 42.5 \\ 42.5 \end{array}$	25 c.c. 100 m. mol NaCl aangevuld met water tot 100 c.c.	Nadat eerst was na- gegaan na hoeveel tijd een constante eindwaarde was bereikt, werd in de volgende proeven dezen tijd gewacht om de cel tot evenwicht te laten komen.
Blanco II . .	$\left\{ \begin{array}{l} a \\ b \end{array} \right.$	$\begin{array}{l} 42.6 \\ 42.6 \end{array}$	Als boven.	
25 m. mol NaCl + albumine .	$\left\{ \begin{array}{l} a \\ b \end{array} \right.$	$\begin{array}{l} 41.4 \\ 41.4 \end{array}$	25 c.c. 100 m. mol NaCl, 50 albu- mine, aangevuld tot 100 met water	

De metingen zijn bij 16° C. uitgevoerd.

Zooals we zien, ligt bij deze metingen het verschil wel degelijk buiten de proeffout. Maar het vreemde is, dat wij hier een *grootere* Cl'-ionen concentratie vinden in de proef met eiwit, dan in de blancoproef. Aan een verontreiniging van het albumine met chloride kan dit niet liggen, want 1° heeft de analyse al uit gemaakt, dat dit niet aanwezig was en 2° had dan het effect bij 2.5 m. mol nog veel sterker moeten zijn. Ook kan het niet liggen aan een adsorptie der Ag'-ionen, zooals indertijd door PAULI werd aangenomen voor de mercuroionen uit $\text{Hg}_2 \text{Cl}_2$, aangezien dan bij 2.5 m. mol dit des te sterker op den voorgrond had moeten treden. Welke mogelijkheid we dan moeten aannemen, zal later nog besproken worden (zie blz. 106).

Aangezien echter op deze wijze gebleken was, dat een binding der Cl'-ionen, zooal aanwezig, zoo klein is, dat ze potentiometrisch niet te constateeren valt, gingen wij over tot de bepaling der binding van Ag'-ionen uit AgNO_3 aan gelatine en albumine.

Eerst werd aan een gelatine-oplossing onderzocht, of er met AgNO_3 een verschil te vinden was tusschen de blanco proeven en die waarbij gelatine gevoegd was (Tabellen 3 en 4). De metingen gebeurden met als electroden Pt draadjes, die met een stroomsterkte van ± 0.5 Amp. verzilverd waren in een $\text{KAg}(\text{CN})_2$ -oplossing.

Na iedere proef werden de electroden afgespoten met gedestilleerd water, dan een tijdje in verdund HNO_3 gezet, vervolgens weer met water afgespoten, een tijdje in water gezet en ten slotte nog eens weer afgespoten.

De behandeling met verdund HNO_3 pasten we toe om mogelijk door afspreiten met water niet verwijderd eiwit op te lossen.

Bij alle volgende proeven werden de electroden op deze wijze schoongemaakt.

Een overzicht van deze proeven geven de volgende tabellen.

TABEL 3.

0.25 m.mol AgNO_3 zonder en met 0.5% gelatine.
Hevel van 40% gelatine en verzadigde $\text{NaNO}_3 + \text{KNO}_3$ oplossing
(verhouding 15:85 molen).

No.	blanco			met gelatine			
	E. M. K. in m. volt gemidd. hoogste laagste			E. M. K. in m. volt gemidd. hoogste laagste			
Ia	323.8	324.9	320.9	313.9 312.8 314.5(-)	314.9 312.9 314.8	312.6 312.7 314.1	Ag-electrode geme- ten tegen 0.1 N calomel electrode. Temperatuur schom- melde tusschen 16° en 18° C.
IIa	322.2	322.7	321.6				
IIb	321.6	322.4	320.3				
2a							
2b							
2c							
Ib	323.8	324.2	323.3				
IIc	321.0	322.0	319.7				
IIIa	321.2	321.5	320.5				
IIIb	322.0	322.5	321.7				
IVa	321.2	321.4	320.8				
IIId	321.4	321.8	321.1				
1a				312.8	312.8	312.8	

TABEL 4

2.5 m.mol AgNO_3 met en zonder 0.5% gelatine. Hevel als boven.

No.	E. M. K. in m. volt		
	blanco	met gelatine	
IIIa	381.7		Ag-electrode gemeten tegen 0.1 N ca- lomel electrode. Temperatuur $\pm 17^\circ$ C. Gemeten tot constante eindwaarde.
IVa	381.8		
1c		377.0	
2d		377.2	
IVb	382.1		

Zooals te zien is, zijn de hierbij tusschen de proeven met en zonder gelatine optredende verschillen zoo groot, dat ze ver buiten de proeffout vallen en konden we hier dus met hoop op resultaat onze proeven voortzetten.

TABEL 5.
AgNO₃ met en zonder 0.5 % gelatine.

Oplos- sing No.	Conc. AgNO ₃ in m. molen	Eindwaarde E. M. K. in m. volt	Grootste af- wijking in m. volt	
Ia	25	27.5	0.1	Kolom grootste afwijking geeft de vooriedere vul- ling afzonderlijk groot- ste schommeling in de eindwaarde.
IIa	25	28.5	geen	
Ia	25 + gelatine	32.0	0.1	
IIb	25	28.6	0.1	
IIc	25	28.5	geen	
2a	25 + gelatine	31.7	0.1	
Ib	25	28.3	geen	
Ic	25	28.0	geen	
Ia	10	49.2	geen	
Ib	10	49.1	geen	
Ia	10 + gelatine	53.2	0.1	
2a	10 + gelatine	52.5	0.1	
Ic	10	49.2	0.1	
Ia	2.5	82.8	geen	
Ia	2.5 + gelatine	86.6	0.1	
2a	2.5 + gelatine	85.9	geen	
2b	2.5 + gelatine	87.1	geen	
IIa	2.5	83.1	0.2	
Ia	1	105.2	0.2	
Ib	1	105.2	0.2	
Ia	1 + gelatine	110.9	0.3	
Ib	1 + gelatine	110.4	geen	
IIa	1	105.9	geen	
IIb	1	105.1	geen	
Ia	0.25	140.6	0.5	
IIa	0.25	141.8	0.1	
IIb	0.25	140.7	0.3	
2a	1 + gelatine	110.1	0.1	

De bovenstaande reeks metingen (Tabel 5) werd gedaan aan gelatine met een eind-concentratie van 0.5 % en als vergelijkings-electrode Ag/0.1 N AgNO₃. Als verbinding tusschen de beide halfelementen hadden we een agarhevel met een verzadigde KNO₃—NaNO₃ oplossing (85 mol. op 15

mol.). Deze verbond de beide afgesneden reageerbuisjes waarin de uiteinden van de electrodebeenen uitkwamen.

