

**PRAKTIKUM DER  
PHYSIKALISCHEN CHEMIE**

**INSBESONDERE DER  
KOLLOIDCHEMIE**

**FÜR MEDIZINER UND BIOLOGEN**

**VON**

**DR. MED. LEONOR MICHAELIS**

**A. O. PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT BERLIN**

**z. Z. PROFESSOR FÜR BIOCHEMIE AN DER**

**UNIVERSITÄT NAGOYA · JAPAN**

**DRITTE VERBESSERTE AUFLAGE**

**MIT 42 ABBILDUNGEN**



**Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH**  
**1926**

PRAKTIKUM DER  
PHYSIKALISCHEN CHEMIE  
INSBESONDERE DER  
KOLLOIDCHEMIE

FÜR MEDIZINER UND BIOLOGEN

VON

**DR. MED. LEONOR MICHAELIS**

A. O. PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT BERLIN

z. Z. PROFESSOR FÜR BIOCHEMIE AN DER

UNIVERSITÄT NAGOYA · JAPAN

Dritte verbesserte Auflage

MIT 42 ABBILDUNGEN



Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH  
1926

ALLE RECHTE, INSBESONDERE DAS DER ÜBERSETZUNG  
IN FREMDE SPRACHEN, VORBEHALTEN.

© SPRINGER-VERLAG BERLIN HEIDELBERG 1926  
URSPRÜNGLICH ERSCHIENEN BEI JULIUS SPRINGER IN BERLIN 1926

ISBN 978-3-662-35555-8  
DOI 10.1007/978-3-662-36384-3

ISBN 978-3-662-36384-3 (eBook)

## Vorwort zur ersten Auflage.

Das Interesse am Studium der physikalischen Chemie und der Kolloidchemie ist bei den Biologen und Medizinern in ständigem Wachsen begriffen. Ich glaube daher den Wünschen mancher Kreise entgegenzukommen, wenn ich diese kleine Sammlung von Übungsaufgaben zur experimentellen Einführung in das Fach herausgebe. Ich sehe gleichzeitig hierin zur Zeit die einzige Möglichkeit, um den mir kürzlich erteilten Lehrauftrag für dieses Fach nach der praktischen Seite zu erfüllen.

Der Inhalt ist ungefähr die Summe des Übungsstoffes, den ich Mitarbeitern und Schülern zur Einführung gegeben habe, mit einigen Erweiterungen. Die Versuchsbeispiele sind allmählich im Laufe der Jahre entstanden und zum Teil in wechselseitig fördernder Arbeit mit meinen Kollegen und Freunde P. RONA, zum Teil mit meinem Schülern und Mitarbeitern ausgearbeitet worden. Diesen Mitarbeitern habe ich dafür zu danken, daß sie sich mir zu gemeinsamer Arbeit anboten unter großen Entbehrungen an Bequemlichkeit, die ihnen die räumlichen Mißverhältnisse meines sogenannten „Laboratoriums“ auferlegten; und das Buch sei in erster Linie allen denjenigen gewidmet, denen ich aus Mangel an Raum die praktische Unterweisung, um die sie mich gebeten hatten, abzuschlagen genötigt war.

Einige Vorbemerkungen vor den Übungen sollen dem Ganzen einen wenn auch lockeren sachlichen Zusammenhalt geben; dem Praktikanten wird bei jeder Übung kurz auseinandergesetzt, worauf die angewendete Methode beruht, oder wie die Erscheinung, die er zu sehen bekommt, gedeutet werden kann. Bei der Auswahl der Versuche war ein subjektives Moment nicht zu vermeiden. Aber der Umstand, daß nur genau selbst ausprobierte, zum guten Teil selbst disponierte Versuchsanordnungen gegeben werden, wird hoffentlich als ein Sicherheitsfaktor zur Geltung kommen, der die Nachteile der subjektiven Färbung ausgleicht. Denn das Büchlein soll kein systematisches Lehrbuch der Methodik sein, sondern nur ein in Buchform niedergelegter praktischer Kursus von Übungsbeispielen, die mir lehr

reich schienen. Sollte einmal das Bedürfnis nach einer erneuten Ausgabe eintreten, so wird es mein erstes Bestreben sein, die noch bestehende Einseitigkeit auszugleichen. Zunächst habe ich das zu geben versucht, dem ich mich jetzt gerade gewachsen fühlte.

In der Ausführlichkeit der Darstellung wurden diejenigen Methoden und Versuchsbeispiele bevorzugt, die in der mir angemessenen erscheinenden Form noch nicht so verbreitet sind, während die seit langem zur Vollkommenheit ausgearbeiteten Methoden, wie Leitfähigkeitsmessungen, Gefrierpunktbestimmungen, kürzer gehalten wurden.

Die Reihenfolge der Übungen ist in erster Linie nach methodischem Prinzip geordnet. Das ist in gewisser Beziehung auch eine Ordnung nach sachlichem Prinzip, wenn auch nicht in strenger Durchführung. So mußte z. B. die Bestimmung der H-Ionen mit Indikatoren von derselben mit der Gaskette räumlich weit getrennt werden, und andererseits sind Beispiele aus der physikalischen Chemie im engeren Sinne und aus der Kolloidchemie durcheinander geworfen. So stehen das Löslichkeitsminimum einer Aminosäure und das Flockungsoptimum des Kaseins zunächst aus methodischen Gründen dicht hintereinander. Ich hoffe aber den Leser davon zu überzeugen, daß diese Anordnung auch nach sachlichem Prinzip die richtige ist.

Es handelt sich um eine innerlich zusammenhängende Gruppe von Methoden, von der es leicht ist zu prophezeien, daß sie in kurzer Zeit eine große nicht nur theoretische, sondern auch praktische Bedeutung in der klinischen Medizin, Bakteriologie, Serologie, Biologie, Nahrungsmittelchemie, Pharmakologie, Agrikulturchemie und vielen Zweigen chemischer Technik erlangen werden. Die Stellung der berufenen Gelehrten und Praktiker zu diesen Dingen schwankt in Deutschland noch zwischen ablehnendem Mißtrauen selbst gegen die bestbewährten Methoden und Theorien, und kritikloser Aufsaugung jedes neuen Begriffes, um nicht zu sagen: Wortes. Nur darin sind sie sich bisher alle einig gewesen, daß es nicht erforderlich sei, für praktischen Unterricht auf diesem Gebiet an den Universitäten zu sorgen. Die jüngere Generation und der Nachwuchs teilt nach meinen Erfahrungen diese Meinung der Berufenen nicht; ihr Lernbedürfnis ist erfreulich groß. Ihr sei dieses Büchlein als Ersatz für den lebendigen praktischen Unterricht gewidmet.

Berlin, Weihnachten 1920.

L. M.

## Vorwort zur zweiten Auflage.

Fast plötzlich ist die bisher so stiefmütterlich behandelte physikalische Chemie populär geworden. So kommt es, daß die Zeit seit der Herstellung der ersten Auflage dieses Praktikums zu kurz ist, als daß ich an eine wesentliche Änderung hätte denken können. Mein Versprechen, das Buch bei einer etwaigen neuen Ausgabe vielseitiger zu gestalten, konnte in so kurzer Zeit nicht eingelöst werden. Ich habe mich daher auf Ergänzungen und Verbesserungen beschränkt, die meist aus der Praxis der Lehrtätigkeit hervorgetreten sind, zu der mir in meinem neuen, von privater Seite ausgestatteten Laboratorium die schönste Gelegenheit geboten wurde.

Berlin, im August 1922.

L. M.

## Vorwort zur dritten Auflage.

Auch bei der Bearbeitung der dritten Auflage habe ich mich entschlossen, den bisherigen Charakter dieses kleinen Praktikums beizubehalten. Es soll auch jetzt nur ohne Vollständigkeit und ohne allzu strenge Systematik eine Sammlung geeigneter Übungen darstellen, die besonders den angehenden Biologen als Propädeutik für physikalisch-chemisches Arbeiten dienen möge. Die Ergänzungen, die ich hinzugefügt habe, halten sich im Rahmen des bisherigen Stoffes. Von ihnen mag erwähnt werden die Chinydronelektrode, die ionensemipermeable Membran, eine Übung zur besseren Beleuchtung der Ionenreihe. Einige der theoretischen Vorbemerkungen zu den Übungen sind erweitert worden. Auch hierin ist in den verschiedenen Abschnitten weder Gleichmäßigkeit noch Vollständigkeit noch strenge Systematik angestrebt worden, der leitende Gedanke war nur die diktatische Nützlichkeit.

Herrn Professor RONA spreche ich für die freundliche Hilfe bei der Korrektur meinen besten Dank aus.

Nagoya, Japan, im Dezember 1925.

L. M.

## Inhaltsverzeichnis.

	Seite
I. Das Prinzip des Reihenversuchs . . . . .	1
1. Übung: Quantitative Bestimmung des Labferments im Magensaft.	3
2. „ Quantitative Bestimmung des Pepsins im Magensaft	6
II. Flockungsschwellenwerte bei kolloiden Lösungen . .	7
3. Übung: Die Fällung von kolloidem (elektropositivem) Eisenhydroxyd durch Elektrolyte . . . . .	11
4. „ Die Fällung von elektronegativem Mastixsol durch Elektrolyte . . . . .	12
5. „ Der Farbumschlag des Kongorubin . . . . .	13
6. „ Das Stabilitätsmaximum einer Chlorsilbersuspension	14
7. „ Der Synergismus der Ionen . . . . .	15
8. „ Der Antagonismus der Ionen. . . . .	16
9. „ Wechselseitige Schutzwirkung und Fällung von Kolloiden . . . . .	18
10. „ HOFMEISTERSche Ionenreihe bei der Eiweißfällung .	20
11. „ Die HOFMEISTERSchen Ionenreihen mit Hämoglobin	21
12. „ Ionenreihen bei der Fällung von Glykogen . . . .	23
III. Einige Versuche über optische Inhomogenität. 13. Übung	26
IV. Die Bestimmung der Wasserstoff-Ionen durch Indikatoren . . . . .	28
a) Die Sonderstellung der H'- und OH'-Ionen . . . . .	28
b) Maßeinheit und Schreibweise . . . . .	29
14. Übung: Die Regulatoren oder Puffer . . . . .	31
15. „ Die Bestimmung der Wasserstoffzahl mit Indikatoren nach SÖRENSEN (mit Puffern) . . . . .	36
16. „ Der Salzfehler der Indikatoren . . . . .	42
17. „ Der Eiweiß- und Alkaloid-Fehler der Indikatoren	44
18. „ Die Bestimmung der Wasserstoffzahl mit Indikatoren ohne Puffer . . . . .	45
19. „ Der Säurefehler der Indikatoren . . . . .	50
20. „ Ph-Messung nach der Indikatorenmethode in einer gefärbten oder getrübten Flüssigkeit nach dem WALPOLESchen Prinzip. . . . .	53
21. „ Zur Theorie des Farbumschlags der Indikatoren .	55
22. „ Vereinfachung der Indikatorenmethode ohne Puffer: die Indikator-Dauerreihen . . . . .	55
23. „ Der Unterschied zwischen aktueller Azidität und Titrationsazidität . . . . .	58
24. „ Titration von Magensaft . . . . .	60
V. Fällungsoptima bei variierter Wasserstoffzahl . . . .	62
Das Prinzip der h-Reihe mit Salzkonzanz. . . . .	62
25. Übung: Das Kristallisationsoptimum oder Löslichkeitsminimum der m-Aminobenzoesäure . . . . .	63
26. „ Das Fällungsoptimum des Kaseins bei variierter h .	65
27. „ Herstellung von denaturiertem, kolloid gelöstem Serumalbumin und Bestimmung seines Flockungsoptimum	68

Inhaltsverzeichnis.

VII

Seite

28. Übung:	a) Die Alkoholempfindlichkeit der Gelatine bei variierter h	71
	b) Die Alkoholempfindlichkeit des genuinen Serumalbumins bei variierter h	72
29. „	Das Flockungsoptimum eines Gemisches von Tannin und Gelatine	73
30. „	a) Das Fällungsoptimum von Lezithin bei variierter h	74
	b) Das Fällungsoptimum von Lezithin-Eiweißverbindung	76
31. „	Die Säureagglutination der Typhusbazillen	76
VI. Oberflächenspannung		77
32. Übung:	Die Steighöhenmethode	78
33. „	Bestimmung der relativen Oberflächenspannung mit der Tropfenmethode (Stalagmometer nach J. TRAUBE)	80
34. „	Die steigende biologische Wirkung oberflächenaktiver Stoffe in homologen Reihen	82
35. „	Relative quantitative Analyse eines kapillaraktiven Stoffes	83
36. „	Nachweis des fettsplattendes Ferments im Blutserum	85
37. „	Nachweis des fettsplattendes Ferments im Magen- und Darmsaft	87
38. „	Beeinflussung der Sedimentierungs-Geschwindigkeit durch kapillaraktive Stoffe	88
39. „	Bedingt oberflächenaktive Stoffe; Einfluß der h auf die Oberflächenspannung	88
40. „	Titration mit einem bedingt oberflächenaktiven Stoff als Indikator	90
VII. Diffusion, Osmose, Filtration		91
41. Übung:	Diffusion	92
42. „	Dialyse	93
43. „	Die Kompensationsdialyse	95
44. „	Osmose	96
45. „	Diffusion durch eine ionensemipermeable Membran	99
46. „	Ultrafiltration	100
47. „	Gefrierpunktserniedrigung	101
48. „	Messung des osmotischen Druckes kolloider Lösungen	104
VIII. Quellung, Viskosität, Gallertbildung		106
49. Übung:	Quellungsmaximum und -minimum der Gelatine	108
50. „	Bestimmung der inneren Reibung (Viskosität) einer Lösung	110
51. „	Erstarrungsoptimum und Trübungsoptimum der Gelatine bei variierter h	113
IX. Elektrophorese und Elektroendosmose		115
52. Übung:	Die elektrische Kataphorese des Hämoglobin	116
53. „	Die quantitative Bestimmung der kataphorestischen Geschwindigkeit	120
54. „	Elektrische Kataphorese von roten Blutkörperchen bei Beobachtung im Mikroskop	123
55. „	Mikroskopische Beobachtung der elektrischen Kataphorese in einer Ölsuspension	126
56. „	Elektrische Endosmose durch eine Tonzelle	127
57. „	Elektrische Endosmose durch eine Kollodiummembran	128

	Seite
X. Adsorption . . . . .	129
58. Übung: Übersicht über die Typen der Adsorptionsmittel mittel und Adsorbenda . . . . .	129
59. „ Die Verdrängungserscheinungen . . . . .	131
60. „ Adsorption der Elektrolyte und der Farbstoffe. . . . .	131
61. „ Die FREUNDLICHsche Adsorptionsisotherme . . . . .	134
XI. Einfluß der $h$ auf die Fermentwirkung. . . . .	136
62. Übung: Der Einfluß der $h$ auf die Wirkung der Speichel- diastase . . . . .	137
63. „ Das Wirkungsoptimum des Pepsin . . . . .	138
64. „ Das Wirkungsoptimum der Katalase . . . . .	139
Elektrische Messungen. . . . .	140
XII. Messung der elektrischen Leitfähigkeit einer Lösung	
65. Übung . . . . .	143
XIII. Messung elektromotorischer Kräfte . . . . .	148
66. Übung: Herstellung eines Normalelements. . . . .	150
67. „ Der Gebrauch des Kapillarelektrometers . . . . .	152
68. „ Herstellung der Kompensationsschaltung zur Mes- sung elektromotorischer Kräfte mit Hilfe eines Meßdrahts . . . . .	154
69. „ Messung der EMK des Akkumulators. . . . .	155
70. „ Der Gebrauch der Rheostaten mit Vorschalt- widerstand . . . . .	157
71. „ Herstellung von Kalomelektroden und Cl-Konzen- trationsketten mit solchen . . . . .	159
72. „ Elektrometrische Bestimmung der Cl-Ionen in einer unbekannten Lösung. . . . .	163
73. „ Messung eines Diffusionspotentials; seine experi- mentelle Vernichtung . . . . .	166
74. „ Wasserstoffkonzentrationskette mit strömendem Wasserstoff . . . . .	167
75. „ Herstellung und Eichung einer gesättigten Kalomel- elektrode . . . . .	172
76. „ Wasserstoffelektrode mit stehender Gasblase. $h$ -Mes- sung im Serum . . . . .	174
77. „ $h$ -Messung im Blut . . . . .	175
78. „ Elektrometrische Mikroanalyse von Kalziumoxyd . . . . .	175
79. „ Das Diffusionspotential an einer Membran von Pergamentpapier . . . . .	178
80. „ Das Diffusionspotential an ausgetrockneten Kollo- diummembranen . . . . .	178
81. „ Das Membranpotential der Apfelschale . . . . .	180
82. „ Die elektrometrische Titration . . . . .	180
83. „ Die Chinhydronelektrode . . . . .	185
84. „ Membranpotentiale und DONNANSches Ionengleich- gewicht . . . . .	187
XIV. Reaktionskinetik . . . . .	190
85. Übung: Die Säurespaltung des Rohrzuckers. . . . .	190
86. „ Die fermentative Spaltung des Rohrzuckers . . . . .	194
Logarithmentafel . . . . .	198

## I. Das Prinzip des Reihenversuchs.

Es ist eine häufig wiederkehrende Aufgabe, eine nach irgend-einer Richtung hin ausgezeichnete Menge eines wirksamen Agens zu ermitteln; z. B. diejenige  $\text{ClNa}$ -Menge, welche eine kolloide Lösung soeben ausflockt; oder diejenige Menge eines Hämolsins, welche in einer Blutlösung bestimmter Zusammensetzung soeben komplette Hämolyse erzeugt, oder diejenige Konzentration der  $\text{H}$ -Ionen, welche das Optimum für die Ausflockung einer Eiweißlösung darstellt, oder diejenige Farbstoffmenge, welche in einer Lösung eine ganz bestimmte Farbtiefe erzeugt. Eins der gebräuchlichsten Beispiele in der Laboratoriumspraxis ist die Bestimmung derjenigen Menge eines für Hammelblut hämolytischen Kaninchenserum, welches bei gegebener Menge von Hammelblutkörperchen, gegebener Menge von Komplement und gegebenem Gesamtvolumen der Mischung soeben komplette Hämolyse erzeugt. Wir setzen zunächst einen groben Reihenversuch an mit 1 ccm, 0,1 ccm, 0,01 ccm, 0,001 ccm usw. und finden z. B., daß die soeben hämolytische Menge zwischen 0,001 und 0,0001 liegt. Daraufhin stellen wir eine feinere Reihe von Versuchen an, mit

Nr. 1	2	3	. . . . .	8	9	10
0,0001;	0,0002;	0,0003;	. . . . .	0,0008;	0,0009;	0,001 ccm

Nehmen wir an, das zweite Röhrchen sei völlig gelöst, aber das erste noch nicht, so können wir sagen: die hämolytische Dosis ist 0,0002, mit der Maßgabe, daß 0,0001 sicher zu wenig ist. Also erst ein Wert, der um 50 vH. geringer als der gefundene ist, kann mit Sicherheit als unzutreffend bezeichnet werden. Nehmen wir den Fall, wir hätten das 8. Röhrchen als das soeben lösende gefunden, so ist die hämolytische Dosis 0,0008 mit der Maßgabe, daß 0,0007, also ein um  $\frac{1}{8}$  oder 12,5 vH. niedrigerer Wert falsch ist. Der Genauigkeitsgrad, mit dem wir unsere Angaben machen können, hängt also von dem Zufall ab, wo in der Reihe die Grenzdosis gefunden wird. Das ist ein falsches Prinzip, ein systemloses Arbeiten. Fangen wir die Reihe an:

0,0001; 0,0002, so muß sie weiter gehen: 0,0004; 0,0008; 0,0016. Das ist eine geometrische Reihe mit dem Quotienten 2. Wollen wir feiner abstufen, so nehmen wir eine geometrische Reihe mit dem Quotienten 1,5 oder noch feiner, z. B. 1,2, je nach der überhaupt bei dem Material erreichbaren Genauigkeit. Also z. B., indem wir immer auf 2 Stellen abrunden:

	0,0010	0,0015	0,0022		
oder	0,0010	0,0012	0,0014	0,0017	0,0020

Wir umspannen also das fragliche Intervall durch 3 Glieder einer geometrischen Reihe mit dem Quotienten 1,5, oder durch 5 Glieder mit dem Quotienten 1,2. Liegt das fragliche Intervall zwischen 0,006 und 0,012, so sind die entsprechenden Reihen

	0,0060	0,0090	0,0135		
bzw.	0,0060	0,0072	0,0086	0,0104	0,0124

Wir werden bei einem ganz unbekanntem Material in der Regel zur Orientierung mit einer Reihe 1 : 10 : 100 usw. anfangen, dann in dem zutreffenden Intervall eine Reihe mit dem Faktor 2 machen, und schließlich je nach Art des Materials eine noch feinere Reihe.

Liegt uns daran, gerade eine Zehnerpotenz zu umspannen, so können wir das durch folgende Reihen<sup>1)</sup>:

Die Reihen umspannen alle das Intervall 0,1 bis 1,0.

Quotient der Reihe:	Zahl der Glieder:	Die Reihe lautet:
$\sqrt[2]{10} = 3,162$	3	0,10 0,32 1,00
$\sqrt[3]{10} = 2,154$	4	0,10 0,22 0,46 1,00
$\sqrt[4]{10} = 1,778$	5	0,10 0,18 0,32 0,56 1,00
$\sqrt[5]{10} = 1,585$	6	0,10 0,16 0,25 0,40 0,63 1,00
$\sqrt[6]{10} = 1,468$	7	0,10 0,15 0,21 0,32 0,46 0,68 1,00
$\sqrt[7]{10} = 1,390$	8	0,10 0,14 0,19 0,27 0,37 0,52 0,72 1,00
$\sqrt[8]{10} = 1,334$	9	0,10 0,13 0,18 0,24 0,32 0,42 0,56 0,75 1,00
$\sqrt[9]{10} = 1,291$	10	0,10 0,13 0,17 0,21 0,28 0,36 0,46 0,60 0,77 1,00

<sup>1)</sup> FULD, E.: Klin.-therapeut. Wochenschr. 1907, Nr. 11.

Häufiger wird es vorkommen, daß wir eine gröbere Reihe mit dem Quotienten 2 durch Zwischenschalten von Gliedern verfeinern wollen. Solche Reihen müssen in folgenden Verhältnissen abgestuft sein:

Quotient der Reihe:	Zahl der Glieder:	Die Reihe lautet:					
2	2	1,00	2,00				
$\sqrt[2]{2} = 1,414$	3	1,00	1,41	2,00			
$\sqrt[3]{2} = 1,260$	4	1,00	1,26	1,59	2,00		
$\sqrt[4]{2} = 1,189$	5	1,00	1,19	1,42	1,69	2,00	
$\sqrt[5]{2} = 1,149$	6	1,00	1,15	1,32	1,52	1,74	2,00

Es ist allerdings nicht notwendig, sich gerade an diese Reihen zu binden. Wir werden im folgenden meist mit freigewählten geometrischen Reihen verschiedener Feinheit arbeiten.

Die folgenden zwei Übungen sollen zunächst nur die praktische Anwendung dieses Reihenprinzips veranschaulichen.

### 1. Übung.

#### Quantitative Bestimmung des Labferments im Magensaft<sup>1)</sup>.

Es ist nur eine relative, quantitative Bestimmung möglich, bezogen auf eine willkürlich festgelegte Einheit des Ferments. Diese kann man in folgender Weise festlegen.

5 g Pepsin „Grübler“ werden mit 50 ccm 10proz. Kochsalzlösung versetzt, 8 Tage unter gelegentlichem Aufschütteln aufbewahrt, filtriert, das Filtrat mit der gleichen Menge Glycerin versetzt und verschlossen, dunkel und möglichst kühl aufbewahrt. Die Haltbarkeit der Lösung dürfte unbegrenzt sein. Der Titer fällt natürlich ungleichmäßig aus. Eine sicher reproduzierbare allgemein zugängliche Labeinheit existiert noch nicht. Bis dahin definiere sich jeder seine eigene Labeinheit.

Das Prüfungsobjekt ist am besten gekochte Milch, mit  $\frac{1}{10}$  Volumen einer 10proz. Lösung von  $\text{CaCl}_2$  versetzt (auf kristallisiertes, wasserhaltiges  $\text{CaCl}_2$  berechnet; auf große Genauigkeit der Lösung kommt es nicht an).

Es empfiehlt sich, eine solche Labverdünnung als Einheitslösung zu wählen, welche, mit der gleichen Menge dieser  $\text{CaCl}_2$ -

<sup>1)</sup> MICHAELIS, L. und ROTHSTEIN, T.: Biochem. Zeitschr. 105, 60. 1920.

Milch versetzt, bei Zimmertemperatur nicht schneller als in 8—10 Minuten Gerinnung hervorruft. Es pflegt dies eine etwa 10 000fache Verdünnung der Urlösung des „Pepsin Grübler“ zu sein. Wir nennen somit dann die 10 000fache Verdünnung unserer Ur- Lablösung die „Einheitsablösung“; 1 ccm derselben enthalte 1 „Fermenteinheit“ (FE).

Der Magensaft, dessen Labgehalt bestimmt werden soll, wird zunächst filtriert und dann davon eine Verdünnungsreihe angestellt, absteigend von unverdünntem bis etwa 500fach verdünntem Magensaft. (Bei Säften von normaler Azidität kann man die 10fache Verdünnung als höchste Konzentration wählen, bei anaziden beginnt man mit unverdünntem Saft.)

Man füllt in eine Reihe von 10 Reagenzgläsern je 1,0 ccm destilliertes Wasser; nur das erste dieser Röhren wird zunächst leer gelassen. In dieses füllt man mit einer auf Ausblasen geeichten 1 ccm-Pipette 1 ccm Magensaft ein. In das zweite Röhren (welches schon 1 ccm Wasser enthält) füllt man ebenfalls 1 ccm Magensaft ein, mischt durch wiederholtes Aufziehen mit der Pipette gut durch und überträgt 1 ccm davon in das 3. Röhren, mischt durch, überträgt 1 ccm in das nächste Röhren usw. Ist man beim 10. Röhren angelangt, so verwirft man den zum Schluß entnommenen 1 ccm, so daß in jedem Röhren 1 ccm Magensaft ist, und zwar in folgenden Verdünnungen:

$$\frac{1}{1} \quad \frac{1}{2} \quad \frac{1}{4} \quad \frac{1}{8} \quad \frac{1}{16} \quad \frac{1}{32} \quad \frac{1}{64} \quad \frac{1}{128} \quad \frac{1}{256} \quad \frac{1}{512}$$

Nun nehme man noch ein Reagenzglas, welches man, mit einer Markierung versehen, etwa in die Mitte dieser ganzen, auf einem Reagenzglasgestell stehenden Reihe fügt, und versetze es mit 1 ccm der 10 000fach verdünnten Ur- Lablösung. Dann fügt man aus einer graduierten 10 ccm-Pipette rasch hintereinander je 1 ccm der  $\text{CaCl}_2$ -Milch ein. Hierzu ist kaum 1 Minute insgesamt erforderlich. In Anbetracht der Grobheit dieses Vorversuchs kann diese Einfüllungszeit als ein „Zeitpunkt“ betrachtet werden. Man notiert diesen Zeitpunkt und beobachtet nun die Reagenzgläser. Man nimmt das ganze Gestell in die Hand, neigt es öfters abwechselnd nach hinten und richtet es wieder auf und beobachtet, wie die Milch von den Reagenzglaswänden abläuft. In den ersten Röhren wird man bald bemerken, daß die ablaufende Milch körnig ist. Es kommt nun darauf an, festzustellen, welches der Röhren gleichzeitig mit der „Kontrolle“ körnig wird. Man finde z. B., daß die Kontrolle zwischen Röhren 7 und 8 gerinnt, näher an 7 als an 8. Dann wird eine feinere Versuchsreihe angestellt, und zwar mit einer neu hergestellten

Magensaftverdünnung. Da der wahre Wert etwa zwischen  $\frac{1}{64}$  und  $\frac{1}{128}$  liegen muß, und zwar näher an  $\frac{1}{64}$  als an  $\frac{1}{128}$ , stelle man eine frische Magensaftverdünnung  $\frac{1}{50}$  her und von dieser ausgehend eine in geometrischer Reihe abgestufte Verdünnungsfolge bis  $\frac{1}{100}$ , z. B. folgendermaßen, indem jedes folgende Röhrchen etwa 0,8 mal so viel Magensaft enthält, als das vorangehende:

	Nr. 1	2	3	4
50fach verdünnter Magensaft .	2,0	1,6	1,3	1,0 ccm
Wasser . . . . .	0	0,4	0,7	1,0 „

Als letztes Röhrchen nehme man 2 ccm der 10 000fach verdünnten Ur-Lablösung als „Kontrolle“ und stelle sie in die Mitte der Reihe. Nun fülle man aus einer graduierten 10 ccm-Pipette je 2 ccm der  $\text{CaCl}_2$ -Milch sehr genau, aber schnell hintereinander ein, notiere die Zeit und verfare wie oben. Angenommen, die Gerinnung der Kontrolle erfolge zwischen Röhrchen Nr. 1 und 2, näher an 1, so findet man durch schätzungsweise Interpolation, daß 1,9 ccm die richtige Menge gewesen wäre (für sehr genaue Versuche könnte man dies durch eine dritte, noch feinere Reihe in den Grenzen zwischen 2,0 und 1,6 bestätigen).

Die Berechnung gestaltet sich folgendermaßen: 1,9 ccm 50fach verdünnter Magensaft hat die gleiche Wirksamkeit wie 2 ccm der „Kontrolle“. Folglich enthält die 50fache Magensaftverdünnung mehr Ferment, als die Kontrolle, und zwar das  $\frac{2}{1,9}$  fache,

und der ursprüngliche Magensaft das  $\frac{50 \cdot 2}{1,9}$  fache. Da wir definiert hatten: 1 ccm der Kontrolle enthält 1 FE, so enthält der Magensaft  $\frac{50 \cdot 2}{1,9} = 52,6$  FE in 1 ccm.

Genauigkeit der Bestimmung etwa  $\pm 10$  vH. des Gesamtwertes; bei Ansetzung der oben erwähnten noch feineren Reihe  $\pm 5$  vH. des Gesamtwertes.

Man beachte, daß die Temperatur in allen Röhrchen genau gleich bleiben muß. Alle Lösungen müssen vorher gut auf Zimmertemperatur durch längeres Stehen eingestellt sein; man vermeide, die Reagenzgläser längere Zeit in der Hand zu halten. Dann kann man ein Wasserbad entbehren.

Neutralisieren des Magensaftes vor der Bestimmung ist nicht erlaubt. Es ist erstens unnötig, weil die Milch ein sehr guter Puffer (s. später) ist, und zweitens unter Umständen fehlerhaft, weil beim Neutralisieren ein Teil des Labs zerstört werden kann.

## 2. Übung.

**Quantitative Bestimmung des Pepsins im Magensaft<sup>1)</sup>.**

12fach mit destilliertem Wasser verdünntes menschliches Blutserum oder 15fach verdünntes Hammelserum wird mit so viel einer 10proz. Sulfosalizylsäurelösung versetzt, bis eine milchige Trübung entstanden ist und (rotes) Kongopapier soeben violett, nicht eigentlich blau wird. Wenn das richtig getroffen ist, so bildet sich eine homogene, milchige, nicht sedimentierende Trübung von Eiweiß.

Nun fülle man in ein Reagenzglas 1 ccm des filtrierten Magensaftes; in eine weitere Reihe von 5 Reagenzgläsern je 1 ccm Wasser; in das erste dieser 5 Gläser gebe mit einer 1 ccm-Pipette 1 ccm Magensaft, mische um, übertrage 1 ccm in das nächste Glas usf., ähnlich wie bei der Labbestimmung beschrieben. Wir haben somit je 1 ccm Magensaft in den Verdünnungen

$$\frac{1}{1} \quad \frac{1}{2} \quad \frac{1}{4} \quad \frac{1}{8} \quad \frac{1}{16} \quad \frac{1}{32}$$

Ferner kommt in ein Reagenzglas 1 ccm „Einheitspepsinlösung“, d. h. 1 ccm der oben beschriebenen, diesmal aber nur 100fach verdünnten „Ur-Lablösung“. (Allgemein ausgedrückt: Die „Einheitspepsinlösung“ soll 100 mal so viel von dem Pepsinpräparat enthalten, als die „Einheitslablösung“. Das gleiche „Pepsin“-Präparat wird einmal als Lab, einmal als Pepsin benutzt.) Zu jedem Röhrchen fügt man jetzt 5 ccm der Eiweißsulfosalizylsäuremischung und stellt das Ganze in einem passenden Reagenzglasgestell aus Metall in ein Wasserbad von 38—40°. Durch die Pepsinwirkung hellt sich die Eiweißtrübung allmählich auf. Es kommt nun darauf an, festzustellen, welches der Röhrchen denselben zeitlichen Gang der Aufhellung zeigt wie die Kontrolle. Man beobachte so lange, bis die Kontrolle einen mittleren Grad von Aufhellung zeigt, der sich schon sehr deutlich vom Anfangszustand unterscheidet; aber keinesfalls darf man bis zu völliger Klärung der Kontrolle warten. In der Regel sind 5 bis 25 Minuten dazu erforderlich, bzw. muß man die Verdünnung der Kontrollösung so einstellen. Hat man durch diesen groben Vorversuch ein annäherndes Resultat erreicht, so wiederhole man den Versuch mit feinerer Abstufung, etwa folgendermaßen. Man geht von derjenigen Magensaftverdünnung aus, welche gerade etwas schneller als die Kontrolle aufhellte; von dieser stellt man folgende Verdünnungen her:

<sup>1)</sup> MICHAELIS, L. und ROTHSTEIN, T., l. c.

Magensaftverdünnung . .	1,0	0,8	0,64	0,5 ccm
Wasser . . . . .	0	0,2	0,36	0,5 „

In ein sechstes Röhrchen Kontrollferment 1,0; zu jedem Röhrchen 5 ccm der Sulfosalizylsäure-Eiweißmischung, dann fortfahren wie bei der groben Reihe. Rechnung wie beim Labversuch. Nimmt man 1 ccm der 100fach verdünnten Ur-Lablösung = 1 Pepsineinheit an, so muß ein Magensaft stets 100 mal soviel Lab-einheiten enthalten als Pepsineinheiten, wenn man voraussetzt, daß das Verhältnis von Lab zu Pepsin in jedem Magensaft das gleiche ist wie in dem Kontrollferment.

Genauigkeit der Pepsinbestimmung mindestens etwa  $\pm 20$  vH. des Gesamtwertes.

Der Grund, warum man ein verhältnismäßig kleines Volumen (1 ccm) des Magensaftes mit einem so großen Überschuß der sauren Eiweißlösung (5 ccm) vermischt, ist folgender: Die Methode muß die Bedingung erfüllen, daß innerhalb einer Versuchsreihe jedes Röhrchen, einschließlich der „Kontrolle“, die gleiche Azidität hat. Das kann nur dadurch erreicht werden, daß die Azidität durch die im Überschuß zugegebene saure Eiweißlösung bestimmt wird, so daß demgegenüber die Aziditätsunterschiede zwischen den einzelnen Magensaftverdünnungen und der Kontrolle nicht zur Geltung kommen.

## II. Flockungsschwellenwerte bei kolloiden Lösungen.

Nach der historisch begründeten Definition verstehen wir unter einer kolloiden Lösung eine solche Lösung, bei der der gelöste Stoff, wenn er gegen das reine Lösungsmittel durch eine Membran aus Schweinsblase oder Pergament getrennt ist, nicht durch die Membran diffundiert. A priori kann das unter zwei Bedingungen der Fall sein, erstens, wenn das Molekül des gelösten Stoffes zu groß ist, um durch die Poren der Membran hindurchzukommen, zweitens, wenn das einzelne Molekül zwar nicht zu groß ist, wenn aber dafür die Lösung nicht die einzelnen Moleküle in totaler Dispersion enthält, sondern wenn die kleinsten Teilchen des gelösten Stoffes aus Aggregaten von vielen Molekülen bestehen, aus „Micellen“, welche zu groß für die Poren sind. Die Erfahrung zeigt nun, daß sehr große Moleküle häufig gleichzeitig zu unvollkommener Dispersion neigen, besonders wenn sie keine elektrische Ladung haben (keine Ionen

bilden). Man kann kolloide Lösungen als heterogene (mikro-heterogene) Systeme auffassen, in denen man nach Wo. OSTWALD das Dispersionsmittel und die disperse Phase unterscheidet.

Man kann die Kolloide nach verschiedenen Einteilungsprinzipien einteilen, z. B.:

in spontane und nicht-spontane Kolloide, je nachdem der Kolloidbildner in Berührung mit Wasser von selbst in Lösung geht (Eiweiß) oder nicht (Gold, Mastix).

in reversible und irreversible, je nachdem der Zustand der kolloiden Lösung von ihrem Gehalt an Kolloidbildnern, Wasser, anderen gelösten Stoffen, insbesondere Elektrolyten, und von der Temperatur eindeutig und umkehrbar abhängig ist oder nicht; besonders also danach, ob eine durch Elektrolyte erzeugte Flockung nach Entfernung des Flockungsmittels wieder rückgängig wird;

in hydrophile und hydrophobe, je nachdem man eine Affinität der dispergierten Teile zum Wasser annimmt oder nicht;

in visköse und nicht-visköse Kolloide, je nachdem sie die Viskosität des Wassers merklich steigern oder nicht;

in Emulsions- und Suspensionskolloide, je nachdem man der dispergierten Phase feste oder flüssige Beschaffenheit zuschreibt;

in elektrolytunempfindliche und elektrolytempfindliche (d. h. weniger empfindliche) Kolloide.

Im großen und ganzen, wenn auch nicht durchweg, führt jedes dieser Einteilungsprinzipien zu denselben zwei Gruppen; auch gibt es bei jedem Einteilungsprinzip Übergänge zwischen den Extremen.

Die Herstellung einer spontanen oder reversiblen Kolloidlösung unterscheidet sich in nichts von der Herstellung einer gewöhnlichen Lösung. Die feste Substanz (z. B. Albumin) wird mit Wasser bzw. mit der geeigneten Salzlösung in Berührung gebracht und die Diffusion der in Lösung gehenden Substanz durch Rühren unterstützt. Die Lösung eines irreversiblen Kolloids kann nur auf indirektem Wege erhalten werden, auf zwei Weisen, die Wo. OSTWALD als Dispersions- und Kondensationsmethoden bezeichnet hat. Es handelt sich in beiden Fällen darum, die Kolloidteilchen in einem Lösungsmittel entstehen zu lassen, unter Bedingungen, welche die Haltbarkeit des Suspensionszustandes ermöglichen. Von diesen Bedingungen spielt die elektrische Ladung der entstandenen Teilchen gegen das Lösungsmittel eine wichtige Rolle; je größer diese, um so haltbarer ist ceteris paribus der Kolloidzustand. Die Größe der elektrischen Ladung aber hängt wiederum von der chemischen

Natur der Substanzen ab; Kolloidbildner vom chemischen Charakter der Säuren (Mastix, Fettsäuren) pflegen gegenüber einer alkalischen Lösung eine hohe (und zwar negative) Ladung anzunehmen, Substanzen vom Charakter der Basen nehmen gegenüber einer sauren Lösung eine hohe (und zwar positive) Ladung an; Substanzen von amphoterem Charakter (geronnenes Eiweiß, Tonerde) können sowohl in sauren wie in alkalischen Medien in Lösung gehen und tun dies nur dann nicht, wenn diejenige (meist annähernd, aber selten genau neutrale) Reaktion vorhanden ist, welche die elektrische Ladung des Kolloidbildners gerade unterdrückt.

Die Dispersion kann auf mechanischem Wege, durch Zerreiben, Mahlen u. dgl. geschehen (chinesische Tusche, Kolloidmühlen), durch Zerschütteln (Öl in leicht alkalischem Wasser), durch die Zerstäubung von Metallen im elektrischen Lichtbogen nach BBEDIG. Das leichteste Objekt ist die Zerstäubung von Silber; man läßt zwischen zwei 1 mm dicken Silberdrähten, welche fast bis zur Spitze in einem Glasrohr isoliert sind, unter Wasser den Strom der Lichtleitung mit einer Stärke von 5—10 Ampère unter Bildung eines Lichtbogens hindurchgehen. Als Lösungsmittel benutzt man am besten mit Soda soeben alkalisiertes Wasser.

Die Kondensationsmethoden haben das gemeinsame, daß der als Kolloidbildner bestimmte Stoff sich zunächst in echter, molekulardisperser Lösung befindet, sei es in einer wasserlöslichen chemischen Verbindung (Gold als Goldchlorid), sei es zunächst in einem Lösungsmittel, in dem er molekulardispers löslich ist (Mastixharz in Alkohol). Alsdann schafft man Bedingungen, daß der eigentliche Kolloidbildner als unlösliche Substanz sich abscheidet (man reduziert das Goldchlorid durch ein Reduktionsmittel zu Gold; man verdünnt die alkoholische Harzlösung mit Wasser); und zwar muß das Medium derartig beschaffen sein, daß die unlösliche Substanz eine hohe elektrische Ladung gegen das flüssige Medium annimmt, und daß das Lösungsmittel einen Elektrolytgehalt von genügend niederer Konzentration hat. Denn der Zusatz von Elektrolyten pflegt im allgemeinen die elektrische Ladung der Teilchen herabzudrücken.

Beispiele für Kondensationsmethoden ist die Herstellung des Mastixsol (s. Übung 4) durch Verdünnung der alkoholischen Lösung mit Wasser; die Herstellung von Goldsol durch Reduktion von Goldchlorid, durch ein Reduktionsmittel, wie etwa Formaldehyd, nach ZSIGMONDY<sup>1)</sup>: 120 ccm doppelt destilliertes

1) ZSIGMONDY, R.: Liebigs Ann. d. Chem. **301**, 30. 1898.

Wasser (in Jenaer Glaskolben aufbewahrt) werden in ein Jenaer Becherglas von 300—500 ccm Inhalt gebracht und zum Sieden erhitzt. Während des Erwärmens fügt man 2,5 ccm einer Lösung von Goldchloridchlorwasserstoff ( $\text{AuCl}_4\text{H}$ ,  $4\text{H}_2\text{O}$ , 0,6 g auf 100 ccm dest. Wasser) und 3—3,5 ccm einer 0,18 n Lösung von reinstem  $\text{K}_2\text{CO}_3$ . Gleich nach dem Aufkochen fügt man unter Umrühren mit einem Stab aus Jenaer Geräteglas portionsweise 3—5 ccm Formaldehydlösung (0,3 ccm „Formol“ in 100 ccm dest. Wasser) hinzu und erwartet den Eintritt der roten Farbe (in höchstens 1 Minute).

Ein Beispiel von anderem Typus ist die Herstellung des Eisenhydroxydsol nach TH. GRAHAM. Zu 100 ccm halbgesättigter  $\text{FeCl}_3$ -Lösung wird tropfenweise etwa 20proz. Lösung von  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$  zugegeben, gerade nur soviel, bis der anfänglich entstehende Niederschlag sich beim Umschütteln wieder ganz auflöst. Es hat sich hier spontan eine kolloide Eisenhydroxydlösung gebildet. Diese wird der Dialyse bis zur möglichst vollkommenen Entfernung der Elektrolyte unterworfen<sup>1)</sup>. Das Eisenhydroxyd bleibt in kolloider Lösung, ist aber nunmehr irreversibel, d. h. die durch Elektrolytzusatz in ihm entstehende Fällung (s. Übung 3) wird durch Ausdialysierung dieser Elektrolyte nicht wieder rückgängig gemacht.

Wir wollen zunächst einige elektrolytempfindliche und irreversible Kolloide kennen lernen und ihre Flockungsschwellenwerte gegenüber einigen Elektrolyten bestimmen.