De metingen zijn bij een temperatuur van 18° à 19° C. gedaan, wat de metingen tot en met de 1e blancoproef van de 1 m. mol betreft. De daarop volgende zijn bij een temperatuur van 23° C. uitgevoerd. Zooals de beide opeen-

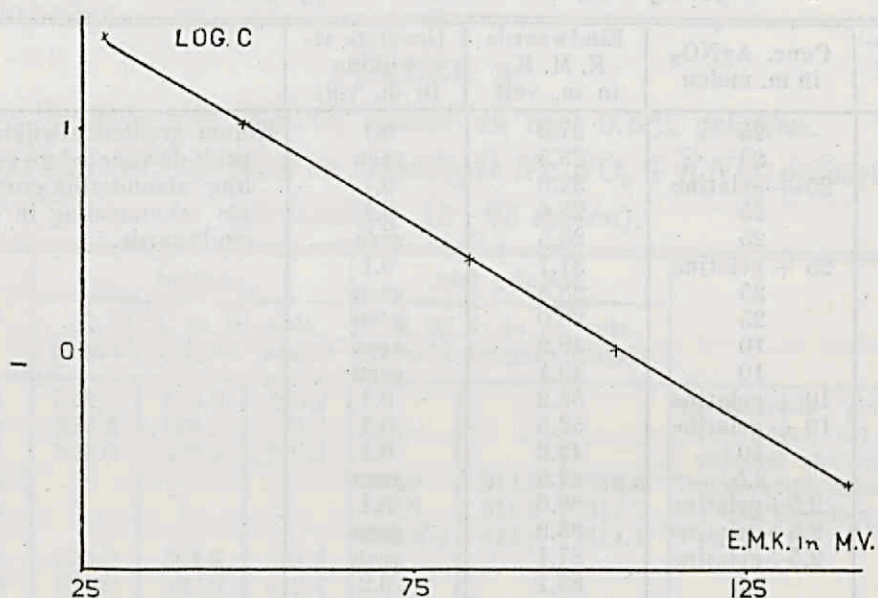


Fig. 11.

volgende blanco proeven van 1 m. mol. laten zien, heeft deze temperatuursverandering op de E.M.K. niet zooveel invloed, dat het bij de metingen voor den dag komt.

Van de uit deze proeven gevonden blancowaarden kunnen wij de logarithmen der concentraties (in millimolen) tegen de E.M.K. in millivolts afzetten en krijgen dan de lijn van fig. 11.

Men kan hieruit graphisch de waarden van de in oplossing achtergebleven en daaruit dus weer de door het gelatine gebonden hoeveelheden AgNO_3 door interpolatie

verkrijgen, of deze hoeveelheden berekenen, aannemende, dat de verandering der E.M.K. met de logarithme der concentratie een rechte lijn is, wat zooals men ziet inderdaad vrijwel het geval is. Voor die concentraties, waar een behoorlijke hoeveelheid AgNO_3 gebonden is, vindt men dan waarden, die goed overeenstemmen, maar bij geringe adsorptie wordt de proeffout bij graphische interpolatie te groot en moeten we dus de waarden berekenen. Een vergelijking tusschen de op deze beide manieren gevonden waarden geeft onderstaand tabelletje 6.

TABEL 6.

AgNO_3 gebonden aan 0.5 % gelatine.

Bruto conc. in m.-molen	In oplossing		Gebonden		
	achtergebleven				
	Graphisch	Ber.	Graphisch	Ber.	
25	21.10	22.22	3.90	2.78	} Waarden tegen Ag/0.1 N AgNO ₃ gemeten.
10	8.59	8.59	1.41	1.41	
2.5	2.16	2.17	0.34	0.33	
1	0.819	0.820	0.181	0.180	
2.5	2.07	2.07	0.43	0.43	} Waarden tegen calomel- electrode gemeten.
0.25	0.180	0.180	0.070	0.070	

Zooals uit de figuur 12 blijkt, waarin de waarden der gebonden en overgebleven hoeveelheden AgNO_3 (zoowel die tegen de $\text{Ag}/0.1$ AgNO_3 als die tegen de calomel-electrode gemeten) logarithmisch tegen elkander zijn afgezet, komt hierbij een rechte lijn te voorschijn. De waarde voor 0.25 m.mol AgNO_3 is hierbij geëxtrapoleerd in de veronderstelling, dat de E.M.K. in deze lagere concentraties nog op dezelfde wijze hiermede bleef veranderen. De waarde zooals wij ze met de calomel-electrode voor 2.5 m.mol. AgNO_3 vonden, blijkt binnen de

proeffout der bindingscurve met de tegen de zilver-electrode gemetene overeen te komen, zoodat het verantwoord is ook de met de calomelelectrode gevonden waarde van 0.25 m.mol. in deze figuur op te nemen, welke er dan ook goed in past.

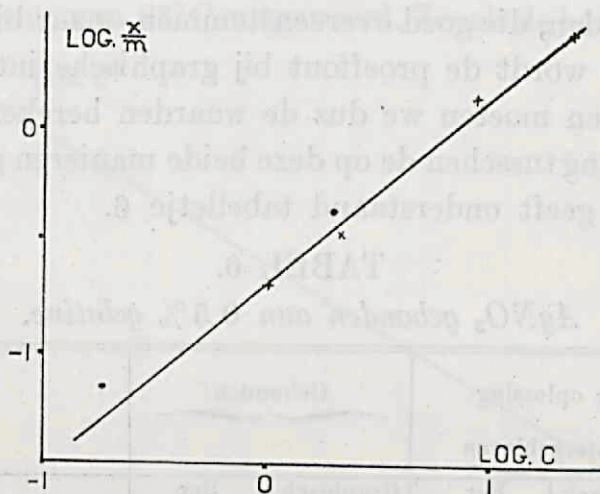


Fig. 12.

Ag-binding aan 0.5 % gelatine.

× waarden tegen Ag/0.1 N AgNO₃-electrode.

• waarden tegen 0.1 N calomel-electrode.

Hierna werd een andere concentratie aan gelatine genomen (2.05 %) en deze met AgNO₃ van verschillende concentratie verdund. Daartoe werd 25 c.c. van een AgNO₃ oplossing genomen en deze met de gelatineoplossing tot 100 c.c. aangevuld. De eind-concentratie aan gelatine in deze proeven wordt dus 1.5375 %. Tabel 7 geeft de hierbij gevonden E.M.K. met en zonder gelatine-toevoeging weer. De metingen werden op dezelfde wijze gedaan als bij de vorige proef, d.w.z. tegen een Ag/0.1 N AgNO₃ electrode verbonden door een hevel (gelatine) met KNO₃ + NaNO₃ in de daar aangegeven verhouding.

TABEL 7.

AgNO₃ met en zonder 1.5375% gelatine.

Conc.	blanco			met gelatine			
	No.	E. M. K.	Gr. Afw.	No.	E. M. K.	Gr. Afw.	
0.01	29	216.5	0				Concentraties in millimolen AgNO₃ (bruto-eindconcentratie), E. M. K. in millivolts. De kolom grootste afwijking geeft voor iedere oplossing de grootste schommeling in de eindwaarde. Uit de kolom No. is te zien de volgorde, waarin de proeven werden gedaan. De hoofden <i>blanco</i> en <i>met gelatine</i> geven de proeven zonder resp. die met gelatine aan. Bij proef 22 en 26 is niet nagegaan of de eindwaarde constant was, maar is de waarde genomen aan het eind van een tijdsverloop, waarbij bij de andere proeven een constante eindwaarde bereikt was. Temperatuur waarbij gemeten werd is 23° C.
0.01	30	213.1	0.8				
0.1	1	159.5	1.4	6	210.3	0.3	
0.1	2	159.9	0	7	208.9	0.1	
0.25	8	139.7	0	10	176.6	0	
0.25	9	139.7	0.1	11	176.7	0	
1	4	105.6	0.4	3	121.3	0.4	
1	28	105.4	0	5	120.8	0.4	
2.5	12	81.7	0	14	90.7	0	
2.5	13	81.7	0.1	15	90.8	0.1	
2.5	16	81.8	0.1				
10	17	47.9	0	19	52.0	0	
10	18	48.1	0	20	51.9	0	
25	21	26.6	0	22	28.3		
25	25	26.1	0	23	28.5	0.2	
25	26	26.1		24	28.2	0.1	
25				27	28.3	0.1	

Ook hier zien we, dat de verschillen tusschen de waarden met en zonder gelatine ver buiten de proeffouten vallen. De hieruit door berekening afgeleide hoeveelheid in oplossing achtergebleven en daaruit weer de gebonden hoeveelheid AgNO₃ geeft tabel 8. De logaritmen van deze waarden (dus in m.molen) tegen elkaar uitgezet vinden we in fig. 13.

Evenals bij de vorige metingen aan 0.5% gelatine, zien wij, dat bij hooger concentraties de gebonden hoeveelheid Ag⁺-ionen in absolute waarde stijgt, maar procentueel afneemt.

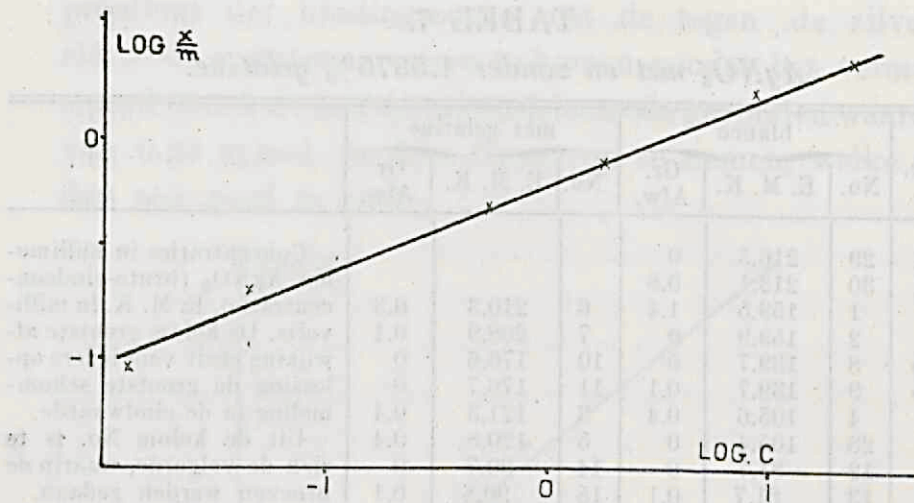


Fig. 13.

Ag⁺-binding aan 1.5375 % gelatine.

TABEL 8.

Ag⁺-ionen gebonden door 1.5375 % gelatine in milli-aequivalenten.

Conc.	Over	Absoluut gebonden	Procentueel gebonden
25	22.98	2.02	8.08 %
10	8.48	1.52	15.2 %
2.5	1.76	0.74	29.6 %
1	0.53	0.47	47.0 %
0.25	0.044	0.206	82.4 %
0.1	0.0124	0.0876	87.6 %

Ook zien we, dat metingen boven 25 m.mol. AgNO₃ bruto-eindconcentratie niet veel zin hebben, omdat daarbij de proeffout een veel te groote rol gaat spelen.

Thans kwam aan de beurt de meting van twee albuminesolen van verschillende sterkte, evenzoo twee gelatinesolen (gezuiverd volgens het azijnzuur procédé) van verschil-

lende concentratie en een gelatinesol volgens het HCl-procédé gezuiverd.

De eind-concentraties der solen waren voor het albumine resp. 1.521 % en 0.380 %, de azijnzure isoelectrische gelatine oplossingen 1.537 % resp. 0.3845 % en de HCl isoelectrische gelatine-oplossing 0.375 %. De azijnzure zoowel als de zoutzure gelatine-oplossingen waren gemaakt uit isoelectrische gelatine dat drooggeblazen was, dus niet zooals bij de eerste proeven direct in oplossing gebracht na zuivering. De eindconcentratie van de geconcentreerde azijnzure iso-electrische gelatine-oplossing hier is echter even groot als in de vorige proevenreeks. Bij de nu volgende reeks werden van deze gelatineconcentratie alleen de waarden bij 0.25, 2.5 en 25 m.mol. AgNO_3 gemeten en men zal zien, dat de verschillen met de vorige gelatine-oplossing belangrijk zijn. De proeven zijn bij deze metingen niet zoo goed reproduceerbaar als bij de vorige reeks, maar het verschil is toch duidelijk te zien. Deze minder goede reproduceerbaarheid lag blijkbaar aan den hevel. Waarschijnlijk hadden de in zoo'n hevel optredende diffusiepotentialen bij de vorige metingen betrekkelijk snel een gedurende de geheele proefserie constante waarde aangenomen. Bij de hier verrichte proevenreeks was het niet mogelijk deze reproduceerbaarheid weer te verkrijgen, niettegenstaande zeer vele voorproeven, waarbij ook onderzocht werd of dit verschil misschien aan de elektroden kon liggen. Het was echter het belangrijkste om te constateeren 1° of de geadsorbeerde hoeveelheid Ag^+ -ionen bij het gelatine van zijn bereidingswijze afhing 2° of zoutzure isoelectrische

gelatine Ag'-ionen anders bond dan azijnzure en 3° hoe of de binding van Ag'-ionen aan albumine verliep. Deze 3 punten waren zoo toch wel uit te maken en daarom werd dus met deze cel, welke niet zulke mooie waarden als de vorige gaf, doorgewerkt.

Tabel 9 geeft de E.M.K. der verschillende eindwaarden in m. volt. De kolom „No” geeft weer het volgordennummer der proeven aan en die met „Gr. A.” de grootste schommeling in de eindwaarden bij elke proef afzonderlijk.

Nemen we van al deze proeven voor de bij elkaar hoorende waarden der E.M.K. de gemiddelden, en zetten we de blancowaarden graphisch uit tegen de logarithmen der concentraties, dan krijgen we door graphische interpolatie voor de gebonden hoeveelheden de waarden van tabel 10.

TABEL 10.

Gebonden hoeveelheden AgNO_3 in m. molen.

Bruto conc. in m. molen	Gec. az. z. gelat.		Verd. az. z. gelat.		Gec. albumine.		Verd. albumine.		Zoutz. gelatine.	
	over	gebond.	over	gebond.	over	gebond.	over	gebond.	over	gebond.
0.25	0.083	0.167	0.169	0.081	0.011	0.239	0.066	0.184	0.044	0.206
1			0.87	0.13	0.012	0.988	0.197	0.803	0.708	0.292
2.5	2.05	0.45	2.46	0.04	0.030	2.47	1.02	1.48	2.15	0.35
10			9.5	0.50	1.89	8.11	7.02	2.98	8.7	1.30
25					11.9	13.1	20.7	4.3		

Beschouwen we hierbij eerst de waarden voor de geconcentreerde gelatineoplossing vergeleken met die van tabel 8, dan valt het groote verschil in binding tusschen

deze beide gelatines, die op dezelfde wijze uit hetzelfde gelatine bereid waren dadelijk op. Op het einde van de zuivering was echter het eene direct zonder droging opgelost, terwijl het andere eerst gedroogd en pas daarna opgelost was. Nu blijkt, dat bij 0.25 en 2.5 m. mol (bij 25 m. mol geeft het gedroogde gelatine geen verschil met de blancoproef) het eerst gedroogde gelatine *minder* bindt dan datgene, dat direct zonder voorafgaande droging werd opgelost.