Überwiegend maßgebend für die fällende Wirkung eines Salzes ist die Natur desjenigen Ions, welches die entgegengesetzte elektrische Ladung als die disperse Phase des Kolloids hat (HARDYSche Regel), wobei zu berücksichtigen ist, daß Kolloide durch das Salz manchmal selbst umgeladen werden können. Mehrwertige Ionen sind wirksamer als einwertige (SCHULTZESche Regel); unter den einwertigen Ionen zeichnet sich das  $\text{H}^-$ - und das  $\text{OH}'$ -Ion durch besondere Wirksamkeit aus.

Da die Dosierung der  $\text{H}^-$ - und  $\text{OH}'$ -Ionen besondere Methoden erfordert, betrachten wir zunächst den methodisch einfacheren Fall der Neutralsalzwirkung, wobei nur gelegentlich die Wirkung sehr reichlicher  $\text{H}^-$ - oder  $\text{OH}'$ -Ionen, d. h. ganz starker Säuren oder Basen, mit herangezogen wird. Das eigentliche Studium der Wirkung der  $\text{H}^-$ - und  $\text{OH}'$ -Ionen folgt in einem späteren Kapitel.

---

<sup>1)</sup> Diesen Versuch kann man im Verein mit Übung 42 ansetzen.

Die Wertigkeit der Ionen ist keineswegs das alleinige, bestimmende Moment für ihre fällende Wirkung; auch spezifische Einflüsse sind maßgebend, insbesondere der Hydratationsgrad; die Entladungsspannung; je kleiner diese, desto größer ihre Wirkung. So gehört das edle Ag zu den wirksamsten Ionen, obwohl es einwertig ist. Bei einatomigen Ionen ist die Stellung im periodischen System der Elemente bedeutungsvoll.

### 3. Übung.

#### Die Fällung von kolloidem (elektropositivem) Eisenhydroxyd durch Elektrolyte.

Kolloidales Eisenhydroxyd ist ein positiv geladenes hydrophobes Kolloid. Es wird durch alle Elektrolyte irreversibel geflockt. Die Natur des Kations ist fast belanglos, dagegen ist die Wirkung des Anions sehr verschieden je nach seiner Art, besonders je nach seiner Wertigkeit. Von den Anionen ist das  $\text{OH}'$ -Ion, obwohl es nur einwertig ist, von besonders starker Wirksamkeit auf die Fällung.

Man benutze den käuflichen „Liquor ferri oxydati dialysati“, 10fach mit destilliertem Wasser verdünnt.

Man nehme eine Reihe Reagenzgläser, 6—7, lasse das erste zunächst leer und fülle in die anderen je 9 ccm destilliertes Wasser. In das erste Röhrchen bringt man jetzt 9 ccm molare KCl-Lösung, in das zweite 1 ccm mKCl-Lösung, mischt durch und überträgt hiervon 1 ccm in das nächste Röhrchen, hiervon wieder 1 ccm in das nächste usw. In jedes dieser Röhrchen gibt man dann 1 ccm der 10fach verdünnten Eisenhydroxydlösung. Wir haben so eine ganz grobe geometrische Reihe von KCl-Konzentrationen mit dem Quotienten 10. In Röhrchen Nr. 1 tritt sofort Flockung ein, in Nr. 2 nach einiger Zeit, von Nr. 3 an gar nicht mehr.

Nimmt man statt mol KCl jetzt  $m/2$   $\text{CaCl}_2$  oder  $m/3$   $\text{AlCl}_3$ , so bleibt die Schwelle der flockenden Konzentration die gleiche; eher flockt sogar  $\text{AlCl}_3$  ein wenig schwächer als KCl [bezogen auf gleichen Cl-Gehalt<sup>1)</sup>]. Nimmt man aber  $m/2$   $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , so tritt bis zum 4. Röhrchen sofortige Flockung ein.

<sup>1)</sup> Diese Wirkung des  $\text{AlCl}_3$  ist dadurch zu erklären, daß dieses Salz infolge von Hydrolyse etwas sauer reagiert. Es sind nicht oder jedenfalls kaum irgendwie direkt die  $\text{Al}^{+++}$ -Ionen, die diese Abweichung hervorrufen, sondern die Änderung der Azidität. Obwohl der Einfluß kleiner Aziditätsverschiebungen erst im IV. Abschnitt besprochen werden soll, sieht man doch aus diesem Beispiel, wie schwer es ist, irgendeine Versuchsanordnung ausfindig zu machen, bei der man die Azidität außer acht lassen kann.

Ferner überzeuge man sich, daß Eisenhydroxyd durch Salzsäure und Essigsäure nicht, wohl aber durch Spuren von  $\text{NH}_3$  oder  $\text{NaOH}$  gefällt wird.

#### 4. Übung.

### Die Fällung von elektronegativem Mastixsol durch Elektrolyte.

5 g Mastix werden in 100 ccm 96proz. Alkohol gelöst und filtriert. 10 ccm hiervon werden in ein großes Becherglas gegossen und 200 ccm destilliertes Wasser möglichst auf einmal und schnell dazu gegeben. Es entsteht eine milchartige Flüssigkeit. Sie wird zunächst filtriert, um die größeren Flocken auszuschalten, die sich etwa gebildet haben. Mit dieser Flüssigkeit werden dieselben Versuche und in der gleichen Anordnung wie mit dem Eisenhydroxyd angestellt. Nach einstündiger Beobachtung sind die Schwellenwerte für die Flockung folgende:

KCl	0,1 normal
$\frac{1}{2}$ CaCl <sub>2</sub>	0,01 normal
$\frac{1}{3}$ AlCl <sub>3</sub>	0,0001 bis 0,00001 normal
$\frac{1}{2}$ Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,1 normal

Die verschiedenen Chloride sind also nicht wie beim Eisenhydroxyd gleichwertig, sondern mit steigender Wertigkeit des Kations stark zunehmend in der Fällungswirkung. Andererseits wirkt  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  nicht stärker als  $\text{NaCl}$ , weil die Verschiedenheit dieser Salze im Anion liegt. Zusatz von Essigsäure oder Salzsäure flockt, dagegen  $\text{NH}_3$  nicht; umgekehrt, wie beim Eisenhydroxyd.

Bei stark wirksamen Salzen kommen die sogenannten unregelmäßigen Reihen vor; kleine Konzentrationen des Salzes flocken, mittlere nicht, und noch höhere flocken wieder. Man stelle eine geometrische Reihe von  $\text{AlCl}_3$ -Lösungen nach dem Verdünnungsverfahren wie in Übung 1 her mit dem Quotienten 2, anfangend mit 0,5 molar, mindestens eine 20gliedrige Reihe, je 5 ccm. Zu jedem Röhrchen gibt man 5 ccm Mastixsol, und zwar ein dreifach verdünnteres Sol als in dem früheren Versuch. Man findet, je nach der Beschaffenheit des Mastixsol etwas verschieden, in den höchsten Konzentrationen Flockung, dann einige Röhrchen ohne Flockung, dann wieder Flockung, zum Schluß bei allerniedersten Konzentrationen keine Flockung (z. B. Flockung von den stärksten Konzentrationen bis 0,002 molar; flockenfrei bis etwa 0,0001 molar; wieder Flockung bis 0,00003 molar; dann

wieder keine Flockung). Die Ursache liegt in der umladenden Wirkung des  $\text{AlCl}_3$  selbst; die nicht flockende Zwischenzone besteht aus positiv geladenem Mastix; hier fällt das  $\text{Al}^{+++}$  nicht, weil es als gleichsinniges Ion belanglos ist, und das  $\text{Cl}^-$  flockt, da es ein schwach wirksames Ion ist, erst in höherer Konzentration.

### 5. Übung.

#### Der Farbenumschlag des Kongorubin<sup>1)</sup>.

Bei manchen gefärbten kolloiden Lösungen ist die Dispersitätsvergrößerung mit einer Änderung der Farbe verbunden. Der Farbenumschlag tritt dann schon bei Dispersitätsvergrößerungen ein, welche noch nicht zu einer grob sichtbaren Flockung führen, und demonstriert uns hier deutlicher als sonst, daß die sichtbare Flockung nur der Endeffekt einer allmählich zunehmenden Dispersitätsvergrößerung ist. So wird die rote kolloide Goldlösung durch Elektrolyte blau gefärbt, als Vorstufe der Ausflockung. Das einfachste Objekt zum Studium dieser Erscheinung ist das Kongorubin: Man stelle eine dünne wäßrige Lösung in ausgekochtem destillierten Wasser her, von solcher Farbenintensität, daß sie in der Schicht eines Reagenzglases noch gut durchsichtig ist, und fülle nach völliger Abkühlung in eine Reihe von Reagenzgläsern je 10 ccm ein.

Je 4 Röhrcchen werden zu einer Reihe vereinigt und mit absteigenden Mengen einer Salzlösung versetzt; mit 1,0; 0,5; 0,25; 0,12 ccm, und destilliertes Wasser zur Auffüllung auf gleiches Volumen. Als Salzlösung wählt man in verschiedenen Versuchsreihen:  $n\text{KCl}$ ,  $n\text{NaCl}$ ,  $n\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $n\text{KSCN}$ ,  $n\text{KOH}$ , verdünnte Barytlauge;  $m/2\text{K}_2\text{SO}_4$ ,  $m/2(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ;  $m/100$  (=  $n/50$ )  $\text{CaCl}_2$ ;  $m/1000$  (=  $n/333$ )  $\text{AlCl}_3$ ;  $n/250$   $\text{HCl}$ . In allen Röhrcchen bildet sich beim Stehen bald eine Farbenänderung aus, welche je nach dem Salzgehalt alle Stufen von Rot bis Blau durchläuft. Wenn man nach  $\frac{1}{4}$ —1 Stunde prüft, welche Mengen der verschiedenen Salze die gleiche Wirkung haben wie z. B. 0,25 ccm  $n\text{KCl}$ , so findet man bei  $\text{NaCl}$ ,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  etwa die gleiche Wirksamkeit wie bei  $\text{KCl}$ ; von  $\text{CaCl}_2$  haben 0,25 ccm der in bezug auf Normalität 50fach verdünnten Lösung die gleiche Wirkung, von  $\text{AlCl}_3$  0,25 ccm der an Normalität 333fach schwächeren Lösung, von  $\text{HCl}$  0,25 ccm der 250fach verdünnten Lösung. Die Chloride sind also je nach der Art des Kations verschieden wirksam; am schwächsten und untereinander fast gleich  $\text{K}$ ,  $\text{Na}$ ,  $\text{NH}_4$ . 50 mal stärker (auf Äqui-

<sup>1)</sup> OSTWALD, WOLFGANG: Kolloidchem. Beih. 10, 179. 1919.

valentkonzentration berechnet) das zweiwertige Ca, 333 mal stärker das dreiwertige Al. Das H-Ion ist trotz seiner Einwertigkeit fast ebenso stark wirksam, wie Al (250fache Verdünnung). Die Wertigkeit ist hier, wie überhaupt, nicht das allein maßgebende Moment für die Wirksamkeit eines Ions. Das elektro-negative Kongorubin verhält sich ganz ähnlich wie das ebenfalls negative Mastixsol.

Die Dispersität des Kongorubins hängt stark von der Temperatur ab. Wenn man eine durch Salzzusatz blau gefärbte Lösung erwärmt, wird sie rot und beim Abkühlen allmählich wieder blau. Kongorubin geht spontan und reversibel in Lösung, Mastix dispergiert sich in Wasser nicht spontan, die Zustandsänderungen seines Sols sind irreversibel.

Wenn man die Röhren nach 24 Stunden wieder ansieht, so bemerkt man folgendes. Nur in Versuchen mit HCl ist bei geeigneter Konzentration die blaue Lösung noch homogen. Sonst haben alle Röhren einen dunkelblauen flockigen Bodensatz gebildet, die überstehende Flüssigkeit ist rein rot, und zwar je nach dem Salzgehalt mehr oder weniger stark gefärbt; bei sehr starkem Salzgehalt ist eine rote Nuance oft kaum noch zu erkennen; was aber an Farbe noch zu sehen ist, ist rein rot (rosa), keine Spur violett oder blau. Nur die Lösungen mit  $\text{AlCl}_3$  haben bei geeigneter Konzentration dieses Salzes (durch einen Reihenversuch auszuprobieren!) ein homogenes violettes Aussehen ohne Bodensatz. Die Deutung ist folgende. Kongorubin bildet in Wasser eine echte, rote Lösung. Durch Salzgegenwart wird die Löslichkeit vermindert (Aussalzung); der ausgefällte Anteil ist blau. Violett entsteht nur durch optische Mischung der roten Lösung und der blauen, noch schwebenden Teilchen. Die anfänglich schwebenden blauen Teilchen setzen sich allmählich ab. Nur in dem Fall des  $\text{Al}^{\dots}$  durch welches die Teilchen nicht nur entladen, sondern sogar bei geeigneter Konzentration positiv umgeladen werden, bleiben die blauen Teilchen infolge dieser Ladung in der Schwebe. Also nur das Röhren mit  $\text{Al}^{\dots}$  stellt eine eigentliche kolloide violette Lösung dar.

Die Besonderheit des Kongorubins besteht nur darin, daß das ausgefällte Kongorubin unter allen Umständen blau, das gelöste stets rot ist. Das sonst sehr verwandte Kongorot unterscheidet sich dadurch, daß es bald in roter Form (z. B. durch NaCl), bald in blauer Form (z. B. durch HCl) ausgefällt wird.

## 6. Übung.

### Das Stabilitätsmaximum einer Chlorsilbersuspension.

Ein hydrophobes Kolloid ist ein Kolloid, welches nur durch die elektrische Ladung der Mizellen seine Stabilität erhält. Die elektrische Ladung rührt davon her, daß aus der Elektrolytlösung, in welcher die Mizellen suspendiert sind, eine Ionenart von der Oberfläche der Mizellen stärker adsorbiert wird als andere. Ein geeignetes Beispiel zur Demonstration dieser Tatsache gibt

folgender einfache Versuch. Man fülle in eine Reihe von Reagenzgläsern je 5 ccm 0,01 n Silbernitratlösung und gebe dazu

Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
dest. Wasser:	4,9	4,8	4,73	4,68	4,6	4,5	4,38	4,32	4	3,8	3,0	1,0 ccm
0,1 n KCl	0,1	0,2	0,26	0,32	0,4	0,5	0,62	0,78	1	1,2	2,0	4,0

Jedes einzelne Röhrchen wird nach Zugabe des KCl sofort gut umgeschüttelt. Man lasse die Röhrchen, einigermaßen vor Licht geschützt, 1—2 Stunden oder noch länger stehen. Dann beobachtet man folgendes. In dem mittelsten Röhrchen der Reihe, in welchem  $\text{AgNO}_3$  und KCl in äquivalenten Mengen vorhanden sind, ist der Chlorsilberniederschlag zusammengeballt und die Lösung klar. Rechts und links hiervon bleibt das  $\text{AgCl}$  in immer höherem Grade in Suspension und gibt eine durchscheinende kolloide Lösung. Die Deutung ist folgende. Die Lösung, in welcher die  $\text{ClAg}$ -Teilchen eingebettet sind, enthält  $\text{K}^+$ -,  $\text{Ag}^+$ -,  $\text{NO}_3^-$ - und  $\text{Cl}^-$ -Ionen. Das feste  $\text{AgCl}$  adsorbiert von diesen am stärksten  $\text{Ag}^+$  und  $\text{Cl}^-$ . Ist in der Lösung ein Überschuß von  $\text{Ag}^+$  (die linke Hälfte der Reihe), so werden überwiegend  $\text{Ag}^+$ -Ionen adsorbiert, und die Teilchen sind positiv geladen. Ist in der Lösung ein Überschuß von  $\text{Cl}^-$ -Ionen (rechte Hälfte der Reihe), so werden diese stärker adsorbiert und die Teilchen erhalten eine negative Ladung. Im mittelsten Röhrchen, wo  $\text{AgNO}_3$  und KCl in äquivalenten Mengen vorhanden sind, bleiben in der Lösung nur so viel  $\text{Ag}^+$ - und  $\text{Cl}^-$ -Ionen, als der sehr geringen Löslichkeit des  $\text{AgCl}$  entspricht und zwar von beiden gleiche Mengen. In diesem Fall erhalten die  $\text{AgCl}$ -Teilchen überhaupt keine elektrische Ladung und koagulieren daher am schnellsten.

## 7. Übung.

### Der Synergismus der Ionen.

Läßt man auf ein Kolloid ein Gemisch von solchen Ionen einwirken, von denen jedes einzelne auf den Zustand des Kolloids wirksam ist, so kombiniert sich diese Wirkung in verschiedener Weise. In den meisten Fällen tritt eine Summation der Wirkung ein, in einzelnen Fällen aber auch eine antagonistische Wirkung. Die Summationserscheinung ist bei irreversiblen Kolloiden die gewöhnliche. Wir geben dafür ein Beispiel.

Man setze folgende 2 Versuchsreihen an: Die Ausgangslösung für beide ist eine 0,1proz. Lösung von Kongorubin.

Röhrchen		Nr. 1	2	3*	4	5	6
n/100	Essigsäure	0,3	0,6	1,2	2,4	4,8	9,6
	H <sub>2</sub> O	11,7	11,4	10,8	9,6	7,2	2,4
0,1 vH.	Kongorub.	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

Röhrchen		Nr. 1	2	3	4	5	6
n/10 000	Essigsäure	0,3	0,6	1,2	2,4	4,8	9,6
	H <sub>2</sub> O	10,7	10,4	9,8	8,6	6,2	1,4
	1 nKCl	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
0,1 vH.	Kongorub.	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

Das Resultat für beide Versuchsreihen ist etwa folgendes:  
etwa 5 Minuten nach dem Ansetzen des Versuches

1	2	3	4	5	6
rot	rot	violett	blau	blau	blau

jedes Röhrchen der unteren Reihe enthält nur den hundertsten Teil der Essigsäure wie das der oberen. Durch den Zusatz von Kaliumchlorid wird aber die Elektrolytwirkung in der unteren Reihe der der oberen Reihe gleich gemacht; in der unteren Reihe ist die Wirkung der Säure teilweise ersetzt durch die Wirkung eines Neutralsalzes.

## 8. Übung.

### Der Antagonismus der Ionen.

Der andere Fall ist der der antagonistischen Wirkung. Dieser Fall wurde zuerst von JACQUES LOEB beschrieben, indem er zeigte, daß die Giftwirkung gewisser einwertiger Ionen z. B. K oder Na, auf lebende Zellen durch Zusatz von kleinen Mengen zweiwertiger Ionen (Ca, Zn) aufgehoben werden konnte; selbst wenn diese zweiwertigen Ionen, allein angewendet, giftig sind. Bis vor kurzem waren noch wenige Fälle bekannt, wo dieser Ionenantagonismus in einfachem chemischen System außerhalb der lebenden Zellen sich gut nachahmen ließ. NEUSCHLOSS fand die Erscheinung bei Lecithinsolen wieder. Ein von SVEN ODÉN beschriebener Fall wurde neuerdings von FREUNDLICH und SCHOLZ näher untersucht, und wir geben in Anlehnung an die Versuchsanordnung dieser Autoren folgende Vorschrift zur Demonstration dieser Wirkung. Das Kolloid, mit welchem gearbeitet wird, ist die sogenannte ODÉNSche Modifikation des Schwefelsols. Es gibt noch eine zweite Modifikation, welche dadurch entsteht,

daß man eine alkoholische Schwefellösung mit Wasser verdünnt. Dieses Sol hat den Charakter eines irreversiblen Sols, genau wie die oben beschriebene Mastixlösung, und zeigt die Erscheinungen des Ionenantagonismus nicht. Das ODÉNSCHE Sol hat dagegen die Eigenschaften eines reversiblen Sols, es geht nach Entfernung des Flockungsmittels spontan wieder in Lösung und nähert sich daher den reversiblen Solen der lebenden Zellen, bei denen der Ionenantagonismus zuerst gefunden wurde.

Das ODÉNSCHE Sol wird folgendermaßen hergestellt:

Man leitet durch 100 ccm einer etwa 1 molaren (zweifach normalen, mit Phenolphthalein titrierten) Lösung von schwefliger Säure Schwefelwasserstoff ein; es bildet sich sofort eine gelbliche, milchartige Trübung von kolloidem Schwefel. Man leitet  $H_2S$  etwa 1 Stunde lang ein, bis der Geruch nach  $SO_2$  annähernd verschwunden ist, läßt 24 Stunden stehen, damit die gröberen Teilchen sich absetzen, und gießt die kolloide Lösung ab. Diese Stammlösung wird unmittelbar vor dem Gebrauch 100fach mit destilliertem Wasser verdünnt. Man setzt folgende Reihen an:

I.	Röhrchen Nr. 1	2	3	4*	5*	6*
10fach mol. LiCl ccm	0,24	0,32	0,42	0,56	0,75	1,00
Wasser ccm	0,76	0,68	0,58	0,44	0,25	0,00
Sol	10,0	10,0	10,0	10,0	10,00	10,0

Resultat: 4—6 zeigt sofort dicke Trübung, späterhin Flockung. Röhrchen 1—3 bleibt klar. Es ist bemerkenswert, daß die Flockungsschwelle dieses Kolloids mit recht großer Schärfe anzugeben ist. Sie liegt wahrscheinlich bei Solen verschiedener Herstellungsart nicht immer gerade bei dem Röhrchen Nr. 4, aber jedenfalls doch innerhalb der von uns angegebenen Reihe.

II.	Röhrchen Nr. 1	2	3	4*	5*	6*
0,1 mol. $MgCl_2$	0,10	0,12	0,14	0,17	0,20	0,24
Wasser ccm	0,90	0,88	0,86	0,83	0,80	0,76
Sol	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0

Dieser Versuch zeigt die Flockungsschwelle für Magnesiumchlorid. Nunmehr bereitet man ein Sol, welches zunächst mit dem vierten Teil der soeben flockenden Menge von LiCl versetzt ist, d. h. also, falls in der oben beschriebenen Reihe das Röhrchen Nr. 4 die Flockungsgrenze war, setzt man zu 100 ccm des verdünnten Sols 1,4 ccm 10fach molare LiCl-Lösung. Dieses Gemisch ist in der folgenden Tabelle als „Li Sol“ bezeichnet.

Man setzt also folgenden Versuch an:

III.	Röhrchen	Nr. 1	2	3	4	5*	6*
0,1 mol. $\text{MgCl}_2$		0,40	0,48	0,58	0,70	0,84	1,00
Wasser ccm		0,60	0,52	0,42	0,30	0,16	0,00
Li Sol		10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0

Die Flockungsschwelle für  $\text{MgCl}_2$  liegt bei 0,84 ccm, während sie bei Abwesenheit von  $\text{LiCl}$  bei 0,17 lag. Der Flockungsschwellenwert ist auf das 5fache gestiegen. Li und Mg wirken in Mischung miteinander nicht additiv, sondern antagonistisch.

## 9. Übung.

### Wechselseitige Schutzwirkung und Fällung von Kolloiden.

Nebeneinander in Lösung befindliche Kolloide beeinflussen gegenseitig ihre Elektrolytempfindlichkeit. Ein elektrolytunempfindliches Kolloid schützt ein gleichsinnig geladenes empfindliches Kolloid gegen die Elektrolytwirkung. Zwei entgegengesetzt geladene Kolloide flokken bei passenden Mengenverhältnissen einander aus; oder sie erhöhen die Elektrolytempfindlichkeit des Systems.

1. Je 10 ccm Mastixsol (auf dieselbe Weise hergestellt wie S. 12) werden einerseits mit 1 ccm destilliertem Wasser, andererseits mit 1 ccm 1proz. Gelatinelösung versetzt. Je 3 ccm dieser Lösungen werden mit 10 ccm nKCl-Lösung versetzt. In dem Röhrchen ohne Gelatine tritt schnell grobe Flockung ein, in dem mit Gelatine tritt keine Flockung ein.

Die schützende Wirkung verschiedener relativ unempfindlicher Kolloide auf ein gegebenes empfindliches Kolloid ist sehr verschieden. Diejenige Menge des unempfindlichen Kolloids, welche rotes Goldsol vor dem Farbumschlag nach Blau durch eine bestimmte Menge  $\text{NaCl}$  schützt, nennt man nach R. ZSIGMONDY die „Goldzahl“ desselben. An ihrer Stelle kann man nach W. OSTWALD die „Rubinzahl“ benutzen. Man gibt in eine Reihe von Reagenzgläsern je 1 ccm einer 0,1proz. Lösung von Kongorubin und variierte Mengen des Schutzkolloids, füllt auf 9 ccm auf und gibt schließlich überall 1 ccm 0,5 nKCl-Lösung hinzu. Man bestimmt die Konzentration des Schutzkolloids, bei der nach 10 Minuten soeben kein erkennbarer Unterschied gegen die Kontrolle ohne KCl bei gleicher Verdünnung festzustellen ist.

Solche Versuche können folgendermaßen angesetzt werden:

0,1 vH. Kongorubin ccm	1	1	1	1	1*	1*
1 vH. Gelatine ccm	4	2	1			
0,5 vH. Gelatine ccm				1	0,5	0,25
H <sub>2</sub> O ccm	4	6	7	7	7,5	7,75
0,5 mKCl-Lösung ccm	1	1	1	1	1	1

oder:

0,1 vH. Kongorubin	1	1	1	1*	1*
0,1 vH. Hämoglobin <sup>1)</sup>	4,0	2,0	1,0	0,5	0,25
H <sub>2</sub> O	4	6	7	7,5	7,75
0,5 mKCl-Lösung	1	1	1	1	1

In den mit einem Stern bezeichneten Versuchen versagt die Schutzwirkung. Das vorangehende Röhrchen könnte man nach der vorangehenden Definition als Maß für die Schutzwirkung betrachten: Die Konzentration des Kolloids in demselben ist die „Rubinzahl“ des Hämoglobins<sup>1)</sup>.

In diesen Fällen hat wohl stets das Schutzkolloid (z. B. Gelatine in neutraler Lösung) dieselbe Ladung wie das Suspensionskolloid (negativ). Hat aber das eine Kolloid entgegengesetzte Ladung wie das andere, so tritt im Gegenteil bei passenden Mengenverhältnissen sensibilisierende Wirkung für Elektrolytfällung, unter Umständen sogar Spontanfällung ein. Filtriert man von der Fällung ab, so zeigt sich, daß nicht nur das elektrolytempfindliche Kolloid ausgefallen ist, sondern von dem elektrolytunempfindlichen Kolloid mehr oder weniger mitgerissen hat. Hierauf beruht folgende Methode zur Enteiweißung von Blutserum<sup>2)</sup>:

5 ccm Blutserum werden mit 50 ccm destilliertem Wasser verdünnt und unter dauerndem Umschütteln ganz allmählich tropfenweise aus einer Pipette mit 25 ccm 5fach verdünntem kolloidalem Eisenhydroxyd (Lq. ferri oxydati dialysati, nicht Liq. ferri oxychlorati Pharm. Germ.) versetzt. Es entsteht sofort eine Fällung, welche sich nach einigen Minuten leicht abfiltrieren läßt. Das Filtrat ist wasserklar und frei von Eiweiß. Das Eisenhydroxyd ist positiv geladen, das Serumeiweiß bei der annähernd neutralen Reaktion negativ.

Etwas schwieriger ist die Enteiweißung von Blut, zum Teil wohl weil das Hämoglobin, dessen isoelektrischer Punkt ungefähr

<sup>1)</sup> Das Präparat „Hämoglobin, löslich“, von E. MERCK, Darmstadt.

<sup>2)</sup> RONA, P. und MICHAELIS, L.: Biochem. Zeitschr. 7, 329. 1908 und 16, 60. 1909.

bei neutraler Reaktion liegt, in dem annähernd neutralen Reaktionsgemisch nicht entschieden negativ geladen ist. Es entsteht beim Zusatz des Eisenhydroxydsols keine spontane vollkommene Flockung, sondern Elektrolytzusatz ist notwendig. Die für die Flockung erforderliche Elektrolytmenge ist wegen der Schutzwirkung des Hämoglobins größer als in der reinen Eisenlösung.

Die Methode der Enteiweißung von Blut gestaltet sich folgendermaßen: 5 ccm defibriniertes Blut werden mit 45 ccm Wasser verdünnt und ganz allmählich unter ständigem Umrühren mit 100 ccm 4fach verdünnter Lösung von kolloidalem Eisenhydroxyd versetzt. Es tritt nur eine unvollkommene Flockung ein. Nach 10 Minuten setzt man 0,1 g fein gepulvertes  $K_2SO_4$  hinzu und rührt gut um. Jetzt tritt energische Flockung ein. Nach 5 Minuten filtriert man. Das Filtrat soll schnell und klar filtrieren. Es ist frei von Eiweiß und Hämoglobin. Sollte beim Enteiweißen größerer Blutmengen noch eine Spur Hämoglobin im Filtrat sein, so kann man dies durch Zusatz einer kleinen Menge der Eisenlösung nachträglich entfernen.

Sehr sicher ist diese Enteiweißung, wenn sie mit der Hitzekoagulation kombiniert wird. Die Methode soll in der Form beschrieben werden, wie sie für eine Mikroanalyse des Zuckers im Blut geeignet ist<sup>1)</sup>.

1 ccm Blut (durch NaF ungerinnbar gemacht, oder wenn es sich nur um Einübung der Enteiweißung handelt, defibriniertes Blut) wird in einem 100 ccm fassenden Kolben mit 11 ccm destilliertem Wasser (von denen man einen Teil zum Nachwaschen des Blutes aus der Pipette benutzen kann) versetzt, erhitzt und 2 Sekunden im Sieden erhalten und vom Feuer genommen. Dann werden 7,5 ccm einer aufs 5fache verdünnten Lösung von kolloidalem Eisenhydroxyd Tropfen für Tropfen unter dauerndem Umschütteln zugefügt, schließlich 0,5 ccm einer 0,5proz. Lösung von  $MgSO_4$  zugesetzt. Es kann sofort filtriert werden. Die Lösung filtriert klar, farblos und nicht langsamer als blankes Wasser; sie ist eiweißfrei. Man kann die größere Hälfte der gesamten Lösung als Filtrat gewinnen und sie z. B. zur Zuckerbestimmung benutzen; da man nur einen Bruchteil der Lösung als Filtrat erhält, muß man von dem aliquoten Teil auf die Gesamtmenge umrechnen.

## 10. Übung.

### HOFMEISTERSche Ionenreihen bei der Eiweißfällung.

Auch hydrophile Kolloide, wie Eiweißlösungen, werden durch die verschiedenartigsten Salze aus ihren Lösungen ausgesalzt, wenn auch erst bei höheren Salzkonzentrationen. Die aussalzende Wirkung eines Salzes hängt sowohl von der Natur seines Anions,

<sup>1)</sup> MICHAELIS, L.: Biochem. Zeitschr. 59, 166. 1914.

wie von der seines Kations ab. Sie hängt aber auch von der jeweiligen Ladung des leicht umladbaren Eiweißes ab. Um einen klaren Einblick zu bekommen, wollen wir daher dem Eiweiß zunächst eine entschieden saure Reaktion erteilen, wodurch es entschieden positiv aufgeladen wird.

5 ccm Blutserum werden mit 50 ccm  $n/50$  HCl verdünnt. In eine Reihe von Reagenzgläsern bringt man von dieser Lösung je 2 ccm. Wir probieren dann aus, wieviel Kubikzentimeter einer Salzlösung man hinzugeben muß, damit eine deutliche Trübung entsteht. Wir machen eine Versuchsreihe mit molaren Lösungen von den unten angegebenen Salzen und erhalten folgende Resultate:

1. KCl, selbst nach Zugabe von 12 ccm noch keine Trübung.
2. KBr, nach 0,75 ccm starke Trübung.
3. KJ, nach 0,5 ccm starke Trübung.
4. KSCN, nach 0,2 ccm starke Trübung.

(Von einer Auffüllung auf gleiches Volumen wurde hier Abstand genommen.)

Ändern wir also nur die Anionen, so nimmt ihre fallende Wirkung in der Reihenfolge zu: Cl, Br, J, SCN. Das ist die HOFMEISTERSche Anionenreihe, welche häufig, und nicht nur in der Kolloidchemie, wiederkehrt.

## 11. Übung.

### Die HOFMEISTERSchen Ionenreihen mit Hämoglobin<sup>1)</sup>.

Ein gutes Objekt, an dem man die Ionenreihen studieren kann, ist das käufliche sogenannte „Hämoglobin“, weil es einerseits bei neutraler, saurer und alkalischer Reaktion löslich ist (wie Albumin, im Gegensatz zu Kasein, Globulin) und andererseits auch bei Anwendung schwer flockender Salze schon in mäßigen Salzkonzentrationen gefällt wird (im Gegensatz zu Albumin oder Gelatine). Man stellt eine 2proz. Lösung von Hämoglobin „klar löslich, pulverisiert“ (MERCK) her, indem man das Pulver erst mit sehr wenig Wasser in der Reibschale gut anrührt und allmählich mehr Wasser zufügt, schließlich filtriert.

Man stellt folgende Reihen von Salzlösungen an, deren Volumen je 8 ccm beträgt, und fügt zu jeder Lösung je 2 ccm Hämoglobulinlösung:

<sup>1)</sup> Entnommen aus OSTWALD, Wo.: Kleines Praktikum der Kolloidchemie. Dresden und Leipzig: Theod. Steinkopf 1920.

1. $2nK_3$ -Zitrat ccm	2	4*		1 mol. $(NH_4)_2SO_4$	0,5	1*	2
Wasser	6	4		Wasser	7,5	7	6
2. 0,5 mol. $K_2SO_4$	4	8*		1 mol. $Na_2SO_4$	0,5	1*	2
Wasser	4	0		Wasser	7,5	7	6
3. K-Azetat, 2m	2	4*		$Li_2SO_4$	8*	4	
Wasser	6	4		Gesättigte Lösung (= 2,3 mol.) Wasser	0	4	
4. KCl gesättigt				$CaCl_2$ oder $MgCl_2$			
= 3,5 mol.	5	6*	8	0,01 mol	8	4*	2
Wasser	4	2	0	Wasser	0	4	6
5. $KNO_3$ gesättigt				$AlCl_3$	5*	2,5	1,25
= 2,4 mol. 8*				Gesättigte Lösung (= etwa 9 mol.)			
Wasser	0			Wasser	3	5,5	6,75
6. KCNS gesättigt		(überhaupt keine Flockung) <sup>1)</sup>					
= etwa 14 mol. 8	8						
Wasser	0						

Diejenige Konzentration, welche sofort eine Trübung erzeugt, ist mit \* bezeichnet.

Vergleicht man die verschiedenen K-Salze, so ist die Reihenfolge der Anionen nach steigendem Fällungsvermögen:

Rhodanid, Nitrat, Chlorid, Azetat, Sulfat, Zitrat.

Vergleicht man die verschiedenen Sulfate oder die verschiedenen Chloride, so ist die Reihenfolge der Kationen nach steigenden Fällungsvermögen

Li, Na, K,  $NH_4$ .

Dies gilt für die neutrale Hämoglobinlösung.

In alkalischer Lösung findet sich folgendes:

2 ccm gesättigte (4 mol.) Lösung von  $(NH_4)_2SO_4$  + 6 ccm Wasser + 6 Tropfen  $InNaOH$ , mit 2 ccm Hämoglobin: sofort Flockung.

8 ccm gesättigte (8 mol.) Lösung von  $NH_2CNS$  + 6 Tropfen  $1n NaOH$  + 2 ccm Hämoglobin: flockt nicht.

Die Reihenfolge Rhodanid—Sulfat ist also dieselbe geblieben.

<sup>1)</sup> Die „Hämoglobin“-Präparate der letzten Zeit geben jedoch gerade mit KCNS die stärksten Fällungen; offenbar sind die neueren Präparate etwas sauer. Die schlechte Reproduzierbarkeit dieses Versuches ist ein warnendes Beispiel dafür, daß man keine bindenden Aussagen über die Wirksamkeit eines Elektrolyten machen soll, ohne die Azidität bzw. Alkalität der Lösung genau zu kennen. Das Genauere findet sich hierüber im Verlauf des Abschnittes IV.

In saurer Lösung:

2 ccm 1fach mol.  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  + 6 ccm Wasser + 6 Tropfen nHCl + 2 ccm Hämoglobin: flockt sofort.

2 ccm 0,2 mol.  $\text{NH}_2\text{CNS}$  + 6 ccm Wasser + 6 Tropfen nHCl + 2 ccm Hämoglobin: flockt sofort.

Die Reihenfolge der Anionen hat sich umgekehrt: Rhodanid flockt stärker als Sulfat.

Die Reihenfolge der einwertigen Kationen dagegen kehrt sich bei diesen Säurekonzentrationen nicht um; nur ist der absolute Betrag der Schwellenwerte anders, z. B.

alkalisch	Li	1 Mol	$\text{NH}_4$	0,8 Mol	K	0,5 Mol
sauer	Li	0,13 Mol	$\text{NH}_4$	0,04 Mol	K	0,025 Mol

## 12. Übung.

### Ionenreihen bei der Fällung von Glykogen<sup>1)</sup>.

In den vorangegangenen Beispielen wurde immer nur die Flockungsschwelle festgestellt. Beschränkt man sich auf solche Versuche, so kommt man zu dem Resultat, daß bei den hydrophoben Kolloiden nur die Wertigkeit und der Ladungssinn eines Ions von Einfluß ist, während die chemische Individualität der Ionen nicht oder kaum erkennbar ist. Und für die hydrophilen Kolloide kommt man zu dem Resultat, daß die Wertigkeit und das Vorzeichen der Ionen fast belanglos sind und dafür die Individualität der einzelnen Ionenarten in Form der lyotropen Reihen hervortritt. Man trifft aber das Wesen der Sache viel besser, wenn man nicht eigentlich den Gegensatz der Hydrophilie und der Hydrophobie für diesen Unterschied verantwortlich macht, sondern den Umstand, daß wir bei den Versuchen mit den elektrolyt-empfindlichen hydrophoben Kolloiden die verschiedenen Ionenarten alle in sehr niederen Konzentrationen miteinander vergleichen, während wir sie bei den Versuchen mit den elektrolyt-unempfindlichen hydrophilen Kolloiden in höheren Konzentrationen miteinander vergleichen. Diese Erscheinung ist nicht eine Besonderheit der Kolloidchemie, sondern findet sich überall bei Elektrolytlösungen. Auch bei der Aktivitätstheorie der reinen Elektrolytlösung nach MILNER, G. N. LEWIS, BJERRUM, DEBYE und HUECKEL findet sich ganz allgemein die Erscheinung, daß der Einfluß einer Ionenart in niederen Konzentrationen (bis

<sup>1)</sup> Siehe DÖKAN: Kolloid-Zeitschr. **37**, 1925.

etwa 0,01 molar) fast nur von der Wertigkeit abhängt, daß aber in höheren Konzentrationen die chemische Individualität sich bemerkbar macht, und daß dann dieselben lyotropen Reihen auftreten, wie sie seit HOFMEISTER in der Kolloidchemie bekannt sind. Das folgende Beispiel soll zeigen, daß auch in der Kolloidchemie an einem und demselben Objekt die Wirkung der Ionen in niederen Konzentrationen fast allein von der Wertigkeit abhängt, während in höheren Konzentrationen mehr und mehr die lyotropen Reihen hervortreten.

Dies soll am Glykogensol gezeigt werden. Glykogen ist ein stark hydrophiles Kolloid, welches gegen Wasser negativ geladen ist. Es ist so stark hydrophil, daß die beim Zusatz von Elektrolyten eintretende Entladung nicht ausreicht, um eine Flockung herbeizuführen. Andererseits reicht auch die dehydratisierende Wirkung nichtelektrolytarter, Wasser entziehender Mittel wie Alkohol oder Tannin bei Abwesenheit von Elektrolyten nicht aus, um eine Flockung herbeizuführen. Dies gelingt nur, wenn man beides miteinander kombiniert. Wenn man das Sol mit einer gewissen Menge Elektrolyt versetzt, so hat dies eine zunächst unsichtbare, vorbereitende Wirkung auf die Flockung, welche nachträglich zugesetztes Tannin erst wirklich herbeiführt. Die Stärke der vorbereitenden Wirkung des Elektrolyten kann man sehr exakt dadurch messen, daß man diejenige Menge Tannin austitriert, welche dann noch zur Erzeugung der Flockung erforderlich ist. Auf diese Weise können wir die Wirkung beliebiger Elektrolyte in beliebigen Konzentrationen an dem gleichen kolloidalen Objekt studieren.

Das benutzte Glykogen muß einigermaßen elektrolytfrei sein. Das käufliche Präparat (MERCK) ist erfahrungsgemäß befriedigend rein. Andernfalls müßte es erst durch wiederholtes Lösen in wenig Wasser und Ausfällen mit viel Alkohol gereinigt werden. Man stelle kurz vor dem Versuch eine 1proz. wäßrige Lösung von Glykogen her und verteile diese in eine große Anzahl von Reagenzgläsern in einer Menge von je 1,00 ccm. Dazu werden je 5 ccm der weiter unten genannten Salzlösungen hinzugefügt und diese Mischung mit einer 1,5proz. Lösung von Tannin (MERCK), welche sich in einer graduierten Bürette befindet, so weit versetzt, daß nach dem Umschütteln eine bleibende Koagulation eintritt. Diesen Endpunkt der Titration erkennt man, wenn man das Reagenzglas gegen das Fenster hält und auf einen horizontalen Ast des Fensterkreuzes blickt. Sobald dieser nicht mehr erkennbar ist, nimmt man die Titration als beendet an. Der Endpunkt kann auf wenige Tropfen genau bestimmt werden.

## Erste Versuchsreihe.

Die Konzentration aller Salzlösungen, welche in einer Menge von 5 ccm je einem Kubikzentimeter Glykogenlösung zugesetzt werden, soll 0,002 äquivalentnormal sein. Zur Fällung waren dann z. B. folgende Mengen Tannin (in ccm) erforderlich:

LiCl >10	BaCl <sub>2</sub>	4,47
NaCl >10	CaCl <sub>2</sub>	4,99
KCl 8,04	MgCl <sub>2</sub>	5,42
K-Salze mit anderen Anionen		
praktisch = KCl (KNO <sub>3</sub> , K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )		
		CeCl <sub>3</sub> 3,49

Denselben Versuch mache man z. B. mit 0,005 äquivalentnormalen Lösungen. Man erhält folgendes Resultat:

LiCl 8,41	BaCl <sub>2</sub>	3,77
NaCl 7,74	CaCl <sub>2</sub>	4,30
KCl 6,13	MgCl <sub>2</sub>	4,55
		CeCl <sub>3</sub> 2,85

Diese Versuche mit sehr niederen Salzkonzentrationen zeigen folgendes:

1. Eine Variation des Anions ist praktisch belanglos.
2. Bei der Variation der Kationen macht sich ganz überwiegend die Wertigkeit bemerkbar. Am schwächsten wirken die einwertigen Kationen, stärker die zweiwertigen, noch stärker die dreiwertigen.
3. Bei genauerer Betrachtung bemerkt man, daß die Wirkung verschiedener Kationen von gleicher Wertigkeit doch nicht genau einander gleich ist. Die einwertigen Kationen ordnen sich nach steigender Wirksamkeit zu der Reihe Li, Na, K, die zweiwertigen zu der Reihe Mg, Ca, Ba. Es sei vorweggenommen, daß diese Reihenfolge die umgekehrte ist wie in der zweiten Versuchsreihe mit hohen Salzkonzentrationen.