Metingen om te controleeren of de p_H door de verschillende nabehandeling misschien belangrijk veranderd was, gaven tot resultaat bij het niet gedroogde gelatine waarden van 4.68, 4.69, 4.70 en 4.68 en bij het gedroogde van 4.65, 4.66, 4.64 en 4.65, dus voor het eerste een gemiddelde van 4.69, voor het tweede van 4.65. Met dit geringe verschil in p_H is zeker niet zoo'n afwijking in bindingsvermogen te verklaren, vooral niet waar we later bij het albumine zullen zien, dat een toevoeging van 1 m. mol zuur, die de p_H veel sterker beïnvloedt, slechts een kleine variatie in de binding van het Ag^+ -ion doet optreden.

Vergelijken we het HCl gelatine met het verdunde azijnzure gelatine van iets hooger gelatine concentratie, dan blijkt, dat het zoutzure gelatine in alle $AgNO_3$ concentraties veel sterker bindt. Bovendien is deze binding bij 0.25 m. mol $AgNO_3$ *even sterk* als die van het ruim $4 \times$ zoo geconcentreerde niet vooraf gedroogde azijnzure gelatine, dat, zooals we zagen, het sterkst adsorbeerde. Daarna wordt de binding veel minder, wat, in aanmerking genomen, dat in het eerst HCl nog mee heeft geholpen om Ag^+ -

ionen uit de oplossing te doen verdwijnen, niet verwonderlijk is.

Thans gaan we over tot het beschouwen der resultaten van de binding aan albumine, die graphisch is weergegeven in figuur 14. We zien, dat, voorzooover de

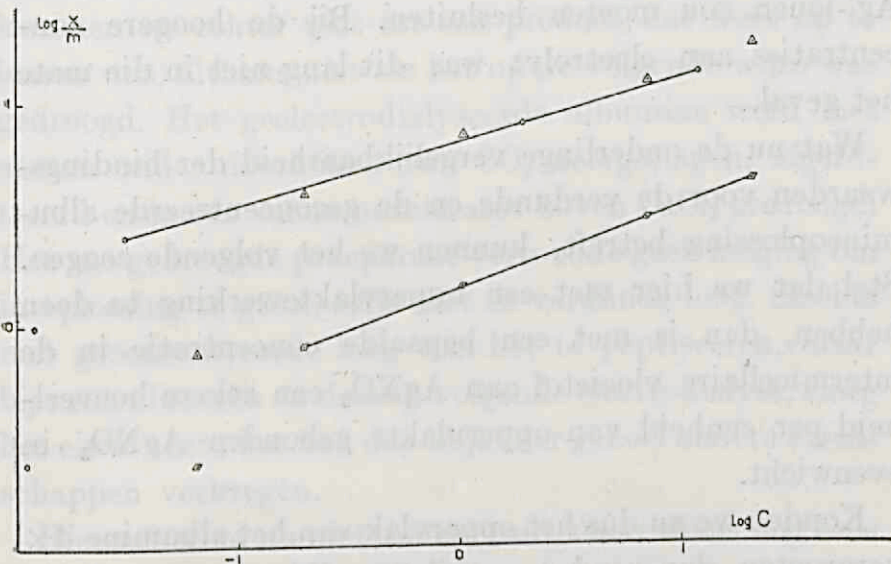


Fig. 14.

- gec. albumine.
- ◻ verdund albumine.
- Δ verdund albumine omgerekend op het geconc. sol.

gelogarithmeerde waarden der geconcentreerde albumine-oplossing betreft, drie van de vijf op een rechte lijn liggen en wel die waarbij de proeffout den minsten invloed heeft. De waarden voor 0.25 en 1 m. mol geven zoo'n groot gebonden gedeelte, vrijwel alles, dat daar de proeffouten een zeer groote rol gaan spelen en dit zijn dan ook de beide waarden die geheel buiten de rechte lijn vallen.

Bij het viermaal zoo verdunde albumine blijkt van de

vijf waarden slechts de laagste buiten de curve te liggen. Hier moeten we meteen even vermelden, dat het vooral in de lage electrolytconcentraties tamelijk lang duurde voor zich een evenwicht had ingesteld in de albumine-oplossingen en daarbij veranderde de E. M. K. zoo met den tijd, dat men hieruit tot een sterker binding der Ag⁺-ionen zou moeten besluiten. Bij de hoogere concentraties aan electrolyt was dit lang niet in die mate het geval.

Wat nu de onderlinge vergelijkbaarheid der bindingswaarden voor de verdunde en de geconcentreerde albumineoplossing betreft, kunnen we het volgende zeggen. Stel dat we hier met een oppervlaktewerking te doen hebben, dan is met een bepaalde concentratie in de intermicellaire vloeistof aan AgNO₃ een zekere hoeveelheid per eenheid van oppervlakte gebonden AgNO₃ in evenwicht.

Konden we nu dus het oppervlak van het albumine $4 \times$ vergrooten, dan zouden we bij eenzelfde concentratie in de intermicellaire vloeistof een $4 \times$ zoo groote hoeveelheid geadsorbeerd vinden. Passen we dat op het onderhavige geval toe, dan moeten we dus, om de waarden van het verdunde albumine met die van het geconcentreerde te kunnen vergelijken, de gebonden hoeveelheid van het eerste met 4 vermenigvuldigen en dan tegen dezelfde intermicellaire concentratie, als het verdunde sol bezit, logaritmisch uitzetten. Voor het geval we met een oppervlakteverschijnsel te maken hebben, moeten dan deze waarden vallen op de rechte, die wij voor het geconcentreerde sol gevonden hadden.

En zooals wij zien is de overeenstemming hier werkelijk duidelijk aanwezig.

Nadat voor het gelatine gevonden was, dat men door droging een praeparaat kon maken met andere bindingscapaciteit, dan dit zelfde gelatine direct in water opgelost bezat, werd bij albumine hetzelfde geprobeerd. Hierbij kwamen we echter niet tot een product, dat weer op te lossen was, althans niet als het op de volgende wijze was gedroogd. Het geelectrodialyseerde albumine werd met aceton onder doorleiden van CO_2 neergeslagen, afgefiltreerd en in een vacuumexsiccator boven CaCl_2 gedroogd. Het zoo gedroogde praeparaat vertoonde geen neiging om in oplossing te gaan, zelfs niet in verdunde loog. Slechts met geconcentreerde loog was het te peptiseeren, maar bij neutraliseeren en daarop volgende electrodialyse, sloeg het eiwit neer: het had dus blijkbaar geheel andere eigenschappen verkregen.

Hiermee werd nu niet doorgegaan, maar thans nog eens naast elkaar aan eenzelfde albuminepraeparaat de adsorptie en de kataphorese bij toevoeging van AgNO_3 nagegaan. Kataphorese bepalingen met het sol, waarmee we de in tabel 9 en 10 vermelde proeven gedaan hadden, toonden aan, dat dit oorspronkelijk negatief geladen was geweest.

Het in de volgende proeven gebruikte albumine hadden wij, zooals reeds vroeger aangegeven is, gezuiverd door het serum direct te electrodialyseeren en niet eerst de gewijzigde methode van PIETTRE en VILA toe te passen. De eindconcentratie bij deze proeven bedroeg 0.593 %.