## Zweite Versuchsreihe.

Die Konzentration aller Salze sei 1fach äquivalentnormal. Dann ergeben sich als Tannintiter folgende Zahlen:

LiCl 0,92	KSCN	8,63
NaCl 1,58	KJ	6,92
KCl 2,84	KNO <sub>3</sub>	5,61
MgCl <sub>2</sub> 1,22	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	4,30
CaCl <sub>2</sub> 1,60	KBr	3,57
BaCl <sub>2</sub> 2,93	KCl	2,84

Hieraus erkennt man folgendes:

1. Die Wirksamkeit der zweiwertigen Kationen ist im Durchschnitt keinesfalls größer als die der einwertigen. Z. B. wirkt das einwertige Li stärker als irgendein zweiwertiges Kation.

2. Innerhalb der Ionengruppen von gleicher Wertigkeit bestehen sehr große Unterschiede. Die einwertigen Kationen ordnen sich nach steigender Wirksamkeit in die Reihe Ka, Na, Li, die zweiwertigen Ba, Ca, Mg, also umgekehrt wie vorher.

3. Auch die Anionen haben eine wesentliche Bedeutung. Z. B. ordnen sich die einwertigen Anionen nach steigender Wirksamkeit in die Reihe SCN, J, NO<sub>3</sub>, Br, Cl.

So erkennt man die allgemeine Regel:

Vergleicht man die Wirksamkeit verschiedener Elektrolyte auf ein Kolloid, so ist bei niederer Elektrolytkonzentration fast ausschließlich die dem Kolloid entgegengesetzt geladene Ionenart bestimmend, und zwar fast ausschließlich gemäß ihrer Wertigkeit. In höheren Konzentrationen sind beide Ionen des Elektrolyten von Einfluß, und zwar wesentlich gemäß ihrer Stellung in der lyotropen Reihe, nicht gemäß ihrer Wertigkeit.

### III. Einige Versuche über optische Inhomogenität.

#### 13. Übung.

Gute Versuche über die optische Auflösbarkeit einer Lösung sind nur mit dem Ultramikroskop von SIEDENTOPF und ZSIGMONDY mit Küvetteneinrichtung anzustellen; die „Ultrakondensoren“ sind für das Studium kolloidaler Lösungen für manche Fälle ein Ersatz. Die Erscheinung der Eiweißkörnchen mit BROWNScher Molekularbewegung im Ultrakondensator (Parbaloidkondensator und ähnliche) bei Beobachtung von verdünntem Serum oder Reizserum kann vom bakteriologischen Kurs her als bekannt angesehen werden, wo man beim Aufsuchen der Spirochäten Gelegenheit hat, sie zu sehen.

Einige Grunderscheinungen über optische Inhomogenität kann man mit Hilfe einer starken Lichtquelle ohne mikroskopische Vorrichtung studieren. Am besten eignet sich dazu die Bogenlampe, die in jedem Laboratorium zu dem Ultrakondensator benutzt wird.

Man fülle in ein Reagenzglas ein sehr stark verdünntes Mastixsol (wie S. 12) und lasse den Lichtkegel, den man durch eine vorgehaltene Sammellinse (Lupe) von der Lichtquelle erhält, in die Lösung fallen. Man sieht den Lichtkegel hell aufleuchten: TYNDALLSches Phänomen. Betrachtet man diesen Lichtkegel durch

ein NICOLSches Prisma, so erscheint er bei Drehung des Nicol um seine Achse bald hell, bald ist er kaum sichtbar; die Drehung des Nicol von der Stellung: hell bis zu der Stellung: dunkel beträgt  $90^\circ$ . Das von den Teilchen abgebeugte Licht ist also stark (wenn auch nicht vollkommen) linear polarisiert.

Auch in fluoreszierenden Lösungen (sehr verdünnte Lösungen von Eosin, Fluorescein, Chinin) sieht man den Lichtkegel in der Farbe der Fluoreszenz. Dieser ist aber nicht polarisiert, er ändert seine Lichtstärke beim Drehen des Nicol nicht. Das Fluoreszenzlicht entsteht an den einzelnen Molekülen, es ist nicht polarisiert. Das abgebeugte Licht in kolloiden Lösungen entsteht an den größeren, schwebenden Teilchen derselben und ist polarisiert.

Bei farbigen Kolloiden hat das abgebeugte Licht oft eine andere (nicht selten komplementäre) Farbe als das durchfallende Licht. Dann ist es mit Hilfe des Nicol möglich zu entscheiden, ob Fluoreszenz oder farbige Lichtbeugung, „Pseudofluoreszenz“ vorliegt.

Pseudofluoreszenz kann man z. B. folgendermaßen beobachten: Man löse einige Körnchen Indophenol in Alkohol und verdünne sehr stark mit destilliertem Wasser. Die blaue alkoholische Lösung behält ihre blaue Farbe im durchfallenden Licht; aber Indophenol ist in Wasser nicht eigentlich löslich, sondern bildet ein Sol wie Mastix. Bei seitlicher Beleuchtung mit der Bogenlampe sieht man einen rotbraunen Lichtkegel, der sich als polarisiert erweist.

Eine sehr stark verdünnte wäßrige (kolloide) Lösung von Berlinerblau ist im durchfallenden Licht blau, im seitlichen Licht der Bogenlampe zeigt sich ein roter Lichtkegel, der sich ebenfalls als Pseudofluoreszenz erweist.

Eine aufs äußerste verdünnte wäßrige Lösung von Nilblau zeigt eine Erscheinung von äußerlich ganz gleicher Beschaffenheit wie die vorige; aber es ist echte Fluoreszenz, das Licht ist nicht polarisiert. Versetzt man diese Nilblaulösung mit NaOH, so färbt sie sich für gewöhnliche Betrachtung rötlich, genau in dem Ton der soeben beschriebenen Fluoreszenz. Der Lichtkegel hat in diesem Falle die gleiche Farbe, aber er ist polarisiert, d. h.: die freie Nilblaubase ist in Wasser nicht löslich, sondern bildet (als Vorstadium ihrer Ausflockung) eine kolloide Lösung.

Mit der Dispersitätsänderung ist häufig eine Farbänderung verbunden; der Sinn der Farbenänderung ist nicht einheitlich. Z. B. ändert sich die Farbe bei Goldsol oder bei Kongorubin von Rot nach Blau bei zunehmender Teilchengröße, bei Nilblau (Toluidinblau u. a.) von Blau nach Rot bei zunehmender Teilchengröße.

## IV. Die Bestimmung der Wasserstoff-Ionen durch Indikatoren.

### a) Die Sonderstellung der $H^+$ - und $OH^-$ -Ionen.

Es ist nicht möglich, einen klaren Einblick in die Wirkungen irgendwelcher Ionen zu erhalten, ohne jedesmal auch die  $H^+$ - und  $OH^-$ -Ionen mit zu berücksichtigen. Denn niemals beobachten wir in wäßriger Lösung die reine Wirkung eines Elektrolyten, d. h. eines Ionenpaares, sondern stets in Konkurrenz mit dem Ionenpaar  $H^+ + OH^-$ , welches in keiner wäßrigen Lösung fehlt. Da nun diese beiden Ionen zu den wirksamsten gehören, so muß man sie sogar in etwa „neutralen“ Lösungen, in denen ihre Menge minimal ist, aufs genaueste berücksichtigen. Alles was wir im vorigen Abschnitt an Flockungsschwellenwerten kennen lernten, kann nur als vorläufig betrachtet werden und wird durch das, was uns z. B. die Übungen 26 bis 27 zeigen werden, ein ganz anderes Gesicht bekommen. Ein kleines Beispiel für die Wichtigkeit dieser Betrachtungen: Wir bestimmten die Flockungsschwelle eines Mastixsol für NaCl in „neutraler Lösung“. Wenn wir diesen Wert messen, beantworten wir in Wirklichkeit nur die Frage: „Welche Konzentration an NaCl hebt die dispergierende Wirkung der  $OH^-$ -Ionen der neutralen Lösung auf und summiert sich mit der flockenden Wirkung der  $H^+$ -Ionen in neutraler Lösung so, daß sichtbare Flockung entsteht?“ Es gibt gar keine absolute Schwelle für die NaCl-Wirkung, sondern nur eine relative Schwelle, welche auf eine ganz bestimmte  $OH^-$ -Konzentration der Lösung bezogen werden muß und bei geringfügigen Änderungen der  $OH^-$ -Konzentration sich ebenfalls ändert. Unsere „neutrale“ Mastixlösung ist aber meist in Wirklichkeit gar nicht genau neutral, und so hat der Schwellenwert des NaCl gar keine wertvolle innere Bedeutung, wenn wir nicht angeben, für welche  $OH^-$ -Konzentration er gilt.

Oder ein anderes Beispiel: Alle oberflächenaktiven Stoffe haben, wie J. TRAUBE fand, eine hohe pharmakologische Wirksamkeit. Nun sind die Alkaloide bedingt oberflächenaktive Stoffe (siehe 39. Übung), d. h. die Oberflächenspannung ihrer Lösung ist abhängig von den gleichzeitig in Lösung befindlichen Ionen, und unter diesen wiederum in besonders hohem Maße von den  $OH^-$ -Ionen. Fragt man nun nach der Wirkungsschwelle z. B. des Chinin auf einen fermentativen Prozeß, oder auf den Schwellenwert für seine bakterizide Wirkung in einer Bakterienaufschwem-

mung, so ist dieser Schwellenwert nicht absolut, sondern nur in bezug auf die H<sup>+</sup>-Konzentration der Lösung anzugeben, und er muß mit dieser variieren. Diese Beispiele ließen sich beliebig vermehren.

Die Dosierung und Messung der H<sup>+</sup>-Ionen erfordert aber besondere Methoden. Wollen wir einer Lösung eine bestimmte Konzentration an Cl<sup>-</sup>-Ionen erteilen, so fügen wir einfach die gewünschte Menge NaCl hinzu; da dieses weitgehend dissoziiert ist, ist die Cl<sup>-</sup>-Konzentration fast gleich der NaCl-Konzentration. Fügen wir aber einer Lösung etwas Essigsäure hinzu, so dissoziiert diese nur zu einem winzigen Bruchteil, und wir können nicht ohne weiteres voraussagen, welche H<sup>+</sup>-Ionenmenge wir der Lösung hinzufügen. Die Dosierung und Bestimmung der H<sup>+</sup>- und OH<sup>-</sup>-Ionen erfordert also besondere Methoden: zur Dosierung brauchen wir die Regulatoren oder Puffer, zur Bestimmung gibt es hauptsächlich zwei Methoden, die elektrometrische Methode und die Indikatorenmethode. Wir lernen zunächst die letztere kennen.

Die Sonderstellung der H<sup>+</sup>- und OH<sup>-</sup>-Ionen zeigt sich schon darin, daß in wäßriger Lösung beinahe alle Elektrolyte sehr stark dissoziiert sind, mit Ausnahme der Säuren und Basen, von denen es zahllose, sehr schwach dissoziierende gibt.

### b) Maßeinheit und Schreibweise.

Die Konzentration der H<sup>+</sup>-Ionen wird ausgedrückt in Gramm-Ion pro Liter. Das Symbol für Konzentration der H<sup>+</sup>-Ionen ist C<sub>H<sup>+</sup></sub>, oder [H<sup>+</sup>], oder [H<sup>+</sup>]. Wir werden im folgenden einfach h schreiben und „Wasserstoffzahl“ sprechen.

Das Symbol p<sub>h</sub>, der „Wasserstoffexponent“<sup>1)</sup>, hat folgende Bedeutung:

$$p_h = - \log h = \log \frac{1}{h}$$

Die Konzentration der OH<sup>-</sup>-Ionen werden wir oh (Hydroxylzahl) schreiben, und entsprechend den Hydroxylexponenten

$$p_{oh} = - \log oh = \log \frac{1}{oh}$$

definieren.

1) SÖRENSEN, S. P. L.: Biochem. Zeitschr. 21, 131. 1909.

30 Die Bestimmung der Wasserstoff-Ionen durch Indikatoren.

Das Produkt  $h \cdot oh = k_w$  ist die Dissoziationskonstante des Wassers. Es ist in jeder wäßrigen Lösung, ob sauer, neutral oder alkalisch

$$h \cdot oh = k_w \text{ oder}$$

$$p_h + p_{oh} = p_{k_w},$$

$p_{k_w}$  bedeutet, entsprechend dem obigen,  $-\log k_w$ .

$k_w$ beträgt bei $18^\circ$	$0,72 \cdot 10^{-14}$	bei $37^\circ$	$3,2 \cdot 10^{-14}$
$p_{k_w}$ „ „ $18^\circ$	14,14	„ $37^\circ$	13,50

Neutrale Reaktion ist charakterisiert durch folgenden Zustand:

bei $18^\circ$	$h = oh = 0,85 \cdot 10^{-7}$ ;	$p_h = p_{oh} = 7,07$
„ $37^\circ$	$h = oh = 1,77 \cdot 10^{-7}$ ;	$p_h = p_{oh} = 6,76$ .

Bei saurer Reaktion ist  $h >$  bei neutraler Reaktion

$p_h <$	„	„	„
$oh <$	„	„	„
$p_{oh} >$	„	„	„

Von den gebräuchlichen Indikatoren hat seinen Farbumschlag:

Methylorange	etwa bei	$p_h = 4$
Methylrot	„ „	$p_h = 6$
Lackmus	„ „	$p_h = 7$
Phenolphthalein	„ „	$p_h = 8$
$p_h$ des strömenden Blutes	ist =	7,35 bis 7,40
des Harnes . . . . .		5 bis 7,
der Nährbouillon . . . . .		7 bis 7,5
des gewöhnlichen, nicht von $CO_2$ befreiten destillierten Wassers . . . . .	gegen 6, sogar bis	5
des frischen Wasserleitungswassers . . . . .		7,5 bis 7,6
des Magensaftes . . . . .		1,5 bis 2

Beispiel für die Umrechnung von  $h$  und  $p_h$ :

- 1) Es sei  $h = 2 \cdot 10^{-5}$ ,  
dann ist  $\log h = \log 2 + \log 10^{-5}$ ,  
 $= 0,30 - 5 = -4,70$   
 $p_h = +4,70$ .
- 2) Es sei  $p_h = 6,70$ ,  
dann ist  $\log h = -6,70 = +0,30 - 7$   
 $h = 2,0 \cdot 10^{-7}$ .

Einer geometrischen  $h$ -Reihe mit dem Quotienten 2, also z. B.

$1 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$4 \cdot 10^{-5}$	$8 \cdot 10^{-5}$
-------------------	-------------------	-------------------	-------------------

entspricht die arithmetische  $p_h$ -Reihe mit der Differenz 0,3, also

5,0	4,7	4,4	4,1
-----	-----	-----	-----

Also eine Reihe, welche dem geforderten Prinzip der geometrischen Abstufung der  $h$  Genüge leistet, ist in bezug auf  $p_h$  eine arithmetische Reihe.

Zum bequemeren Umrechnen von  $h$  in  $p_h$  und umgekehrt wird am Schluß des Buches eine dreistellige Logarithmentafel gegeben. Die erste Stelle des Numerus ist in der ganz linken Vertikalreihe, die zweite (bzw. zweite und dritte) in der obersten Horizontalreihe abzulesen. Neben jeder Mantisse steht der sich zu 1000 ergänzende Wert derselben, den man für die Rechnung von  $p_h$  braucht.

Diese Tafel enthält noch eine Mantissenstelle mehr, als zur Angabe von  $p_h$  in Anbetracht der erreichbaren Genauigkeit der Messung erforderlich wäre. Man runde  $p_h$  immer auf 2 Dezimalen ab.

Die Stellenzahl dieser Tafel reicht übrigens für die meisten im Laboratorium vorkommenden Aufgaben aus. Sie kann allgemein als Logarithmentafel benutzt werden. Sowohl Multiplikation wie Division der Numeri kann in Addition von Mantissen verwandelt werden. Für die Multiplikation benutzt man die obere, für die Division die untere, kursiv gedruckte Mantisse zum Addieren.

#### 14. Übung.

#### Die Regulatoren oder Puffer.

a) In einem Gemisch einer schwachen Säure mit einem ihrer Salze ist  $h$  fast ausschließlich von dem Verhältnis von Säure zu Salz abhängig, kaum aber von der absoluten Menge derselben. Verdünnen mit Wasser ändert also  $h$  nicht oder kaum. Diese dem Anfänger paradox klingende Tatsache kann man sich in elementarer Weise folgendermaßen zurechtlegen. Eine schwache Säure ist immer nur wenig dissoziiert, und diese Dissoziation wird durch ihre Salze noch herabgedrückt. Verdünnt man nun das Säure-Salzgemisch, so wird die Säurekonzentration zwar geringer, aber in demselben Grade wird auch das dissoziationsvermindernde Vermögen des Salzes geringer.

Man bereite eine normale Lösung von kristallisiertem Natriumazetat ( $\text{CH}_3\text{COONa} + 3 \text{H}_2\text{O}$ ), indem man 13,61 g auf 100 ccm

destilliertes Wasser löst, ferner eine normale Lösung von Essigsäure (titriert gegen n-NaOH mit Phenolphthalein als Indikator). Aus diesen Lösungen bereite man  $\frac{1}{10}$  normale Lösungen durch Verdünnung. Man stelle folgende 4 Mischungen zur Demonstration der Pufferwirkung an:

	Nr. 1	2	3	4
0,1 normales Natriumazetat ccm	5	7	8,5	9
0,1 normale Essigsäure ccm	5	3	1,5	1

Die Abstufung der Reihe ist nicht nach irgendeinem Reihenprinzip getroffen, sondern nur mit Rücksicht auf die günstigen Farbentöne des Indikators.

In eine zweite Reihe von 4 Röhren bringe man zunächst 8 ccm Wasser und gieße aus jedem Röhren der ersten Reihe ungefähr 1 ccm in das entsprechende Röhren der zweiten Reihe. Nun gebe man in alle 8 Röhren einen bis zwei Tropfen Methylrot (0,1 g in 300 ccm 90proz. Alkohol und 200 ccm Wasser), jedenfalls in alle Röhren die gleiche Menge. In den ersten 4 Röhren durchläuft die Farbe alle Nuancen von rein rot bis rein gelb. Jedes Röhren der zweiten Reihe entspricht in seiner Farbe dem entsprechenden Röhren der ersten Reihe fast völlig, trotzdem die Lösung aufs 10fache verdünnt ist.  $h$  hängt also nur von dem (molaren) Verhältnis von freier Essigsäure zu Natriumazetat ab, und zwar ist angenähert

$$h = k \cdot \frac{\text{(freie Säure)}}{\text{(Na-Salz der Säure)}} \quad (1)$$

$k$  ist die Dissoziationskonstante der betreffenden Säure; diese beträgt in runden Zahlen für

Weinsäure . . . . .	1 · 10 <sup>-3</sup>
Milchsäure . . . . .	1,5 · 10 <sup>-4</sup>
Essigsäure . . . . .	2 · 10 <sup>-5</sup>
primäres Natriumphosphat . . . . .	2 · 10 <sup>-7</sup>
Kohlensäure . . . . .	3 · 10 <sup>-7</sup>

Das primäre Natriumphosphat wird hier als eine Säure betrachtet; ihr zugehöriges Natriumsalz ist das sekundäre Natriumphosphat. Für starke Säuren wie HCl gilt die obige Regel nicht. Die Pufferung der Gewebsflüssigkeiten wird in der Regel durch das Gemisch  $\text{CO}_2 + \text{NaHCO}_3$  hergestellt.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  gibt es in lebenden Gebilden nicht.

Enthält eine Lösung gleichzeitig zwei Puffer, also z. B. 1.  $\text{CO}_2 + \text{NaHCO}_3$ , 2.  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 + \text{Na}_2\text{HPO}_4$ , so kann man  $h$  berechnen entweder aus dem Gehalt an  $\text{CO}_2$  und  $\text{NaHCO}_3$ ,

oder aus dem Gehalt an  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  und  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ . Mischt man z. B.  $\text{CO}_2$  und  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , so setzen sich diese Stoffe derart um, daß die Lösung, als Karbonatpuffer berechnet, dieselbe  $h$  hat wie als Phosphatpuffer berechnet.

Blut ist ein überwiegender Karbonatpuffer, Harn ein überwiegender Phosphatpuffer.

Die obige Formel (1) für  $h$  ist nur eine angenäherte. Meist ist  $h$  ein wenig größer, als dieser Formel entspricht. Es ist also genauer

$$h = k' \cdot \frac{(\text{freie Säure})}{(\text{Na-Salz der Säure})}$$

wo  $k'$  ein wenig größer ist als die aus Leitfähigkeitsmessungen bestimmte Dissoziationskonstante  $k$  der Säure. Die Größe von  $k'$  hängt vom Gesamtelektrolytgehalt der Lösung ab; sie nähert sich bei sehr geringem Elektrolytgehalt dem wahren  $k$ , ist bei einem Salzgehalt von etwa 0,01 normal meist um 10—15 vH., bei 0,1 normal um etwa 25 vH., bei  $\text{CO}_2$ -Puffern sogar um etwa 100 vH. größer.

Die Deutung dieser Tatsache war bis vor kurzem folgende: Da das Maßgebliche für die unter dem Bruchstrich stehende Größe nur die durch Dissoziation aus dem Na-Salz gebildeten Säure-Ionen sind, das Salz aber nicht total dissoziiert ist, so muß die Konzentration des Na-Salzes unter dem Bruchstrich noch mit dem Dissoziationsgrad  $\delta$  desselben multipliziert werden, welcher je nach der Konzentration wechselt und stets  $< 1$  ist. Neuerdings hat sich die Auffassung<sup>1)</sup> geltend gemacht, daß die Na-Salze immer praktisch total dissoziiert sind, daß aber die aktive Masse der Ionen (im Sinne des Massenwirkungsgesetzes) in ionenreichen Lösungen infolge elektrostatischer Wechselwirkung dieser Ionen aufeinander verringert ist.

b) Man mische 10 ccm n-Essigsäure + 1 ccm n-Natriumazetat ( $p_H$  etwa = 3,7) und gebe einen Tropfen Methylorange zu (ebenso gelöst, wie oben das Methylrot). Die Lösung färbt sich orange. In ein zweites Reagenzglas gebe man 10 ccm physiologische  $\text{ClNa}$ -Lösung, einen Tropfen Methylorange und tropfenweise so viel 0,01 nHCl, daß die Farbnuance ungefähr ebenso wird, wie in der Azetatmischung. In beide Röhrchen gebe man jetzt 0,5—0,6 ccm einer 1proz. Gelatinelösung. Während die Farbe in dem Azetat-

1) BJERRUM, N.: Z. f. Elektrochemie **24**, 321. 1918.

röhrchen ungeändert bleibt, wird sie in dem HCl-Röhrchen rein gelb. Die Azetatmischung wird also durch Zusatz eines säurebindenden Stoffes (Gelatine) in ihrer  $h$  nur wenig geändert, eine HCl-Lösung von gleicher Anfangs- $h$  wird stark geändert.

Die beiden Säurelösungen haben, wie man sich ausdrücken kann, die gleiche Säure-Intensität, aber eine verschiedene Säure-Kapazität. Die verschiedene Kapazität oder das verschiedene „Pufferungsvermögen“ zweier Lösungen von gleicher  $h$  wird durch folgenden Versuch gezeigt.

c) Man mische 10 ccm n-Essigsäure + 1 ccm n-Natriumazetat; in einem zweiten Glas mischt man 1 ccm dieser, aus dem ersten Glas entnommenen Mischung mit 9 ccm dest. Wasser. Zu beiden fügt man Methylorange. Entsprechend der oben entwickelten Regel ist die Farbnuance in beiden Röhrchen und somit auch die  $h$  fast genau gleich. Verunreinigt man nun diese Lösungen mit einem säurebindenden Stoff, z. B. tropfenweise zugefügter 0,1 nNaOH, so ändert sich die  $h$  in dem verdünnten Puffer leichter als in dem unverdünnten, wie man an der Farbänderung des Indikators erkennen kann.

Hieraus ergeben sich folgende Leitsätze über die Regulatoren oder Puffer: Ein Gemisch aus einer schwachen Säure mit ihrem Alkalisalz hat die Eigenschaft eines Puffers, nämlich:

1. Es ändert seine  $h$  kaum bei Verdünnung mit reinem Wasser.

2. Es ist in seiner  $h$  widerstandsfähiger gegen säurebindende Verunreinigungen, als eine nicht gepufferte Lösung von gleicher  $h$ .

3. Durch Verdünnung mit Wasser wird zwar  $h$  nicht wesentlich geändert, aber die Widerstandsfähigkeit gegen Verunreinigungen (die „Pufferung“) wird vermindert.

Haben wir also die Aufgabe, irgendeiner Lösung eine bestimmte  $h$  zu erteilen, so versetzen wir sie mit einem Puffer, welcher diese  $h$  hat, und die Aufgabe ist wenigstens angenähert gelöst. Dies ist die Methode, nach der wir die  $h$  dosieren. Wir müssen aber durch eine Messung der  $h$  nachträglich kontrollieren, inwieweit diese Dosierung gelungen ist. Die Dosierung ist nur eine angenäherte, da ja die Säurekapazität eines Puffers nicht unendlich groß ist; die wirklich durch den Puffer erzeugte  $h$  muß durch eine Messung genauer festgestellt werden.

## Orientierende Bemerkungen über die Aktivitätstheorie.

Nach dem Massenwirkungsgesetz in seiner einfachsten Form erfolgt z. B. die Dissoziation der Essigsäure nach der Formel

$$\frac{[\text{H}^+] \cdot [\text{A}^-]}{[\text{A}]} = k$$

wo A die undissoziierten Moleküle der Säure, A<sup>-</sup> ihre Ionen und die Klammern die Konzentration in Mol pro Liter bedeuten. Diese Formel gilt aber nur in Lösungen von so hoher Verdünnung, daß es erlaubt ist, die idealen Gasgesetze auf sie anzuwenden. In höheren Konzentrationen treten Abweichungen auf, welche man in folgender Weise darstellen kann. Man kann für jede der drei beteiligten Molekülarten einen Faktor angeben, mit dem man sie multiplizieren muß, damit das Massenprodukt wieder denselben Wert k wie in sehr verdünnten Lösungen erhält, und man kann somit schreiben:

$$\frac{f_{\text{H}^+} \cdot [\text{H}^+] \cdot f_{\text{A}^-} \cdot [\text{A}^-]}{f_{\text{A}} \cdot [\text{A}]} = k.$$

$f_{\text{H}^+}$  nennt man den Aktivitätsfaktor der H-Ionen usw. Die Größe  $f_{\text{H}^+} \cdot [\text{H}^+] = a_{\text{H}^+}$  nennt man die Aktivität der H-Ionen usw. Der Aktivitätsfaktor ist bei idealen Lösungen für jede Molekülart gleich 1, bei nichtidealen Lösungen in der Regel kleiner. Der Aktivitätsfaktor kann für jede der beteiligten Molekülarten verschieden sein. Bei unelektrischen Molekülarten pflegt er herauf bis zu Konzentrationen von 1 molar nicht viel von 1 abzuweichen. Bei Ionen ist schon in 0,01 normalen Lösungen die Abweichung jedes einzelnen Aktivitätsfaktors von 1 merklich, und zwar hängt sie ab erstens von der Wertigkeit des betreffenden Ions, zweitens von der Konzentration und der Wertigkeit aller anderen, gleichzeitig mit der betreffenden Ionenart in Lösung befindlichen Ionenarten, auch derjenigen, mit denen die erstere chemisch nicht reagiert. Der Sinn des Aktivitätsfaktors ist, daß er die zwischen den einzelnen Molekülarten bestehenden anziehenden und abstoßenden Kräfte berücksichtigt, welche im Fall einer idealen Lösung vernachlässigt werden dürfen und für den Fall sehr verdünnter Elektrolytlösungen allein durch die elektrostatischen Wirkungen der Ionen aufeinander repräsentiert werden. Für den Fall, daß die gesamte Ionenkonzentration sehr niedrig ist (etwa bis 0,01—0,02 molar), wird der Aktivitätsfaktor nicht durch die chemische Individualität der Ionen, sondern nur

durch das Vorzeichen der Ladung und die Wertigkeit bestimmt, und zwar ist nach DEBYE<sup>1)</sup> der Logarithmus des Aktivitätsfaktors einer Ionenart (für 25°)

$$\log f_i = -0,816 \cdot w_i^2 \sqrt{w_1^2 c_1 + w_2^2 c_2 + w_3^2 c_3 + \dots w_i^2 c_i + \dots}$$

Hier ist  $w_i$  die Wertigkeit der Ionenart, deren Aktivitätsfaktor berechnet werden soll,  $w_1, w_2$  usw. sind die Wertigkeiten der einzelnen in Lösung befindlichen Ionenarten,  $c_1, c_2$  usw. ihre Konzentrationen. Die unter dem Wurzelzeichen stehende Summe heißt nach BJERRUM die ionale Konzentration der Lösung, oder ihr halber Wert die Ionenstärke (Ionic strength nach G. N. LEWIS). Ist die ionale Konzentration größer als etwa 0,02, so kann der Aktivitätsfaktor nicht mehr nach einer einfachen Formel berechnet werden. Er hängt dann nicht allein von der ionalen Konzentration ab, sondern auch von der chemischen Individualität jeder einzelnen vorhandenen Ionenart und wird vorläufig am besten als eine rein empirisch zu ermittelnde Größe betrachtet. Immerhin gibt die obige Formel auch für etwas stärkere (physiologische) Salzlösungen wenigstens einen Näherungswert für den Aktivitätsfaktor.

### 15. Übung.

#### Die Bestimmung der Wasserstoffzahl mit Indikatoren nach SÖRENSEN<sup>2)</sup> (mit Puffern).

Das Prinzip der Methode ist folgendes: Es wird eine Reihe geeigneter Stammlösungen vorrätig gehalten, durch deren verschiedenartige Mischung man jederzeit „Puffer“-Lösungen von ganz bestimmter  $h$  herstellen kann. Soll nun in irgendeiner Flüssigkeit  $h$  bestimmt werden, so gibt man einen geeigneten Indikator hinzu und probiert durch Mischen obiger Stammlösungen miteinander dasjenige Puffergemisch aus, welches diesem Indikator die gleiche Nuance erteilt wie der unbekanntes Lösung. Die  $h$  der verschiedenen Pufferlösungen sind durch die elektrometrische Methode (s. Kap. XII) ein für allemal geeicht. Die  $h$  der unbekanntes Lösung ist dann gleich der der farbgleichen Pufferlösung.

Von den Stammlösungen sind für die zunächst aufgestellte Übungsaufgabe, die  $h$  im frischen Wasser der Wasserleitung zu bestimmen, nur zwei erforderlich.

<sup>1)</sup> Siehe HÜCKEL, E.: Zur Theorie der Elektrolyte. *Ergebn. d. exakt. Naturwiss.* Berlin 1924.

<sup>2)</sup> SÖRENSEN, S. P. L.: *Biochem. Zeitschr.* **21**, 131. 1909.

1. Eine  $\frac{1}{15}$  molare Lösung von primärem Kaliumphosphat. 9,078 g dieses Salzes werden in destilliertem Wasser gelöst und auf einen Liter aufgefüllt. Das Wasser wird für diesen Zweck zur Austreibung der Kohlensäure kurz vorher in einem verzinnnten Kupfergefäß oder in einem Kolben aus Jenaer Glas zum Sieden erhitzt, 5 Minuten im Sieden erhalten und unter kohlensäuresicherem Verschuß abgekühlt. Dieser Verschuß wird hergestellt durch einen durchbohrten Gummistopfen, dessen Bohrung mit einem Natronkalkrohr verschlossen ist.

Das Salz wird zunächst in einem Maßkolben in dem noch ziemlich warmen Wasser gelöst, nach dem völligen Erkalten auf einen Liter aufgefüllt und sofort in eine WULFFSche Flasche eingegossen (Abb. 1); die eine Öffnung der Flasche wird mit einem Vorlagegefäß mit Natronkalk verbunden, die andere mit einer Bürette mit automatischer Nullpunktseinstellung. Die obere Öffnung der Bürette ist mit einem Natronkalkaufsatz verschlossen. Das offene Ende dieses Aufsatzes wird in der Regel mit einem Stopfen verschlossen, der nur während des

Gebrauchs abgenommen wird. Auch die äußere Öffnung der Natronkalkvorlage ist im Ruhezustand mit einem Stopfen verschlossen, der während des Gebrauchs durch einen Ventilmgummiball ersetzt wird.

2. Eine  $\frac{1}{15}$  molare Lösung von „sekundärem Natriumphosphat nach SÖRENSEN“. 11,876 g von diesem Salz werden genau in derselben Weise zu 1 Liter gelöst und in derselben Weise aufbewahrt.

Dieses „sekundäre Natriumphosphat nach SÖRENSEN“ unterscheidet sich von dem gewöhnlichen (sekundären) „Natriumphosphat“ durch

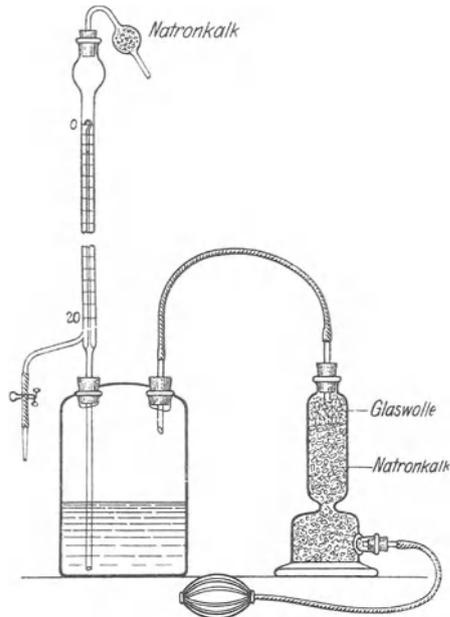


Abb. 1. Vorratsgefäß mit Bürette für die Stammlösungen.

seinen Kristallwassergehalt. Das gewöhnliche Phosphat enthält 6 Mol. Kristallwasser, verwittert aber leicht und ist deshalb in seiner Zusammensetzung unzuverlässig. Das SÖRENSENSE Salze enthält 2 Mol.  $H_2O$  und ist beständig. Es entsteht aus dem ersteren, indem man es in zerriebenen Zustand wochenlang in flachen Schalen an der Luft verwittern läßt. Die Verwitterung ist jedoch mitunter nicht vollkommen; höhere Temperatur beschleunigt die Verwitterung. Es ist daher folgendes Verfahren zu empfehlen. Von dem vorrätig gehaltenen, scheinbar gut verwitterten „sek. Natriumphosphat nach SÖRENSEN“ wird etwa das 1,5fache der erforderlichen Menge in flacher Schicht ausgebreitet und auf 1—2 Tage in den Brutschrank bei  $36^{\circ}$ — $38^{\circ}$  C gestellt. Danach läßt man die Schale in einem verschlossenen, aber mit keinem Trocknungsmittel beschickten Exsikkator erkalten und wägt die gewünschte Portion ab. Das so vorbereitete Salz ist gewichtskonstant und hat den richtigen Wassergehalt von 2 Mol.  $H_2O$ .

3. Einige Indikatoren: Methylrot (nach PALITZSCH) 0,1 g gelöst in 300 ccm etwa 93proz. Alkohol + 200 ccm destilliertem Wasser.

p-Nitrophenol, 0,4 g in 60 ccm Alkohol + 90 ccm Wasser.

Neutralrot 0,01proz. Lösung in 50proz. Alkohol.

Phenolrot, 0,02 vH. alkoh. Lösung.

Phenolphthalein 0,5 g gelöst in 1 Liter 50proz. Alkohol.

Auswahl des passenden Indikators.

In ein Reagenzglas füllt man 10 ccm ungefähr 0,5 normale Salzsäure, in ein zweites ebensoviel 0,1 normale Natronlauge. In beide Röhrchen gibt man die gleiche Menge, z. B. 5 Tropfen, Methylrot. Man erkennt hier, welche Farbe der Indikator bei extrem saurer und bei extrem alkalischer Reaktion hat. Genau dasselbe macht man mit allen anderen Indikatoren. Nunmehr nimmt man so viel Reagenzgläser mit je 10 ccm der zu untersuchenden Lösung (also frischem Wasserleitungswasser) als man Indikatoren hat, und fügt in jedes wiederum 5 Tropfen je eines Indikators. Es wird nun einige Röhrchen geben, bei denen hier der Indikator dieselbe extreme Nuance hat wie entweder in der Salzsäure oder in der Natronlauge. Diese Indikatoren sind für den vorliegenden Fall unbrauchbar. Einen Indikator aber wird man finden, der eine Übergangsfarbe zwischen den Extremen zeigt. Diesen muß man für die weitere Untersuchung wählen. Dieses ist in unserem Fall Neutralrot oder Phenolrot.

Die eigentliche Bestimmung der h.

10 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit werden mit einer für die Farbabschätzung angenehmen Menge des auserwählten Indikators versetzt, in unserem Fall 2—5 Tropfen Neutralrot. Die Zahl der Tropfen muß ganz genau festgestellt werden. Sie müssen aus einer gleichmäßig tropfenden Pipette ganz langsam

abgetropft werden. Nunmehr füllt man in ein Reagenzglas 5 ccm der obigen sekundären Phosphatlösung und 5 ccm der primären Phosphatlösung, und in dieses Gemisch genau die gleiche Menge desselben Indikators. Man prüft nun durch Farbenvergleichung, ob das Phosphatgemisch saurer ist als die unbekannte Lösung oder alkalischer. Je nach dem Befund stellt man nun ein neues Phosphatgemisch her, von dem man annehmen kann, daß es bei der Prüfung mit demselben Indikator der unbekannteten Lösung ähnlicher wird; z. B. 6 ccm sekundäres Phosphat + 4 ccm primäres Phosphat, so daß das Gesamtvolumen der Phosphatmischung immer 10 ccm ist. Diese Mischung nennt man „Phosphatgemisch 6“. Und so stellt man immer neue Phosphatmischungen her, bis man das zutreffende gefunden hat. Das kann dann als erreicht betrachtet werden, wenn man ein Gemisch hat, welches eben ein wenig zu sauer ist, und eines, welches ein wenig zu alkalisch ist. Dazwischen wird schließlich dasjenige Phosphatgemisch ausprobiert, welches nicht mehr zu unterscheiden ist. Dies wird für frisches Leitungswasser in der Regel das Phosphatgemisch „8,7“ sein. Die Farbvergleichung muß gegen einen etwa 10 cm entfernten Untergrund von rein weißem Schreibpapier erfolgen. Die Betrachtung geschieht am besten, indem man von oben her durch die ganze Länge des Reagenzglases blickt. Die Gläser müssen genau gleiches Lumen haben. Sie werden vor dem Versuch daraufhin genau geprüft. Das  $p_H$  der unbekannteten Flüssigkeit ist nunmehr gleich dem des farbgleichen Phosphatröhrchens. Das  $p_H$  der Phosphatgemische kann aus einem Diagramm (s. Abb. 2) entnommen werden, welches von SÖRENSEN durch elektromotorische Bestimmung geeicht ist. Dieses Diagramm ist gleichzeitig für andere Puffergemische gezeichnet. Man liest es z. B. folgendermaßen.

Um  $p_H$  eines Phosphatgemisches aus 8,7 ccm sekundärem + 1,3 ccm primärem Phosphat zu finden, sucht man auf der Ordinate den Punkt 8,7. Die Horizontale, welche von diesem Punkt ausgeht, schneidet die „Phosphatkurve“ an einem bestimmten Punkt. Dieser, auf die Abszisse projiziert, zeigt  $p_H = 7,60$ . Dies ist ungefähr der Wert, den man im Leitungswasser zu finden pfllegt.

Abgestandenes Wasser aus der Wasserleitung ist infolge von  $CO_2$ -Verlust alkalischer, d. h. Neutralrot wird mehr gelb, das farbgleiche Phosphorgemisch ist nicht mehr „8,7“, sondern etwa „9“ und darüber. Man koche ferner eine Probe Leitungswasser kurz auf und überzeuge sich von der sehr bedeutenden Änderung von  $p_H$  im Sinne zunehmender Alkalität.

Das Diagramm enthält auch die Werte für die anderen Puffer-

40 Die Bestimmung der Wasserstoff-Ionen durch Indikatoren.

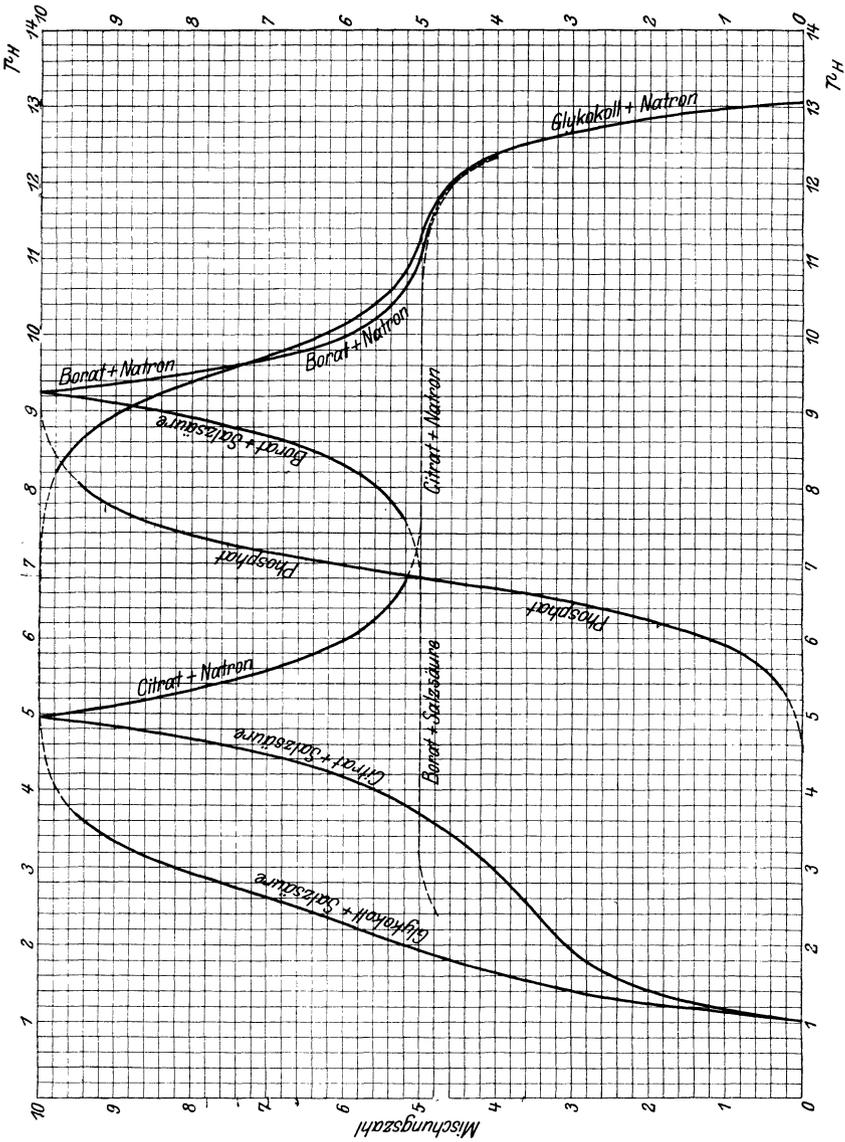


Abb. 2. Puffer-Diagramm nach SÖRENSEN. Die punktierten Kurvenabschnitte sind schlecht reproduzierbar und sollen nicht verwendet werden.

lösungen, zu deren Herstellung man folgende Stammlösungen braucht:

„Glykokoll“ bedeutet eine Lösung von 7,505 g Glykokoll und 5,85 NaCl auf 1 Liter Wasser.

„Salzsäure“ ist in 0,1 n-Salzsäure.

„Natron“ ist ein 0,1 n-Natronlauge, frei von  $\text{CO}_2$ . Sie wird hergestellt, indem man in einem hohen, mit gefettetem Glasstöpsel verschlossenen Zylinder Ätznatron zur Sättigung in Wasser löst, so daß noch reichlich Bodenkörper bleibt, oft durchschüttelt, mehrere Tage, besser Wochen, bis zur Klärung sedimentieren läßt und dann von einer abgehobenen Probe unter den schon oben beschriebenen Vorsichtsmaßregeln gegen das Eindringen von  $\text{CO}_2$  eine Lösung des gewünschten Titors herstellt. Die so hergestellte Lauge ist  $\text{CO}_2$ -frei, da  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  in der konzentrierten Lauge unlöslich ist.

„Zitrat“ ist eine Lösung von 21,008 g Zitronensäure + 200 ccm n-Natronlauge, auf 1 Liter aufgefüllt.

„Borat“ ist eine Lösung von 12,404 g Borsäure und 100 ccm n-Natronlauge, auf 1 Liter Wasser aufgefüllt.

Alle diese Lösungen müssen in der oben angegebenen Weise mit  $\text{CO}_2$ -freiem Wasser hergestellt und  $\text{CO}_2$ -sicher aufbewahrt werden.

Beispiel für die Anwendung des Diagramms für diese Puffer: Um für eine Mischung von 6 ccm Zitrat + 4 ccm Salzsäure (Summe stets 10 ccm)  $p_{\text{H}}$  zu finden, sucht man den Schnittpunkt der Horizontalen „6“ mit der Kurve „Zitrat + Salzsäure“ und liest an der Abszisse  $p_{\text{H}} = 4,18$  ab.

Die oben genannten Indikatoren umspannen nur eine beschränkte Reihe von  $p_{\text{H}}$ . Eine Auswahl geeigneter Indikatoren für ein größeres Bereich ist folgende:

Indikator	Farben- umschlag	Anwend- barkeit für $p_{\text{H}} =$	Herstellung der Lösung
Tropäolin 00	gelb—rot	1,4—2,6	0,1 vT. wäbr. Lösung
Rotkohlauszug	blau—rot	2,0—4,5	500 g zerschnittener Rotkohl, 2 Tage in 500 g 96 vH. Alko- hol, dann filtriert.
Methylorange	gelb—rot	3,1—4,4	0,1 g in 300 Alk. + 200 Wass.
Methylrot	gelb—rot	4,2—6,3	
p-Nitrophenol	gelb—farblos	4,0—6,4	0,1 g in 15 „ + 235 „
Neutralrot	gelb—rot	6,5—8,0	0,1 g in 500 „ + 500 „
«-Naphtholphtalein	blaugrün— graugelb	7,3—8,7	0,1 g in 150 „ + 100 „
Phenolphtalein	rot—farblos	8,3—10,0	0,1 g in 100 „ + 100 „
Thymolphtalein	blau—farblos	9,3—10,5	0,1 g in 125 „ + 125 „
Alizarin gelb R	rot—gelb	10,1—12,1	0,1 vT. wäbr. Lösung

Schöne Indikatoren für die SÖRENSENSEsche Methode mit prachtvollen Farbenübergängen sind folgende, von LUBS und CLARK<sup>1)</sup> angegebenen:

Chem. Bezeichnung	Gewöhnliche Bezeichnung	pH-Gebiet	Farbenumschlag	Konzentration der anzuwendenden alkoholischen Lösung
Thymolsulfophtalein	Thymolblau	1,2—2,8	rot—gelb	0,04 vH.
Tetrabromphenol-sulfophtalein	Bromphenolblau	3,0—4,6	gelb—blau	0,04 „
o-Carboxy-benzol-azo-dimethylanilin	Methylrot	4,4—6,0	rot—gelb	0,02 „
Dibrom-o-kresol-sulfophtalein	Bromkresolpurpur	5,2—6,8	gelb—purpur	0,04 „
Dibrom-thymol-sulfophtalein	Bromthymolblau	6,0—7,6	gelb—blau	0,04 „
Phenol-sulfophtalein	Phenolrot	6,8—8,4	gelb—rot	0,02 „
o-Kresol-sulfophtalein	Kresolrot	7,2—8,8	gelb—rot	0,02 „
Thymolsulfophtalein	Thymolblau	8,0—9,6	gelb—blau	0,04 „
o-Kresolphtalein	Kresolphtalein	8,2—9,8	farblos—rot	0,02 „

An Stelle des Methylrot, welches allein in dieser Reihe nicht zu den Sulfophtaleinen gehört, ist neuerdings von B. COHEN<sup>2)</sup> empfohlen worden:

Tetrabrom-m-cresol-sulfophtalein      Bromkresolgrün      pH 4,0—5,6

## 16. Übung.

### Der Salzfehler der Indikatoren.

Neben den H-Ionen haben auch andere Ionen einen Einfluß auf die Nuance eines Indikators; die meisten allerdings erst in hohen Konzentrationen. In salzreichen Lösungen sind daher die pH-Messungen mit Indikatoren mit einem kleinen Fehler behaftet, der je nach Art und Konzentration des Salzes sowie nach dem angewandten Indikator verschieden ist. Physiologische Salzlösungen machen bei den hier ausgewählten Indikatoren nur sehr kleine Fehler, die meist nicht berücksichtigt zu werden brauchen. Da der „Salzfehler“ der Indikatoren aber eine sehr instruktive theoretische Vorbereitung für andere biologisch wichtige Salzwirkungen darstellt, soll er an einem Beispiel gezeigt werden:

<sup>1)</sup> LUBS, HERBERT A. und CLARK, WILLIAM M.: Journ. of the Washington acad. of sciences 5, 609. 1915 und CLARK und LUBS: Journ. of bacteriol. 2, 1. 1917 und besonders das empfehlenswerte Buch: The Determination of Hydrogen Ions, von W. MANSFIELD CLARK, Baltimore. 1920.

<sup>2)</sup> BARNETT COHEN, Public Health Reports, U. S. P. H. S. 38, 199 (1923).

Man mischt in vier verschiedenen Röhrcchen in gleicher Weise je 4,5 ccm m/15 primäres Phosphat und 4,5 ccm m/15 sekundäres Phosphat (wie oben), und gibt dazu

in Röhrcchen Nr.	1	2	3	4
gesättigte (etwa 3,5 molare) KCl-Lösung	0	1	0	1
destilliertes Wasser	1	0	1	0

Dann bringt man in Lösung 1 und 2 einige Tropfen Lackmuslösung (nach KUBEL-THIEMANN), in 3 und 4 einige Tropfen Neutralrot. Vergleicht man nun die beiden Lackmusröhrcchen, so ist ihre Farbe nahezu gleich, allenfalls ist das mit Salz ein Spürchen blauer. Wir würden daraus schließen, daß h durch den Salzzusatz gleich geblieben oder allenfalls ein Spürchen kleiner, d. h.  $p_h$  ein Spürchen größer geworden ist. Vergleichen wir aber die beiden Neutralrotöhrcchen, so finden wir, daß das mit Salz deutlich röter ist, d. h. daß h durch den Salzzusatz entschieden größer ( $p_h$  kleiner) geworden ist. Infolge der Unstimmigkeit beider Indikatoren bei Gegenwart reichlicher Salzmengen haben wir Grund, die Richtigkeit beider Resultate zu bezweifeln.

Wenn wir nun auf die in der vorigen Übung angegebene Weise durch Aufsuchen des für den gleichen Indikator farbgleichen Phosphatgemisches  $p_h$  zu bestimmen suchen, so finden wir in den Röhrcchen ohne Salz für beide Indikatoren gleichmäßig:

Das farbgleiche Gemisch ist das Phosphatgemisch „5“, also  $p_h = 6,81$ .

In den Röhrcchen mit Salz finden wir

für Lackmus:  $p_h$  ziemlich genau ebenfalls 6,81.

für Neutralrot: Das farbgleiche Gemisch ist das Phosphatgemisch „2,4“, also  $p_h = 6,35$ .

Zur Entscheidung dieses Dilemma versuchen wir eine andere Methode der h-Bestimmung zu Rate zu ziehen. Wenn man mit der an späterer Stelle beschriebenen elektrometrischen Methode in einem Röhrcchen mit und ohne Salz  $p_h$  bestimmt, so finden wir:

ohne Salz:  $p_h = 6,80$

mit Salz:  $p_h = 6,56$ .

Die Messung ohne Salz stimmt also mit beiden Indikatorenmessungen überein. Das ist selbstverständlich; denn die Indikatorenmethode ist auf Grund elektrometrischer Parallelmessungen mit salzarmen Pufferlösungen geeicht worden. Mit Salz dagegen zeigt uns die elektrometrische Messung einen Wert, der etwa in der Mitte steht zwischen dem Lackmus- und dem Neutral-

rotwert. Es ist nun theoretisch begründet, den elektrometrisch erhaltenen Wert als den „richtigen“ anzusehen und alle Abweichungen, welche die Indikatoren in salzreichen Lösungen hiervon zeigen, als „Salzfehler“ zu bezeichnen. Diese Fehler können bald negativ, bald positiv sein.

Wie BJERRUM gezeigt hat, ist auch das, was wir mit der Gaskette messen, bei Gegenwart größerer Mengen von Elektrolyten nicht genau die wahre Konzentration der  $H^+$ , sondern eine Größe, welche er die „Wasserstoffaktivität“,  $a_H$ , genannt hat. Diese ist je nach der Art und Menge der anwesenden Elektrolyte um einige Prozent kleiner als die wahre Konzentration der  $H^+$ -Ionen und läßt sich theoretisch aus dieser ableiten. Das Wort „Aktivität“ hat denselben Sinn wie die „aktive Masse“ beim Massenwirkungsgesetz, welche in konzentrierteren Lösungen ja auch nicht der wahren Konzentration genau proportional ist.

Die chemische Reaktionsfähigkeit der  $H^+$ -Ionen im Sinne des Massenwirkungsgesetzes geht nun, ebenso wie ihre elektromotorische Wirksamkeit, der „aktiven Masse“ derselben, nicht ihrer wahren Konzentration proportional. Dieser Umstand gibt uns die Berechtigung, die mit der elektrometrischen Methode erhaltenen Werte als die Standardwerte zugrunde legen. Denn die chemische Reaktionsfähigkeit der  $H^+$ -Ionen einer Lösung ist es vor allem, die wir durch eine solche Messung ermitteln wollen.

Zum Schluß sei noch einmal darauf hingewiesen, daß bei physiologisch in Betracht kommenden Salzkonzentrationen diese Salzfehler immer sehr klein sind. Alle angegebenen Indikatoren sind daraufhin ausgewählt, daß sie möglichst kleine Salzfehler geben, d. h. daß ihre Angaben sich auch bei Gegenwart mäßiger Salz- oder Eiweißmengen mit den elektrometrischen Messungen möglichst decken.

Alle diese Umstände bewirken, daß die Unsicherheit aller  $p_H$ -Messungen mit irgendeiner Indikatorenmethode meist mehrere Einheiten der zweiten Dezimale von  $p_H$  beträgt.

## 17. Übung.

### Der Eiweiß- und Alkaloid-Fehler der Indikatoren.

Die Voraussetzung für die Richtigkeit der Indikatorenmethoden ist, daß in der Lösung keine Stoffe vorhanden sind, welche mit dem Indikator Bindungen eingehen und den durch die  $H^+$ -Ionen bestimmten Dissoziationszustand des Indikators verändern. Von derartigen Stoffen kommen vor allem die Eiweißkörper in Betracht. Die empfohlenen Indikatoren sind alle nach dem Prinzip ausgewählt, daß ihr „Eiweißfehler“ möglichst gering ist, und bei den meisten ist unter gewöhnlichen Umständen dieser Fehler zu vernachlässigen. Außer den Eiweißkörpern gibt es noch andere Stoffe, welche solche Fehler hervorrufen; zur Demonstration folgendes Beispiel:

Es wird die Phosphatmischung „4,0“ hergestellt. Von dieser Mischung werden je 5 ccm einerseits mit 0,5 ccm dest. Wasser,

andererseits mit 0,5 ccm Chininchlorhydrat 1 : 100 versetzt und zu beiden Bromthymolblau (etwa 6 Tropfen) zugefügt. Obwohl es ausgeschlossen ist, daß in dieser stark gepufferten Lösung diese geringe Chininmenge eine wesentliche Änderung des  $p_h$  erzeugt, unterscheiden sich die Farben stark voneinander. Bei längerem Warten scheidet sich eine flockige, gefärbte Chininverbindung des Indikators ab. Dieselben Phosphatmischungen, mit je 0,2 ccm p-Nitrophenol (1 : 1000) versetzt, zeigen mit und ohne Chinin den gleichen Farbgrad. Bei Gegenwart von solchen Alkaloiden kann man  $p_h$  zwar mit einfarbigen Indikatoren der Nitrophenolreihe, aber nicht mit den Indikatoren von CLARK und LUBS bestimmen.

### 18. Übung.

#### Die Bestimmung der Wasserstoffzahl mit Indikatoren ohne Puffer<sup>1)</sup>.

Die Methode läßt sich am einfachsten mit sogenannten einfarbigen Indikatoren, die von farblos in eine Farbe umschlagen können, anwenden. Sie beruht auf folgendem Prinzip: Man versetzt 10 ccm der zu untersuchenden Lösung mit einer abgemessenen Menge eines Indikators. Ist der Indikator geeignet, so wird er weder ganz farblos sein, noch diejenige maximale Farbtiefe zeigen, die er in stark alkalischer Lösung haben würde. Die maximale Farbtiefe haben die hier verwendeten Indikatoren in 0,01 n-NaOH; stärkere Lauge vertieft die Farbe nicht weiter. Man stellt nun durch einen Reihenversuch fest, wieviel Indikator man zu 10 ccm 0,01 n-NaOH zusetzen muß, um dieselbe Farbtiefe zu erhalten, wie in der unbekanntnen Lösung. Man wird für die Lauge weniger Indikator brauchen. Das Verhältnis dieser Indikatormenge zu jener anderen nennen wir den Farbgrad, F. Dieser muß stets  $< 1$  sein. Aus ihm läßt sich  $h$  der zu untersuchenden Lösung berechnen nach der Formel

$$h = k \cdot \frac{1 - F}{F}.$$

Hier bedeutet  $k$  eine für den angewendeten Indikator charakteristische Zahl, die Indikatorkonstante.

Wir stellen uns, wie in der vorigen Übung, die Aufgabe, die  $h$  des frischen Wasserleitungswassers zu bestimmen. Der hierfür geeignete Indikator ist m-Nitrophenol, 0,3 g unter mäßigem

<sup>1)</sup> MICHAELIS, L. und GYEMANT, A.: Biochem. Zeitschr. 109, 165. 1920.

Erwärmen in 100 ccm destilliertem Wasser gelöst. Man füllt in ein Reagenzglas 10 ccm des zu untersuchenden Wassers und dazu 1 ccm des Indikators. In 2—3 Minuten hat der Indikator seinen definitiven Farbton angenommen. Nun füllt man in eine Reihe von ganz gleichmäßigen Reagenzgläsern zunächst je 9 ccm einer aus nNaOH frisch hergestellten 0,01 nNaOH. (Es kommt gar nicht auf genauen Titer an; man kann ebensogut 0,02 n-NaOH nehmen.) Nun stellt man eine 10fache Verdünnung des Indikators mit destilliertem Wasser her und gibt in das erste der mit Lauge versetzten Gläser 0,5 ccm des verdünnten Indikators, in das zweite 1,0 ccm, in das dritte 2,0 ccm; also eine geometrische Reihe mit dem Quotienten 2. Schließlich füllt man die drei Gläser mit 0,01 nNaOH auf das Volumen der zu untersuchenden Lösung auf, welches einschließlich des zugesetzten Indikators 11 ccm beträgt. Vergleicht man der Reihe nach die Farben dieser Gläser, so findet man, daß das erste zu hell, das dritte zu dunkel, das mittlere ungefähr richtig ist. Für den Vergleich darf man immer nur die zwei zu vergleichenden Röhrchen nebeneinander halten, bei guter Beleuchtung gegen einen rein weißen Hintergrund (Schreibpapier, Porzellanteller) aus nicht allzu naher Entfernung von demselben. Man blickt am besten von oben durch die Röhrchen, jedoch ist manchmal auch die Betrachtung durch die Seitenwand vorteilhaft.

Nunmehr engt man die Beobachtung durch eine feiner abgestufte Reihe ein, am besten mit dem Quotienten 1,2 oder sogar 1,15. Wir hatten 1,0 ccm in der groben Reihe am besten gefunden; wir fügten also Versuche mit 1,2 und 1,44, sowie mit 0,83 und mit 0,69 ccm verdünnten Indikators hinzu. Wir finden als definitives Resultat, daß 1,0 ccm richtig ist, 1,2 schon zu viel, 0,83 zu wenig ist. In der zu untersuchenden Lösung war 1,0 ccm Indikator, in der farbgleichen Lauge 1,0 ccm des 10fach verdünnten Indikators. Der Farbgrad ist also = 0,10. Um die obige Formel anwenden zu können, müssen wir noch den k-Wert für m-Nitrophenol kennen. Er beträgt (für Zimmertemperatur)  $4,7 \cdot 10^{-9}$ . Also ist

$$h = \frac{1 - 0,10}{0,10} \cdot 4,7 \cdot 10^{-9} = 42 \cdot 10^{-9} = 4,2 \cdot 10^{-8}.$$

Will man  $p_h$  ausdrücken, so ist

$$\begin{aligned} \log h &= 0,62 - 8 = -7,38, \\ p_h &= 7,38. \end{aligned}$$

Dieser Wert wird mit einem kleinen Spielraum (etwa  $\pm 0,05$ ) im Leitungswasser stets gefunden, wenn es nicht durch Abstehen  $\text{CO}_2$  verloren hat. Hiermit ist die Bestimmung beendet.

Um bei häufigerer Benutzung der Methode aus der Farbvergleichung sofort  $p_h$  zu finden, benutzen wir folgende Methode. Wir logarithmieren die Gleichung (S. 45):

$$\log h = \log k + \log \frac{1 - F}{F}$$

und daher

$$p_h = p_k + \log \frac{F}{1 - F},$$

wobei wir unter  $p_k$  den „Indikatorexponenten“, den negativen Logarithmus der Konstanten (analog  $p_h$ ) verstehen. Die folgende Tabelle 1 und 2 gibt für einige geeignete Indikatoren die Werte für  $p_k$  an. Sie sind bei verschiedenen Temperaturen etwas verschieden, aber dafür können wir mit dieser Methode  $p_h$  auch bei beliebiger Temperatur bestimmen. Aus dem Diagramm Abb. 3, Kurve I, kann für jedes beliebige experimentell gefundene  $F$  der Wert von  $\log \frac{F}{1 - F}$  abgelesen werden. Die Ordinate ist  $F$ , die

Tabelle 1.  
Übersicht über die einfarbigen Indikatoren.

Gewöhnliche Bezeichnung	Chemische Bezeichnung	Farbe	$p_k$ für $18^\circ$	Anwend. Bereich. $p_h$	Stammlösung
$\beta$ -Dinitrophenol	1-Oxy-2,6-dinitrobenzol	gelb	3,69	2,2—4,0	0,1 g: 300 Wasser
$\alpha$ -Dinitrophenol	1-Oxy-2,4-dinitrobenzol	gelb	4,06	2,8—4,5	0,1 g: 200 Wasser
$\gamma$ -Dinitrophenol	1-Oxy-2,5-dinitrobenzol	gelb	5,15	4,0—5,5	0,1 g: 200 Wasser
p-Nitrophenol	p-Nitrophenol	gelb	7,18	5,2—7,0	0,1 g: 100 Wasser
m-Nitrophenol	m-Nitrophenol	gelb	8,33	6,7—8,4	0,3 g: 100 Wasser
Phenolphthalein	Phenolphthalein	rot	9,73	8,5—10,5	0,04 g in 30 cm <sup>3</sup> Alkohol + 70 Wasser
Alizarin gelb GG (Salizylgelb)	m-Nitrobenzol-azosalizylsäure	gelb	11,16	10,0—12,0	0,05 g in 50 cm <sup>3</sup> Alkohol + 50 Wasser

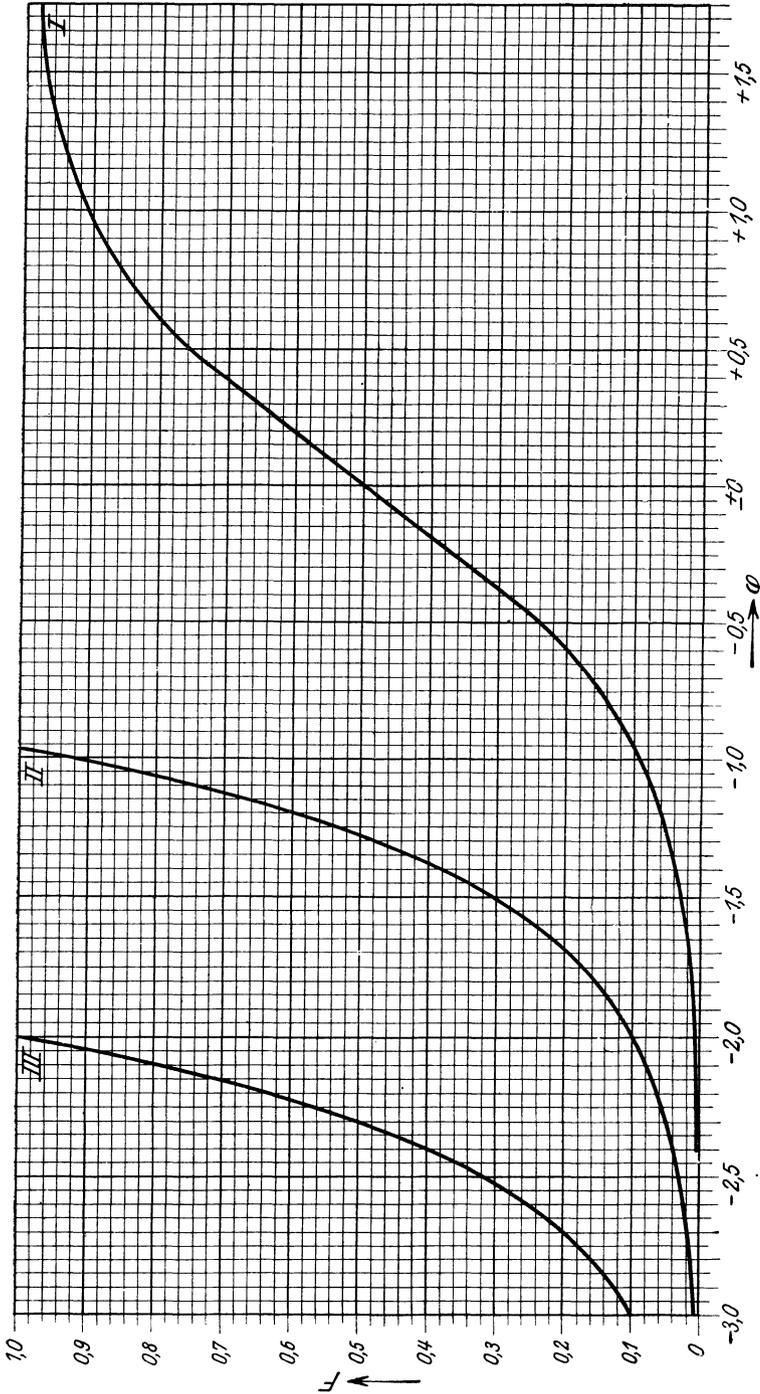


Abb. 3. Diagramm für die Indikatorenmethode ohne Puffer.

Tabelle II.

Die Indikatoren-Konstanten  $p_k$  bei verschiedenen Temperaturen.

Temp.	$\beta$ -Dinitrophenol (1:2:6)	$\alpha$ -Dinitrophenol (1:2:4)	$\gamma$ -Dinitrophenol (1:2:4)	p-Nitrophenol	m-Nitrophenol
0°	3,79	4,16	5,24	7,39	8,47
5°	3,76	4,13	5,21	7,33	8,43
10°	3,74	4,11	5,18	7,27	8,39
15°	3,71	4,08	5,16	7,22	8,35
18°	3,69	4,06	5,15	7,18	8,33
20°	3,68	4,05	5,14	7,16	8,31
25°	3,65	4,02	5,11	7,10	8,27
30°	3,62	3,99	5,09	7,04	8,22
35°	3,59	3,96	5,07	6,98	8,18
40°	3,56	3,93	5,04	6,93	8,15
45°	3,54	3,91	5,02	6,87	8,11
50°	3,51	3,88	4,99	6,81	8,07

Abszisse  $\varphi = \log \frac{F}{1-F}$ . Da Werte  $< 0,1$  an der Ordinate schwer abgelesen werden können, ist der Anfang der Kurve in Kurve II mit 10fach vergrößertem und in Kurve III mit 100fach vergrößertem Ordinatenmaßstab dargestellt. (Die Ordinatenwerte muß man bei der Ablesung durch 10 bzw. 100 dividieren, die Abszissenwerte aber gelten unverändert.)

Alle diese Indikatoren schlagen von gelb (alkalisch) nach farblos (sauer) um, nur Phenolphthalein von rot nach farblos.

Für Phenolphthalein und m-Nitrobenzol-Azosalizylsäure findet man die zugehörigen Werte für F und  $p_h$  bei 18° Zimmertemperatur aus folgenden Tabellen.

## Phenolphthalein

F	$p_h$	F	$p_h$	F	$p_h$
0,01	8,45	0,16	9,10	0,55	9,80
0,014	8,50	0,21	9,20	0,60	9,90
0,030	8,60	0,27	9,30	0,65	10,0
0,047	8,70	0,34	9,40	0,70	10,1
0,069	8,80	0,40	9,50	0,75	10,2
0,090	8,90	0,45	9,60	0,80	10,3
0,120	9,00	0,50	9,70		

## m-Nitrobenzol-Azosalizylsäure

F	p <sub>h</sub>	F	p <sub>h</sub>
0,13	10,00	0,56	11,20
0,16	10,20	0,66	11,40
0,22	10,40	0,75	11,60
0,29	10,60	0,83	11,80
0,36	10,80	0,88	12,00
0,46	11,00		

Das obige Versuchsbeispiel würde nach diesen Tabellen folgendermaßen berechnet werden. Man benutzt die Formel

$$p_h = p_k + \varphi$$

p<sub>k</sub> beträgt für m-Nitrophenol für die Versuchstemperatur von 18° nach Tabelle II 8,33. Aus Diagramm S. 48 finden wir für den beobachteten Farbgrad F = 0,10 den zugehörigen Wert von  $\varphi = -0,95$ , also ist p<sub>h</sub> = 8,33 - 0,95 = 7,38.

Um sich zu überzeugen, daß die Indikatorenmethode mit Vergleichs-Pufferlösungen und diese Methode ohne Puffer dasselbe Resultat gibt, messe man ein Gemisch von 20 ccm nNaOH, 21 ccm n-Essigsäure, mit destilliertem Wasser auf 200 ccm aufgefüllt, und zwar eine Probe mit der Methode mit Puffer (Indikator: Methylrot), eine andere Probe mit der Methode ohne Puffer (p-Nitrophenol). Das Resultat muß innerhalb der erlaubten Fehlergrenzen, d. i. innerhalb einiger Einheiten der zweiten Dezimalstelle des p<sub>h</sub>, gleich sein.

## 19. Übung.

Der Säurefehler der Indikatoren<sup>1)</sup>.

Die Indikatorenmethode kann nur unter der Bedingung richtige Resultate liefern, daß das p<sub>h</sub> der Lösung durch den zugesetzten Indikator selbst nicht verändert wird. Da die Indikatoren selbst Säuren oder Basen sind, so trifft diese Bedingung nicht unter allen Umständen zu, sondern nur dann, wenn die zu untersuchende Lösung von Natur aus genügend gepuffert ist, um durch den Zusatz des Indikators in ihrem p<sub>h</sub> nicht merklich geändert zu werden. In theoretisch reinem, destilliertem Wasser kann man daher p<sub>h</sub> mit Indikatoren überhaupt nicht bestimmen, denn nach Zusatz des Indikators wird in diesem Falle das p<sub>h</sub>

<sup>1)</sup> MICHAELIS, L. und KRÜGER, R.: Biochem. Zeitschr. **119**, 307. 1921; MICHAELIS, L.: Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungsmittel **42**, 75. 1921.

auf alle Fälle geändert. Das gewöhnliche, etwas  $\text{CO}_2$ -haltige destillierte Wasser ist etwas günstiger, gestattet aber exakte Bestimmungen auch nicht. Fluß- oder Meerwasser ist infolge seines Gehaltes an Bikarbonat +  $\text{CO}_2$  schon besser gepuffert. Sehr farbkraftige Indikatoren, wie Neutralrot oder Phenolrot, von denen man nur äußerst geringe Mengen braucht, gestatten daher die  $\text{p}_\text{H}$ -Messung auch in Fluß- und Meerwasser ohne weiteres. Die etwas weniger farbkraftigen Indikatoren der Nitrophenolreihe können bei unsachgemäßer Anwendung hier schon zu Fehlern führen; wir nennen dies den Säurefehler des Indikators. Zu seiner Demonstration geben wir folgendes Beispiel: Zunächst wird in einer Probe von frischem nicht abgestandenen Wasserleitungswasser nach der S. 36ff. beschriebenen Vorschrift  $\text{p}_\text{H}$  bestimmt. Man findet z. B. in Berlin in der Regel  $\text{p}_\text{H} = 7,3-7,4$ . Dieselbe Probe, nach der Indikatorenmethode mit Vergleichspuffer unter Anwendung von Neutralrot (S. 41) ergibt  $\text{p}_\text{H} = 7,5$  bis 7,6. Es handelt sich also darum, die Indikatormethode ohne Puffer so zu gestalten, daß der Unterschied gegen die andere Methode verschwindet. Dies erreicht man dadurch, daß man viel weniger Indikator, als S. 45 angegeben, zusetzt und die Farbtiefe durch eine größere Höhe der durchblickten Wasser-

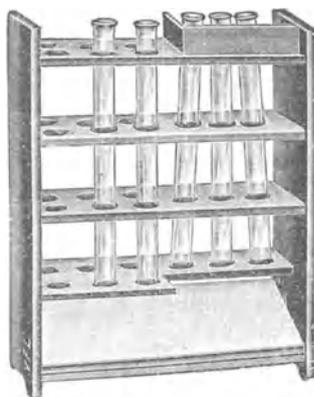


Abb. 4.

lauge vermehrt. Man benutzt dazu zweckmäßig 25 ccm hohe farblose Reagenzgläser, welche ein wenig mehr als 40 ccm fassen und in dem Abb. 4 abgebildeten Gestell aufbewahrt werden. Um Wasserleitungs- oder Flußwasser zu messen, füllt man 6 solche Gläser der Reihe nach mit 0,25; 0,29; 0,33; 0,38; 0,45; 0,50 ccm einer 10fach verdünnten Stammlösung von m-Nitrophenol (Konzentration der Stammlösung 0,3 g in 100 ccm Wasser) und gibt dazu noch je 40 ccm einer durch Verdünnung aus n-Natronlauge frisch hergestellten  $1/50$  n-Lauge; auf genauen Titer der Lauge kommt es nicht an. Nunmehr gibt man in ein ebensolches Reagenzglas 40 ccm frisches Wasserleitungswasser und so viel m-Nitrophenol, daß die Färbung irgendwo in das Bereich der Farbtiefe der vorbereiteten 6 Vergleichslösungen fällt. Es pflegen 2—2,5 ccm der 10fach verdünnten Stammlösung erforderlich zu

sein (bei Meerwasser pflegt 1 ccm erforderlich zu sein). Der Indikator wird durch mehrmaliges Umdrehen des Röhrchens gut durchgemischt, dagegen sollen die Röhrchen mit Wasserleitungswasser nicht etwa durch Umgießen in andere Röhrchen durchgemischt werden, weil dabei  $\text{CO}_2$ -Verlust zu befürchten ist.

In dem Gestell sind 3 Löcher durch ein Holzrähmchen abgegrenzt. In das mittlere derselben stellt man das zu untersuchende Wasser, zu beiden Seiten die Vergleichslösung. Man blickt von oben durch die Röhrchen gegen eine schräg gestellte Milchglasplatte, welche von diffusem Tageslicht gut und gleichmäßig beleuchtet ist.

Auf diese Weise wird die Bestimmung fehlerfrei. Sie ist so exakt, daß es berechtigt ist, die kleinen Korrekturen, welche Verschiedenheiten des Salzgehaltes und der Temperatur erfordern, anzubringen. Die genaue Berechnung von  $p_h$  geschieht nach der Formel:

$$p_h = p_k + s + \vartheta + \varphi.$$

$p_k$  ist eine für das m-Nitrophenol charakteristische Konstante und beträgt ein für allemal 8,33.

$s$  ist die Salzkorrektur. Für Leitungs-, Fluß- und andere fast salzfreie Wässer ist  $s = 0$ . Für Meerwasser innerhalb aller in Betracht kommenden Salzgehalte beträgt  $s = -0,16$ .

$\vartheta$  ist die Temperaturkorrektur. Die Temperatur des Wassers wird in dem Röhrchen direkt gemessen und danach folgender Wert für  $\vartheta$  eingesetzt:

Temperatur in °C									
5	10	15	17,5	20	25	30	35	40	
$\vartheta + 0,10$	$+ 0,06$	$+ 0,02$	$\pm 0$	$- 0,02$	$- 0,06$	$- 0,11$	$- 0,15$	$- 0,18$	

$\varphi$  wird in dem Diagramm S. 48 abgelesen.

Mit dieser Methode erhält man für Berliner Leitungswasser in der Regel  $p_h = 7,6$ , also denselben Wert wie bei der Bestimmung nach SÖRENSEN mit Neutralrot, aber etwas anders als bei der Bestimmung mit m-Nitrophenol ohne Puffer wie in der 18. Übung (7,4). In jener Übung wurde das Wasserleitungswasser als Objekt erstens der Einfachheit halber empfohlen, zweitens um auf die jetzige Übung vorzubereiten. Für die gewöhnlich untersuchten Flüssigkeiten: Harn, bakteriologische Nährböden, Bier u. dgl. kommt dagegen ein solcher Säurefehler nicht in Frage, weil diese Flüssigkeiten gut gepuffert sind durch Phosphate, Lactate, Eiweiß usw.

Die in dieser Übung beschriebene Methode eignet sich auch gut für wissenschaftliche Expeditionen zur Untersuchung des

p<sub>H</sub> von Meer- und Flußwasser, weil sie die Mitnahme der Pufferlösungen nicht erfordert.

### 20. Übung.

#### p<sub>H</sub>-Messung nach der Indikatorenmethode in einer gefärbten oder getrübbten Flüssigkeit nach dem WALPOLESchen Prinzip.

In einem normal sauer reagierenden Harn soll p<sub>H</sub> nach der Indikatorenmethode ohne Puffer bestimmt werden. Es handelt sich darum, die Eigenfarbe des Harns optisch unschädlich zu machen. Man benutzt hierzu das WALPOLESche Prinzip. Der dazu erforderliche einfache Apparat, der Komparator, ist in Abb. 5 abgebildet. Er besteht aus einem Holzblock mit eingebohrten Löchern, in welche Reagenzgläser gesteckt werden können, und den Gucklöchern *a*, *b*, *c*, durch welche man je zwei hintereinander stehende Gläser gleichzeitig durchblickt. An der Rückseite kann man eine Mattscheibe und eine helle Blauscheibe einsetzen.

Der Harn wird zunächst zur Verminderung seiner Eigenfarbe aufs 2—3fache verdünnt. Als Verdünnungsflüssigkeit nimmt man wohl am besten eine dem Harn einigermaßen entsprechende Salzlösung, eine etwa 2proz. NaCl-Lösung; jedoch macht es kaum etwas aus, wenn man statt dessen destilliertes Wasser nimmt. 10 ccm des verdünnten Harns werden in ein Reagenzglas gefüllt und dazu eine genau abgemessene Menge der oben angegebenen Stammlösung von p-Nitrophenol zugesetzt (in der Regel wird 0,5—1 ccm geeignet sein). Es muß eine deutliche, aber nicht zu intensive gelbe Färbung auftreten. Dieses Röhrchen steckt man in das Loch 3, ein zweites Röhrchen füllt man in genau derselben Weise, nur nimmt man statt der Indikatorlösung die gleiche Menge Wasser und steckt dieses Röhrchen in das Loch 1. In das Loch Nr. 4 steckt man ein Reagenzglas mit beliebig viel Wasser. Nun stellt man in derselben Weise wie in Übung 16 eine Serie von Verdünnungen von p-Nitrophenol in 1/50 normal Natronlauge her, von denen jede das gleiche Gesamtvolumen hat wie das Röhrchen mit dem Harn, und probiert

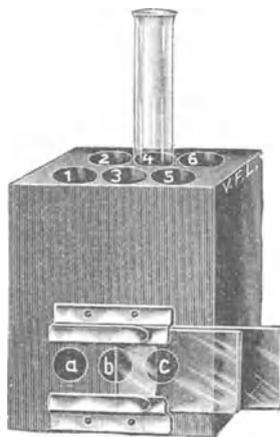


Abb. 5. Dreilöchriger Komparator, von hinten gesehen.

aus, welches dieser Vergleichsröhrchen man in das Loch Nr. 2 des Komparators stecken muß, damit Farbgleichheit eintritt. Die Beobachtung geschieht durch die Gucklöcher *a* und *b*, während man das Loch *c*, wofern man es nicht als ein zweites Vergleichsloch benutzen will, mit dem Daumen verschließt. Da man das dritte Loch entbehren kann, kann man auch mit einem zweilöchrigen Komparator (Abb. 6) arbeiten. Die in der Abb. 5 sichtbare Wand des Komparators, welche die Matt- und Blauscheibe trägt, wird dem Himmel zugekehrt, die Beobachtung geschieht von der anderen Seite her. Durch beide Löcher beobachtet man die Mischfarbe des Harnfarbstoffs und des Indikators;

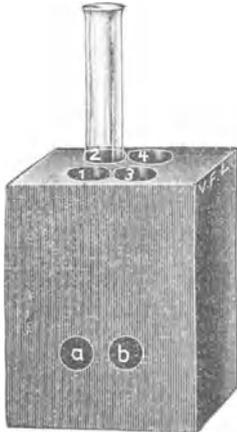


Abb. 6. Zweilöchriger Komparator, von vorn gesehen.

in dem einen Falle sind diese beiden Farben wirklich vermischt, in dem anderen mischen sie sich, obwohl sie räumlich getrennt sind, optisch, da man die beiden Röhrchen hintereinander durchblickt. In beiden Röhrchen ist daher der Indikator mit dem Harnfarbstoff in gleicher Weise kombiniert und Farbgleichheit kann nur eintreten, wenn der Indikator in beiden Röhrchen denselben Farbgrad hat. Durch die Blauscheibe wird bewirkt, daß die verschiedenen Helligkeitsgrade des Gelb in verschiedene Farbqualitäten von gelb über grün nach blau umgewandelt werden, was die Beobachtung erleichtert. Bei Indikatoren anderer Färbung läßt man die Blauscheibe fort und arbeitet nur mit der Mattscheibe. Die Berechnung von  $p_h$  erfolgt in derselben Weise wie in der 18. Übung. Bei normalem Harn finde man beispielsweise, wenn 0,75 ccm p-Nitrophenol zum Harn zugesetzt waren, Farbgleichheit mit demjenigen Laugenröhrchen, welches 0,30 ccm 10fach verdünnten Indikator enthält. Der Farbgrad ist dann also

$$0,030 : 0,75 = 0,040 \text{ und somit } p_h = 7,16 - 1,38 = 5,78.$$

Im Harn findet man  $p_h$  zwischen 5 und 7.

Das WALPOLESche Prinzip bewährt sich ebenso gut, wenn die zu untersuchende Lösung trübe ist. Man kann z. B. Bouillon, in welcher Bakterien gewachsen sind, messen. Frische Nährbouillon pflegt  $p_h$  7—7,5 zu zeigen (Indikator m-Nitrophenol), mit *Bacterium coli* geimpfte Traubenzuckerbouillon erreicht ein  $p_h$  von etwa 5 (Indikator  $\gamma$ -Dinitrophenol).

Dieser Komparator<sup>1)</sup> war ursprünglich für die  $p_{\text{H}}$ -Bestimmung in gefärbten Lösungen nach der SÖRENSENSCHEN Methode (15. Übung) bestimmt, eignet sich aber für die Methode ohne Puffer ebenso gut.

### 21. Übung.

#### Zur Theorie des Farbumschlags der Indikatoren.

WI. OSTWALD erklärte den Farbumschlag der Indikatoren dadurch, daß er den Ionen dieser Stoffe eine andere Farbe zuschrieb als den undissoziierten Molekülen. HANTZSCH dagegen bewies, daß der Farbumschlag an eine tautomere Umlagerung geknüpft ist (z. B. von einer chinoiden in eine laktoide Form). Der Gegensatz dieser beiden Anschauungen verschwindet bei der heutigen Betrachtung der Molekülstrukturen: das Auftreten einer freien elektrischen Ladung bei der Bildung eines Ions erscheint uns als ein hinreichender Grund, um die innere Struktur eines zur tautomeren Umlagerung befähigten Moleküls gleichzeitig zu verändern. Diese tautomere Umlagerung braucht aber nicht plötzlich zu geschehen, es gibt Fälle, bei denen die für das Auge sichtbare Farbänderung mehrere Stunden erfordert, während doch die Ionenbildung selbst augenblicklich geschieht. Gute Beispiele hierfür sind Säurefuchsin oder Wasserblau. Man stelle sich drei Phosphatmischungen von  $p_{\text{H}} = 6,5, 7,0$  und  $7,5$  her und gebe zu je 10 ccm derselben von einer 1promill. Lösung von Wasserblau eine geeignete Menge hinzu. Zunächst zeigen alle drei Röhrchen dieselbe Farbtiefe; ganz allmählich blassen sie um so stärker ab, je größer das  $p_{\text{H}}$  ist; nach mehrstündigem Warten stellt sich jedes Röhrchen auf einen ganz bestimmten Farbgrad definitiv ein. Bei höherer Temperatur wird die definitive Farbe schneller erreicht. Ein so beschaffener Indikator wäre in der Praxis in der Regel nicht brauchbar.

### 22. Übung.

#### Vereinfachung der Indikatorenmethode ohne Puffer: die Indikator-Dauerreihen.

Die Lösungen der einfarbigen Indikatoren der Nitrophenolreihe sind so gut wie unbegrenzt haltbar. Man braucht daher die Vergleichslösungen nicht jedesmal frisch herzustellen, sondern

---

<sup>1)</sup> Komparator von HURWITZ, MEYER und OSTENBERG. Proc. of the soc. f. exp. biol. a. med. 13, 24. 1915. Zitiert nach W. MANSFIELD CLARK: The Determination of Hydrogen Ions. Baltimore 1920. S. 57. Der Komparator wird in den von mir erprobten Dimensionen und mit Hinzufügung der Vorrichtung für Matt- und Blauscheibe jetzt in Deutschland fabriziert.

kann sie in zugeschmolzenen Reagenzgläsern vorrätig halten. Die erforderlichen Lösungen haben folgende Zusammensetzung:

Man bereitet zunächst folgende Stammlösungen:

m-Nitrophenol . . .	0,300 g	auf 100 ccm	dest. Wasser
p-Nitrophenol . . .	0,100 „	„	100 „ „ „
$\gamma$ -Dinitrophenol . . .	0,100 „	„	400 „ „ „
$\alpha$ -Dinitrophenol . . .	0,100 „	„	200 „ „ „

Von diesen Stammlösungen bereitet man sich zur Herstellung der Dauerreihen eine Verdünnung mit dest. Wasser genau auf das 10fache (z. B. 2 ccm + 18 ccm dest. Wasser). Von diesen Stammlösungen füllt man in eine Reihe Reagenzgläser mit eingeschnürtem Hals („Einschmelzgläser“) von genau gleichem Kaliber die in der folgenden Tabelle angegebenen Mengen ein, füllt jedes Glas mit 0,1 n-Lösung von Natriumkarbonat auf genau 7,00 ccm auf, schmilzt die Gläser zu und bezeichnet sie mit dem in den Tabellen angegebenen  $p_h$ -Etikett.