Wat de potentiometrische bepaling der AgNO_3 concen-

traties aangaat, daarbij werd de verbinding tusschen de halfelementen niet met hevels, maar met een verzadigde KNO_3 , NaNO_3 oplossing (verhouding 85 mol op 15), waarin de capillairen uitkwamen, tot stand gebracht.

Als halfelement, waartegen we maten, diende een Ag electrode in 400 m. mol Ag NO_3 oplossing.

De temperatuur gedurende de metingen bedroeg $\pm 25^\circ \text{C}$.

De metingen gebeurden nu als volgt: de vaatjes werden gevuld en in de thermostaat gehangen. Dan lieten

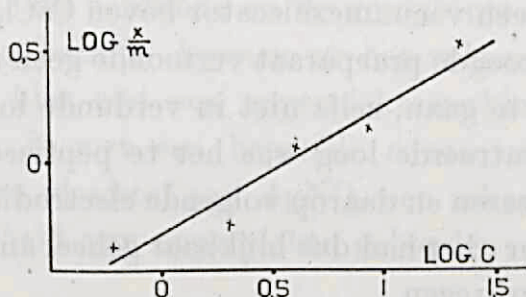


Fig. 15.

Ag-ionen binding van isoelectrische albumine (0.593 %).

wij ze ongeveer 2 uur staan om op temperatuur te komen en de E. M. K. gelegenheid te geven zich in te stellen. Hierop maten wij en na ± 20 minuten nog eens, om te zien of de waarde constant gebleven was. Meestal was de waarde wel iets veranderd, maar dan ging dit de 0.5 m. volt doorgaans niet te boven. Alle proeven werden op deze wijze gedaan om vergelijkbare resultaten te krijgen.

Voor de berekening werd dan het gemiddelde dezer twee getallen genomen.

De tabel 11 geeft een overzicht van de blancoproeven en de waarden der E. M. K. na toevoegen van 1° het gedi-

alyseerde albumine (dat volgens een kwalitatief onderzoek in het kataphoreseapparaat ongeladen was) en 2° albumine, dat met ruim 1 m. mol — nauwkeuriger gezegd 1.347 m. mol — azijnzuur positief geladen was (deze lading werd quantitatief kataphoretisch bepaald).

Daar van de 4 electroden er slechts 2 constante waarden gaven, werden met deze beide (I en IV) de metingen verder gedaan.

Onder het hoofd No vindt men de volgorde der vullin-

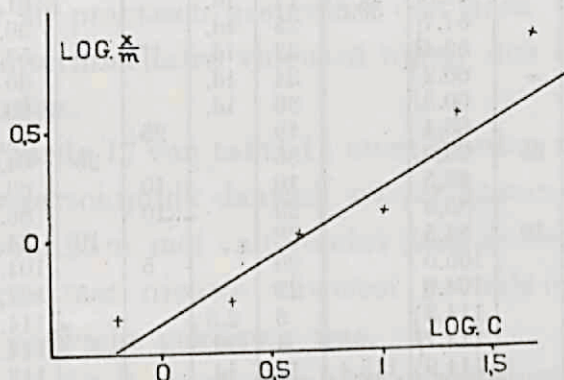


Fig. 16.

Ag⁺-ionen binding aan azijnzure albumine (0.593 %).

gen; de E. M. K. is als gewoonlijk in millivolts opgegeven. Van de waarden van deze laatste is, wat de blanco-proeven betreft, het gemiddelde genomen en deze tegen de logarithmen der concentraties (deze als bij de vorige proeven in millimolen uitgedrukt) uitgezet. Daaruit vonden wij dan door graphische interpolatie de geadsorbeerde en overgebleven hoeveelheden AgNO₃. Deze werden logarithmisch (logarithmen der m. molen) tegen elkaar uitgezet en wel in fig. 15 voor de oorspronkelijk isoelectrische albumine, in fig. 16 voor de azijnzure.

TABEL 11.

CEL I.						CEL II.						Gemid- delde E.M.K. van I en IV.
No.	Conc. AgNO ₃ in millimolen			E.M.K.	Gemid- delde E.M.K.	No.	Conc. AgNO ₃ in millimolen			E.M.K.	Gemid- delde E.M.K.	
	blanco	albumine					blanco	albumine				
		isoel.	az. z.					isoel.	az. z.			
32	50			42.6		32	50			42.7		42.7
31			50	46.2		31			50	46.2		46.2
1	25			59.4		1	25			59.1		
2	id.			60.4		2	id.			60.3		
16	id.			57.6		16	id.			57.8		
17	id.			62.8		17	id.			61.4		
25	id.			57.7	59.8	25	id.			56.5	59.5	59.7
33	id.			59.4		33	id.			59.4		
34	id.			60.2		34	id.			60.6		
36	id.			60.5		36	id.			60.6		
15		25		63.4		15		25		61.8		62.6
35			25	63.0		35			25	64.3		63.7
10		10		89.5		10		10		89.2		89.4
29		10		85.3		29		10		86.1		85.7
28			10	84.5		28			10	84.5		84.5
20		5		105.0		20		5		104.8		104.9
22			5	104.0		22			5	102.7		103.4
3	2.5			114.9		3	2.5			114.5		
4	id.			114.7		4	id.			114.4		
14	id.			114.9	115.4	14	id.			113.6	114.9	115.2
18	id.			116.2		18	id.			116.3		
21	id.			116.5		21	id.			115.7		
						27	id.			114.7		
12		2.5		122.4		12		2.5		121.2		121.8
30			2.5	121.3		30			2.5	120.6		121.0
13		1		151.0		13		1		149.6		150.3
24			1	149.8		24			1	148.5		149.2
5	0.25			174.9		5	0.25			171.9		
6	id.			172		6	id.			170.7		
7	id.			171.0		7	id.			171.3		
8	id.			174.6		8	id.			171.1		
9	id.			175.3		9	id.			171.4	171.2	
11	id.			175.4	173.0	11	id.			172.3		172.1
19	id.			170.2		19	id.			170.2		
23	id.			173.2		23	id.			171.2		
26	id.			171.5		26	id.			170.4		
27	id.			172.4								

De proeffouten zijn, zooals uit deze tabel is op te maken, vrij groot. Het doel was echter voornamelijk na te gaan, of de binding aan het positief geladen eiwit verschillend was van die aan het isoelectrische en om eenig idee te hebben van de concentratie der intermicellaire vloeistof. Bij een reeks proeven was n.l. gebleken, dat ultrafiltratie van albumine-oplossingen ondoenlijk was. Waren de collodiummembranen n.l. van dergelijke consistentie, dat zij geen albumine meer doorlieten, dan lieten zij practisch gesproken ook geen water meer door. De intermicellaire vloeistof moest dus synthetisch bereid worden.

Bij de waarde 17 van tabel 11 moet worden opgemerkt, dat deze waarschijnlijk daarom zoover buiten de andere waarden voor 25 m. mol valt, omdat daar de vergelijkings-electrode pas met nieuwe vloeistof gevuld en dus nog niet tot evenwicht gekomen was.

Nemen wij dit in aanmerking en vergelijken we dan de waarden van azijnzure en isoelectrische albumine met de onmiddellijk voorafgaande blanco waarden, dan zien we, dat de azijnzure oplossingen iets minder binding vertoonen dan de isoelectrische.