I. Dauerreihe für m-Nitrophenol.

Glas Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
ccm Indikator	5,2	4,2	3,0	2,3	1,5	1,0	0,66	0,43	0,27
$p_h$ -Etikett	8,4	8,2	8,0	7,8	7,6	7,4	7,2	7,0	6,8

II. Dauerreihe für p-Nitrophenol.

Glas Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
ccm Indikator	4,05	3,0	2,0	1,4	0,94	0,63	0,40	0,25	0,16
$p_h$ -Etikett	7,0	6,8	6,6	6,4	6,2	6,0	5,8	5,6	5,4

III. Dauerreihe für  $\gamma$ -Dinitrophenol.

Glas Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8
ccm Indikator	6,6	5,5	4,5	3,4	2,4	1,65	1,1	0,74
$p_h$ -Etikett	5,4	5,2	5,0	4,8	4,6	4,4	4,2	4,0

IV. Dauerreihe für  $\alpha$ -Dinitrophenol.

Glas Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
ccm Indikator	6,7	5,7	4,6	3,4	2,5	1,74	1,20	0,78	0,51
$p_h$ -Etikett	4,4	4,2	4,0	3,8	3,6	3,4	3,2	3,0	2,8

Ein 9. Röhrchen der III. Reihe anzusetzen, lohnt nicht. Es ist schon zu blaß.

Die letzten Röhrchen der IV. Reihe sind ebenfalls sehr blaß; man kann sie ersetzen durch eine kleine Reihe mit  $\beta$ -Dinitrophenol; Stammlösung 0,100 g auf 300 ccm dest. Wasser; sie wird zur Herstellung der Dauerreihe, wie die früheren, 10fach verdünnt.

V. Dauerreihe für  $\beta$ -Dinitrophenol.

	Glas Nr. 1	2	3	4	5
ccm Indikator	2,44	1,68	1,15	0,76	0,49
ph-Etikett	3,2	3,0	2,8	2,6	2,4

Die 4 Dauerreihen werden in einem Gestell wie Abb. 7 vor Licht geschützt aufbewahrt und sind fast unbegrenzt haltbar. Die  $p_H$ -Etikettierung gilt bei folgenden Arbeitsbedingungen: In das Glas Nr. 1 des Komparators werden 6 ccm der zu untersuchenden Lösung + 1 ccm der (unverdünnten) Stammlösung des geeigneten Indikators eingefüllt; in das Glas Nr. 2 werden 6 ccm der zu untersuchenden Lösung + 1 ccm Wasser eingefüllt. In das Glas Nr. 3 kommt reines Wasser, und nun versucht man, welches Röhrchen der entsprechenden Dauerreihe man in das Glas Nr. 4 stecken muß, damit bei Beobachtung mit Matt- und Blauscheibe Farbgleichheit eintritt. Die  $p_H$ -Stufen dieser Reihen betragen 0,2; dazwischen kann man leicht noch durch Schätzung interpolieren, so daß die Fehlerbreite der Bestimmung auf höchstens  $\pm 0,05$  angesetzt werden kann, vorausgesetzt, daß ein Salz- oder Eiweißfehler nicht in Betracht kommt; diese Indikatoren haben sämtlich sehr kleine Salz- und Eiweißfehler.

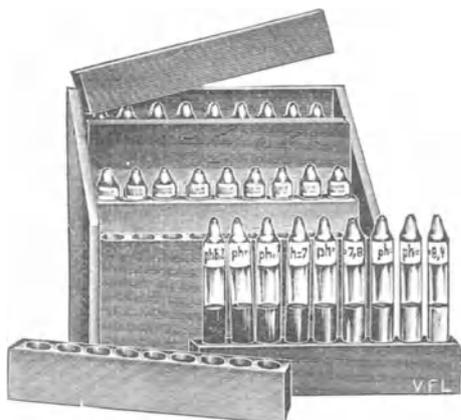


Abb. 7. Gestell mit den fertigen Indikator-Dauerreihen, für  $p_H = 2,3-8,4$ .

Sehr stark gefärbte Flüssigkeiten dürfen, wenn sie den Charakter von Pufferlösungen haben, unbeschadet der Genauigkeit der Messung aufs 3fache, bei Bedarf ohne bedeutenden Fehler sogar aufs 10fache verdünnt werden; als Verdünnungsflüssigkeit kann einfach destilliertes Wasser genommen werden. Übungsbeispiele sind für m-Nitrophenol: Nährbouillon (3fach verdünnt); für m- oder p-Nitrophenol: menschlicher Harn (2—3fach verdünnt) für  $\gamma$ -Dinitrophenol: helles Bier (3fach verdünnt), dunkles Bier (5—10fach verdünnt); Traubenzuckerbouillon, in welcher Bacterium coli 24 Stunden gewachsen ist; Magensaft eines Säuglings (wenn erforderlich 2—3fach verdünnt).

Ein weiteres Übungsbeispiel ist Gelatine, 10proz. Lösung. Man verflüssigt sie im Wasserbad, versetzt, wenn nötig, nach Verdünnung noch flüssig 6 ccm mit 1 ccm Indikator bzw. Wasser, läßt sie abkühlen (Erstarren schadet nichts) und verfährt weiter wie gewöhnlich. Ebenso kann mit festen Agarnährböden verfahren werden.

### 23. Übung.

#### Der Unterschied zwischen aktueller Azidität und Titrationsazidität.

Die aktuelle Azidität einer Lösung ist identisch mit der  $h$ . Die Titrationsazidität ist ein Maß für ihr Laugenbindungsvermögen. Titriert man die Lösung einer starken Säure (HCl, HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), so decken sich beide Begriffe. Es ist dann auch praktisch fast belanglos, mit welchem Indikator man titriert. Man titriere 10 ccm einer etwa  $\frac{1}{10}$  nHCl-Lösung mit 0,1 nNaOH und verwende in drei Parallelversuchen als Indikator

a) Phenolphthalein (Lösung wie S. 41); man titriert bis zur eben beginnenden Rosafärbung.

b) Lackmustinktur nach KUBEL-TIEMANN; titrieren bis zum violetten Ton.

c) Methylorange (Lösung wie S. 41), bis zum völligen Verschwinden jedes roten Tons, d. h. so lange, bis der nächste Tropfen NaOH die schwach gelbe Farbe nicht mehr verändert. Die drei Werte werden identisch sein; nehmen wir an genau 10 ccm, dann wäre also die titrierte HCl genau 0,1 n. Die  $h$  in dieser Lösung ist ebenfalls fast genau 0,1 n, wenn wir absehen von der nicht vollständigen Dissoziation<sup>1</sup>).

Wenn wir dagegen 10 ccm 0,1 n Essigsäure mit 0,1 nNaOH titrieren, so finden wir:

a) bei Phenolphthalein verbrauchen wir 10 ccm,

b) bei Lackmus nahezu ebensoviel,

c) Methylorange wird schon durch etwa 4—5 ccm Lauge gelb, und zwar so allmählich, daß ein Endpunkt der Titration nicht scharf angegeben werden kann; insbesondere hebt sich der erwartete Endpunkt der Titration (bei 10 ccm 0,1 n-Lauge) in keiner Weise heraus.

Wenn wir viertens in der 0,1 n-Essigsäure  $h$  nach der Methode S. 18 bestimmen, so finden wir rund  $1,4 \cdot 10^{-3}$ . Hier deckt sich  $h$  mit der Titrationsazidität gar nicht; die letztere ist sogar für verschiedene Indikatoren ganz verschieden.

<sup>1</sup>) Oder besser von der Verminderung der H-Ionen-Aktivität nach BJERRUM; s. S. 44.

Beim Titrieren ändert sich die  $h$  durch den Zusatz der Lauge schrittweise; der Endpunkt bei Phenolphthalein zeigt den Durchgang durch  $p_H =$  etwa 8, Lackmus durch  $p_H =$  etwa 7, Methylorange durch etwa  $p_H = 5$  an.

Beim Titrieren einer starken Säure geschieht der Durchgang durch diese drei verschiedenen  $p_H$  so dicht hintereinander, daß es fast belanglos ist, welchen Indikator man wählt. Bei Essigsäure wird der Durchgang von  $p_H = 6$  bis  $p_H = 8$  erst durch eine große Menge Lauge bewirkt, daher ist die Wahl des Indikators von Bedeutung.

Beim Titrieren erfährt man also, außer bei einer Mineralsäure, niemals die  $h$ . Das Titrieren kann in zwei Absichten geschehen:

a) um festzustellen, wieviel Kubikzentimeter Lauge bis zur Erreichung der neutralen Reaktion erforderlich sind. Dann darf man von den soeben genannten drei Indikatoren nur Lackmus anwenden. Dieser Punkt ist oft nur unscharf zu bestimmen, weil  $p_H$  sich beim Laugenzusatz nur sehr allmählich ändert und daher eine sehr allmähliche Farbenänderung stattfindet. Die Feststellung dieses Punktes hat auch kaum jemals eine praktische Bedeutung.

b) um festzustellen, wieviel Äquivalente Essigsäure in der Lösung sind. Dann muß man so viel Lauge zufügen, daß eine reine Lösung von Natriumacetat resultiert, so daß der nächste Tropfen Lauge überschüssige Lauge ist. Der Indikator muß also diejenige  $h$  markieren, welche eine reine Natriumacetatlösung hat. Da Natriumacetat infolge hydrolytischer Dissoziation eine Spürchen alkalisch ist ( $p_H$  zwischen 7 und 8, je nach der Konzentration), so muß man Phenolphthalein wählen; derjenige Tropfen, welcher soeben Rötung hervorruft, zeigt  $p_H$  etwa = 8 an.

Beispiele für Lösungen, welche gleiche  $h$ , aber verschiedene Titrationsazidität haben:

1. 0,0014 nHCl und 0,1 n-Essigsäure haben gleiche  $h$ , rund  $= 1,4 \cdot 10^{-3}$ . Die Titrationsazidität mit Phenolphthalein gegen 0,1 nNaOH ist für HCl kaum meßbar klein (71,4 ccm verbrauchen 1 ccm Lauge); 10 ccm der Essigsäure verbrauchen dagegen 10 ccm Lauge.

2. Man stelle eine Mischung von 20 ccm n-Essigsäure + 10 ccm nNaOH her, und von dieser Mischung zweitens eine 10fache Verdünnung. In beiden Lösungen ist  $h$  die gleiche (s. S. 34, c), etwa  $2 \cdot 10^{-5}$ . 10 ccm der ersteren Lösung mit 0,1 nNaOH und Phenolphthalein titriert verbrauchen 33 ccm 0,1 nNaOH; 10 ccm der zweiten 3,3 ccm Lauge.

Sehr lehrreich ist die Titration einer wäßrigen Lösung von Phosphorsäure. Primäres Natriumphosphat  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  reagiert gegen Methylorange soeben noch sauer; ein Tropfen überschüssige Lauge entfärbt Methylorange zum reinen Hellgelb. Sekundäres Natriumphosphat  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  reagiert gegen Phenolphthalein gerade eben deutlich alkalisch, so daß ein Tropfen Säure den Indikator gerade entfärbt. Tertiäres Natriumphosphat  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  reagiert stark alkalisch und verhält sich gegen Phenolphthalein wie Lauge. Wenn man Phosphorsäure gegen 0,1 nNaOH titriert, wobei man Methylorange (wenig!) und Phenolphthalein gleichzeitig zugeben kann, so braucht man zur Erreichung des Phenolphthaleinumschlags genau doppelt soviel Lauge als für den Methylorangeumschlag. Als Methylorange-Endpunkt muß derjenige gelten, wo noch eine Spur Orange sichtbar ist, derart, daß der nächste Tropfen das reine blasse Gelb erzeugt; dieser „nächste“ Tropfen wird nicht mehr mitgerechnet. Der Phenolphthaleinumschlag ist bei demjenigen Tropfen Lauge erreicht, wo ein (nicht nur andeutungsweise sichtbares, sondern ein) deutliches Rot auftritt; dieser Tropfen muß mitgerechnet werden. Am besten macht man sich die Endpunkte der Titration dadurch deutlich, daß man eine Lösung von verdünntem primärem Kaliumphosphat (s. S. 37) mit Methylorange, und eine Lösung von sekundärem Natriumphosphat (S. 37) mit Phenolphthalein daneben stellt. Die Endpunkte sind auf 1—2 Tropfen genau bestimmbar.

## 24. Übung.

### Titration von Magensaft<sup>1)</sup>.

Die Titration des Magensaftes kann in angenäherter Weise auf zwei Fragen Antwort geben:

1. Wie groß ist die  $h$  des Magensaftes? Diese Frage ist deshalb von Bedeutung, weil das Pepsin zur optimalen Entfaltung seiner Wirksamkeit einer engbegrenzten Zone der  $h$  bedarf ( $p_H$  1,7—2). Die Frage kann man auch formulieren: Wie groß ist die Menge der „freien HCl“?

2. Wieviel HCl hat der Magen überhaupt sezerniert? („Gesamte HCl“.) Denn da im Magen säurebindende Stoffe (Eiweiß, Pepton) sind, so bleibt nicht die ganze sezernierte HCl „frei“.

Die erste Frage kann durch eine  $p_H$ -Messung nach einer der beschriebenen Methoden, mit Anwendung des WALPOLESCHEN Prinzips praktisch ausreichend genau ausgeführt werden. Exakter ist sie mit der Gaskette (s. später) zu beantworten. In ange-

<sup>1)</sup> MICHAELIS, L.: Biochem. Zeitschr. 79, 1. 1917.

näherter Weise kann sie auch durch das folgende Titrationsverfahren gelöst werden. Der Beweis für die Richtigkeit des Verfahrens wurde durch Vergleichung mit  $p_H$ -Bestimmungen empirisch erbracht.

Man gibt 10 ccm des filtrierten Magensaftes ohne weitere Verdünnung in eine weiße Porzellanschale und gibt 2 Tropfen einer 0,1proz. alkoholischen Lösung von Dimethylaminoazobenzol hinzu. Bei Anwesenheit freier HCl färbt sich die Lösung rosenrot. Man titriert, bis eben eine Spur Orange durchschimmert, d. h. bis etwa ein lachsfarbener Ton entsteht. Dieser Umschlag ist zwar nicht haarscharf, aber immerhin auf 2—3 Tropfen genau anzugeben. Ein richtiges Orange ist jedenfalls zu weit titriert. Das ist der Endpunkt für die Titration der freien HCl. Ist dieser Punkt z. B. bei 3 ccm  $\frac{1}{10}$  n-Lauge erreicht, so heißt das: 10 ccm Magensaft enthalten so viel freie HCl wie 3 ccm  $\frac{1}{10}$  nHCl. In der Magenchemie sagt man gewöhnlich: die Azidität in bezug auf freie HCl ist 30 (die Anzahl der für 100 ccm Magensaft verbrauchten Kubikzentimeter 0,1 n-Lauge). Die Konzentration an freier HCl ist demnach 0,03 n, und die h ebensogroß, wenn man die für den gegebenen Genauigkeitsgrad genügend zutreffende Annahme macht, daß die freie HCl total dissoziiert sei;  $p_H$  ist daher = 1,5.

Die gesamte HCl erfährt man folgendermaßen: Man fügt in dieselbe Lösung nunmehr (wenn man will, schon vorher) noch 2 Tropfen Phenolphthalein und titriert weiter, bis die reine zitronengelbe Farbe des Dimethylaminoazobenzol erreicht ist, welche gar kein Orange mehr enthält. Man titriert so weit, daß der nächste Tropfen Lauge keine weitere Veränderung der Farbe mehr hervorruft (dieser Tropfen rechnet dann nicht mehr mit), und notiert die Laugenmenge. Nun titriert man noch weiter bis zur beginnenden Phenolphthaleinrötung und notiert die Laugenmenge wieder. Die Mitte zwischen den beiden Notierungen gibt das Ende der gesamten Salzsäure an; z. B.

10 ccm Magensaft verbrauchen

bis Dimethylaminoazobenzol	lachsfarben	3,0 ccm
„ „	rein gelb	5,0 „
„ Phenolphthalein	rosa	7,4 „

Dann ist das Ende der freien HCl bei 3,0 ccm

„ „ „ gesamten HCl bei 6,2 ccm

h ist dann = 0,030 n.

In der Ausdrucksweise der Magenchemie ist

die freie HCl 30  
 die gesamte HCl 62  
 die gebundene HCl 32.

Färbt sich ein Magensaft mit Dimethylaminoazobenzol von vornherein nur lachsfarben oder gar orange oder gelb, so enthält er nach dieser Definition „keine freie HCl“. Die Definition des „Mangels an freier HCl“ ist mit absoluter objektiver Schärfe nicht zu geben; die obige willkürliche Definition wird deshalb als einzig praktisch anwendbare empfohlen.

Enthält der Magensaft Milchsäure, so ist deren Azidität in die Titration der „gesamten HCl“ inbegriffen. Die Titration der gesamten HCl durch Indikatoren ist daher nur bei praktischer Abwesenheit von Milchsäure möglich.

Die Zahlen für sehr kleine Mengen gesamter HCl (Aziditäten von 10 und darunter) haben keinen strengen Wert mehr; unter solchen Bedingungen werden die Voraussetzungen für die Methode unsicher. Für die Fragestellung der Klinik reicht die Methode aus.

## V. Fällungsoptima bei variiertem Wasserstoffzahl.

### Das Prinzip der h-Reihe mit Salzkonstanz<sup>1)</sup>.

Will man den Einfluß der  $h$  auf den Zustand irgendeiner Lösung untersuchen, so können wir das durch einen Reihenversuch, in welchem durch passend gewählte Regulatoren die  $h$  in geometrischer Reihe (also  $p_h$  in arithmetischer Reihe, S. 31) abgestuft ist. Nun haben aber auf die Zustände der verschiedenen Substanzen nicht allein die H-Ionen, sondern bald mehr, bald weniger auch andere Ionenarten einen Einfluß. Will man den reinen Einfluß der Variation der H-Ionen untersuchen, so muß man die anderen Ionenarten innerhalb einer jeden einzelnen Reihe konstant halten. Das Problem ist also, eine Reihe von Lösungen herzustellen, in denen  $h$  ansteigt, die anderen Ionenarten aber konstant bleiben. Dieses Problem ist mit völliger Exaktheit natürlich unlösbar, da man Änderungen von  $h$  nur durch Änderung der Zusammensetzung an den anderen Ionen, mit denen sie im Gleichgewicht sind, erreichen kann. Mit einer praktisch durchaus genügenden Annäherung wird jedoch das Problem auf folgende Weise gelöst: Wir variieren in einer Reihe

<sup>1)</sup> MICHAELIS, L. und RONA, P.: Biochem. Zeitschr. 27, 38. 1910.

von Natriumazetat-Essigsäuregemischen nur die Menge der Essigsäure und halten die Menge des Natriumazetat konstant (nicht aber umgekehrt!). Diese Lösungen enthalten alle 1. Na<sup>+</sup>-Ionen, 2. Azetat-Ionen, 3. H<sup>+</sup>-Ionen (4. OH<sup>-</sup>-Ionen, die nicht besonders betrachtet zu werden brauchen, weil ihre Menge stets durch die H<sup>+</sup>-Ionen festgelegt ist; s. S. 30). Halten wir die Menge des Natriumazetat konstant, so bleibt die Menge der Na<sup>+</sup>-Ionen sicher konstant; die Menge der Azetat-Ionen vermehrt sich nur dadurch, daß mit steigendem Zusatz von Essigsäure auch die Azetat-Ionen etwas mehr werden. Da aber die Essigsäure auf alle Fälle nur zu einem winzigen Bruchteil dissoziiert ist, so ist die von der Essigsäure gelieferte Azetat-Ionenmenge zu vernachlässigen gegenüber der vom Natriumazetat gelieferten; und so bleibt praktisch auch die Menge der Azetat-Ionen konstant. Außer den H<sup>+</sup>-Ionen ändert sich also in der Reihe nur die Menge der nichtdissoziierten Essigsäure. Diese trägt keine Ladung und ist für die meisten Fälle als indifferenten Stoff zu betrachten. Damit ist das Problem, in einer Reihe allein die *h* zu variieren, praktisch gelöst.

### 25. Übung.

#### Das Kristallisationsoptimum oder Löslichkeitsminimum der *m*-Aminobenzoesäure<sup>1)</sup>.

Aminosäuren haben in ihrem isoelektrischen Punkt ein Kristallisationsoptimum, d. h. ein Löslichkeitsminimum. Die Schärfe dieses Optimums hängt von der Größe des Produktes  $K_a \cdot K_b$  ab. ( $K_a$  = Dissoziationskonstante als Säure,  $K_b$  als Base.) Die größten vorkommenden Werte für  $K_a \cdot K_b$  betragen nicht viel mehr als  $10^{-16}$ . Bei solchen Aminosäuren ist das Kristallisationsoptimum ziemlich scharf ausgeprägt. Ist  $K_a \cdot K_b$  kleiner, so hebt sich das Optimum viel weniger scharf heraus. Eine geeignete Aminosäure zur Demonstration eines ziemlich scharfen Kristallisationsoptimums ist *m*-Aminobenzoesäure mit  $K_a = 1,6 \cdot 10^{-5}$ ,  $K_b = 1,2 \cdot 10^{-11}$ , also  $K_a \cdot K_b = \text{etwa } 2 \cdot 10^{-16}$ . Der isoelektrische Punkt *J*, d. h. diejenige *h*, bei der ein Maximum von nicht ionisierten Molekülen der Aminosäure vorhanden ist, steht in folgender Beziehung zu den Dissoziationskonstanten:

$$J = \sqrt{\frac{K_a}{K_b} \cdot K_w},$$

<sup>1)</sup> MICHAELIS, L. u. DAVIDSOHN, H.: Biochem. Zeitschr. **30**, 143. 1910.

wo  $K_w$  die Dissoziationskonstante des Wassers, bei Zimmer-temperatur  $0,6 \cdot 10^{-14}$  ist. Also ist  $J$  angenähert:

$$J = \sqrt{\frac{1,6 \cdot 10^{-5}}{1,2 \cdot 10^{-11}} \cdot 0,6 \cdot 10^{-14}} = 9 \cdot 10^{-5}.$$

Um dies zu demonstrieren, setze man folgenden Versuch an. Man mische zunächst

Röhrchen Nr.	1	2	3	4	5
Wasser ccm	1,5	1,4	1,2	0,8	0,0
7,5fach n-Essigsäure ccm	0,1	0,2	0,4	0,8	1,6

Nun gibt man in jedes Röhrchen 1 ccm einer Sproz. Lösung von m-Aminobenzoesäure in  $\frac{1}{1}$  n NaOH. Sollte sofort ein Niederschlag entstehen, so setzt man alle Röhrchen in ein heißes Wasserbad und nimmt sie nach einigen Minuten heraus. Bei der Abkühlung auf Zimmertemperatur kristallisiert allmählich die Aminosäure aus. Man beobachtet z. B. folgendes:

	1	2	3	4	5
Die Kristallisation wird deutlich	gar nicht	gar nicht	nach 3 Minuten	nach 1 Minute	gar nicht

Ist die Beobachtung beendet, so kann man im Wasserbad die Kristalle wieder lösen und die Kristallisation durch Abkühlen beliebig oft wiederholen. Fast noch schöner hebt das Optimum der Kristallisation sich heraus, wenn man die Röhrchen je mit 1 ccm Wasser verdünnt. Das Optimum der Kristallisation (Nr. 4) entspricht einem Gehalt von 0,8 ccm 7,5 n-Essigsäure + 1 ccm nNaOH, d. h. von 5 Äquivalenten Essigsäure + 1 Äquivalent Natriumazetat. Hieraus ergibt sich  $h = 1 \cdot 10^{-4}$ : das Röhrchen Nr. 3 würde ergeben  $h = 0,5 \cdot 10^{-4}$ . Die Zahlen stehen in guter Übereinstimmung mit dem erwarteten isoelektrischen Punkt<sup>1)</sup>.

Die Berechnung von  $h$  bzw.  $p_h$  aus der Zusammensetzung des Azetat-Regulators hat nur angenäherte Bedeutung; die Anwesenheit der Aminosäure ist dabei nicht berücksichtigt. Für genaue zahlenmäßige Feststellung des Optimums wird man sich mit der Berechnung von  $h$  nicht begnügen, sondern sie nach Beendigung des Versuchs in den Lösungen einzeln messen (am besten mit Hilfe der später zu besprechenden elektrometrischen Methode). Für diese Demonstration können wir uns das ersparen, denn 1. ist aus theoretischen Gründen gerade im isoelektrischen

<sup>1)</sup> Nur Präparate von m-Aminobenzoesäure, welche genügend rein sind und in völlig luftdicht schließenden Gefäßen aufbewahrt worden sind, eignen sich für den Versuch.

Punkt kein Einfluß der Aminosäure auf  $h$  vorhanden, 2. sind bei dieser Versuchsanordnung die Abweichungen der wirklichen  $h$  von der berechneten selbst in den ungünstigsten Fällen nicht so groß wie der  $h$ -Unterschied von einem Röhrchen zum nächsten beträgt.

Für unsere Zwecke soll diese angenäherte Berechnung genügen. In wissenschaftlichen Arbeiten ist es aber unbedingt erforderlich, die  $h$  auch wirklich in jedem Röhrchen zu messen, wenn die absolute Größe der Zahl Anspruch auf Genauigkeit erheben will. Das gilt für alle folgenden Versuchsbeispiele ebenso.

Man vergegenwärtige sich, welche Verluste an Substanz man beim Umkristallisieren hat, wenn man die Aminobenzoessäure nicht genau bei optimaler  $h$  umkristallisiert!

## 26. Übung.

### Das Fällungsoptimum des Kaseins bei variierter $h$ <sup>1)</sup>.

Ganz analog dem Löslichkeitsminimum der Aminobenzoessäure ist das Flockungsoptimum eines kolloiden Eiweißkörpers bei variierter  $h$ , das wir zuerst am Kasein kennen lernen wollen. Die Deutung kann auf zweierlei Weisen gegeben werden, welche keinen Gegensatz zueinander darstellen, sondern dasselbe in „zwei Sprachen“ ausdrücken.

1. Entweder sagt man: reines Kasein ist unlöslich, die Kasein-Ionen, sowohl das positive (bei stark saurer Reaktion) wie das negative (bei alkalischer Reaktion) ist löslich. Infolgedessen muß es eine bestimmte  $h$  geben, wie bei der Aminobenzoessäure, bei der ein Löslichkeitsminimum besteht.

2. Oder man sagt: Eine Kaseinlösung ist eine kolloide Lösung, welche Aggregate von Kaseinmolekülen als disperse Phase enthält. Die elektrische Ladung dieser dispersen Phase hängt von der  $h$  ab (siehe das Kapitel Elektrophorese); bei einer bestimmten  $h$ , dem isoelektrischen Punkt des Kaseins, ist sie = 0; ist  $h$  größer, wird sie positiv; wenn kleiner, negativ. Die Oberflächenspannung an der Grenze der Phasen wird durch eine elektrische Ladung vermindert; die Oberflächenspannung hat daher ein Maximum, wenn die Ladung = 0 ist, d. h. im isoelektrischen Punkt. Je größer die Oberflächenspannung, um so größer ist die Neigung zum Ausflocken.

Beide Auffassungen kommen auf dasselbe hinaus. Denn bei der ersten Auffassung ist offen gelassen, ob die in Lösung gehen-

<sup>1)</sup> MICHAELIS, L. u. PECHSTEIN, H.: Biochem. Zeitschr. 47, 260. 1912.  
Michaelis, Physikalische Chemie. 3. Aufl.



Zum Schluß fülle man in jedes Röhrchen 1 ccm der obigen Kasein-Natriumazetatlösung; zu jedem Röhrchen wird möglichst schnell, durch Einblasen aus einer Vollpipette zu 1 ccm, das Kasein zugefügt und sofort nach dem Einblasen gut umgeschüttelt. Es entstehen sofort Trübungen, welche folgendes Bild ergeben. Die Zahl der Kreuze deutet die Stärke der Trübungen an:

Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
ph	5,9	5,6	5,3	5,0	4,7	4,4	4,1	3,8	3,5
Trübung:	0	0	+	++	+++	+++	+	+	0

Nach 5 Minuten haben einige der Trübungen zu Flockungen geführt; die Stärke der Flockung ist durch liegende Kreuze angedeutet:

Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	0	0	+	+++	×××	××	++	+	0

Nr. 5 ist also das Flockungsoptimum.

Man wiederhole den Versuch, indem man in jedem Röhrchen einen Kubikzentimeter des dest. Wassers ersetzt

- a) durch mNaCl;                      b) durch mNatriumrhodanid.  
 c) durch mCaCl<sub>2</sub>;                      d) durch  $\frac{m}{1000}$  AlCl<sub>3</sub>;  
 e) durch  $\frac{m}{100}$  ZnCl<sub>2</sub>.

NaCl verschiebt das Optimum nur wenig nach rechts, NaCNS stärker nach rechts; CaCl<sub>2</sub> etwa ebenso. AlCl<sub>3</sub> verschiebt das Optimum nach links und hemmt gleichzeitig die Flockung; ZnCl<sub>2</sub> verschiebt nach links ohne zu hemmen<sup>1)</sup>.

Die verschiebende Wirkung gewisser Ionen kann man sich folgendermaßen vorstellen. Zur völligen Entladung ist eine bestimmte Konzentration an H<sup>+</sup>-Ionen erforderlich. Die Entladung geschieht durch die Bindung von positiven H<sup>+</sup>-Ionen an die negativen Eiweiß-Ionen. Sind aber in der Lösung noch andere Kationen vorhanden, welche selber in merklicher Menge von den Eiweiß-Ionen gebunden werden, so braucht man weniger H<sup>+</sup>-Ionen bis zur Entladung als vorher; bei gleicher H<sup>+</sup>-Ionenmenge wie vorher tritt schon eine Umkehrung der Ladung

<sup>1)</sup> MICHAELIS, L. u. v. SZENT-GYÖRGYI, A.: Biochem. Zeitschr. **103**, 178. 1920.

der Eiweißmoleküle ein. Ein Ion verschiebt also das Optimum- $h$  um so mehr, je stärker es an Eiweiß bindungsfähig („adsorbierbar“) ist.

### 27. Übung.

#### Herstellung von denaturiertem, kolloid gelöstem Serumalbumin und Bestimmung seines Flockungsoptimum<sup>1)</sup>.

Genuines Serumalbumin ist ein hydrophiles Kolloid. Seine Dispersität ist selbst im isoelektrischen Punkt noch so groß, daß es nicht in demselben geflockt wird. Durch Erhitzen wird es „denaturiert“, d. h. es gewinnt mehr die Charaktere eines Suspensionskolloids. Es flockt im isoelektrischen Punkt wie das Kasein. Sein Flockungsoptimum ist im isoelektrischen Punkt; dieser aber ist verschieden von dem des genuinen Albumin. Wird Albumin bei einer  $h$  erhitzt, welche genügend verschieden von seinem isoelektrischen Punkt ist, bei möglichst geringem Elektrolytgehalt, so flockt es bei der Erhitzung nicht, sondern gibt eine milchige, getrübe Suspension. Durch Dialyse gereinigte Albuminlösungen pflegen eine solche  $h$  zu haben, daß sie bei genügender Verdünnung durch Erhitzen nicht geflockt werden, denn sie reagieren etwa neutral ( $p_H$  etwa 7), während der isoelektrische Punkt des denaturierten Albumin etwa  $p_H = 5,4$  entspricht. Der Umstand, daß bei nicht gar zu langer Dialyse Spuren von Alkali in dem Serum übrigbleiben, begünstigt die Stabilität des dialysierten Albumin beim Kochen. Diese etwa vorhandenen Alkalispuren stören die weiteren Versuche nicht, da wir  $h$ -Regulatoren anwenden. Über die Reversibilität der Zustandsänderung gilt dasselbe wie beim Kasein.

In einer Diffusionshülse von SCHLEICHER und SCHÜLL (kleines Format) werden 7 ccm Blutserum unter Zugabe von etwas Toluol gegen häufig gewechseltes destilliertes Wasser mindestens 4 Tage lang dialysiert. Man setze gleichzeitig 2—3 solcher Hülsen an. Dann hebe man mit einer Pipette 5 ccm von oben ab, ohne das ausgefallene Globulin aufzurühren, verdünne sie mit 40 ccm destillierten Wassers und stelle das Gefäß in siedendes Wasser. In kurzer Zeit trübt sich die Lösung, ohne zu flocken. Nach 3—4 Minuten ist die Denaturierung vollendet. Die Lösung hält sich lange Zeit gut, ohne zu flocken.

a) Bestimmung der optimal flockenden  $h$  bei möglichst geringem und konstantem Gesamtelektrolytgehalt.

<sup>1)</sup> MICHAELIS, L. u. RONA, P.: Biochem. Zeitschr. 27, 38. 1910.

Man fülle in eine Reihe von Röhren

	Nr. 1	2	3	4	5	6	7	8
0,1 norm. Natrium-azetat ccm . . . . .	1	1	1	1	1	1	1	1
0,01 norm. Essigsäure . . . . .	0,1	0,2	0,4	0,8	1,6	3,2	—	—
0,1 norm. Essigsäure . . . . .	—	—	—	—	—	—	0,64	1,28
destilliertes Wasser . . . . .	6,9	6,8	6,6	6,2	5,4	3,8	6,36	5,72
Zusatzflüssigkeit ccm . . . . .	1	1	1	1	1	1	1	1
Ph . . . . .	6,7	6,4	6,1	5,8	5,3	5,0	4,7	4,4

„Zusatzflüssigkeit“ ist die Lösung, deren besonderer Einfluß studiert werden soll. In diesem ersten Versuch soll kein besonderer Zusatz gemacht werden; die Zusatzflüssigkeit ist also destilliertes Wasser.

Wenn alles eingefüllt ist, wird umgeschüttelt, in jedes Glas 1 ccm der oben beschriebenen Lösung von denaturiertem Albumin eingefüllt und die Röhren nochmals umgeschüttelt.

Man beobachte nun Trübungen und Ausflockungen. Der Versuch nimmt viel längere Zeit in Anspruch als der mit Kasein; im Optimumröhren bemerkt man in einigen Minuten eine stärkere Trübung; erst nach  $\frac{1}{2}$  Stunde pflegen deutliche, sich absetzende Flocken zu entstehen. Man beobachte, in welchem Röhren die Trübung und Flockung zuerst eintritt; dies ist gewöhnlich Nr. 5. Die h in diesem Röhren berechne man in derselben Weise wie in der vorigen Übung. Auch Nr. 4 flockt allmählich; schon die beiderseitigen Nachbarröhren von 4 und 5 zeigen höchstens Andeutungen von Flocken. Das Flockungsoptimum ist der isoelektrische Punkt des denaturierten Albumin; in dem Röhren links von ihm (bei weniger saurer Reaktion) hat es negative Ladung; rechts, bei saurerer Reaktion positive Ladung.

b) Als „Zusatzflüssigkeit“ benutze man in der zweiten, sonst gleichen Reihe  $\frac{n}{3}$  NaCl. Die Flockung wird stark gehemmt; das Optimum wird nicht verschoben, aber es ist als Optimum nur noch soeben erkennbar, weil es kaum flockt.

c) Noch viel stärker hemmend wirkt  $\frac{m}{6}$  Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

d) Dagegen hemmt nicht mNaJ oder NaCNS. Hier wird gleichzeitig die Flockung nach rechts (in das saurere Gebiet) verschoben.

e) CuSO<sub>4</sub> selbst in 0,1 mol. oder sogar 0,01 mol. Lösung verschiebt die Flockung ganz an das linke Ende der Reihe.

f) Ein saurer Farbstoff (gut geeignet Eosin; noch besser Diaminechtrot; 1promill. Lösungen) verschiebt die Flockung stark nach rechts; die Flocken sind gefärbt. [Bei Eosin 1 : 1000 ist das Optimum Röhrchen Nr. 7.] Bei Anwendung von Eosin erhält man auch im Optimum nur Trübung, mit Diaminechtrot starke Flockungen.

g) Ein basischer Farbstoff (zu empfehlen wegen der nicht allzu störenden Farbtiefe der Lösung: Trypoflavin, 1promill. Lösung) oder Chinin verschiebt die Flockung nach links; die Flocken sind bei dem Versuch mit Trypoflavin gefärbt. Das Optimum ist ganz an das linke Ende der Reihe verschoben; die Flockungen sind kräftig und erstrecken sich, nach 1 Stunde, von Röhrchen Nr. 1 bis etwa 3.

Die Flockung des denaturierten Albumin in der Gegend der isoelektrischen  $h$  wird also durch Neutralsalze etwas verändert, und zwar wird

1. die Flockung gehemmt, und zwar in steigendem Maße in der Reihe

der Anionen: saure Farbstoffe, CNS, J, Br, Cl,  $SO_4$  (als Alkalisalze); (die ersten Glieder fördern die Fällung sogar).

Die angegebene Anionenreihe gilt nur, wenn die Salze in relativ niedrigeren Konzentrationen (etwa bis 1 mol) vorhanden sind. Bei noch viel höheren Konzentrationen dreht sie sich um: während vorher  $SO_4$  das am stärksten hemmende Ion ist, ist es dann das am stärksten fällende.

Bei den Kationen hemmen nur die dreiwertigen besonders stark; die Schwermetallionen fördern die Fällung.

2. die optimal flockende  $h$  verschoben, und zwar

bei den Anionen (in Form der Alkalisalze) nach der sauren Seite in der steigenden Reihenfolge:

$SO_4$  Cl Br J CNS saure Farbstoffe;

bei den Kationen (in Form der Chloride oder Sulfate) nach der weniger sauren Seite in der steigenden Reihenfolge:

Alkalikationen,  $Mg^{++}$ ,  $Zn^{++}$ ,  $Cu^{++}$ ,  $Al^{+++}$ , basische Farbstoffe.

Die Wirkung der Salze beruht unter anderem darauf, daß ihre Ionen vom Eiweiß teilweise gebunden werden. Deshalb haben sie einen Einfluß auf den Ladungszustand des Eiweißes, welcher mit dem Einfluß der  $h$  konkurriert. Die Bindung der Ionen an das Eiweiß kann man entweder als Salzbildung oder als Ionenadsorption auffassen, je nachdem, auf welchen Standpunkt man sich gemäß der Erläuterung auf Seite 65 stellt. Prinzipiell ist der Unterschied nicht.

## 28. Übung.

a) Die Alkoholempfindlichkeit der Gelatine bei variierter h<sup>1)</sup>.

Nicht alle Eiweißkörper werden in ihrem isoelektrischen Punkt ausgeflockt. Geflockt werden: Kasein, Globuline. Nicht geflockt werden: Albumine, Hämoglobin, Gelatine. Aber die letzteren sind in ihrem isoelektrischen Punkt für eine auf eine andere Weise (ohne Änderung der h und ohne Beteiligung sonstiger Elektrolyte herbeigeführte) Flockung am empfindlichsten. Es soll gezeigt werden, daß Gelatine im isoelektrischen Punkt am empfindlichsten für die Fällung durch Alkohol ist.

Man setzt folgende Reihe an

	Nr. 1	2	3	4	5	6	7	8	9
$\frac{n}{10}$ Natriumazetat ccm . . .	2	2	2	2	2	2	2	2	2
$\frac{n}{10}$ Essigsäure ccm . . .	0,12	0,25	0,5	1	2	4	—	—	—
$\frac{n}{1}$ Essigsäure ccm . . . .	—	—	—	—	—	—	0,8	1,6	3,2
dest. Wasser ccm . . . .	3,88	3,75	3,5	3	2	0	3,2	2,4	0,8
lproz. Gelatinelösung ccm.	2	2	2	2	2	2	2	2	2

Nach dem Mischen gibt man zunächst in Röhrchen 5 soviel 90 proz. Alkohol zu, daß längere Zeit nach dem Vermischen eine soeben erkennbare Trübung entsteht. Es werden dazu gewöhnlich 8 ccm Alkohol erforderlich sein. Die gleiche Alkoholmenge gibt man dann in alle Röhrchen. Die Trübung ist nach 30 Minuten folgendermaßen:

Röhrch. Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Trübung	—	—	—	++	+++	±	—	—	—
p <sub>h</sub> . .	6,0	5,6	5,3	5,0	4,7	4,4	4,1	3,8	3,5

Die Alkoholfällung ist also am stärksten in 5. Der isoelektrische Punkt der Gelatine entspricht nun auf Grund von Katakathoreseversuchen in der Tat p<sub>h</sub> = 4,7.

Nach 24 Stunden sind aus den Trübungen Flockungen geworden. Das Optimum ist nicht mehr so scharf; das linke Ende

<sup>1)</sup> In Anlehnung an PAULI, Wo.: Kolloidchemie der Eiweißkörper. I. Hälfte. Dresden und Leipzig 1920. S. 32.

der Reihe (vom Optimum aus gerechnet) ist durchweg stärker geflockt als das rechte. Die Reihe ist asymmetrisch um das Optimum gruppiert.

**b) Die Alkoholempfindlichkeit des genuinen Serumalbumins bei variiertem h<sup>1)</sup>.**

10 ccm Blutserum werden mit 10 ccm gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt, nach 1/2 Stunde filtriert und das Filtrat in SCHLEICHER-SCHÜLLschen Dialysierhülsen (siehe S. 68) gegen häufig gewechseltes destilliertes Wasser so lange dialysiert, bis in der Außenflüssigkeit keine wesentliche Menge Sulfat mehr nachweisbar ist. Dies ist einigermaßen schon in 5 Tagen, vollkommener nach 2—3 Wochen zu erreichen. Für unsere Zwecke genügt zur Not die kürzere Dialyse von einigen Tagen. Dem Eiweiß wird während der Dialyse etwas Toluol zugesetzt. So erhalten wir eine vom Globulin befreite Lösung von Serumalbumin. Diese Lösung wird für den Versuch noch mit gleichen Teilen destilliertem Wasser verdünnt. Nun setzt man folgende Reihe an:

	Nr. 1	2	3	4	5	6	7	8	9
$\frac{n}{10}$ Natriumazetat ccm . . . . .	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Wasser ccm . . . . .	7,38	6,75	7,75	7,5	7	6	4	0	6,4
	Nr. 1	2	3	4	5	6	7	8	9
$\frac{n}{100}$ Essigsäure ccm . . . . .	0,62	1,25							
$\frac{n}{10}$ Essigsäure ccm . . . . .			0,25	0,5	1	2	4	8	
$\frac{n}{1}$ Essigsäure ccm . . . . .									1,6

Nun fügt man zu jedem Röhrchen 1 ccm der Albuminlösung und mischt um. Der isoelektrische Punkt des genuinen Serumalbumin entspricht Röhrchen Nr. 5 (p<sub>h</sub> = 4,7). Es tritt aber keine Fällung ein, weil Albumin zu denjenigen Eiweißkörpern gehört, deren Dispersitätsgrad selbst im isoelektrischen Zustand sehr hoch ist. Nun setze man zu jedem Röhrchen 6 ccm etwa 90 proz. Alkohol, nach einiger Zeit entsteht eine Trübung mit folgender Abstufung:

	Nr. 1	2	3	4	5	6	7	8	9
p <sub>h</sub> . . . . .	6,0	5,7	5,4	5,1	4,7	4,4	4,1	3,8	3,5
Trübung nach 10 Min. . . . .	0	0	±	±	++	+++	±	0	0

<sup>1)</sup> In Anlehnung an W. PAULI, l. c.

Das Fällungsoptimum liegt also ganz dicht am isoelektrischen Punkt. Dis geringfügige Abweichung ist wohl daraus zu erklären, daß in der etwa 30 vH. Alkohol enthaltenden Lösung die Dielektrizitätskonstante der Lösung und folglich auch die Dissoziationskonstanten der Essigsäure, des Wassers und des Eiweiß etwas verändert sind.

29. Übung.

**Das Flockungsoptimum eines Gemisches von Tannin und Gelatine<sup>1)</sup>.**

Zwei gleichzeitig in Lösung befindliche Kolloide, selbst hydrophile Kolloide, können sich gegenseitig ausflocken. Wie groß das gegenseitige Ausflockungsvermögen ist, läßt sich nicht allgemein voraussagen, ebensowenig, wie man allgemein voraussagen kann, ob das Salz, welches sich aus einer Säure und einer Base bildet, leicht oder schwer löslich ist (man denke an die zwei Beispiele: Essigsäure + NaOH: keine Fällung des Salzes; Phosphorsäure + Barythydrat: Fällung des Salzes). Aber man kann oft voraussagen, von welchen Bedingungen das Flockungsbestreben eines gegebenen Kolloidgemischs beeinflußt wird. Handelt es sich um zwei amphotere Kolloide mit verschiedenen isoelektrischen Punkten, so wird die Flockung bei einer solchen  $h$  am besten, bei der das eine Kolloid noch genügend positiv, das andere schon genügend negativ geladen ist. Die Schärfe des Flockungsoptimums hängt von der Affinität der beiden Kolloide ab. Eiweiß + spezifisches Eiweißpräzipitin flockt fast ebensogut bei leicht saurer, neutraler oder leicht alkalischer Reaktion; die Flockung hängt nur wenig von der  $h$  ab (wie z. B. bei  $Ba[OH]_2 + H_2SO_4$ ), Tannin + Gelatine dagegen hat ein einigermaßen scharfes Flockungsoptimum in einem engen Bereich von  $h$ , wie z. B. ein Gemisch von  $ZnCl_2 + NH_4Cl$ ; ändert man in einem solchen Gemisch die  $h$  durch Zugabe von HCl und NaOH, so entsteht nur in einem engen Bereich leicht alkalischer Reaktion eine Fällung von  $Zn(OH)_2$ .

Man setze folgende Reihe an:

	Gläschen Nr. 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0,5proz. Gelatinelösung ccm	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
$\frac{1}{1}$ nNaOH ccm . . . . .	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Destilliertes Wasser ccm .	6,5	6,4	6,3	6,1	5,7	4,9	3,3	0,1	6,2	4,9
$\frac{1}{1}$ norm. Essigsäure ccm .	1,0	1,1	1,2	1,4	1,8	2,6	4,2	7,4	0	0
10fach norm. Essigsäure ccm	0	0	0	0	0	0	0	0	1,3	2,6

<sup>1)</sup> MICHAELIS, L. u. DAVIDSOHN, H.: Biochem. Zeitschr. 54, 323. 1913.

Jetzt werden alle Röhren umgeschüttelt und von einer 0,1proz. Tanninlösung je 1 ccm unter sofortigem nochmaligem Umschütteln zugegeben.

Das Resultat innerhalb der ersten Minute nach Ansetzen des Versuchs ist folgendes:

	Nr. 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ph	< 6	5,8	5,4	5,1	4,8	4,5	4,3	4,0	3,7	3,4
Trübung nach 1 Minute)	0	+	+	++	++	+++	+++	+	±	0

Die Kreuze geben die Stärke der Trübung an. Aus der Trübung wird bald eine Flockung. Je nach dem Mengenverhältnis von Gelatine zu Tannin ist das Optimum mehr oder weniger scharf in seiner Lage etwas verschieden. Die oben angegebenen Mengenverhältnisse sind wohl die günstigsten; hier ist ein recht scharfes Optimum erkennbar.

Die Berechnung der  $h$  geschieht auf folgende Weise. Man berechne aus den angewendeten Mengen Essigsäure und Natronlauge den molaren Gehalt der Lösung an (überschüssiger) Essigsäure und Natriumazetat. Z. B. in Röhren 5 ist 1 ccm norm. NaOH und 1,8 ccm n-Essigsäure, daher: Essigsäure : Natriumazetat = 0,8 : 1.

Nun ist  $h = 2 \cdot 10^{-5} \cdot \frac{\text{Essigsäure}}{\text{Natriumazetat}}$ , also für Röhren Nr. 5

$h = 2 \cdot 10^{-5} \cdot \frac{0,8}{1} = 1,6 \cdot 10^{-5}$ . In Röhren Nr. 1 ist nur Natriumazetat.  $h$  ist hier kleiner als in Nr. 2 ( $< 2 \cdot 10^{-6}$ ) und nicht weit entfernt von neutraler Reaktion ( $10^{-7}$ ).

Man erkennt aus diesem Versuch folgendes. Wenn man beobachtet, daß eine kolloide Lösung bei einer bestimmten  $h$  ein Flockungsoptimum hat, so folgt daraus nicht notwendigerweise, daß es sich um die Lösung eines Kolloids handelt und daß dieses Flockungsoptimum der isoelektrische Punkt desselben sei, sondern es kann auch ein Gemisch zweier Kolloide vorliegen, und das Flockungsoptimum stellt die günstigste  $h$  für die gegenseitige Flockung dieser beiden Kolloide dar.

### 30. Übung.

#### a) Das Fällungsoptimum von Lezithin bei variierter $h$ <sup>1)</sup>.

Etwa 0,5 g Lezithin „Merck“ werden mit 50 ccm destillierten Wassers so lange im Schüttelapparat geschüttelt (etwa 1 Stunde),

<sup>1)</sup> FEINSCHMIDT: Biochem. Zeitschr. 38, 244. 1912.

bis alles Lezithin zu einer gleichförmigen, trüben Emulsion verteilt ist.

Man stelle nach den Vorschriften der analytischen Chemie eine normale Lösung von Milchsäure her. Die Lösung muß vor ihrer endgültigen Titerstellung  $\frac{1}{4}$  Stunde gekocht werden, um das stets vorhandene Milchsäureanhydrid in Milchsäure zu verwandeln. Die Titrierung geschieht gegen nNaOH mit Phenolphthalein.

Nun stellt man eine  $\frac{1}{40}$  molare Natriumlaktatlösung folgendermaßen her. 5 ccm nNaOH werden mit einem Tropfen Phenolphthalein versetzt und so viel von der Milchsäurelösung hinzugegeben, daß soeben Entfärbung eintritt, und die Lösung auf 200 ccm mit destilliertem Wasser aufgefüllt.

Aus einer zweiten Portion der titrierten Milchsäure stelle man eine 0,1 molare, aus einer dritten eine 0,01 molare Milchsäure her.

Nun setze man folgende Reihe an:

Röhrchen Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
$\frac{1}{40}$ mol. Natriumlaktat ccm	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
0,01 mol. Milchsäure ccm	0,49	0,98	1,95	3,9	7,8	—	—	—	—	—	—	—
0,1 mol. Milchsäure cm	—	—	—	—	—	1,56	3,12	6,28	—	—	—	—
1 mol. Milchsäure ccm	—	—	—	—	—	—	—	1,25	2,5	5	10	—
dest. Wasser ccm	9,51	9,02	8,05	6,1	2,2	7,44	6,88	3,75	8,75	7,5	5,0	0
Lezithinemulsion	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Ph	4,9	4,6	4,2	3,9	3,6	3,3	2,9	2,6	2,3	2	etwa 1,7	etwa 1,4

Resultat: (+ Trübung,  $\times$  Flockung),

nach 1 Minute	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
„ 10 Minuten	—	—	—	—	—	+	$\times$	—	—	—	—	—
„ 30 „	—	—	—	—	—	+	$\times \times \times$	—	—	—	—	—
„ 60 „	—	—	—	—	—	$\times$	$\times \times \times$	—	—	—	—	—

h wird angenähert berechnet nach

$$h = 1,5 \cdot 10^{-4} \frac{(\text{Milchsäure})}{(\text{Natriumlaktat})}$$

also für das Optimumröhrchen Nr. 7 h etwa  $1,2 \cdot 10^{-3}$ ,  $p_h = 2,9$ .

Für verschiedene Lezithinpräparate findet man andere Optima; häufig liegt das Optimum ganz am sauren Ende der Reihe; bei manchen (z. B. alkoholischer Herzextrakt) noch rechts außerhalb der hier angegebenen Reihe.

**b) Das Fällungsoptimum von Lezithin-Eiweißverbindung.**

Genau wie der vorige Versuch, nur verwendet man statt der Lezithinsuspension folgende Mischung: 20 ccm der vorigen Lezithinsuspension + 1 ccm dialysiertes Blutserum. Hiervon wird, wie vorher, in jedes Röhrchen 1 ccm zugefügt.

Resultat:

	1	2	3	4	5		
Nach 1 Minute	× × ×	× × ×	× × ×	++	++		
	6	7	8	9	10	11	12
	++	0	0	0	0	0	0

0 bedeutet: Keine Verstärkung der ursprünglichen Lezithintrübung.

Die Fällung wird stark nach dem weniger saurem Gebiet verschoben. Sie wird gleichzeitig viel massiger. Im übrigen siehe die Bemerkungen zu Übung Nr. 30.

Durch eine ebensolche Reihe, bei welcher man 20fach mit Wasser anstatt mit Lezithinaufschwemmung verdünntes Serum benutzt, überzeugt man sich, daß das Serum allein nicht die Ursache der mächtigen Fällungen der vorigen Versuchsreihe ist.

Als „Lezithin“ kann man auch alkoholische Herz extrakte, Wassermann-Extrakte nehmen.

Die in der vorigen Übung erwähnte Tatsache, daß Lezithine verschiedener Herkunft ein verschiedenes Flockungsoptimum zeigen, dürfte zum Teil darauf zurückzuführen sein, daß diese „Lezithine“ Spuren von Eiweiß enthalten, und zwar in wechselnder Menge und Art.

**31. Übung.****Die Säureagglutination der Typhusbazillen<sup>1)</sup>.**

Zwei schräge Agarröhrchen werden mit Typhusbazillen beimpft und das Impfmateriel mit einem Tropfen Kondenswasser oder sterilem Wasser über die ganze Oberfläche des Agar verbreitet. Nach 24stündigem Wachstum im Brutschrank wird der geramte Bakterienrasen mit 5 ccm destillierten Wassers (nicht Kochsalzlösung) abgeschwemmt, nochmals mit 5 ccm Wasser nachgewaschen und auf 20—30 ccm aufgefüllt. Es soll eine recht deutlich getrübe Suspension entstehen. Diese wird in

<sup>1)</sup> MICHAELIS, L.: Dtsch. med. Wochenschr. 1912, Nr. 21.

eine Bürette mit Glashahn, zu 20 ccm, in Kubikzentimeter geteilt, eingefüllt. Wer nicht mit lebenden pathogenen Bakterien arbeiten will, mag die Suspension mit  $\frac{1}{10}$  Volumen 5 proz. Phenollösung erst einige Stunden stehen lassen.

Nun stelle man folgende Mischungen her.

Lösung	Nr. 1	2	3	4	5	6
nNaOH ccm	5	5	5	5	5	5
n-Essigsäure ccm	7,5	10	15	25	45	85
Wasser ccm	87,5	85	80	70	50	10

Diese Mischungen sind längere Zeit haltbar.

Ihre  $h$  beträgt rund:

$h$	1	2	4	8	16	$32 \times 10^{-5}$
$p_h$	5,0	4,7	4,4	4,1	3,8	3,5

Man fülle in 6 Reagenzgläschen je 1 ccm der 6 Lösungen ein, dann in jedes Röhrchen 3 ccm der Bazillenaufschwemmung. Das Reagenzglasgestell kommt in den Brutschrank. Sobald die erste Spur einer Flockung sichtbar wird (10 Min. bis 1 Std.), wird das Gestell ins Zimmer gestellt. Hier wird die Agglutination schnell deutlicher. Das Optimum der Agglutination ist Röhrchen Nr. 3 ( $h = 4 \cdot 10^{-5}$ ). Je nach der Agglutinabilität des Bakterienstammes ist die Flockung feiner oder massiger, beschränkt sich entweder ganz auf Röhrchen 3 oder erstreckt sich nach einer oder beiden Seiten auch noch auf das Nachbarröhrchen. Bei der Beobachtung darf man nicht aufschütteln, wie man das bei der Serumagglutination tut. Sind die Bakterien aufgeschüttelt worden, so kann man die Beobachtung ungestört von neuem mit gleichem Resultat anstellen, wenn man die Röhrchen nunmehr in Ruhe läßt.

Die Agglutinabilität (nicht aber die Lage des Optimums innerhalb der Reihe!) hängt vom Typhusstamm, von der Dichte der Aufschwemmung und vom Nährboden ab. Sollte sie nicht anschaulich genug ausfallen, so arbeite man mit Paratyphus-B-Bazillen. Diese geben immer eine gute Säureagglutination, und zwar mit dem Optimum in Röhrchen 5 (bis 6).

## VI. Oberflächenspannung.

Die Oberfläche einer Flüssigkeit hat das Bestreben, sich auf ein Minimum zu kontrahieren. Man schreibt deshalb der Oberfläche eine Spannung zu. Diese bewirkt, daß die aus einer kapillaren Öffnung ausfließende Flüssigkeit in einzelnen Tropfen ab-

fließt; der Tropfen reißt erst ab, wenn sein Gewicht die Oberflächenspannung überwindet. Die Oberflächenspannung bewirkt ferner, daß die Flüssigkeit in einer Kapillare aufsteigt, wenn sie die Wand derselben benetzt. Der Benetzung wäre an sich Genüge getan, wenn eine äußerst dünne Flüssigkeitshaut an den Wänden der Kapillare emporkröche; da aber dann die Oberfläche der Flüssigkeit sehr große würde, verkleinert sich die Oberfläche dadurch, daß das Wasser emporsteigt.

Gelöste Stoffe verändern die Oberflächenspannung des Wassers; es gibt nur wenige Stoffe, die die Oberflächenspannung des Wassers merklich erhöhen, aber viele, die sie stark vermindern. Diese Stoffe nennt man kapillaraktiv oder oberflächenaktiv. Dazu gehören vor allem kohlenstoffreiche Verbindungen; sie sind um so oberflächenaktiver, je länger die C-Kette ist, je geringer die Zahl der entschieden elektropositiven und besonders der elektronegativen Gruppen (OH, COOH) ist. Die oberflächenaktiven Stoffe zeichnen sich durch hohe Adsorbierbarkeit und durch hohe biologische Wirkung (Hemmung der O<sub>2</sub>-Atmung, Narkose u. a.) aus.

### 32. Übung.

#### Die Steighöhenmethode.

Eine benetzende Flüssigkeit steigt in eine Kapillare bis zu einer Höhe auf, welche bestimmt wird durch die Formel  $h = \frac{2\sigma}{rD}$  ( $h$  Steighöhe,  $\sigma$  Oberflächenspannung,  $r$  Radius der Kapillare,  $D$  spezifisches Gewicht der Flüssigkeit). Aus der Steighöhe  $h$  kann man daher  $\sigma$  berechnen, wenn  $r$  und  $D$  bekannt ist. Die Steighöhe ist die Niveaudifferenz der äußeren Flüssigkeit und der Flüssigkeit in der Kapillare. Nicht ohne besondere Vorrichtungen zu bestimmen ist das Niveau der äußeren Flüssigkeit. Man kann das auf folgende Weise umgehen. Haben wir zwei Kapillaren mit den Radien  $r_1$  und  $r_2$ , so ist

$$h_1 = \frac{2\sigma}{r_1 D}, \text{ und } h_2 = \frac{2\sigma}{r_2 D}, \text{ also}$$

$$h_1 - h_2 = \frac{2\sigma}{D} \left( \frac{1}{r_1} - \frac{1}{r_2} \right).$$

Die Höhendifferenz  $h_1 - h_2$  kann man ohne wesentlichen Fehler gleichsetzen der Höhendifferenz der beiden Menisken. Arbeitet

man in einer Versuchsreihe immer mit denselben zwei Kapillaren von verschiedenem Lumen, so ist also

$$h_1 - h_2 = \frac{K}{D} \cdot \sigma, \text{ oder } \sigma = \frac{(h_1 - h_2)}{K} \cdot D,$$

wo  $K$  eine Konstante ist, deren Bedeutung sich aus der vorigen Formel ergibt  $= \frac{1}{r_1} - \frac{1}{r_2}$ .

Diese Konstante kann für ein Kapillarenpaar dadurch geeicht werden, daß man die Steighöhen­differenz von Wasser bestimmt; wollen wir nur immer relative Bestimmungen von  $\sigma$ , bezogen auf die des Wassers = 1 (wo auch  $D = 1$  ist) machen, so setzen wir also  $\sigma_{\text{Wasser}} = 1$ , und daher ist  $K = (h_1 - h_2)_{\text{für Wasser}}$ . Die relative Oberflächenspannung einer Flüssigkeit ist daher gleich der Steighöhen­differenz in einem Kapillarenpaar, dividiert durch die Steighöhen­differenz in diesem Kapillarenpaar für reines Wasser der gleichen Temperatur, multipliziert mit dem spezifischen Gewicht der Flüssigkeit.

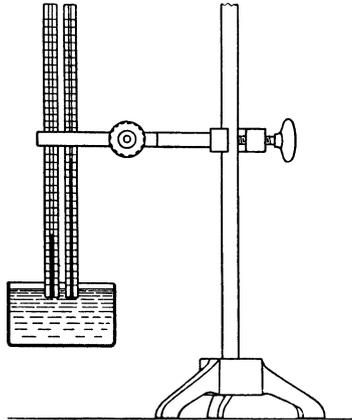


Abb. 8. Doppelkapillaren.

Man benutzt zwei starkwandige sog. Thermometerkapillaren, mit eingätzter Millimeterteilung (Abb. 8). Die Teilungsstriche sollen, zur Vermeidung parallaktischer Ablesung, mindestens die Hälfte der Peripherie des Rohres umfassen. Die äußere Peripherie der beiden Rohre ist gleich, damit man sie bequem aneinandergepreßt in ein Stativ einklemmen kann. Der Durchmesser des Lumens ist zweckmäßig bei der einen 2,5 mm, bei der anderen 0,35—0,4 mm. Die Kapillaren werden in Bichromat-Schwefelsäure gereinigt, wie in Abb. 8 befestigt und in die Flüssigkeit getaucht. Man überzeuge sich, daß das Niveau in beiden Kapillaren frei spielt und oberhalb des Meniskus im Rohr kein Flüssigkeitstropfen hängen bleibt, und daß die Niveaueinstellung bei Bewegungen des Meniskus von oben und von unten her gleich ist.

So gab z. B. bei 18° Wasser eine Höhendifferenz von 36,5 mm, gesättigte Lösung von (Gärungs-)Amylalkohol 13,4 mm; also,

da  $D = 1$  gesetzt werden kann, ist die relative Oberflächenspannung der Lösung  $= \frac{13,4}{36,5} = 0,367$ .

### 33. Übung.

#### Bestimmung der relativen Oberflächenspannung mit der Tropfenmethode (Stalagmometer nach J. TRAUBE).

Das Stalagmometer in der Originalform nach J. TRAUBE besteht aus einem Glasrohr nebenstehender Form. Oberhalb und unterhalb der birnförmigen Erweiterung trägt es eine Anfangs- und Schlußmarke. Die Ausflußöffnung ist eine breite, horizontal geschliffene Fläche, welche von einer feinen Kapillare durchbohrt ist.

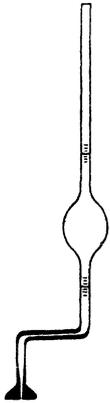


Abb. 9.  
Stalagmometer  
nach J. TRAUBE.  
 $\frac{1}{5}$  nat. Größe.

1. Eichung des Stalagmometers. Das Stalagmometer wird lotrecht an einem Stativ befestigt, ein Gefäß zum Auffangen der abtropfenden Flüssigkeit daruntergestellt. Man saugt in das Rohr Wasser bis über die obere Marke und läßt es abtropfen. Von dem Augenblick, wo der Wasserstand die obere Marke erreicht hat, beginnt man die Tropfen zu zählen, bis die untere Marke erreicht ist. Die geeignetsten Stalagmometer sind solche zu etwa 80 Tropfen. Man wiederhole die Zählung mindestens 3mal; die Unterschiede der einzelnen Zählung dürfen 1 Tropfen nicht über schreiten.

Bei Stalagmometern mit kleiner Tropfenzahl (z. B. 18 Tropfen) ist zur Abmessung von Bruchteilen eines Tropfen oberhalb der beiden Marken eine Graduierung angebracht, deren Ausdehnung nach oben und nach unten im ganzen je  $\frac{1}{2}$  Tropfen entspricht. Besteht die Graduierung aus je 5 Strichen nach oben und nach unten, so bedeutet jeder Strich 0,1 Tropfen. Da das Passieren der Wassersäule durch die Hauptmarke nicht gerade mit dem Abfallen eines Tropfens zusammenzufallen braucht, beginnt man genau mit dem Abfallen eines Tropfens zu zählen und beobachtet dabei den Stand des Meniskus. Das macht man sowohl beim Passieren der oberen wie der unteren Hauptmarke. Für den Anfang der Zählung muß man oberhalb der Hauptmarke liegende Tropfenbruchteile abziehen, unterhalb derselben liegende addieren. Für den Schluß, für das Passieren der unteren Marke, muß man

oberhalb liegende Bruchteile addieren, unterhalb liegende subtrahieren. Z. B.

gezählt 19 Tropfen. Oben: 3 Striche oberhalb  
 unten: 4 „ „ „  
 Resultat:  $19 - 0,3 + 0,4 = 19,1$  Tropfen.

2. Um die zu untersuchende Lösung zu messen, sauge man sie (wie bei der Steighöhenmethode) zunächst einige Male durch die Kapillare, dann mißt man die Tropfenzahl wie beim Wasser. Ist  $Z_w$  die Ausfluszahl für Wasser,  $Z$  die der unbekanntenen Lösung,  $D$  das spezifische Gewicht der letzteren, so ist die relative Oberflächenspannung  $\sigma$

$$\sigma = \frac{Z_w}{Z} \cdot D.$$

Zur Veranschaulichung der TRAUBESCHEN Reihen, d. h. der rapide zunehmenden Oberflächenaktivität mit wachsender Kohlenstoffkette in homologen Reihen, bestimme man die relative Oberflächenspannung bei folgenden Lösungen:

	relative Ober- flächen- spannung
A. a) 1 molare Lösung von Methylalkohol (3,2 Gewichtsproz. = 3,9 Volumproz.)	0,92
b) 1 mol. Lösung von Äthylalkohol (4,6 Gewichtsproz. = 5,75 Volumproz.)	0,76
B. a) 0,125 mol. Äthylalkohol (0,57 Gewichtsproz. = 0,71 Volumproz.)	0,95
b) 0,125 mol. (Iso-)Amylalkohol (1,1 Gewichtsproz. = 1,36 Volumproz.)	0,54
C. gesättigte Lösung von Heptyl- oder Oktylalkohol (enthält analytisch kaum nachweisbare Mengen des Alkohols) . . . . . um	0,5

Man sieht aus dem Versuch A, daß bei gleichem molaren Gehalt der höhere Alkohol der aktivere ist. Dasselbe sieht man aus B; man erkennt hier, daß Amylalkohol nicht nur auf molare, sondern absolute Konzentration bezogen, viel aktiver ist als Äthyl- oder Methylalkohol, und aus C sieht man, daß die sonst eigentlich nur noch durch den Geruch nachweisbaren Spuren Oktylalkohol selbst den Amylalkohol noch weit an Oberflächenaktivität übertreffen.

Man stelle eine gesättigte Lösung von Dezylalkohol her. Man schüttele nicht zu heftig, sonst erhält man eine opaleszierende, kolloidale Lösung. Die echte Lösung, nach dem Fil-

trieren ganz klar, zeigt keine wesentliche Oberflächenaktivität: Die Löslichkeit hat mit der Verlängerung der Kohlenstoffkette stärker abgenommen, als die Oberflächenaktivität zugenommen hat. Nach heftigem Schütteln erhält man beim Filtrieren eine opaleszierende kolloide Lösung, welche deutlich oberflächenaktiv ist. Auf diese Erscheinung sei ganz besonders aufmerksam gemacht.

## 34. Übung.

**Die steigende biologische Wirkung oberflächenaktiver Stoffe in homologen Reihen.**

In dieser Übung soll diejenige Grenzkonzentration verschiedener einwertiger Alkohole ermittelt werden, welche bei Zimmertemperatur *Bacterium coli* in etwa 15 Minuten abtötet. In eine Reihe von Reagenzgläsern fülle man ein:

Methylalkohol . . . . .	ccm:	9,6	6,4	4,3	2,8
Wasser . . . . .	ccm:	0,4	3,6	5,7	7,2
ferner in eine 2. Reihe					
Äthylalkohol . . . . .	ccm:	7,5	5,0	3,3	2,2
Wasser . . . . .	ccm:	2,5	5,0	6,7	7,8
ferner					
Propylalkohol . . . . .	ccm:	3,6	2,4	1,6	1,1 0,7
Wasser . . . . .	ccm:	6,4	7,6	8,4	8,9 9,3
ferner					
gesättigte wässrige Amylalkohollösung (d. h. etwa 2,8 Proz.)	} ccm:	10,0	6,7	4,4	3,0
Wasser . . . . .					
ferner					
gesättigte wässrige Lösung von Heptyl- alkohol	} ccm:	10,0	6,7	4,4	3,0
Wasser . . . . .					

In jedes dieser Röhren verreibt man 2 Platinösen einer auf Agar gewachsenen Kultur von *Bacterium coli*. Die Bakterien werden mit der Platinöse zunächst an der trockenen Wand des Reagenzglases verrieben und dann in die Flüssigkeit hineingespült. Bei jedem Röhren wird der Zeitpunkt des Einimpfens notiert. 15 Minuten nach der Einimpfung wird aus jedem Röhren eine Platinöse entnommen und auf eine Agarplatte geimpft. Man kann eine Platte für etwa 8 Impfungen benutzen, indem man sie in Felder einteilt. Nach der Impfung werden die Platten

zunächst 1 Stunde unverschlossen, die geimpfte Seite nach unten, in den Brutschrank gestellt, um die Spuren aufgebrachtene Alkohols zum Verdunsten zu bringen. Dann wird die Platte mit dem Deckel verschlossen. Nach 24stündigem Wachsen im Brutschrank bei 37° wird beobachtet, welche Impfungen angegangen und welche steril geblieben sind. Das Resultat pflegt zu sein: die niederste eben noch abtötende Konzentration ist

für Methylalkohol	64	Volumproz.	
„ Äthylalkohol	50	„	
„ Propylalkohol	20	„	
„ Amylalkohol	2,8	„	(d. h. die gesättigte Lösung).

Heptylalkoholtötet unter diesen Bedingungen nicht mehr ab, trotz seiner hohen Kapillaraktivität, da er nicht mehr genügend löslich ist.

Geht man in der homologen Reihe noch höher, zum Dezyllalkohol, so ist die Kapillaraktivität auch nicht mehr stalagmometrisch nachzuweisen, weil die Löslichkeit zu gering geworden ist (siehe vorige Übung). Ein viel empfindlicheres biologisches Objekt als Bakterien, ja sogar als das Stalagmometer, sind z. B. Paramäcien. Diese findet man stets in Wasser, welches einige Tage mit Heu gestanden hat. Bringt man zu einem paramäcienhaltigen Wassertropfen einen Tropfen gesättigte Dezyllalkohollösung, so werden die Paramäcien augenblicklich unter stärkster Entstellung ihrer Struktur getötet.

### 35. Übung.

#### Relative quantitative Analyse eines kapillaraktiven Stoffes.

Gegeben sei eine beliebige, nicht gesättigte Lösung von Tributyrin (Tributtersäureglyzerinester). Es soll die relative Konzentration derselben bestimmt werden, indem die Sättigungskonzentration bei gleicher Temperatur = 1 gesetzt wird.

Einige Tropfen Tributyrin werden mit 100 ccm dest. Wassers<sup>1)</sup> in einer verschlossenen Flasche 10 Minuten lang geschüttelt und dann filtriert. Die erste und letzte Portion des Filtrats wird getrennt aufgefangen und verworfen. Von dieser Lösung stellt man folgende Verdünnungen her:

	Nr. 1	2	3	4	5	6	7
gesättigte Tributyrinlösung	10 ccm	8	6	4	2	1	0
dest. Wasser	0	„	2	4	6	8	9

<sup>1)</sup> Es empfiehlt sich, statt dest. Wassers gleich die in der nächsten Übung beschriebene Phosphatmischung zu nehmen, um die folgende Übung gleich vorzubereiten.

Von jeder dieser Lösungen bestimmt man die Tropfenzahl. Es ist aber nicht unbedingt erforderlich, hierzu das langsam tropfende TRAUBESche Stalagmometer zu nehmen, sondern man kann sich einer etwas schneller tropfenden Tropfpipette<sup>1)</sup> bedienen (Abb. 10). Sie hat einen Fassungsraum von etwa 3 ccm und endet in eine nach unten sich leicht verjüngende Spitze mit nicht zu schwacher Glaswandung. Zur gelegentlichen Reinigung benutzt man Schwefelsäure-Bichromatgemisch. Der sich bildende Tropfen kriecht von der Spitze die Wand etwas in die Höhe, bevor er abreißt. Dies soll ganz gleichmäßig nach allen Seiten erfolgen. Kriecht der Tropfen etwas einseitig in die Höhe, so

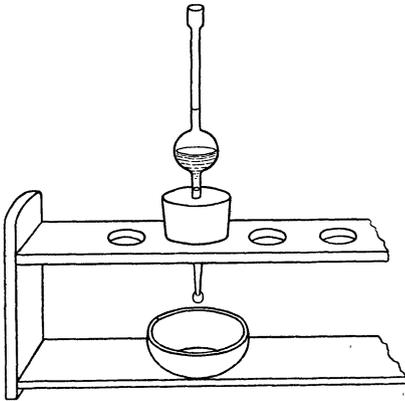


Abb. 10. Tropfpipette.

kann man das meist dadurch korrigieren, daß man die trockene Spitze zwischen dem trockenen Daumen und Zeigefinger unter Druck hin und her rollt. Am besten eignen sich Tropfpipetten mit 80—90 Tropfen bei reinem Wasser. In der Sekunde soll etwa  $1-1\frac{1}{2}$  Tropfen ausfließen. Da bei dieser Tropfgeschwindigkeit jeder Tropfen infolge seiner kinetischen Energie etwas zu früh abreißt, ist die Oberflächenspannung nicht wie bei einem

richtigen Stalagmometer der Tropfenzahl genau umgekehrt proportional. Z. B. war für eine (nicht gesättigte) Lösung von Heptylalkohol die Tropfenzahl, relativ zu der des Wassers, mit einem

TRAUBESchen Stalagmometer gemessen  $= \frac{24,6}{18,5} = 1,32$ ; mit der

schnell tropfenden Pipette gemessen  $= \frac{142}{101} = 1,41$ . Trotzdem

entspricht natürlich jeder Tropfenzahl eine ganz bestimmte Konzentration an Tributyrin. Für die eigentlich nur chemisch-analytischen Zwecke dieser und ähnlicher Übungen ist daher diese einfache Tropfpipette wegen der Zeitersparnis entschieden vorzuziehen.

Man bestimmt nun für obige 7 Lösungen durch mehrfach wiederholte Parallelversuche die Tropfenzahl. In den Parallel-

<sup>1)</sup> RONA, P. u. MICHAELIS, L.: Biochem. Zeitschr. 31, 345. 1911.

versuchen soll diese bis auf 1 Tropfen übereinstimmen. Nur bei den höchsten Tributyrinkonzentrationen ist die Reproduzierbarkeit etwas schlechter.

Es fanden sich z. B. folgende Werte:

Nr.	1	2	3	4	5	6	7
Tropfenzahl (Mittelwerte)	136,0	130,5	123,0	114,0	103,0	94,0	91,0

Man trägt nun auf Millimeterpapier die Konzentrationen auf die Abszisse und die Tropfenzahl auf die Ordinate und erhält so eine Eichkurve (Abb. 11).

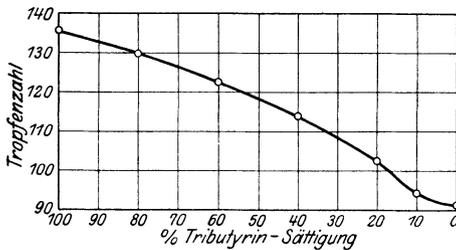


Abb. 11. Eichkurve für Tributyrin.

Unsere oben gestellte Aufgabe, die Konzentration einer beliebigen Tributyrinlösung zu bestimmen, lösen wir dadurch, daß wir mit derselben Pipette ihre Tropfenzahl messen und in dem Diagramm ihre Konzentration ablesen.

### 36. Übung.

#### Nachweis des fettspaltenden Ferments im Blutserum<sup>1)</sup>.

Die Übung schließt unmittelbar an die vorige an; die gewonnene Eichungskurve kann sofort verwendet werden. Nur stelle man die gesättigte Tributyrinlösung nicht in reinem Wasser her, sondern in einem Phosphat-Regulator, um die Wasserstoffzahl herzustellen und festzuhalten, welche für die Wirkung des Fermentes am günstigsten ist. Da die früher angegebenen Phosphatpuffermischungen oft in der absoluten Konzentration unerwünscht gering sind, sei eine andere Methode zur Herstellung stärkerer Lösungen beschrieben. Man geht von einer 1fach molaren Phosphorsäurelösung aus. Eine 1fach molare (3fach normale) Phosphorsäure kann von KAHLBAUM bezogen werden. Ihr Titer wird auf folgende Weise kontrolliert. 10 ccm der Phos-

<sup>1)</sup> RONA, P. u. MICHAELIS, L., l. c.

phorsäure werden mit 100 ccm dest. Wassers versetzt und mit 1 norm. NaOH titriert mit Methylorange als Indikator. Die Titration ist beendet, wenn jeder rötliche Ton verschwunden ist und die Farbe genau so geworden ist, wie in einer stark alkalischen Kontrollprobe. Man stelle ein Gefäß mit etwa ebensoviel Wasser daneben, versetze es mit einigen Tropfen starker Lauge und ebensoviel Indikator wie in der Phosphorsäurelösung, d. h. 2—3 Tropfen einer 0,02 proz. alkoholischen Lösung von Methylorange. Derjenige Tropfen Lauge, welcher den letzten Schimmer von Orange zum Verschwinden bringt und das reine, blasse Gelb erzeugt, wird nicht mehr mitgerechnet. Auf diese Weise müssen die 10 ccm Phosphorsäure 10 ccm n Lauge verbrauchen.

Wendet man Phenolphthalein als Indikator an und titriert bis einschließlich zu demjenigen Tropfen, welcher eben eine ganz unzweifelhafte Rosafärbung hervorruft, so müssen die 10 ccm Phosphorsäure 20 ccm 1 norm. Lauge verbrauchen.

Nummehr vermischt man

1. 10 ccm von dieser 1 mol. Phosphorsäure + 10 ccm nNaOH + 10 ccm dest. Wasser. Diese Mischung ist  $\frac{1}{3}$  mol. primäres Natriumphosphat,
2. 10 ccm 1 mol. Phosphorsäure + 20 ccm nNaOH: das ist  $\frac{1}{3}$  mol. sekundäres Natriumphosphat.

Jetzt vermischt man 100 ccm Wasser mit 1 ccm  $\frac{1}{3}$  mol. primärem Natriumphosphat und 7 ccm  $\frac{1}{3}$  mol. sekundärem Natriumphosphat. Dann wird die Lösung mit etwa 20 Tropfen Tributyrin versetzt, 10 Minuten geschüttelt, filtriert, die ersten Kubikzentimeter des Filtrats verworfen und der Rest aufgefangen. 50 ccm dieser Lösung werden mit 2 ccm menschlichen Blutserums versetzt. Das Serum darf 2—3 Tage alt, aber nicht „inaktiviert“ (erwärmt) worden sein. Unmittelbar nach dem Vermischen bestimme man die Tropfenzahl nach der S. 83 angegebenen Methode, und dann etwa alle 5—10 Minuten wieder. Die erhaltenen Werte trage man in ein Koordinatensystem ein, die Zeiten (vom Beginn des Serumzusatzes gezählt) als Abszisse, die Tropfenzahlen als Ordinate. Die Tropfenzahlen kann man auch auf Grund der Eichung (Übung 35) in Tributyrin-Konzentrationen, bezogen auf die volle Sättigung als Einheit, umrechnen, und eine zweite graphische Darstellung wählen: Zeit als Abszisse, Konzentration des Tributyrin als Ordinate. Beispielsweise fand sich:

Zeit in Minuten	0	1	13	23	49	60
Tropfenzahl	147	147	138	134	125	123
Wasserwert 83						

Eine (relative) quantitative Bestimmung des fettspaltenden Ferments wird aus dieser Methode auf folgendem Wege erhalten. Man wiederhole diesen Versuch mit einer Reihe normaler menschlicher Blutsera und betrachte nun die einzelnen Diagramme. Notwendig sind nur die Zeit-Tropfenzahl-Diagramme; die Zeit-Konzentrationsdiagramme sind entbehrlich. In den verschiedenen Diagrammen vergleiche man die Zeiten gleicher Tropfenzahl. Beispielsweise findet man: Tropfenzahl an einer Kontrolle, welcher statt Serum die gleiche Menge Wasser zugesetzt wurde: 140. Das ist der wahre Anfangswert. In den ersten Messungen mit Serum wird man gleich etwas weniger finden. Nunmehr liest man an den Diagrammen die Zeit ab, nach welcher die Tropfenzahl 120 betrug. Dies sei bei 5 verschiedenen Normalserumproben 10; 11; 12; 9; 9 Minuten, im Mittel 10,0 Minuten. Ferner liest man ab, in welcher Zeit die Tropfenzahl 110 erreicht wurde. Dies sei 18; 19; 20; 16; 17 Minuten, im Mittel 18,0 Minuten.

Diese Zahlen können als bleibender Maßstab für künftige Versuche benutzt werden, sofern die Zimmertemperatur innerhalb 2—3° die gleiche ist. Findet man nun an einem pathologischen Serum z. B. von einer schweren Phthisis pulmonum

120 Tropfen in 30,0 Minuten

110 „ „ 58,0 „

so würde aus der ersten dieser beiden Zahlen folgen, daß der Umsatz in 30 Minuten so weit ist, wie bei normalem Serum in 10 Minuten, und in 55 Minuten so weit ist, wie normalerweise in 18 Minuten. Die Fermentmengen verhalten sich umgekehrt wie die Zeiten gleichen Umsatzes; die erste Zahl gibt als eine Fermentmenge von  $\frac{10}{30}$ , die zweite von  $\frac{18}{55}$  des normalen, als Mittel von 0,33 und 0,31 also 0,32, bezogen auf normalen Fermentgehalt = 1.

### 37. Übung.

#### Nachweis des fettspaltenden Ferments im Magen- und Darmsaft<sup>1)</sup>.

Das Prinzip ist dasselbe wie bei der Blutlipase. Nur bedarf man einer anderen h als Wirkungsoptimum.

Man versetze 90 ccm Wasser mit 10 ccm des  $\frac{1}{3}$  mol. primären Natriumphosphats, ohne sekundäres Natriumphosphat; die Lösung wird mit Tributyrin gesättigt, filtriert. 30 ccm dieser Lösung werden mit 1 ccm des sorgfältig filtrierten Magensaftes versetzt und weiter wie beim Blutserum verfahren.

<sup>1)</sup> DAVIDSOHN, H.: Biochem. Zeitschr. 45, 284. 1912.

Für Pankreaslipase benutze man eine Lösung von 90 ccm Wasser + 10 ccm  $\frac{1}{3}$  mol. sekundären Phosphats ohne primäres. In dieser Lösung ist nur Pankreas- oder Darmlipase (auch Serumlipase) wirksam, aber nicht oder höchstens in Spuren die Magenlipase. Umgekehrt wirkt in der oben für Magenlipase angegebenen Lösung nur diese, aber so gut wie nicht die Pankreas- oder Darmlipase.

Um zu entscheiden, ob die Lipase in einem Mageninhalt Magen- oder regurgitierte Darmlipase ist, mache man Parallelversuche mit den beiden angegebenen Phosphatlösungen. Magenlipase wirkt in der saureren Lösung viel rascher als in der alkalischen, Darmlipase umgekehrt. Ist ein wesentlicher Unterschied nicht zu finden, so enthielt der Mageninhalt sowohl Magen- wie Darmlipase.

### 38. Übung.

#### **Beeinflussung der Sedimentierungsgeschwindigkeit durch kapillaraktive Stoffe<sup>1)</sup>.**

In 3 Reagenzgläser werden je 2 g Kaolin und 20 ccm Wasser gegeben. Das erste bleibt ohne Zusatz, zum zweiten werden einige Körnchen Thymol, zum dritten einige Körnchen Kampfer hinzugegeben, alle Röhren heftig durchgeschüttelt und dann in Ruhe gelassen. Das Kaolin setzt sich langsam mit scharfer Grenze ab. Nach etwa 1 Stunde hat sich die Kaolingrenze in reinem Wasser um etwa 10 mm, in den beiden anderen fast um das doppelte gesenkt.

Es sei daran erinnert (siehe unter „Adsorption“), daß oberflächenaktive Stoffe von Kaolin nicht in nachweisbarer Menge adsorbiert werden. Bei Kohle, welche diese Stoffe sehr gut adsorbiert, haben sie keinen Einfluß auf die Sedimentierungsgeschwindigkeit. Die biologisch hochbedeutsame Wirksamkeit der kapillaraktiven Stoffe selbst an Grenzflächen, an denen man ihre Adsorption nicht nachweisen kann, bedarf noch der Aufklärung.

### 39. Übung.

#### **Bedingt oberflächenaktive Stoffe; Einfluß der $h$ auf die Oberflächenspannung<sup>2)</sup>.**

Es gibt Elektrolyte, welche die Oberflächenspannung des Wassers nicht schlechtweg erniedrigen, sondern bei denen die

<sup>1)</sup> RONA, P. u. GYÖRGY: Biochem. Zeitschr. 105, 133.

<sup>2)</sup> TRAUBE, J. und SOMOGYI, R.: Internat. Zeitschr. f. physikochem. Biol. 1. 1914; ferner WINDISCH, W. und DIETRICH, W.: Biochem. Zeitschr. 67, 135. 1919; 100, 130. 1919 und andere Arbeiten ibidem.

Oberflächenspannung unter sonst gleichen Bedingungen von der der Lösung abhängt. Diese bedingte Oberflächenaktivität ist entweder dem Kation des Elektrolyten zuzuschreiben (die Salze des Chinin, Eukupin und vieler anderer Alkaloide) oder dem Anion (die gewöhnlichen höheren Fettsäuren, Undezylsäure bzw. deren Alkalisalze). Wir betrachten den Fall des salzsauren Eukupin: Eine Lösung von Eukupinum bihydrochloricum 1 : 1000 gibt für eine Tropfpipette mit dem Wasserwert 84 die Tropfenzahl 113. Diese Lösung ist infolge Hydrolyse des Salzes stark sauer. Vermindert man nun durch Phosphatpuffer die Azidität, so steigt die Tropfenzahl, und zwar zunächst allmählich und dann mit einem Sprung bis nahezu auf den Maximalwert.

Man setze folgende Lösungen an:

	Nr. 1	2	3	4	5	6	7
0,1 n. NaOH	—	—	—	—	—	—	2,0
$\frac{m}{15}$ prim. Phosphat	2,0	1,4	0,98	0,69	0,48	0,34	—
$\frac{m}{15}$ sek. Phosphat	0,0	0,6	1,02	1,31	1,52	1,66	—
Iprom.Eukupin-Lösung	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
$p_h$ angenähert	5	6,3	6,8	6,9	7,1	8	12,6
Tropfenzahl (in reiner Lösung 113)	124	176	187	187	185	169*)	93**)

\*) Bei dieser Alkalität entstand zunächst eine Trübung. Die Tropfenzahl der getrübbten Lösung betrug zuerst 213; dann wurde die Flüssigkeit filtriert. Das Filtrat zeigte eine im Verlaufe einer Stunde die wiederholt nachgemessene und als konstant befundene Tropfenzahl von 169.