De eerste waarde (No. 10) voor 10 m. mol bij isoelectrische albumine gaf een ver buiten de adsorptierechte liggende waarde. Toen we deze later weer bepaalden (No. 29) bleek zij beter met de andere overeen te komen. De eerste is dus als waarschijnlijk fout (fout in het maken der oplossing misschien) buiten de berekening gelaten.

We waren ook van plan geweest adsorptie- en kataphoresemetingen aan een negatief geladen sol te doen, maar

dat mislukte. Een albuminesol met 1 m. mol NaOH vlok-
te nl. met 1 en 10 m. mol AgNO_3 totaal uit.

Wat de kataphoreseproeven betreft, deze werden in
het reeds beschreven toestel uitgevoerd. Zooals we reeds
vroeger opmerkten, werd bij het geelectrodialyseerde al-
bumine — met zuiver water als bovenstaande vloeistof —
geen kataphorese gevonden, dit sol was dus isoëlectrisch.

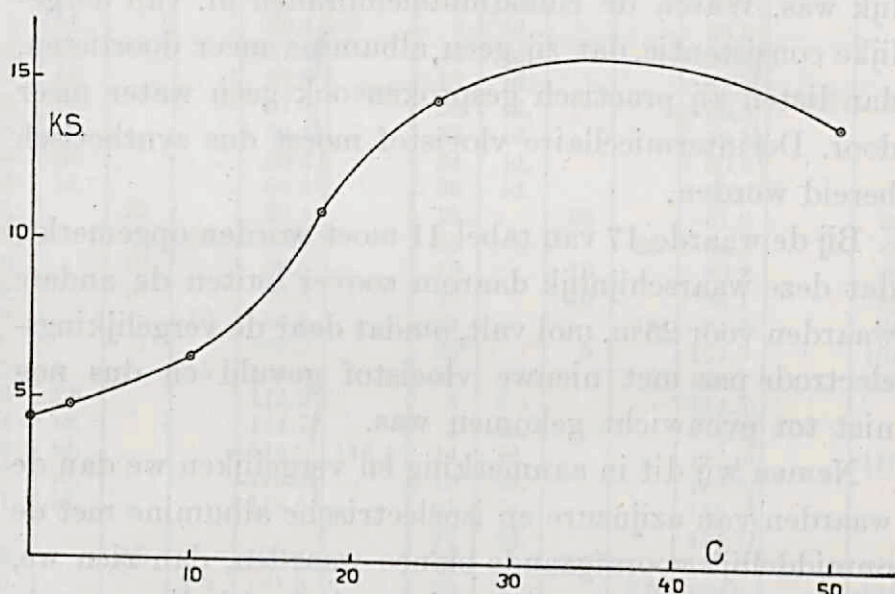


Fig. 17.

Bij de proeven, waarbij aan dit albumine AgNO_3 was
toegevoegd — met een vloeistof erboven, die dezelfde
 AgNO_3 -concentratie bezat als de intermicellaire vloeis-
stof —, werd wel een duidelijk positieve lading gecon-
stateerd, maar we konden door het verwazigen van het
oppervlak geen quantitative resultaten verkrijgen.

Bij het zure sol echter gelukte dit wel. Tabel 12 en fig.
17 geven de desbetreffende resultaten weer.

Erratum: Blz. 101, tabel 12, hoofd rechterdeel. Lees:

K.S. in μ per volt sec.

i. pl. v. K.S. in m.m.⁻³ per volt sec.

25	13.3	) gem. 11.1
50	13.6	

Zooals we zien komt duidelijk een curve met een maximum te voorschijn. Al mag de nauwkeurigheid vooral bij de lagere concentraties met hun waziger grensvlakken minder groot zijn dan in de hoge concentraties, toch is het algemeen beloop hier wel vastgelegd.

Thans komen we aan enkele proeven over uitvlokking door AgNO_3 met en zonder aceton.

Het was nl. bij het maken der oplossingen ons al opgevallen, dat sommige oplossingen een veel opalescenter uiterlijk vertoonden dan de andere en daarom hebben wij dit met enkele vergelijkende proefjes verder nagegaan. De oplossingen zijn, wat hare eindconcentraties aan albumine betreft, volkomen vergelijkbaar met diegene, waaraan de adsorptie- en kataphoresemetingen gedaan zijn.

TABEL 12.

Kataphorese aan azijnzuur-albuminesol.

Toegevoegd AgNO_3 in m. molen.	K.S. in m.m. ⁻³ per volt sec.
0	4.4
2.5	4.7
10	6.3
18	10.9
25	15.5
25	13.3
50	13.6

} gem. 14.4

Zooals we zien komt duidelijk een curve met een maximum te voorschijn. Al mag de nauwkeurigheid vooral bij de lagere concentraties met hun waziger grensvlakken minder groot zijn dan in de hoge concentraties, toch is het algemeen beloop hier wel vastgelegd.

Thans komen we aan enkele proeven over uitvlokking door AgNO_3 met en zonder aceton.

Het was nl. bij het maken der oplossingen ons al opgevallen, dat sommige oplossingen een veel opalescenter uiterlijk vertoonden dan de andere en daarom hebben wij dit met enkele vergelijkende proefjes verder nagegaan. De oplossingen zijn, wat hare eindconcentraties aan albumine betreft, volkomen vergelijkbaar met diegene, waaraan de adsorptie- en kataphoresemetingen gedaan zijn.

TABEL 13.

*Uitvlokking van isoelectrisch en zuur albumine sol
met AgNO_3 .*

Conc. AgNO_3 in m. molen	Uiterlijk van het isoelectrische sol	Uiterlijk van het azijnzure sol.
100	Neerslag met sterk troebele vloeistof	Neerslag met sterk troebele vloeistof
50	Sterk troebel.	Helder.
25	Helder.	Helder.
10	Troebel.	Troebel.
5	Helder.	Licht troebel.
2.5	Helder.	Helder.

TABEL 14.

*Uitvlokking van isoelectrisch en zuur albumine sol
met AgNO_3 in aceton milieu (20 %).*

Conc. AgNO_3 in m. molen	Uiterlijk van het isoelectrische sol.	Uiterlijk van het azijnzure sol.
50	Zeër troebel met neerslag.	Troebel.
25	Licht troebel.	Helder.
10	Helder.	Helder.
5	Zeër licht troebel.	Zeër licht troebel.
2.5	Licht troebel.	Troebel.
0	Troebel.	Helder.

We zien in deze proeven een onregelmatige reeks optreden met het AgNO_3 en wel in een gebied, waar dit niet alleen aan ladingsquaesties kan liggen, daar we in een gebied van oplading zijn, dat eerst boven de 25 m. mol ophoudt en dan in een van ontlading overgaat.

Het troebelingsgebied ligt echter in de lagere concentraties en wel bij ± 10 m. mol bij het acetonvrije sol en bij ± 2.5 à 5 m. mol in het aceton houdende. Hierop zullen we in de volgende samenvatting en bespreking der resultaten nader terugkomen.

SAMENVATTING EN BESPREKING DER RESULTATEN.