\*\*\*) Hier entstand sofort eine Fällung; die angegebene Tropfenzahl bezieht sich auf das Filtrat.

Die Tropfenzahl ist also schon in reinem primären Phosphat ( $p_h$  etwa = 5) ein wenig höher als in der reinen wäßrigen Lösung des Eukupinum bihydrochloricum, welche infolge der Hydrolyse dieses Salzes sehr sauer ist. Mit zunehmendem  $p_h$  erreicht die Tropfenzahl bei  $p_h$  etwa 6 fast sprunghaft einen viel höheren Wert, welcher bei 6,8 das Maximum erreicht hat (wenn man nur die definitiven Tropfenwerte berücksichtigt) und von  $p_h = 8$  wieder zu fallen beginnt. Bei  $p_h = 12$  ist die Tropfenzahl fast wieder auf den reinen Wasserwert gesunken.

Die Deutung der Erscheinung kann folgendermaßen gegeben werden: Der oberflächenaktive Stoff ist die freie Eukupinbase

(nicht das Eukupin-Ion!). Diese ist in der Lösung des Eukupin-salzes infolge Hydrolyse schon in sehr geringen Mengen vorhanden und wird mit zunehmender Alkalität der Lösung immer reichlicher. Sie ist in Wasser, wie alle ganz stark oberflächenaktiven Stoffe, kaum löslich (s. Dezylalkohol, 33. Übung, S. 81) und gibt gute stalagmometrische Ausschläge nur, wenn sie in übersättigter oder sehr fein disperser kolloider Lösung vorhanden ist. Alkalisiert man ein wenig, so bleibt die in Freiheit gesetzte Base in übersättigter (oder kolloider) Lösung (Röhrchen 2—5); alkalisiert man stärker (Nr. 6), so fällt die Base zum großen Teil aus; ganz im Anfang hat man eine sehr hohe Tropfenzahl, sie wird aber im Lauf der Zeit kleiner. Alkalisiert man noch stärker (Röhrchen Nr. 7), so fällt die Base einfach quantitativ aus und die Tropfenzahl sinkt fast auf den reinen Wasserwert.

Wie auch sonst, sind nicht allein die H- bzw. OH-Ionen auf die Oberflächenspannung der bedingt kapillaraktiven Stoffe von Einfluß. Es finden sich dieselben Ionenreihen wieder, wie auch bei andern Ionenwirkungen. Nur haben auch hier wieder von den gewöhnlichen einwertigen Ionen die H- und OH-Ionen bei weitem die größte Wirksamkeit. Die bedingt oberflächenaktiven Stoffe gehören zu den pharmakologisch wirksamsten Substanzen.

#### 40. Übung.

### Titration mit einem bedingt oberflächenaktiven Stoff als Indikator<sup>1)</sup>.

Die soeben beschriebene Eigenschaft des Eukupin, bei einem bestimmten  $p_h$  seine Oberflächenspannung sprunghaft zu ändern, macht einen derartigen Stoff geeignet, um als Indikator bei der azidimetrischen Titration verwendet zu werden. Die Methode ist angezeigt bei der Titration stark gefärbter und getrüebter Flüssigkeiten, in denen man den Umschlag eines Farbindikators nicht erkennen kann. Zur Demonstration wollen wir 0,1 n. Ammoniak gegen 0,1 n. HCl titrieren.

In eine Porzellanschale gibt man 10 ccm 0,1 n. HCl und 10 Tropfen einer 1proz. Lösung von Eukupin. bihydrochloricum. Man setzt portionsweise 0,1 n.  $NH_3$  hinzu und bestimmt nach jeder Portion die Tropfenzahl. Man saugt jedesmal eine genügende Portion in die Tropfpipette und läßt sie in die Titrier-

---

<sup>1)</sup> WINDISCH und DIETRICH, l. c.

schale vollkommen zurücktropfen. Es fanden sich z. B. folgende Werte:

Nach Zusatz von ... ccm 0,1 n. NH <sub>3</sub>	war die Tropfenzahl
0,0	92
5,0	92
7,0	92
9,0	95
9,5	97
10,0	125
10,5	122

Der Sprung tritt also bei 10 ccm, dem erwarteten Endpunkt der Titration, ein. Der Umschlagspunkt entspricht etwa dem des Methyloorange.

## VII. Diffusion, Osmose, Filtration.

Ein in verdünnter Lösung befindlicher Stoff verhält sich in seinem Lösungsmittel in manchen Beziehungen ebenso wie ein Gas im leeren Raum. Der gelöste Stoff hat Expansionsvermögen über das ganze Lösungsmittel hin; dies ist die Triebkraft der Diffusion. Wird die Expansion in das reine Lösungsmittel durch eine semipermeable Wand gehindert, so übt der gelöste Stoff auf diese Wand einen osmotischen Druck aus. Man sagt deshalb auch: der osmotische Druck ist die Ursache der Diffusion. Jedes Partikel, welches bei der BROWNSchen Molekularbewegung in sich starr ist und eine einheitliche Bewegung ausführt, hat den gleichen Anteil am osmotischen Druck der Lösung; sei dies ein Ion, Molekül oder ein Riesenkomplex, wie ein Eiweißkomplex oder gar ein Mastixteilchen.

Ist der gelöste Stoff ein Nichtelektrolyt, so sind die Gasgesetze glatt zu übertragen. Bei Elektrolyten treten elektrostatische Wirkungen der Ionen aufeinander und auf die Wassermoleküle hinzu, welche für den Fall der freien Diffusion zu berechnen sind, für den Fall der Diffusion durch Membranen aber erst am Beginn der Erforschung stehen. Es steht zunächst fest, daß die Osmose bei Elektrolyten von der Natur der Membran abhängt.

Eine Membran, die nur für das Lösungsmittel durchgängig ist, nicht für den gelösten (oder suspendierten) Stoff, heißt eine semipermeable Membran. Die vollkommenste semipermeable Membran ist die M. TRAUBESche Niederschlagsmembran in Form der PFEFFERSchen Zelle (z. B. aus Ferrozyankalium + CuSO<sub>4</sub>);

sie läßt nicht einmal einfache Salze hindurch. Pergament, Kolloidum, Schweinsblase hat gröbere Poren: die Diffusionsunfähigkeit eines Stoffes durch eine solche Membran ist definitionsgemäß das Kriterium dafür, daß er kolloid ist.

Werden solche Membranen als Filter benutzt, so wird das Lösungsmittel unter dem eigenen hydrostatischen Druck oder durch künstlich erzeugten Überdruck hindurchgepreßt: Ultrafiltration. Auch hierbei zeigt sich die verschiedene Durchlässigkeit für große und kleine Moleküle oder Komplexe.

#### 41. Übung. Diffusion.

Anschauung von der Geschwindigkeit der Diffusion erhält man am besten, wenn man eine Lösung in erstarrte Gelatine diffundieren läßt; die Diffusionsgröße ist zwar nicht völlig identisch mit der bei ganz freier Diffusion, aber doch nur wenig verschieden von ihr. Man fülle eine Reihe von Reagenzgläsern mit einer 10 cm hohen Schicht von 10proz. Gelatinelösung. Nach dem Erstarren schichtet man auf diese irgend eine wässrige Lösung. Als solche benutze man z. B.:

	Diffusion nach 24 Stunden
10proz. $\text{CuSO}_4$ . . . . .	10,0 mm
1 promill. Eosin . . . . .	5,0 „
1 „ Methylenblau . . . . .	3,0 „
1 „ Kongorot . . . . .	0 „
Dünne Hämoglobinlösung (lackfarbenes Blut) .	0,7 „
Mastixsol (s. S. 12) . . . . .	0 „
Lösliches Berlinerblau . . . . .	0 „

Die Diffusion wird, sofern es sich um molekular-disperse Stoffe handelt, mit steigendem Molekulargewicht kleiner. Kolloide diffundieren noch viel langsamer, grobe Suspensionskolloide ganz unmerklich.

Man beachte, daß beim Hämoglobin die Diffusion noch gut erkennbar ist.

Ein sehr hübscher Versuch ist die Herstellung der LIESE-GANGSchen Ringe. 4 g Gelatine werden in 120 g Wasser unter Erwärmen gelöst und 0,12 g Kaliumbichromat darin gelöst. Diese Lösung wird einerseits in einige Petrischalen in recht dünner Schicht ausgegossen, andererseits in eine Reihe von Reagenzgläsern in 10—15 cm hoher Schicht eingefüllt. Nach dem völligen Erstarren der Gelatine setze man vorsichtig auf die Mitte der

Petrischale einen Tropfen 8,5 proz. Lösung von  $\text{AgNO}_3$  und lasse die Schale bedeckt in völliger Ruhe stehen. Auf die in den Reagenzgläsern erstarrte Gelatine schichte man sehr vorsichtig 5 ccm der gleichen Silberlösung, indem man sie an der Wand des Glases aus einer Pipette entlang fließen läßt. Am nächsten Tage haben sich konzentrische Ringe, im Reagenzglas horizontale Schichten von braunem Silberchromat abgeschieden, deren Zahl noch nach Tagen immer zunimmt. Der Abstand der Schichten wird vom Zentrum (bzw. vom oberen Rand der Gelatine aus) immer weiter. Die Erklärung ist folgende: Das Silbersalz diffundiert in die Gallerte, es bildet sich in ihr das sehr schwer lösliche Silberchromat, welches zunächst in übersättigter Lösung bleibt. Sobald durch Nachdiffusion von Silbersalz die Übersättigung einen gewissen Grad erreicht, erfolgt plötzlich Abscheidung des Silberchromats und Aufhebung der Übersättigung. Das schon weiter entfernte Silberchromat diffundiert deshalb in die Kristallisationsgegend zurück und wird in Berührung mit der festen Phase ebenfalls abgeschieden, bis überall die Übersättigung aufgehoben ist. Nun erfolgt weiterhin Diffusion von Silbernitrat und der Vorgang wiederholt sich. Voraussetzung für die Möglichkeit dieser Erscheinung ist der Umstand, daß das abgeschiedene Silberchromat keine so dichte Membran bildet, daß sie für das nachdiffundierende Silbernitrat undurchlässig wäre. Eine Ferrozyankupfermembran z. B. wäre für alle Salze undurchlässig und würde den Diffusionsweg einfach versperren, solange sie dem osmotischen Druck mechanisch Stand hält.

## 42. Übung.

### Dialyse.

Dialyse ist die Trennung eines Kolloids von diffusionsfähigen Stoffen mit Hilfe von Membranen durch spontane Diffusion.

Die haltbarsten Dialysiermembranen sind Pergamentschläuche. Man benutze besonders die ausgezeichneten „Diffusionshülsen“ von SCHLEICHER und SCHÜLL, kleines Format (Inhalt etwa 10 ccm). Man fülle sie mit 5 ccm Lösung und stelle sie in ein kleines Bechergläschen, welches außen Wasser bis zum gleichen Niveau enthält. Füllt man innen eine 0,85 proz NaCl-Lösung ein, so ist in der Außenflüssigkeit schon nach wenigen Minuten Cl nachweisbar. Füllt man Blutserum ein, so ist nach 24 Stunden außen kein Eiweiß nachweisbar. Ebenso findet man, daß Eosin hindurchgeht. Man nehme ein 1 proz. Lösung. Zuerst wird Eosin durch Adsorption an der Membran festgehalten,

erst wenn das Adsorptionsgleichgewicht eingetreten ist, beginnt der Durchtritt des Farbstoffs. Kongorot dagegen diffundiert gar nicht durch die Hülse.

Von anderen Dialysierhülsen muß man vor allem die Kollodiummembran kennen lernen. Sie wird entweder wie auf S. 96 hergestellt, oder, nach dem Vorschlag von Wo. OSTWALD, auch auf folgende Weise. Eine aus Filtrierpapier (nicht Pergament!) hergestellte „Extraktionshülse“ von SCHLEICHER und SCHÜLL wird mit Kollodium gefüllt, und dieses wieder ausgegossen, und die Hülse während des Trocknens der hängen gebliebenen Wandschicht des Kollodiums in horizontaler Lage um die Längsachse gedreht. Man kann auch einfach einen Zylinder aus Filtrierpapier herstellen, indem man die sich 1—2 cm breit überdeckenden Ränder mit Kollodium zunächst anklebt, und dann einen Boden von Filtrierpapier mit Kollodium aufklebt. Dann gießt man die Innenseite mit Kollodium aus und dichtet besonders noch den Rand des aufgeklebten Bodens. Nach dem Trocknen wird die Hülse etwas gewässert und ist lange Zeit brauchbar, wenn sie stets feucht gehalten wird.

Die Dialyse von Blutserum mit verschiedenen Membranen ergibt ein verschiedenes Endresultat in bezug auf die durch Osmose angesaugte Wassermenge.

In einem ersten Versuch benutze man eine kleine „Diffusionshülse“ von SCHLEICHER und SCHÜLL, die aus Pergamentpapier besteht. Diese wird mit Wasser gut durchtränkt, das Wasser ausgegossen und mit 5 ccm Blutserum gefüllt. Diese Hülse wird in ein kleines (am besten oben leicht konisch verjüngtes) Becherglas gestellt und in dieses so viel „Außenflüssigkeit“ eingefüllt, daß die Niveaus außen und innen annähernd gleich sind. Als Außenflüssigkeit benutze man in einem Versuche destilliertes Wasser, in einem Parallelversuch 0,85proz.  $\text{ClNa}$ -Lösung. Diese Außenlösungen werden zunächst einigemal alle halben Stunden erneuert, dann über Nacht stehen gelassen. Dann entleert man den Inhalt jeder Hülse in einen Meßzylinder. In dem Versuch mit  $\text{ClNa}$ -Lösung ist das Volumen kaum größer geworden, in dem mit destilliertem Wasser ist es etwa um  $\frac{1}{3}$  vermehrt, außerdem hat sich ein Niederschlag von Globulin gebildet.

Das gleiche Versuchspaar setze man an, indem man eine Kollodiumhülse benutzt, die wie S. 96 hergestellt ist. Man macht sie von gleichem Durchmesser, aber lieber etwas höher als die Pergamentmembran.

Hier ist in beiden Versuchen, sowohl mit destilliertem Wasser wie mit  $\text{ClNa}$ -Lösung, nach 24 Stunden das Volumen sehr erheblich vermehrt.

Eiweiß ist in keinem der vier Versuche in die Außenflüssigkeit übergegangen.

#### 43. Übung.

### Die Kompensationsdialyse<sup>1)</sup>.

Wenn in einer kolloiden Flüssigkeit wie Blutserum oder Eisenhydroxyd ein diffusionsfähiger Stoff gelöst ist, könnte ein Teil desselben an das Kolloid gebunden sein. Es wird die Aufgabe gestellt, den freien Anteil dieses Stoffes festzustellen. Das Problem liegt z. B. vor bei Frage nach der Menge des freien Zuckers oder der freien  $\text{Ca}$ -Ionen im Serum. Diese Frage kann durch die Kompensationsdialyse gelöst werden. Man bestimmt in einer Probe Serum den gesamten Zucker, und an einer Reihe anderer Proben macht man folgende Versuche. Eine möglichst große Menge (50 ccm) Serum wird gegen eine möglichst kleine Menge einer Lösung von Zucker in 0,85 proz.  $\text{ClNa}$  bekannter Zuckerkonzentration dialysiert. Die Konzentration wird in verschiedenen Parallelversuchen variiert und diejenige Konzentration ermittelt, welche bei der Dialyse weder ab- noch zunimmt. Sie ist gleich der Konzentration des freien Zuckers im ursprünglichen Serum. Da die Methode viele chemische Analysen erfordert, sei sie an einem anderen Beispiel<sup>2)</sup> beschrieben, welches einigermaßen analog ist. Es soll untersucht werden, ob Heptylalkohol von kolloidalem Eisenhydroxyd adsorbiert wird.

In ein kleines, nach oben leicht konisch verjüngtes Becherglas werden 25 ccm kolloide Eisenhydroxydlösung (Liquor ferri oxychlorati dialysati duplex, Merck) eingefüllt. In eine kleine Dialysierhülse von SCHLEICHER und SCHÜLL werden 5 ccm einer gesättigten filtrierten Lösung von Heptylalkohol eingefüllt und die Dialysierhülse dann in die Eisenlösung eingesenkt. Das Becherglas wird mit einem paraffinierten Korken luftdicht verschlossen. Ein zweiter Versuch wird ebenso angesetzt, nur wird statt Eisenlösung destilliertes Wasser genommen. Nach 2—3 Tagen wird der Inhalt der beiden Dialysierhülsen stalagmometrisch untersucht. Es fanden sich z. B. in einem Versuch im Eisenversuch 116 Tropfen, im Kontrollversuch 116 Tropfen (Wasserwert der Tropfpipette 85 Tropfen). Eine Heptylalkohollösung, welche

<sup>1)</sup> MICHAELIS, L. und RONA, P.: Biochem. Zeitschr. 14, 476. 1908.

<sup>2)</sup> MICHAELIS, L. und RONA, P.: Kolloid-Zeitschr. 25, 225. 1919.

116 Tropfen gibt, hat nach Verdünnung mit 10proz. Wasser 114 Tropfen, mit 20proz. Wasser 111 Tropfen. Also ist von den in der kolloiden Lösung schwebenden Teilchen keine nachweisbare Menge Heptylalkohol adsorbiert worden; mit Bestimmtheit jedenfalls nicht 10 vH.

#### 44. Übung.

##### Osmose.

Wenn eine Lösung von dem reinen Lösungsmittel durch eine Membran getrennt ist, die für das Lösungsmittel durchgängig ist, für den gelösten Stoff nicht oder schwerer, so zieht die Lösung Wasser durch die Membran an. Membranen, welche vollkommen semipermeabel sind, wie Ferrozyankupfer, sind schwierig zu behandeln. Leichter kann man mit Kollodium arbeiten, welches allerdings nur in beschränktem Maße semipermeabel zu nennen ist. Bei einer wirklich semipermeablen Membran wird das Wasser bis zu einer gewissen Höhe angesogen, welche man den osmotischen Druck der Lösung nennt. Bei einer nur beschränkt semipermeablen Membran wie Kollodium<sup>1)</sup> stellt sich kein definitives Gleichgewicht in bezug auf den osmotischen Druck ein, sondern, weil schließlich auch der gelöste Stoff in seiner Konzentration sich ausgleicht, ist das endgültige Gleichgewicht die Einstellung auf gleiches Niveau. Aber der osmotische Wasserstrom ist gut zu beobachten und der Druck dieses Wasserstroms ist meßbar, wenn auch mit der Zeit veränderlich.

Man gieße einen kleinen Glaszylinder (breiten Meßzylinder von 25 ccm Inhalt) voll Kollodium, gieße das Kollodium zum größten Teil wieder aus und lasse das zurückbleibende Kollodium trocknen, indem man den Zylinder in horizontaler Lage ständig rollt. Dann gieße man noch eine Schicht Kollodium hinein und lasse in gleicher Weise nochmals trocknen. Wenn das Kollodium fest geworden ist, lasse man es eine Weile weiter trocknen. Dann kann man vorsichtig den gebildeten Kollodiumschlauch von der Glaswand ablösen und aus dem Glaszylinder herausziehen. Man wässert ihn noch einige Zeit, füllt ihn zur Hälfte mit destilliertem Wasser, trocknet ihn oben gut ab und setzt einen durchbohrten Gummistopfen auf. Durch die Bohrung geht ein breites Steigrohr von 1 mm Lichtung und 30 cm Länge mit einer Millimeterteilung (graduierte 1 ccm-Pipette) (Abb. 12).

<sup>1)</sup> In Anlehnung an LILLIE: *Americ. Journ. of physiol.* **20**, 127. 1907; SÖRENSEN, S. P. L.: *Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem.* **106**, 1. 1919; LOEB, JACQUES: *Journ. of gen. physiol.* **1** (mehrere Arbeiten). 1918.

Man klebe den Gummistopfen durch einen Ring von Kollodium luftdicht an. Am sichersten klebt der Stopfen luftdicht, wenn man ihn in den noch nicht mit Wasser in Berührung gekommenen Schlauch klebt und erst nachher wässert. Man blase nach dem Trocknen durch das Steigrohr vorsichtig einige Luftblasen in den Schlauch. Ist die Dichtung gut, so steigt danach das Wasser etwas in das Steigrohr und hält seinen Stand. Man befestige das Steigrohr mit einem Stativ und stelle den Kollodiumsack so auf, daß er in ein Gefäß mit destilliertem Wasser taucht. Das Niveau im Steigrohr fällt dann so langsam, daß man es auf längere Zeit als konstant betrachten oder wenigstens die Geschwindigkeit seines Abfalls in den späteren Versuchen als Korrektur anbringen kann.

Will man eine größere Reihe von Versuchen mit dem gleichen Kollodiumschlauch machen, so braucht man einen leicht abnehmbaren Verschluss, damit man den Kollodiumsack immer wieder brauchen kann. Am einfachsten nimmt man den Kollodiumschlauch mit eingeklebtem Gummistopfen und Steigrohr genau in der beschriebenen Anordnung. Wenn das Steigrohr zwar luftdicht, aber nicht zu fest in dem Stopfen steckt, kann man es leicht herausnehmen und durch das Loch im Stopfen vermittelt einer Pipette die alte Flüssigkeit herausziehen, mit Wasser in derselben Weise nachwaschen und die neue Lösung einfüllen. Solch ein Osmometer ist lange haltbar. Das Wichtigste ist eine gute Kollodiumsorte. Mit schlecht-elastischem Kollodium kann man nicht arbeiten<sup>1)</sup>.

Zunächst fülle man den Schlauch mit 10proz. Rohrzuckerlösung und setze ihn in destilliertes Wasser. Das Niveau im Steigrohr steigt dann mit großer Geschwindigkeit auf. Sodann wiederhole man diesen Versuch mit  $m/64$  (0,54 vH.) Rohrzucker-

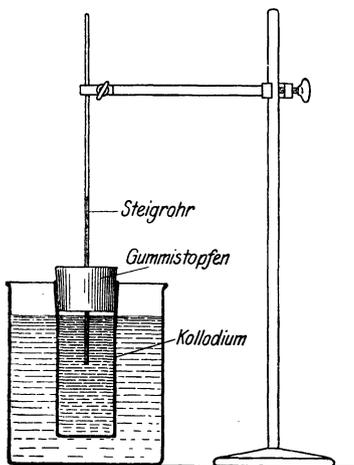


Abb. 12. Einfaches Osmometer aus Kollodium.

<sup>1)</sup> Brauchbares Kollodium liefert Chem. Fabrik auf Aktien (vorm. E. Schering), Berlin N. Man bezieht am besten die Lösung „Kollodium D.A.B.V.“ und verdünnt sie mit dem halben Volumen einer Mischung von gleichen Teilen absol. Alkohol und Äther.

lösung. In dieser Lösung ist eine Steigung infolge des stark verminderten osmotischen Druckes kaum mehr bemerkbar.

Wenn man Lösungen von Elektrolyten benutzt, so ändern sich diese Verhältnisse bedeutend und können nicht mehr aus den einfachen Gesetzen des osmotischen Druckes erklärt werden.

Die Strömungsgeschwindigkeit hängt von der Natur der Elektrolyten und von gewissen Vorbehandlungen des Kollodiums stark ab. Wir stellen den Kollodiumschlauch 24 Stunden in eine 1proz. wässrige Gelatinelösung und waschen die Gelatine mit warmem Wasser längere Zeit aus. Die Eigenschaften einer solchen Membran ersieht man aus folgenden Versuchen<sup>1)</sup>: Wir füllen den Kollodiumschlauch der Reihe nach mit folgenden Lösungen:

- |                    |  |
|--------------------|--|
| 1. m/64 Saccharose | 3. m/192 CaCl <sub>2</sub>                 |
| 2. m/128 NaCl      | 4. m/192 Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> . |

Diese 4 Lösungen haben den gleichen osmotischen Druck, aber im Kollodiumschlauch eine ganz verschiedene Osmosegeschwindigkeit. Es fanden sich z. B. in 10 Minuten folgende Niveauanstiege in mm:

1. Saccharose: Anstieg kaum merklich
2. NaCl: 11 mm in 10 Minuten
3. CaCl<sub>2</sub>: 22 mm in 10 Minuten (in 40 Minuten etwa 80 mm!)
4. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: 3 mm in 10 Minuten.

Es gibt sogar Lösungen, bei denen eine negative Osmose eintritt, d. h. wo das Wasser von der Salzlösung in das reine Wasser strömt. Für die gelatinierte Kollodiummembran kann man z. B. mit sehr verdünnten Lösungen von HCl oder AlCl<sub>3</sub> diese negative Osmose beobachten. Füllt man den Kollodiumschlauch innen mit reinem Wasser (also umgekehrt wie vorher) und setzt ihn in n/1000 HCl, so beobachtet man mit dem gleichen Osmometer einen Niveauanstieg von 5 mm in 10 Minuten. Bei höheren HCl-Konzentrationen wird die Osmose wieder positiv.

Wie man aus diesen letzten Bemerkungen über die hohe Wirksamkeit sehr kleiner HCl-Mengen sieht, ist die Größe und Richtung der Osmose bei einer gelatinierten Kollodiummembran stark von der *h* abhängig. Infolge der unsicheren Definition der *h* des destillierten Wassers, vielleicht auch infolge von Verunreinigungen mancher Gelatinearten mit irgendwelchen stark wirksamen dreiwertigen Ionen kommt es vor, daß die oben beschriebenen Versuche 2 bis 4 eine schwache negative Osmose statt der positiven zeigen. In einem solchen Fall braucht man die Außen- und Innenlösung nur mit einer Spur NaOH zu versetzen (bis zu einer Konzentration von höchstens  $\frac{1}{300}$  normal), um die Osmose in dem oben beschriebenen Sinne energisch umzukehren.

<sup>1)</sup> LOEB, JACQUES, l. c.

## 45. Übung.

**Diffusion durch eine ionensemipermeable Membran<sup>1)</sup>.**

Wenn man eine Kollodiummembran, ohne sie jemals mit Wasser in Berührung zu bringen, an der Luft liegen läßt, bis jede Spur Alkohol und Äther verdunstet ist, so wird ihre Durchlässigkeit erstens quantitativ geändert, indem sie im allgemeinen sehr viel undurchlässiger wird. Zweitens tritt auch eine qualitative Änderung der Durchlässigkeit ein, indem sie für alle Anionen völlig undurchgängig wird, während sie für Kationen, wenigstens für einwertige Kationen, durchlässig bleibt. Die Hülse wird zunächst in derselben Weise hergestellt wie früher, indem man ein nicht zu enges Glasgefäß mit Kollodium ausgießt. Es ist vorteilhaft, die Hülsen so dünn wie möglich zu machen, weil sonst die Diffusionsversuche zu viel Zeit erfordern. Man lasse die Kollodiumschicht an der Glaswand recht lange austrocknen, bis sie sich zum größten Teil von selbst abgehoben hat und sich vollständig mühelos mit einer Pinzette ablösen läßt. Berührung mit Wasser beim Ablösen der Hülse muß durchaus vermieden werden. Die abgelöste Hülse läßt man mindestens 1 Tag lang an der Luft weiter eintrocknen, wobei sie stark einschrumpft. In diese Hülse bringt man destilliertes Wasser mit einem Tropfen Methylorange und stellt sie in ein Gefäß mit 0,1 nHCl-Lösung. In dem Wasser tritt auch nach vielen Tagen keine saure Reaktion ein. In einem zweiten Versuch bringt man in das äußere Gefäß 0,1 nHCl, in das Kollodium 0,1 nKCl-Lösung mit einem Tropfen Methylorange. Hier beginnt oft schon nach 1 Tag und dann langsam aber stetig fortschreitend, eine Säuerung der KCl-Lösung.

HCl kann gegen reines Wasser nicht diffundieren, obwohl die H-Ionen die Membran passieren könnten, weil sie von den undurchgängigen Chlorionen elektrostatisch festgehalten werden. Statt dessen entsteht eine elektrische Potentialdifferenz, die in einer späteren Übung demonstriert werden soll. In dem Versuch mit HCl einerseits und KCl andererseits können sich dagegen die H- und die K-Ionen austauschen, ohne daß die Cl-Ionen sich zu bewegen brauchen.

Gegenüber Nichtelektrolyten verhält sich eine solche Hülse so, daß sie für eine Anzahl Stoffe, besonders von solchen mit kleinerem Molekulargewicht, wie Harnstoff, durchgängig ist, während sie größere Moleküle, wie Traubenzucker, absolut nicht

---

<sup>1)</sup> MICHAELIS und FUJITA: Biochem. Zeitschr. 161, 47 (1925).

hindurchläßt. Solche Versuche stellt man am besten an, indem man eine 0,1—1 n-Lösung des betreffenden Stoffes mehrere Tage lang gegen reines Wasser diffundieren läßt.

Manchmal haben die Kollodiumhülsen nicht völlig die verlangte Undurchlässigkeit für Anionen. Dann tritt auch in dem Versuch: „0,1 n HCl — destilliertes Wasser“ allmählich eine Säuerung des Wassers ein. In solchen Fällen kann man die Unzulänglichkeit der Membran auch daran erkennen, daß der in der 80. Übung demonstrierte elektromotorische Effekt zu klein ist. Eine solche Membran gibt dann für die Kette 0,1 mol. KCl — 0,01 mol. KCl nicht 45 bis 52 Millivolt, sondern z. B. nur 30 Millivolt.

#### 46. Übung.

##### Ultrafiltration.

Benutzt man eine für Kolloide undurchlässige Membran als Filter, so nennt man das ein Ultrafilter.

Das einfachste Ultrafilter kann man auf folgende Weise machen<sup>1)</sup>. Ein „Filterhütchen“ von SCHLEICHER und SCHÜLL oder auch einfach ein gewöhnlicher Filter wird in einen Trichter gut angelegt, mit warmem Wasser durchtränkt, das Wasser gut abgetropft und noch feucht mit Kollodium ausgegossen, das Kollodium wieder möglichst abgegossen und die hängenbleibende, ganz dünne Kollodiumschicht in horizontaler Lage des Trichterrohres bis zur vorläufigen Trocknung gedreht, dann mit der Spitze nach unten montiert, weitere 10 Minuten getrocknet, nochmals mit einer dünnen Kollodiumschicht ausgegossen und mit der Spitze nach oben 10 Minuten an der Luft getrocknet und 10 Minuten gewässert. Dieses Filter läßt in der Regel schon bei gewöhnlichem Druck Wasser durch; viel schneller, wenn man mit der Pumpe ansaugt. Da das Filter nicht luftdicht anliegt, erreicht die Pumpe nur einen sehr geringen negativen Druck, aber dieser genügt völlig. Die Dichtigkeit des Filters wird zunächst mit Mastixsol geprüft (Herstellung wie auf S. 12; man verdünnt, bis nur eine schwache Trübung bleibt). Je nach der Konzentration der angewendeten Kollodiumlösung sind die Filter mehr oder weniger durchlässig. Ein aus gewöhnlicher, aus der Apotheke bezogener 4proz. Kollodiumlösung hergestelltes Filter läßt aus 10fach mit destilliertem Wasser verdünntem Blutserum kaum eine Spur Eiweiß hindurch. Die Dichtigkeit prüft man<sup>1)</sup> mit Nachtblau, Kongorot und Kollargol. Dichte Filter lassen keinen der drei Stoffe durch, weniger dichte halten

<sup>1)</sup> OSTWALD, Wo.: Kolloid-Zeitschr. **22**, 143. 1918.

Nachtblau und Kongorot zurück, noch weniger dichte nur Nachtblau. Die Güte der Kollodiumsorte ist von großem Einfluß auf die Dichtigkeit.

Die Undurchlässigkeit eines Ultrafilters für disperse Teilchen und Moleküle beruht zweifellos zum Teil auf einem einfachen räumlichen Mißverhältnis zwischen den zurückgehaltenen Teilchen und der Porengröße des Filters. Man darf das aber nicht als den einzigen Faktor ansehen: Quecksilber läuft durch Poren eines gewöhnlichen Papierfilters oder durch eine enge kapillare Glasröhre nicht ohne weiteres durch, während es durch eine metallene Kapillare leicht durchfließt. Die Theorie der Ultrafiltration ist noch sehr unvollkommen.

Hiervon wird man sich durch folgenden einfachen Versuch überzeugen. Man filtriere eine sehr dünne Lösung von Kongorot durch ein Ultrafilter. Die Flüssigkeit läuft farblos durch, die Poren des Filters erscheinen „zu eng“ für die Moleküle oder Mizellen des Farbstoffes. Das Filter färbt sich dabei rot. Nun filtriere man durch dasselbe Filter etwas mit 0,85proz. CINA-Lösung verdünntes Blutserum. In der Regel geht eine Spur Eiweiß ins Filtrat, und dann reißt dieses Eiweiß das Kongorot mit, das Filtrat wird rosa. Man kann also Kongorot aus dem Filter mit Eiweiß auswaschen! Die Deutung ist wahrscheinlich folgende. Kollodium ist gegen die wässrige Lösung stark elektronegativ, Kongorotteilchen ebenfalls. Die elektrische Abstoßung verhindert den Durchtritt der Farbstoffteile durch die Poren. Sind die Poren mit dem Eiweiß überzogen, so können sie zwar nur enger, niemals weiter werden. Andererseits aber ist die Ladung der mit Eiweiß überzogenen Porenwände jetzt sehr gering, da die annähernd neutrale Lösung nicht gar sehr verschieden vom isoelektrischen Punkt des Eiweißes ist. Die elektrische Abstoßung wirkt daher nicht mehr so stark.

#### 47. Übung.

#### Gefrierpunktserniedrigung.

Der osmotische Druck echter Lösungen wird am häufigsten an der Siedepunktserhöhung oder Gefrierpunktserniedrigung gemessen, denen er proportional ist. Wir wollen die Gefrierpunktserniedrigungsmethode an einem Beispiel zeigen (NaCl oder Saccharose). Man benutzt den BECKMANNschen Apparat (Abb. 13). Dieser besteht aus einem äußeren, größeren Glasgefäß mit einem Deckel, der drei Bohrungen trägt. In der einen ganz kleinen steckt ein Rührer, die zweite trägt ein kleines Thermometer (nicht mitgezeichnet),

die größte, mittlere trägt ein zylindrisches Rohr und in diesem steckt, vermittelt eines durchbohrten Stopfens, ein engeres zylindrisches Gefäß, das eigentliche Reaktionsgefäß. Dasselbe ist oben mit einem doppelt durchbohrten Kork verschlossen. Durch die eine Bohrung geht das BECKMANNsche Thermometer, durch die andere der innere Rührer. Seitlich ist ein Stutzen angebracht.

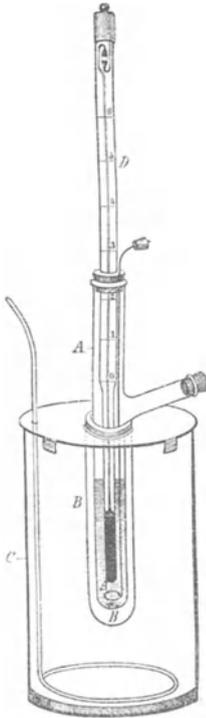


Abb. 13. Apparat zur Gefrierpunktbestimmung.

Das BECKMANNsche Thermometer ist ein Thermometer, dessen Skala etwa  $6^\circ$  umfaßt, an dem man die Hundertstel Grad ablesen und die Tausendstel schätzen kann. Es zeigt keine absoluten Temperaturwerte an, sondern die Menge des Quecksilbers kann so reguliert werden, daß der Quecksilberfaden bei dem jeweils benötigten Temperaturintervall in die Skala reicht. Die Einstellung auf das gewünschte Temperaturgebiet wird dadurch ermöglicht, daß oben ein Quecksilberreservoir angebracht ist, von dem man Quecksilber entnehmen kann. Man dreht das Thermometer um und bringt durch Anklopfen das Vorratsquecksilber an das obere Ende der Erweiterung, richtet das Thermometer vorsichtig auf und erwärmt es in warmem Wasser, bis der Quecksilberfaden sich mit dem Vorratsquecksilber vereinigt. Dann kühlt man es in einem Wasserbade ab, welches  $2-3^\circ$  wärmer als die gewünschte Temperatur ist (also für Gefrierpunktserniedrigung wäßriger Lösung etwa auf  $+2^\circ\text{C}$ ). Dann schüttelt man das überschüssige Quecksilber von dem Quecksilberfaden ab.

Das äußere, große Gefäß füllt man mit einer Mischung von Wasser, zerkleinertem Eis und etwas Salz und stellt es etwa  $5^\circ$  tiefer ein als den zu erwartenden Gefrierpunkt. Nun füllt man den innersten Zylinder so weit mit Wasser, daß die Quecksilberkugel des Thermometers reichlich überragt wird, und steckt den Zylinder, mit Thermometer und Rührer versehen, in die Kältemischung, entweder indem man den Deckel abnimmt oder auch durch eine eigens dazu angebrachte Bohrung des Deckels. Unter ständigem Auf- und Abziehen des ringförmigen Rührers läßt man nahezu bis auf die erwartete Gefriertemperatur abkühlen, zieht

den Zylinder heraus und setzt ihn in das mittlere Gefäß, wie in der Zeichnung. Unter regelmäßigem, langsamem Auf- und Abziehen des Rührers, ohne das Thermometer zu streifen, läßt man bis etwa  $0,5-2^{\circ}$  unter den erwarteten Gefrierpunkt abkühlen und bringt das Wasser dann plötzlich zum Gefrieren, entweder durch heftigeres Rühren oder, wenn das nicht zum Ziel führt, durch Einbringen eines kleinen Eiskristalls. Dieses bringt man auf das Ende eines dünnen Glasstäbchens, führt es durch den seitlichen Stutzen und streift das Kriställchen an dem erhobenen Rührer ab. Sobald man den Rührer in das Wasser zurückbringt, tritt Gefrierung ein, das Thermometer steigt plötzlich. Man rührt zunächst heftig. Dann setzt man in sehr regelmäßiger Weise die Rührung fort, etwa 1 Hub in der Sekunde, bis das Thermometer einen völlig konstanten Stand erreicht hat. Diesen Stand liest man mit der Lupe ab, unter Schätzung der Tausendstel Grade, und betrachtet ihn als den Gefrierpunkt des reinen Wassers. Man wiederhole diese Eichung einige Male.

Als Übungsbeispiel bestimme man nun den Gefrierpunkt einer Lösung von 6,84 g Rohrzucker in 100 g Wasser. Man fülle die Lösung genau so hoch in das Gefriergefäß wie vorher das Wasser ein. Die Gefrierpunktserniedrigung soll  $0,372^{\circ}$  betragen und muß innerhalb einiger Tausendstel Grade so gefunden werden. Man beachte dabei folgendes. Eine Rohrzuckerlösung hat nicht, wie reines Wasser, einen konstanten Gefrierpunkt. Da beim Frieren der Zucker nicht mit ausfriert, so konzentriert sich die Lösung während des Ausfrierens. Die obige Zahl gilt nur für die Bedingung, daß noch wenig Eis gefroren ist; die Lösung soll zwar eine deutliche Menge, aber nicht zu reichlich Eis enthalten, wenn man die Ablesung macht.

Das Molekulargewicht  $M$  des Rohrzuckers berechnet man nach der Gleichung:

$$M = E \cdot \frac{s}{\Delta L}.$$

$E$  ist eine Konstante, die von der Natur des Lösungsmittels abhängt und für Wasser 1,86 beträgt.  $s$  ist das Gewicht des gelösten Stoffes in Grammen,  $L$  das Gewicht des Lösungsmittels in Kilogrammen. (Ist eine zu reichliche Menge Eis ausgefroren, so mußte man die Menge dieses Eises hiervon abziehen.)  $\Delta$  ist die beobachtete Gefrierpunktserniedrigung.

Diese Lösung enthält  $\frac{1}{5}$  Mol Zucker auf 1 Liter Lösungsmittel. Harnstoff in gleicher molarer Konzentration (1,20 g + 100 g Wasser) würde dasselbe  $\Delta$  ergeben. Dagegen gibt NaCl

in gleicher molarer Konzentration (1,168 g + 100 g Wasser) fast eine doppelt so große (etwa 1,8 mal so große) Erniedrigung als Ausdruck dafür, daß etwa 90 vH. des Salzes elektrolytisch dissoziiert sind. So wenigstens nahm man es bis vor kurzem an. Heute nehmen wir an, daß NaCl total dissociiert ist, und daß die elektrischen Ladungen der Ionen einen Einfluß auf den osmotischen Druck und daher auch auf den Gefrierpunkt haben.

Die Gefrierpunktserniedrigung des Blutes beträgt  $0,58^\circ$ . Der osmotische Druck ist der Gefrierpunktserniedrigung  $\Delta$  proportional und beträgt für eine Lösung mit  $\Delta = 1^\circ$  bei  $18^\circ$  fast 12 Atmosphären. Ein so hoher Druck ist experimentell direkt nicht zu messen, weil es keine semipermeable Membran gibt, die bei diesem Druck nicht platzen würde. Ein  $\Delta$  von  $0,001^\circ$  bedeutet also einen osmotischen Druck von 120 cm Wasser. Die osmotischen Drucke von Kolloiden, die wir sogleich zeigen werden, betragen nur kleine Bruchteile hiervon. Es folgt daraus, daß die Gefrierpunktserniedrigungen, die Kolloide hervorrufen können, unmeßbar klein sein müssen.

#### 48. Übung.

#### Messung des osmotischen Drucks kolloider Lösungen<sup>1)</sup>.

Die direkte Messung des osmotischen Druckes einer kolloiden Lösung ist viel leichter als die einer echten Lösung, weil es viel leichter ist, für Kolloide semipermeable Membranen herzustellen als für gewöhnliche Lösungen. Die geeignete Membran ist das Kollodium. Wir benutzen sie in genau derselben Form, wie sie S. 96 beschrieben worden ist. Bei der Messung des osmotischen Druckes kommt es aber nicht auf eine Geschwindigkeitsmessung des Wasserstroms an, wie in den Versuchen über die Wasserosmose, sondern auf die definitiv erreichte Steighöhe, gemessen vom äußeren freien Flüssigkeitsspiegel. Man messe den osmotischen Druck einer 1proz. Lösung von reiner Gelatine in reinem Wasser. Die Lösung wird in das Osmometer eingefüllt. Völlige Ausfüllung derselben ist nicht unbedingt nötig. Außen steht reines Wasser. Das Steigrohr wird von einem Stativ gehalten, so daß der Kollodiumschlauch in das äußere Wasser nicht ganz bis an den Gummistopfen eintaucht. Im Winter lasse man das Ganze in der Nähe des Ofens stehen, weil in der Kälte die Lösung zähe wird. Man blase vorher den Schlauch ein wenig auf, daß

<sup>1)</sup> In Anlehnung an JACQUES LOEB und S. P. L. SÖRENSEN, zitiert unter „Osmose“.

die Lösung etwas in das Steigrohr gedrückt wird, um sich von der Dichtigkeit des Verschlusses zu überzeugen. Man überzeuge sich ferner, indem man den Kollodiumsack leicht hebt und senkt, daß das Niveau im Steigrohr frei spielt. Luftblasen im Steigrohr müssen vermieden werden. Nach 24 Stunden hat sich der definitive Stand eingestellt. Er beträgt etwa 20—50 mm über dem äußeren Wasserspiegel. Einen zweiten Versuch macht man mit angesäuerter Gelatinelösung (2proz. Gelatinelösung 50 ccm + 2 ccm nHCl + 48 ccm Wasser). Als Außenlösung benutzt man 1/50 nHCl. Hier beträgt der osmotische Druck mehr; etwa 70 mm. Der osmotische Druck eines Kolloids hängt also nicht allein von seiner Konzentration, sondern auch von dem Milieu ab. In der reinen Gelatinelösung herrscht nahezu die  $h$  des isoelektrischen Punktes der Gelatine ( $p_h$  gewöhnlich gegen 6; isoelektrischer Punkt der Gelatine bei  $p_h = 4,7$ ). Im isoelektrischen Punkt hat die Gelatine ein Minimum des osmotischen Druckes. In stark saurer (oder alkalischer) Lösung ist die Gelatine positiv (bzw. negativ) geladen, sie bildet Ionen, welche sich mehr der molekularen Dispersion nähern oder sie sogar ganz erreichen und daher einen größeren osmotischen Druck haben. Hierzu kommt als bedeutendes Moment hinzu, daß die positiven Gelatineteilchen negative Cl-Ionen elektrostatisch festhalten und daher impermeabel machen, so daß auch deren osmotischer Druck zur Geltung kommt. S. später: DONNANSches Gleichgewicht.