Bezien wij hetgeen de proeven ons geleerd hebben, dan kunnen wij twee hoofdpunten in de eerste plaats naar voren halen, die voor de beslissing, of men bij lyophiele eiwitten al dan niet met kolloide systemen te doen heeft, van overwegenden invloed zijn. Dit is ten eerste het feit, dat hetzelfde gelatinepraeparaat, afhankelijk ervan of het al dan niet sterk gedroogd is geweest, verschillend adsorbeert. En ten tweede dat men, uitgaande van de onderstelling, dat men bij de binding van AgNO_3 aan albumine met een oppervlakte-verschijnsel te doen heeft, de waarden van het $4 \times$ verdunde sol op die van het geconcentreerde kan omrekenen en dan tot zeer goed overeenkomende resultaten geraakt.

Wat het gelatine betreft moeten wij ons dus voorstellen, dat dit, isoelectrisch gemaakt en dan weer direct in oplossing gebracht, genoeg hydratatie water om de deeltjes heen heeft vastgehouden om ze te verhinderen tot al te groote conglomeraten met belangrijk kleiner totaaloppervlak samen te kleven. Zoodra echter deze stootkussens door sterke droging weggenomen zijn, waardoor de afstand tusschen de deeltjes zoo klein wordt, dat de moleculaire attractie zich in volle sterkte kan doen gelden, is de mogelijkheid gegeven voor het ontstaan van grooter complexen. Deze zijn nu niet zoo gemakkelijk

meer in kleiner deeltjes te splitsen bij het weer in water brengen, omdat daarvoor de electrostatische krachten der ladingen te klein zijn. Bij minder lyophiele kolloïden zagen wij een dergelijk verschijnsel bij de proeven van FODOR⁴⁴⁾, waar immers eerst zeer sterke loog-concentraties tot peptisatie in staat waren. Ook de proeven van MONA ADOLF⁴⁵⁾ aan het zoutglobuline wezen, zooals wij zagen, in een analoge richting. Bij het zoo lyophiele gelatine is het verschijnsel minder sterk, maar toch duidelijk genoeg te constateeren. Wat dit eiwit betreft, hebben wij dus wel bewezen, dat wij hier met een stof te doen hebben, waarvan wij het in onze hand hebben haar in water in grooter of kleiner eenheden te dispergeeren, afhankelijk van de bewerking, die wij haar eerst hebben doen ondergaan. Het is dus een stof, die in water niet in ware, maar in kolloïde oplossing bestaat.

Wat het albumine betreft, zooals wij zagen gaven de drogingsproeven hier (althans onder de omstandigheden, waaronder wij deze proeven deden) een zoo diep ingrijpende verandering in eigenschappen, dat een peptiseeren zonder electrolyt niet meer mogelijk was. De mogelijkheid is natuurlijk niet uitgesloten, dat men bij een minder intensieve droging een eiwit zou kunnen krijgen, dat nog lyophiel genoeg was om zonder peptisator in water gedispergeerd te kunnen worden en toch een hooger gehalte aan groote eenheden bezat dan het product, waarvan men was uitgegaan; hierover kunnen wij echter niets met zekerheid zeggen.

⁴⁴⁾ Zie pag. 20.

⁴⁵⁾ Zie pag. 19.

Dat wij echter toch ook bij het albumine, dat in water gedispergeerd is, met vrij groote stelligheid tot een kolloïd-dispers systeem mogen concludeeren, zien wij aan de proeven, die wij in het begin van dit hoofdstuk in de tweede plaats noemden. Wij kunnen uit de gegevens van het verdunde sol uitrekenen, hoeveel bij het geconcentreerde sol t.o.v. dezelfde intermicellaire concentratie gebonden zou zijn in de onderstelling, dat wij met een oppervlaktephae-nomeen te doen hebben. Dan blijkt dat de zoo berekende waarden, zooals wij reeds zagen, binnen de grenzen der proeffouten (die hier klein zijn) met de experimenteel gevonden waarden voor het geconcentreerde sol overeenkomen, wat dus een zeer sterke steun voor de juistheid der praemisse is.

Zooals wij in het begin der proevenreeks zagen, gaf bij de proeven over Cl' -ionen adsorptie de bij 25 m.mol NaCl + albuminesol gevonden waarde een hooger Cl' -ionenconcentratie dan de blancoproef. Wij hebben toen al betoogd, dat hier geen Ag' -ionen adsorptie in het spel kon zijn, aangezien dat bij de proeven met 2.5 m.mol NaCl nog sterker het geval zou moeten wezen en de afwijking daar, zooal aanwezig, in elk geval op een *an*ionen binding zou wijzen. Nu kan er echter nog iets anders het geval zijn: de hydratatie der eiwitdeeltjes kan n.l. hier een rol spelen. Nemen wij aan, dat voor de berekening van de NaCl concentratie in een dergelijke eiwitoplossing alleen dat gedeelte van het water, dat niet als hydratatiewater gebonden is, mag worden berekend, dan zou dus om te beginnen de werkelijk aanwezige NaCl concentratie — indien er geen binding plaats vond — hooger zijn, dan de uit de brutoconcentratie berekende. In-

dien er nu ook nog binding van Cl' -ionen optreedt, dan zullen wij dus de resultante van twee verschijnselen meten in plaats van slechts het eene verschijnsel alleen. Laten wij eenvoudigheidshalve aannemen, dat de hydratatie niet noemenswaard met de lading verandert, althans niet bij zoo zwakke opladers als eenwaardige kat- of anionen. Dan zal het effect der binding (vermindering der ionenconcentratie) sterker kunnen zijn dan dat der hydratatie (geconcentreerder worden der oplossing), wanneer wij met lage electrocytconcentraties te doen hebben. In de hogere concentraties daarentegen, waar de adsorptie procentueel zooveel minder is, zal de hydratatie-invloed overheerschen en zullen wij dus een geconcentreerder oplossing vinden dan bij de blancoproeven. Er zal een punt zijn waar beide invloeden elkander opheffen; bij kleiner concentraties zal het bindingseffect sterker zijn, bij grooter concentraties het hydratatieeffect. In de concentratie van 25 m.mol zouden wij dus volgens deze redeneering met het laatste geval te doen hebben; bij 2.5 m.mol zouden wij in een gebied zijn, waar beide effecten elkander vrijwel compenseeren.

De proeven aan het zoutzure isoelectrische gelatine met zijn vooral in lager concentraties AgNO_3 zoo sterke binding der Ag' -ionen leiden tot de slotsom, dat LOEB's bewering, als zou bij het met zuur isoelectrisch gemaakte eiwit door het uitwasschen met water alle verontreiniging verdwenen zijn, niet juist is. Het zoutzuur is nog wel degelijk aanwezig, evenals wij naar analogie hiervan mogen besluiten, dat het met azijnzuur isoelectrisch gemaakte gelatine zeker ook nog eenig azijnzuur moet

bevatten. Afgezien trouwens van iedere voorstelling over de wijze, waarop men zich het gelatine in oplossing gedispergeerd moet denken, moet een logisch opgezette redeneering al tot de conclusie leiden, dat er in het isoelectrische punt (bij die eiwitten, waar dit bij lager p_H dan 7 ligt) zuur aanwezig moet zijn. Juist het zuur moet immers de neiging van het eiwit om meer waterstof-ionen dan hydroxyl-ionen af te splitsen tegenwerken en zorgen, dat de ionisatie der carboxylgroepen en der NH_3OH groepen (of zouten hiervan) precies tegen elkander opwegen. Door de bindingsproeven aan de HCl gelatine is dit nogeens experimenteel bevestigd.

Komen we nu tot de proeven, waarbij aan isoelectrische en zure albumine adsorptie- zoowel als kataphoreseproeven gedaan zijn, dan kunnen we het volgende constateeren. Ten eerste wordt het Ag^+ -ion uit het $AgNO_3$ ionogeen gebonden, want het eiwit blijkt positief geladen te worden en dat zoowel bij het isoelectrische sol als bij het reeds positieve azijnzure sol. In dit laatste geval bleek door quantitatieve metingen, dat de lading nog verhoogd werd. Dit is dus een weerlegging, zoowel van PAULI's bewering, dat de binding tusschen albumine en $AgNO_3$ een moleculaire binding zou zijn, als van de theorie van LOEB. Volgens dezen zou het eiwit in het isoelectrische punt niet in staat zijn in noemenswaardige mate kationen te binden en deze mogelijkheid voor een eiwit aan de zure zijde van zijn isoelectrische punt zeker buitengesloten zijn. Indien men echter met oppervlakteverschijnselen te doen heeft, is de voorstelling volstrekt niet ongerijmd, dat een positief geladen wand nog wel

degelijk positieve deeltjes kan adsorbeeren, vooral bij die kationen, waarvan reeds bekend is, dat hun vermogen om geadsorbeerd te worden een sterk uitgesproken karakter heeft, al moet hier natuurlijk direct bijgevoegd worden, dat bij een neutraal of bij een negatief geladen oppervlak dit verschijnsel geprononceerder zal zijn. Dat men hier met ladingsquaesties te doen heeft, bewijst ten overvloede nog de proef, waarbij een met 1 m.mol loog negatief geladen albuminesol reeds bij een AgNO_3 concentratie van 1 m.mol werd uitgevlokt.

Tot slot willen we nog de gecompliceerde verschijnselen bij onze vlokkingsproeven van albumine bespreken, zoowel bij het isoelectrische als bij het positief geladen sol. Dit gebeurde in acetonvrij milieu en in een milieu met 20% aceton. Zooals we daar reeds even aanstipten, is het vreemde van het verschijnsel, dat het zich voordoet in het positieve gebied op dat deel der kataphoresecurve, dat een toenemende snelheid der deeltjes bij AgNO_3 toevoeging te zien geeft. Nu kan, zooals het onderzoek van KRUYT, ROODVOETS en VAN DER WILLIGEN⁴⁶⁾ al bewees, hierbij de berekening van de ζ uit de kataphorese snelheid, zooals zij gewoonlijk gebeurt, tot foute conclusies voeren. De variatie van één grootte (de dielectriciteitsconstante nl.) met de concentratie kan belangrijk wezen. Het teeken, dat deze verandering daarbij heeft, kan zoodanig zijn, dat, terwijl men volgens de oude wijze van berekening (waarbij deze variabele gemakshalve constant werd genomen) een ζ vond zeer veel hoger dan de kritische potentiaal, de elektrokinetische potentiaalsprong in werkelijkheid deze

⁴⁶⁾ Coll. Symp. 4 (1926), Zeitschr. f. physik. Chem. 130, 170 (1927).

kritische potentiaal reeds bereikt heeft of zelfs hieronder ligt. Echter behoeven wij niet aan te nemen, dat dit reeds in de kleine concentraties, waar de onregelmatigheid in de vlokking hier optreedt, het geval zal zijn.

Wat dan echter precies het mechanisme is, dat bij deze AgNO_3 toevoeging plaats vindt, is niet duidelijk. Dat het een dehydratatie invloed van het Ag^+ -ion is, kunnen wij reeds, behalve uit het troebelingsverschijnsel, opmaken uit het uiterlijk van het sol, zooals dat — in de hogere concentraties in de kataphoresebuis loodrecht op de invallende lichtbundel bezien — zich aan ons oog voordoet. Oppervlakkig bekeken is het sol helder, maar in de kataphoresebuis is bij deze hoge concentraties aan zilverzout het sol zeer veel duidelijker te zien, het verschil in brekingsindex tusschen soldeeltjes en omringende vloeistof dus blijkbaar veel grooter dan in het zoutvrije sol. Nemen we dus aan, dat de Ag^+ -ionen zoowel dehydrateerend als opladend werken, dus aan den eenen kant stabiliteitsverminderend en aan den anderen kant stabiliteitsverhoogend, dan is de reeks verschijnselen bij het isoelectrische sol verklaard. Bij het azijnzure sol stooten wij dan echter op een anomalie, aangezien daar zoowel lading als hydratatie van het begin af al grooter zijn en nu, anders dan we volgens dit beeld zouden verwachten, de troebeling reeds bij *lager* zout concentraties begint.

Wij moeten dus volstaan met het bestaan van een dehydratatie door het zilverzout te constateeren, maar tevens hieraan toevoegen, dat wij het mechanisme van dit gebeuren niet kunnen verklaren.

STELLINGEN.

I.

Voor het gedrag van BaSO_4 t.o.v. toenemende ThCl_4 concentraties is wel degelijk een eenvoudige kolloid-chemische verklaring te geven.

BALCAR en STEGEMAN, Journ. Phys. Chem. **32**, 1411 (1928).

II.

De verandering van het door zeepen ingenomen wateroppervlak met de p_H is te verklaren uit een vermindering van ionisatie en oplosbaarheid van de vetzuren bij afnemende p_H .

GORTER en GRENDÉL, Proc. Acad. Sci. Amsterdam **29**, 1262 (1926).

III.

De verschijnselen, die bij de *reductie* van het m.o. broomtoluylzuur en bij die van het benzylbromide optreden, zijn, wat de theorie der algemeene en der afwisselende geïnduceerde polariteit betreft, in lijnrechte tegenspraak met hetgeen men bij de *hydrolyse* dezer beide verbindingen opmerkt.

VAN DUIN, Chem. Weekbl. **22**, 146 (1925).

IV.

Het is ongeoorloofd zich op de wijze van BERGER en OLIVIER door het meten van hydrolyseconstanten in verschillend milieu een denkbeeld van de algemeene en geïnduceerde polariteitseffecten te willen vormen.

BERGER en OLIVIER, Rec. Trav. Chin. **46**, 516 (1927).

V.

De conclusies, waartoe STONER komt omtrent de structuur der buitenste schalen van de edelgassen, ont-nemen weder een steun aan de octettheorie van LEWIS en LANGUINES.

STONER, Phil. Mag. (6) **48**, 719 (1924).

VI.

De conclusie, waartoe LEWIS en MAYER komen, blijkt ongemotiveerd te zijn, indien men de resultaten van HIBBEN en LOOMIS en SMITH in aanmerking neemt.

LEWIS en MAYER, Proc. Nat. Acad. Sci. **13**, 623 (1927).

HIBBEN, Ibid. **13**, 626 (1927).

LOOMIS en SMITH, Journ. Am. Chem. Soc. **50**, 1864 (1928).

VII.

Hoewel men voor de dichtheden van zeewater in een afgesloten gebied met normaalwater als ijkvloei-stof voldoende nauwkeurigheid bereikt, is dit niet meer het geval voor de aan elkander grenzende gebieden van zeeën met een verschillende procentueele samenstelling der opge-loste zouten.

VIII.

Bij de bepaling van zeestroomingen in een vrijwel homotherme en homohaline watermassa zullen zuurstof-en fosphaatbepalingen van het grootste belang zijn.

U
1