Statt Gelatinelösung kann man auch z. B. dreifach verdünntes Blutserum benutzen; als Verdünnungsflüssigkeit sowie als Außenflüssigkeit in einem Versuch 0,85proz. ClNa-Lösung; in einem zweiten destilliertes Wasser oder 1/50 nHCl; wiederum zeigt sich der osmotische Druck vom Milieu abhängig. Diese Abhängigkeit geht in vielen Beziehungen parallel dem Einfluß der verschiedenen Salze auf die Osmosegeschwindigkeit durch eine gelatinisierte Kollodiummembran (s. S. 98).

Blutserum, mit 0,85proz. ClNa-Lösung dreifach verdünnt, zeigt gegen 0,85proz. ClNa-Lösung einen osmotischen Druck von etwa 143 mm; bei 5facher Verdünnung etwa 75 mm. Die Werte sind nur als Anhaltspunkte zu betrachten; der osmotische Druck der Kolloide hängt in hohem Maße von der Salzkonzentration und der  $h$  der Lösung ab.

Alles das sind nur Demonstrationsversuche. Für wirklich messende Versuche sind kompliziertere Vorrichtungen zur Konstanterhaltung der Temperatur u. a. erforderlich.

### VIII. Quellung, Viskosität, Gallertbildung.

Das wasserbindende Vermögen eines molekulardispers löslichen Stoffes äußert sich darin, daß er bei Berührung mit Wasser spontan in Lösung geht und spontan, oder schneller beim Schütteln, sich über das ganze Volumen des Lösungsmittels ausbreitet. Bei einem spontanen Kolloid sind die Verhältnisse ganz ähnlich, nur ist erstens das Schütteln von noch größerer Wichtigkeit, weil die Spontandiffusion sehr träge ist, zweitens zeichnet sich die Kolloidlösung dadurch aus, daß die spontane Zerteilung in vielen Fällen nicht bis zur molekularen Feinheit fortschreitet, sondern nur bis zur Bildung von Aggregaten von Molekülen, den Mizellen, welche ultramikroskopisch oder mikroskopisch sichtbar sind. Einen Übergang zwischen diesen beiden Arten von Lösungen bilden diejenigen Substanzen, welche in Form von Doppel- (oder mehrfachen) Molekülen (Polymerisierung) in Lösung gehen. Wenn man sich über die Ursache der unvollkommenen Dispersion Rechenschaft geben will, so bleibt uns bei dem heutigen Stande unserer Kenntnisse nur folgende Annahme übrig. Die Löslichkeit ist der Ausdruck einer Affinität zum Wasser, außerdem besteht eine Affinität der Moleküle der zu lösenden Substanz untereinander. Bei kompliziert gebauten Molekülen kann nun der Fall eintreten, daß das eine Ende des Moleküls eine große Affinität zum Wasser hat (etwa eine COOH-Gruppe), während das andere Ende des Moleküls eine größere Affinität zu gleichen Molekülarten, als zum Wasser hat. Solche Moleküle sind gewissermaßen an ihrem einen Ende in Wasser löslich, am anderen Ende unlöslich. Auf diese Weise müssen Komplexe von Molekülen entstehen, welche eine gewisse Menge Wasser gebunden enthalten, d. h. mehr oder weniger hydratisiert sind, und selbst bei gleicher Zahl von Einzelmolekülen je nach dem Hydrationsgrad ein verschiedenes Volumen einnehmen können.

Hierbei sind wiederum zwei Fälle zu unterscheiden; entweder bleiben die Mizellen diskrete, im Wasser schwebende Teilchen, oder sie können, wenn sie zahlreich genug sind, unter Umständen zu Fäden, Netzen oder gar geschlossenen Waben verkleben. In letzterem Falle sind also die Mizellen zu einer zusammenhängenden Masse verklebt, und es ist das Lösungsmittel, welches die diskreten Tröpfchen bildet, während es sonst die kolloiden Teilchen sind. Ein solches System ist nicht mehr tropfbar flüssig, sondern bildet eine Gallerte. Die Festigkeit einer solchen Gallerte hängt von der Konsistenz des Wabenwerks ab. Die Gallerte wird um

so fester sein, je weniger *ceteris paribus* die Wabensubstanz hydratisiert ist. Außerdem stellt eine jede Wabe ein Analogon zu einem allseitig geschlossenen Kollodiumsack dar. Die Wabensubstanz entspricht dem Kollodium insofern, als sie für einfache Moleküle und Ionen durchlässig, für komplizierte Moleküle undurchlässig ist. Sollte daher im Innern der Waben ein Teil der kolloidbildenden Substanz in einem feiner dispersen oder gar in molekulardispersen Zustand vorhanden sein, so müßte der osmotische Druck dieser impermeablen Moleküle und der etwa von denselben elektrostatisch festgehaltenen einfachen Ionenarten sich ebenso äußern, als ob die Wand der Wabe ein Kollodiumsack wäre. Alsdann wird in das Innere der Waben so viel Wasser hineingesogen, bis die elastische Spannung der Wabenwand dem osmotischen Druck die Wage hält. Diese Vorstellungen gestatten uns, über die Abhängigkeit der Quellung eines Gels, über die Erstarrungsfähigkeit einer kolloiden Lösung zu einer Gallerte, über die Quellungsfähigkeit der Gallerte und über die Viskosität einer tropfbar flüssigen Kolloidlösung Rechenschaft zu geben. Alle Ionen haben ein hohes Wasserverbindungsvermögen. Infolgedessen müssen alle Einflüsse, welche die elektrische Ladung des Kolloidbildners, d. h. seine Ionisierung, erhöhen, eine stärkere Wasserverbindung zur Folge haben, die einzelnen Teilchen an auf Kosten des Wassers. Bildet das Kolloid diskrete Teilchen, so wird wegen der Raumbeschränkung des freien Wassers nach einem Gesetz von EINSTEIN die Viskosität erhöht. Bildet das Kolloid eine Gallerte, so wird durch die gleichen Einflüsse die Quellung erhöht. Steht die Konsistenz einer Kolloidlösung an der Grenze zwischen einer tropfbar flüssigen Lösung und einer Gallerte, so wird durch Erhöhung der Ionisation des Kolloidbildners der flüssige Zustand befördert, durch Verminderung der Ionisation wird die Gallertbildung begünstigt.

Auf die Ionisation des Kolloidbildners haben vor allem die in der Lösung vorhandenen Ionenarten einen Einfluß, und unter diesen sind von den im lebenden Organismus natürlicherweise vorkommenden Ionenarten wiederum die H- und OH-Ionen durch besondere Wirksamkeit ausgezeichnet. Ein charakteristischer Punkt ist stets der isoelektrische Punkt des Kolloids. Er muß nach dem erörterten Grundsatz für ein tropfbar flüssiges Kolloid ein Minimum der Viskosität, für eine Gallerte ein Maximum der Erstarrungsfähigkeit und ein Minimum der Quellung darstellen.

Die Wirkung der gelösten Ionenarten ist, wie in den früheren Fällen, bald unbedeutend, bald stärker; Einfluß hierauf hat

wieder zunächst, ob das betreffende Ion die entgegengesetzte Ladung hat wie das Kolloid oder die gleiche; ferner die Wertigkeit, die Stellung in der HOFMEISTERSchen Reihe, die „Adsorbierbarkeit“. Von den pharmakologisch wirksamen Ionen sind die meisten solche, welche stark adsorbierbar sind und daher in eine scharfe Konkurrenz mit den H<sup>-</sup>- und OH<sup>-</sup>-Ionen treten können. Außer den Ionen haben auch die oberflächenaktiven Nichtelektrolyte einen sehr merklichen Einfluß, dessen innere Natur noch der Erforschung bedarf. In den folgenden Versuchen wird überwiegend die Wirkung der H<sup>-</sup>- und OH<sup>-</sup>-Ionen demonstriert.

Steigert man die Azidität einer Gelatinelösung durch allmählichen Zusatz von HCl, so findet man bei sehr niederem HCl-Gehalt ein Quellungsminimum, entsprechend dem isoelektrischen Punkt. Da die hierzu erforderlichen HCl-Mengen sehr klein sind, findet man das Quellungsminimum leichter, wenn man nicht mit HCl, sondern mit Puffern ansäuert. Steigert man den HCl-Zusatz, so ionisiert die Gelatine immer stärker, quillt daher immer stärker, bis schließlich die antagonistische Wirkung der Cl-Ionen die Quellung wieder geringer macht. So gibt es ein Quellungsmaximum bei einer bestimmten HCl-Konzentration.

#### 49. Übung.

### Quellungsmaximum und -minimum der Gelatine.

Das Quellungsoptimum der Gelatine bei steigender HCl-Konzentration<sup>1)</sup>.

In eine Reihe von 10 Reagenzgläsern fülle man:

	Nr. 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
nHCl ccm	. . 16	8	4	—	—	—	—	—	—	—
0,1 nHCl ccm	. —	—	—	20	10	5	2,5	1,25	0,62	0,31
dest. Wasser	. 4	12	16	0	10	15	17,5	18,75	19,38	19,69

Nun schneide man aus einer mindestens 1 mm dicken Gelatineplatte<sup>2)</sup> 10 Streifen von möglichst genau gleicher Länge (etwa 5 cm) und etwa  $\frac{1}{2}$  cm Breite und bringe in jedes der Röhrchen einen Gelatinestreifen. Nach 24 Stunden beträgt die Länge dieser Streifen (wenn die Gelatineplatten nicht zu dünn waren und nicht in einzelne Stücke zerfallen sind):

Nr. 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
6,4	6,6	6,7	7,4	8,3	8,3	7,6	7,0	6,1	5,3 cm

1) In Anlehnung an CHIARI, Biochem. Zeitschr. **33**, 167. 1911.

2) Außiger Gelatine, Extraqualität; Aktienges. f. chem. Industrie, Außig.

Das Optimum der Quellung liegt also bei 0,05—0,025 nHCl-Lösung, d. h. bei  $p_h = 1,3$ — $1,6$  in der Außenlösung.

Im Gleichgewicht ist aber das  $p_h$  der Außenlösung nicht gleich dem  $p_h$  der Innenlösung (s. später, DONNANSches Gleichgewicht). Die Innenlösung, die Gelatine, hat im Falle des Quellungsmaximums und bei völlig reiner Gelatine ein genau reproduzierbares  $p_h = 3,2^1$ ).

Diesem Quellungsoptimum steht gegenüber ein Quellungsminimum, welches beim isoelektrischen Punkt der Gelatine liegt ( $p_h = 4,7$ ). Es empfiehlt sich für diesen Versuch, die Quellung der Gelatine durch Wägung zu bestimmen. Gelatinestücke von genau gleichem Gewicht (in unserem Versuch waren es 1,529 g) werden in etwa 100 ccm fassende Präparatengläschen gebracht und diese mit folgenden 5 Lösungen aufgefüllt.

	1	2	3	4	5
$\frac{n}{10}$ Na-Azetat	5	5	5	5	5
$\frac{n}{10}$ Essigsäure	0,31	1,25	5	20	80
Wasser	94,7	93,7	90	75	15

Nach 24 Stunden werden die Gelatinestücke herausgenommen, mit Filtrierpapier abgetrocknet und wieder gewogen. Es fand sich

	1	2	3	4	5
	11,0 g	8,9 g	7,9 g	8,3 g	15,7 g
$p_h$	5,8	5,2	4,6	4,0	3,4

Die zweite Zeile gibt das aus der Zusammensetzung des Gemisches berechnete  $p_h$ . Das Quellungsminimum entspricht also dem isoelektrischen Punkt (4,7).

Es ist hervorzuheben, daß das Quellungsmaximum bei  $p_h = 3,2$ , das Minimum bei  $p_h = 4,7$  liegt, also ein recht geringer Unterschied im  $p_h$ , welcher eine extreme Änderung des Zustandes der Gelatine bewirkt. An einem solchen Beispiel sieht man wiederum, daß es ganz unmöglich ist, über den Zusammenhang des Kolloidzustandes mit der Natur des Milieus etwas auszusagen, ohne aufs genaueste das  $p_h$  zu berücksichtigen.

<sup>1)</sup> LOEB, JACQUES: Proteins and The Theory of Colloidal Behavior. New York 1922.

## 50. Übung.

**Bestimmung der inneren Reibung (Viskosität) einer Lösung.**

Wenn eine Flüssigkeit durch eine Kapillare strömt, deren Wand sie gut benetzt, so bleibt bei der Strömung eine dünne Wasserlamelle an der Wand haften, ohne sich an der Strömung zu beteiligen. Die strömenden Schichten reiben sich daher gegen die adhärente Schicht. Die Reibung, welche die Bewegung des Wassers hemmt, ist daher eine Reibung von Wasserteilchen an Wasserteilchen und hängt nur von dem Reibungskoeffizienten des Wassers ab, während die Rolle der Glaswand nur darin besteht, die berührende Wasserschicht festzuhalten. Wenn die Verhältnisse so liegen, wird die Strömungsgeschwindigkeit durch das POISEUILLESche Gesetz vorgeschrieben: die ausfließende Flüssigkeitsmenge pro Sekunde beträgt

$$\frac{\pi \cdot \Delta p \cdot r^4}{8 \eta l}$$

( $\Delta p$  hydrostatische Druckdifferenz,  $r$  Radius der Kapillare,  $\eta$  Reibungskoeffizient des Wassers,  $l$  Länge der Kapillare.)

Für alle Flüssigkeiten, deren Strömung dem POISEUILLESchen Gesetz folgt, ist das Verhältnis der Strömungsgeschwindigkeiten in zwei Kapillaren von verschiedenem Radius dasselbe wie für Wasser. Ist das bei irgendeiner Flüssigkeit nicht der Fall, so ist das ein Beweis dafür, daß die Strömung nicht allein durch eine Reibung von Flüssigkeit gegen Flüssigkeit vorgeschrieben wird. In sehr dicken Gelatinelösungen kommt z. B. hinzu, daß die Mizellen der Gelatine selbst an der Wand kleben. Dann mißt das Viskosimeter nicht mehr die „innere Reibung des Lösungsmittels“. Auch wenn in dem Lösungsmittel Mizellen suspendiert sind, welche nicht an der Wand kleben, ändert sich die Durchflußzeit. Man kann sagen, daß die innere Reibung des Wassers durch die Gegenwart der Mizellen erhöht wird, und zwar ist nach EINSTEIN, wenn die Mizellen starre Kugeln sind, die Reibung

$$\eta = \eta_0 (1 + 2,5 v)$$

wo  $\eta_0$  die Reibung des reinen Lösungsmittels und  $v$  der Bruchteil des Volumens ist, den die Mizellen in der Flüssigkeit einnehmen. In einem solchen Fall bleibt aber das POISEUILLESche Gesetz bestehen.

Die innere Reibung einer Flüssigkeit wird am einfachsten mit dem Viskosimeter nach WILHELM OSTWALD bestimmt. Die

erhaltenen Werte sind relativ und werden auf die innere Reibung des Wassers = 1 bezogen. Da die Viskosität stark von der Temperatur abhängt, muß die Messung im Wasserbad ausgeführt werden. Das Viskosimeter (s. Abb. 14) muß stets mit der gleichen Menge Flüssigkeit gefüllt werden, welche für jedes Viskosimeter ausprobiert werden muß. Man fülle aus einer Pipette soviel Wasser in das (breitere) Rohr *d* ein, daß die Kugel *c* knapp gefüllt ist. Nun blase man von *d* aus die Flüssigkeit in den anderen Schenkel, bis sie die Marke 1 erreicht. Sie muß dann auf der anderen Seite noch gerade in die Kugel *c* reichen. Diejenige Flüssigkeitsmenge, die diese Bedingung erfüllt, ist die geeignete. Es sind in der Regel 5 ccm. Das wichtigste ist, daß das einmal gewählte Flüssigkeitsvolumen nunmehr stets inne gehalten wird. Die Zeit wird mit einer Stoppuhr gemessen, die  $\frac{1}{5}$  Sekunden anzeigt. Sobald das Flüssigkeitsniveau die obere Marke 1 passiert, wird die Uhr angelassen, sobald es die untere Marke 2 passiert, gestoppt. Dann wird die Flüssigkeit wieder in den anderen Schenkel herübergedrückt und die Bestimmung wiederholt, und dies fortgesetzt, bis die Werte konstant werden. Bei Gelatinelösungen muß man das ganz besonders berücksichtigen, weil die Viskosität bei Änderung der Temperatur erst ganz allmählich ihren endgültigen Wert annimmt.

Zunächst wird durch mehrere Versuche der Wert für reines Wasser bei der für den eigentlichen Versuch gewählten Temperatur,  $35^\circ$ , festgestellt.

Als Übungsbeispiel mache man folgende Reihen:

1. Der Einfluß der *h* auf die Viskosität der Gelatine. Es wird ein Viskosimeter gewählt, welches für reines Wasser eine Ausflußzeit von  $\frac{3}{4}$ —1 Minute zeigt, und diese Zeit auf  $\frac{1}{5}$  Sekunde genau festgestellt.

Man löse 3 g reiner Gelatine in 100 ccm destillierten Wassers unter Erwärmen und häufigem Umrühren. Je 10 ccm dieser noch warmen und leichtflüssigen Lösung werden mit 5 ccm einer gewissen Flüssigkeit verdünnt, und zwar

- |                    |                |
|--------------------|----------------|
| 1. 0,33 nHCl       | 7. 0,005 nNaOH |
| 2. 0,1 nHCl        | 8. 0,1 nNaOH   |
| 3. 0,02 nHCl       |                |
| 5. 0,01 nHCl       |                |
| 6. 0,001 nHCl      |                |
| 7. destill. Wasser |                |

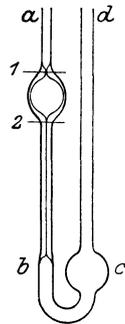


Abb. 14.  
Viskosimeter  
 $\frac{1}{6}$  natürl. Größe.

Von jeder Lösung wird die Viskosität bei  $35^\circ$  bestimmt, und jeder Versuch so oft wiederholt, bis er konstante Werte gibt (innerhalb  $\frac{2}{5}$ — $\frac{4}{5}$  Sekunden). Der Ausfall des Versuchs hängt von der Reinheit der Gelatine ab und ergibt z. B. folgendes:

Eichung mit destilliertem Wasser: 57,0 Sekunden.

Lösung	1.	120	Sekunden.
„	2.	144	„
„	3.	106	„
„	4.	103	„
„	5.	108	„
„	6.	108	„
„	7.	109	„
„	8.	139,8	„

Wir finden also ein Minimum der Viskosität in Lösung 4 und ein Maximum in Lösung 2.

Wenn man in allen Lösungen  $p_H$  bestimmt (Methode S. 45), so findet man, daß diese Lösung Nr. 4 dem isoelektrischen Punkt der Gelatine ( $p_H = 4,7$ ) am nächsten steht. Man findet aber ferner, daß  $p_H$  von Nr. 3—6 sich nur wenig ändert, etwa von  $p_H$  5 bis 4. Das liegt daran, daß hier nicht mit einem Regulator, sondern mit reiner HCl gearbeitet wurde, welche in so niederen Konzentrationen zum großen Teil von der Gelatine, und außerdem von etwa in geringfügiger Menge vorhandenen Aschebestandteilen, gebunden wird. Daher ist auch der Unterschied der Viskosität zwischen 4, 5 und 6 so gering. Röhrchen 2 ist viel saurer,  $p_H$  etwa 2,5, und Röhrchen 1 etwa  $p_H = 1,5$ .

Auch die Lauge erhöht die Viskosität etwas, aber weniger und ohne Erreichung eines Maximum.

2. Demonstration des Einflusses der Salze auf die Viskosität der Gelatine.

Der Einfluß der Salze auf die Viskosität ist bei isoelektrischer Gelatine sehr gering. Man wählt daher als Grundlösung am besten eine stark saure oder alkalische Lösung.

Man mischt 90,0 ccm 3proz. Gelatinelösung + 1,0 ccm n. HCl, dazu im ersten Versuch 9,0 ccm destilliertes Wasser, in einem zweiten Versuch 9,0 ccm 0,5 mol. NaCl-Lösung, das erste Röhrchen entspricht in seiner Zusammensetzung Nr. 2 der vorigen Versuchsreihe und zeigt eine Ausflußzeit von etwa 140'', das zweite Röhrchen zeigt gegen 105'', fast die gleiche Zeit wie isoelektrische Gelatine.

Bei Gegenwart von größeren Mengen Neutralsalzen ist somit die Viskosität der Gelatine von der  $h$  nur wenig abhängig.

Wendet man kleinere Mengen von Neutralsalzen an, so zeigt sich, daß die Wirksamkeit je nach der Natur des Salzes verschieden groß ist.

Man setze folgende Versuche an:

Man mischt 90,0 ccm 3proz. Gelatinelösung mit 1,0 ccm n. HCl und dazu im Versuch

1.	mit	9 ccm	$\frac{\text{mol.}}{20}$	NaCl:	Ausflußzeit	125''
2.	„	9	„	$\frac{\text{mol.}}{40}$	CaCl <sub>2</sub>	„ 125''
3.	„	9	„	$\frac{\text{mol.}}{40}$	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	„ 118''
4.	„	9	„	$\frac{\text{mol.}}{40}$	AlCl <sub>3</sub>	„ 125''
5.	„	9	„	dest.	Wasser	„ 139''

Aus diesen Versuchen können wir folgendes ersehen: Alle Salze vermindern die Viskosität der sauren Gelatine, d. h. nähern sie der Viskosität der isoelektrischen Gelatine. Aber bei gleichen Äquivalentkonzentrationen wirken die Salze verschieden. Die Gelatine hat in dieser sauren Lösung eine positive Ladung. Von Einfluß zeigen sich infolgedessen nur die negativen Ionen. Man sieht, daß das zweiwertige Sulfation in Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> viel stärker wirkt als das einwertige Chlor in NaCl. Die Kationen dagegen sind belanglos. Die drei Chloride NaCl, CaCl<sub>2</sub> und AlCl<sub>3</sub> sind trotz der verschiedenen Wertigkeit ihrer Kationen von gleicher Wirksamkeit, sobald sie an Chlor äquivalente Konzentrationen haben.

In alkalischer Gelatine würden umgekehrt NaCl und Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gleich wirksam sein, während CaCl<sub>2</sub> stärker wirksam wäre als NaCl.

#### 51. Übung.

### Erstarrungsoptimum und Trübungsoptimum der Gelatine bei variierter h.

Wir deuten, wie oben schon S. 106 bei dem Kapitel Quellung auseinandergesetzt wurde, die Gallerte als ein zweiphasiges System, bestehend aus einem kolloidreichen, wasserarmen Wabengerüst und einer wasserreichen Zwischenflüssigkeit, die das Kolloid in geringerer Konzentration und in feinerer oder sogar molekularer Dispersion gelöst enthält. Eine Gallerte unterscheidet sich demnach von einer tropfbar flüssigen Lösung eines hydrophilen Kolloids nur dadurch, daß die kolloidreichere, festere

Phase nicht von diskreten Teilchen, sondern aus einem zusammenhängenden Gerüstwerk gebildet wird. Die Erstarrung einer gallertbildenden Flüssigkeit beruht auf dem Verkleben der Teilchen zu einem Gerüst. Alle Einflüsse, welche bei einer einfachen hydrophilen kolloiden Lösung die Vermehrung der dispersen Phase auf Kosten der flüssigeren begünstigen, müssen daher bei einem gallertbildenden Kolloid die Neigung zur Gallertbildung erhöhen. Diese Einflüsse können wiederum von Ionen, insbesondere den H<sup>+</sup>-Ionen, ausgeübt werden. Wir beschränken uns darauf, den Einfluß der H<sup>+</sup>-Ionen auf die Gallertbildung zu demonstrieren.

Man vergegenwärtige sich vor allem die anfänglich paradox erscheinende Tatsache, daß in gleich konzentrierten Gelatine-lösungen je nach dem Gehalt an Stoffen, welche einen Einfluß auf den Dispersionszustand haben, das Minimum der Viskosität mit dem Maximum der Erstarrungsfähigkeit zusammenfällt. Das liegt daran, daß das Minimum der Viskosität (wenn sie bei einer so hohen Temperatur gemessen wird, daß kein Gerüst ausgebildet ist) uns den Minimumgehalt der flüssigen Phase an Kolloid anzeigt, das Maximum der Gallertbildung uns das Maximum des Kolloidgehalts der festeren Phase anzeigt. Jenes Minimum und dieses Maximum muß aber identisch sein.

Bei gleichem Gelatinegehalt erstarrt also eine Lösung bei tiefer Temperatur um so schneller, je geringer die Viskosität derselben Lösung im nicht erstarrten Zustand, bei etwas über dem Erstarrungspunkt gelegener Temperatur, ist.

Man setze in sieben Reagenzgläsern folgende Mischungen zusammen:

Röhrchen Nr.	1	2	3	4	5	6	7
$\frac{n}{10}$ Natriumazetat	1	1	1	1	1	1	1
$\frac{n}{10}$ Essigsäure	0	0,06	0,25	1	4	—	—
n. „	—	—	—	—	—	1,6	6,4
n. Natronlauge	0,05	—	—	—	—	—	—
Wasser	6,95	6,94	6,75	6	3	5,4	0,6
$p_h$ ungefähr etwa	8	5,6	5,0	4,6	4,0	3,4	2,8

In jedes Röhrchen gibt man dann 3 ccm einer durch Erwärmen verflüssigten Lösung von 10 g Gelatine + 100 ccm destillierten Wassers, bringt sämtliche Röhrchen für einige Minuten in ein Wasserbad von etwa 50°, dann wenige Minuten in

ein Wasserbad von Zimmertemperatur und stellt sie schließlich auf einem Reagenzglasgestell ins Zimmer oder in den Eisschrank. Von Zeit zu Zeit beobachtet man durch Neigen des Gestelles den Eintritt der Erstarrung. Bezeichnen wir als Erstarrungspunkt denjenigen Zeitpunkt, bei welchem beim Neigen kein Fließen mehr eintritt, so findet man je nach der Temperatur z. B. für

Röhrchen	1	2	3	4	5	6	7
Erstarrungszeit in Minuten:	19	17	16	14	19	25	sehr lange

Man kann durch nochmaliges Erwärmen und Wiederabkühlen den Versuch beliebig oft mit denselben Röhrchen wiederholen. Die schnellste Erstarrung tritt in Röhrchen 4 ( $p_H = 4,6$ ) ein, welches dem isoelektrischen Punkt der Gelatine (4,7) am meisten entspricht. Nach vollkommener Erstarrung der Gelatine bemerkt man ferner, daß in Röhrchen 4 (dem isoelektrischen Punkt der Gelatine) eine deutliche Opaleszenz wie in einem verdünnten Mastixsol eingetreten ist. In dem rechten und in 1 oder 2 linken Nachbarröhrchen ist allenfalls noch eine Andeutung davon, in den übrigen Röhrchen nichts derartiges zu sehen. Das zeugt von dem großen Lichtbrechungsunterschied der dispersen Phase gegen das Dispersionsmittel, also von der Wasserarmut (geringen Hydratation) der dispersen Phase, und von der Gelatinearmut des Dispersionsmittels im isoelektrischen Punkt. Dieses sehr wichtige Trübungsmaximum der Gelatine ist wiederum eine Erscheinung, die ohne Messung von  $p_H$  gar nicht verstanden werden kann, ja sogar früher ganz übersehen worden ist.

## IX. Elektrophorese und Elektroendosmose.

Ein in Wasser suspendiertes Teilchen hat im allgemeinen eine elektrische Ladung gegen das Wasser. Schwebt das Teilchen im Wasser frei, so wandert es, wenn man eine Potentialdifferenz anlegt<sup>1)</sup>, zum entgegengesetzt geladenen Pol. Wird das Teilchen aber mechanisch festgehalten, indem man eine große Menge solcher Teilchen zu einem den Querschnitt der Flüssigkeit versperrenden „Diaphragma“ zusammenpreßt, so wandert das Wasser durch die Poren dieses Diaphragma in umgekehrter Richtung.

<sup>1)</sup> Wenn man „einen elektrischen Strom hindurchschickt“: maßgeblich ist aber nur der Potentialabfall pro Zentimeter (die „Feldstärke“), nicht die Stromstärke.

Die Ladung der Teilchen erklärt man sich aus der Adsorption von Ionen; die adsorbierte Ionenschicht ist die innere Schicht der elektrischen Doppelschicht, die von ihr elektrostatisch gefesselte, aber nicht adsorbierte Schicht der entgegengesetzt geladenen Ionen ist die äußere Lage der Doppelschicht.

Über den Ladungssinn der Teilchen könnte man bis jetzt folgende Erfahrungen mitteilen: Haben die Teilchen chemisch den ausgesprochenen Charakter einer Säure (Kieselsäure, Harzsäuren), Base (Tonerde) oder eines Ampholyten (Eiweiß), so ist der Ladungssinn derselbe, wie er in ionisierter Form zu erwarten wäre: Säuren negativ, Basen positiv, Ampholyte je nach der h positiv oder negativ. Bei Teilchen, bei denen ein solcher Charakter nicht ausgeprägt ist (kolloidale Metallteilchen, Zellulose, Kollodium) findet man in der Regel negative Ladung; Blutkohle verhält sich wie ein Ampholyt, Zuckerkohle oder Retortenkohle wie eine Säure<sup>1)</sup>.

Jede negative Ladung wird durch Erhöhung der h in der Lösung und durch dreiwertige Kationen vermindert, oft schließlich umgekehrt. Jede positive Ladung wird durch Erhöhung der oh und durch stark aktive Anionen (Rhodanid usw.) vermindert und unter Umständen umgekehrt. Das häufigere Vorkommen ist die Negativität der Ladung.

Durch  $H^+$  oder  $Al^{+++}$  nur vermindert, aber niemals umgekehrt wird die negative Ladung bei Zellulose, Agar. Nur durch  $Al^{+++}$ , nicht durch  $H^+$  wird die Ladung umgekehrt bei Kaolin, Goldsol. Sowohl durch  $H^+$  wie durch  $Al^{+++}$  wird die negative Ladung umgekehrt bei den amphoterer Stoffen, wie Eiweiß, und bei Blutkohle.

Die eiweißartigen Substanzen gehören alle zu den umladbaren Ampholyten.

## 52. Übung.

### Die elektrische Kataphorese des Hämoglobin<sup>2)</sup>.

Benutzt wird der nebenstehende Apparat, der nach dem Prinzip von LANDSTEINER und PAULI unter wesentlicher Modifikation bezüglich der zu- und ableitenden Elektrode konstruiert ist. Die Räume 2 und 4 werden mit der „Seitenflüssigkeit“, der Raum 3 mit der „Mittelflüssigkeit“ gefüllt. Zuerst sei die Herstellung dieser Flüssigkeiten beschrieben.

<sup>1)</sup> BETHE und TOROPOFF: Zeitschr. f. physikal. Chem. 88, 686. 1914 und 89, 597. 1915. GYEMANT: Kolloid-Zeitschr. 28, 103. 1921. UMETSU: Biochem. Zeitschr. 1922.

<sup>2)</sup> MICHAELIS, L. und DAVIDSOHN, H.: Biochem. Zeitschr. 41, 102. 1912.

## 1. Herstellung der Mittelflüssigkeit.

5 ccm defibriertes Blut (vom Hammel, Pferd, Rind, Kaninchen oder Menschen) werden mit 100 ccm 0,85proz. NaCl-Lösung verdünnt und scharf zentrifugiert. Die NaCl-Lösung wird möglichst vollständig abgossen und die sedimentierten Blutkörperchen in 100 ccm destillierten Wassers gelöst. Durch die Auswaschung und die Verdünnung soll bewirkt werden, daß die Wirkung des später angefügten H<sup>+</sup>-Regulators durch die eigene Pufferung der Blutflüssigkeit möglichst wenig modifiziert wird.

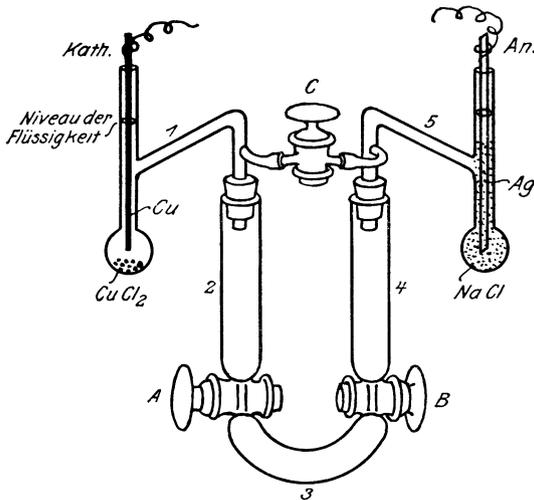


Abb. 15. Apparat für elektrische Kataphorese.  
 $\frac{3}{10}$  natür. Größe.

30 ccm dieser Lösung werden mit 3 ccm m/3 primären Natriumphosphats und 0,2 ccm m/3 sekundären Natriumphosphats (Herstellung desselben siehe S. 86) versetzt. Zum Schluß löse man etwa 0,5 g Zucker darin auf, um das spezifische Gewicht ein wenig zu erhöhen.

## 2. Herstellung der Seitenflüssigkeit.

Sie ist genau die gleiche Lösung, aber ohne Blut (und ohne den Zucker). 90 ccm destilliertes Wasser werden mit 9,0 ccm m/3 primärem Natriumphosphat und 0,6 ccm m/3 sekundärem Natriumphosphat versetzt.

An einer Probe von 10 ccm dieser Lösung mache man zunächst eine Bestimmung von  $p_H$  nach der Methode S. 45. Man wird

ungefähr finden  $p_H = 5,5$ . Anzuwendender Indikator: p-Nitrophenol.

Nun werden die Aufsätze mit ihren Gummistopfen abgenommen, die Glashähne A und B sorgfältig getrocknet und gefettet, und die Mittelflüssigkeit bei geöffneten Hähnen A und B so weit eingefüllt, daß der Raum 3, die Glashahnwege A und B und noch eine kleine Strecke beiderseits darüber gefüllt wird. Man wartet, bis etwa sich bildende Luftbläschen aufgestiegen sind, schließt die Hähne A und B, wäscht die Räume 2 und 4 erst einige Male mit Wasser, dann mit etwas „Seitenflüssigkeit“ aus und füllt diese beiden Räume mit Seitenflüssigkeit und befestigt den Apparat provisorisch an einer Stativklammer in der durch die Zeichnung angegebenen Lage. Jetzt werden die „Aufsätze“ mit ihren Gummistopfen aufgesetzt, so daß keine Luftblase bleibt. Nun fülle man mit einer 5 oder 10 cm fassenden Pipette die Aufsätze mit der Seitenflüssigkeit und Sorge durch geeignetes Kippen des Apparates dafür, daß nirgendwo eine Luftblase bleibt. Der Flüssigkeitsspiegel muß etwa so hoch stehen, wie in der Zeichnung angegeben. Der Apparat wird jetzt definitiv an dem Stativ befestigt und vorläufig Hahn C geschlossen.

Jetzt werden die Vorrichtungen zur Depolarisation getroffen. In den Aufsatz, der zur Anode werden soll, schüttet man von oben etwa 1 g KCl oder NaCl ein und sorgt durch sanftes Auf- und Abfahren mit einem Draht dafür, daß das Salz nicht ganz am Boden bleibt, sondern daß ein wenig auch in dem oberen Teil des Aufsatzes gelöst wird. Dann fügt man in den anderen Aufsatz etwa 0,2 g  $\text{CuCl}_2$ . Dieses soll ganz auf den Boden fallen. In die mit KCl beschickte Aufsatzöffnung steckt man ein langes Streifen blankes Silberblech, in die andere einen Kupferdraht, welcher sorgfältig bis auf das blank gelassene unterste Ende paraffiniert ist, damit der Strom nur ganz unten, wo sicher gelöstes Cu-Salz sich befindet, austreten kann. (Die Isolation der käuflichen isolierten Drähte genügt nicht.) Das Silberblech wird mit positivem (Lackmus bläuenden) Pol eines Gleichstroms von 110 oder 220 Volt verbunden; dieser Strom bleibt aber vorläufig an irgendeiner Stelle außerhalb des Apparates geöffnet. Eine Glühlampe wird zweckmäßig in den Stromkreis als Sicherung eingeschaltet.

Der Hahn C wird jetzt geöffnet, damit die beiden Flüssigkeitssäulen sich auf gleiches Niveau einstellen. Ist das geschehen, so wird der Hahn wieder geschlossen, ohne sonst die Stellung des Apparates zu verändern. Jetzt werden die Hähne A und B geöffnet. Man überzeuge sich durch 5 Minuten langes Beobachten, daß 1. die Grenze zwischen der Hämoglobinlösung und

der farblosen Lösung beiderseits scharf bleibt und nicht verschoben wird, 2. daß die Hähne A und B nach außen gut schließen und kein Tropfen Wasser durch sie nach außen tropft. Ist das alles besorgt, so wird schließlich der Strom geschlossen. Nach 30 Minuten sieht man, daß die ganze Hämoglobinsäule einige Millimeter zur Kathode verschoben ist: die durchaus scharf bleibende Grenzfläche zwischen roter und farbloser Flüssigkeit fällt auf der Silberblechseite und steigt auf der Kupferdrahtseite.

Bildet das Hämoglobin Streifen und Schlieren, so beruht das stets auf nicht elektrisch verursachten Strömungen durch Erschütterungen oder Wärmeströmungen. Der Zusatz des Zuckers zur Mittelflüssigkeit setzt die Empfindlichkeit gegen solche Strömungen bedeutend herab.

Hat man sich von der Wanderungsrichtung genügend überzeugt, so öffne man den Strom, schließe die Hähne A und B, dann C, ziehe die Elektroden heraus und nehme erst den Kupfer-, dann den Silberaufsatz einzeln heraus. Man verschließt dazu mit dem Finger die äußere Öffnung und lüftet dann die Gummistopfen rasch, so daß nichts von dem Inhalt der Aufsätze in die Räume 2 bzw. 4 fließt. Nun entleert man getrennt den Raum 2 und 4 mit einer Pipette, ohne Hämoglobin mitzubekommen, und prüft auf dieselbe Weise wie zu Anfang, ob  $p_H$  gleich geblieben ist. Dies muß wenigstens angenähert (innerhalb eines Spielraums von höchstens  $\pm 0,1$ ) der Fall sein.

(Wenn man die  $p_H$ -Messung mit der elektrometrischen Methode ausführt, kann man zu Beginn und zum Schluß des Versuchs nicht nur die Seitenflüssigkeit, sondern auch die gefärbte Mittelflüssigkeit messen.)

Resultat: bei  $p_H = 6$  wandert Hämoglobin zur Kathode, oder es ist positiv geladen.

Benutzt man eine Lösung mit  $p_H =$  etwa 8, so wandert Hämoglobin zur Anode. Dafür würde sich empfehlen:

Mittelflüssigkeit: 30 ccm verdünntes Blut (wie oben, 20- bis 40fach mit destilliertem Wasser verdünnt), + 0,1 ccm m/3 prim. Phosphat + 3,0 ccm m/3 sekund. Phosphat + 0,5 g Zucker.

Seitenflüssigkeit: 90 ccm destilliertes Wasser + 0,3 ccm m/3 prim. Phosphat + 9,0 ccm m/3 sekund. Phosphat.  $p_H$  etwas  $> 8$ .

Der isoelektrische Punkt, an dem gar keine Wanderung eintritt, liegt bei  $p_H = 6,8$ .

Hat man von dem Versuch S. 68 noch etwas denaturiertes Albumin, so kann man die Versuche auch mit diesem machen. Man sieht hier die trübe Flüssigkeit sich ebenso verschieben wie

die Hämoglobinlösung. Geeignete Zusammensetzung der Lösungen

für anodische Wanderung:	Mitte	Seite
norm. Natriumazetat ccm . . . . .	0,5	1,5
0,1 norm. Essigsäure . . . . .	0,5	1,5
verdünntes Eiweiß . . . . .	30,0	Wasser 90,0
für kathodische Wanderung:		
0,1 norm. Natriumazetat . . . . .	0,2	0,6
norm. Essigsäure . . . . .	1,0	3,0
verdünntes Eiweiß . . . . .	30,0	Wasser 90,0.

### 53. Übung.

#### Die quantitative Bestimmung der kataphoretischen Geschwindigkeit.

Der in der vorigen Übung beschriebene Apparat kann nur als Nullinstrument benutzt werden, d. h. zur Feststellung desjenigen  $p_h$ , bei dem die Wanderungsrichtung soeben umkehrt;

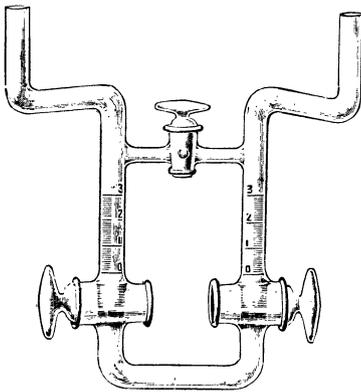


Abb. 16.

er genügt nicht, um die absolute Größe der Wanderungsgeschwindigkeit unter der Kraftwirkung eines gegebenen elektrischen Feldes zu messen, denn da infolge der verschiedenen Weiten des Stromweges (Glashähne, seitliche Aufsätze) das Feld nicht homogen ist, kann man den Spannungsabfall pro cm, das Maß der Feldstärke, nicht berechnen. Dies kann man mit dem in Abb. 16 abgebildeten Apparat, welcher übrigens ebenso gut als einfaches Nullinstrument benutzt werden kann. Das Glasrohr hat überall,

auch in den Hahnbohrungen, die gleiche Weite. Zur Stromzuführung werden nicht direkt metallische Elektroden benutzt, sondern U-förmig gebogene Glasrohre, welche mit einer Gallerte aus KCl-Agar gefüllt werden. (3 g Agar werden mit 100 g Agar verkocht und 10 g KCl aufgelöst.) Jedes der beiden Glasrohre taucht mit seinem einen Schenkel in die Enden des Überführungsrohres, mit dem anderen Schenkel in eine Flasche mit 10proz.  $\text{CuSO}_4$ -Lösung, in welcher spiralförmig gewickelte, blanke Kupfer-

drähte als Elektroden stecken. Die Glasrohre werden mit einem Stativ derartig befestigt, daß ihre Enden bis zu dem spitzwinkligen Knick des Überführungsrohres herunterragen. Diese Glasrohre sollen nicht überflüssig lang sein. Die Weite des Glasrohres muß so beschaffen sein, daß zwischen ihm und dem Rande des Überführungsrohres nicht ein bloß kapillarer Raum, sondern genügend Spielraum bleibt und ein gut definiertes oberes Niveau des Wasserstandes sich ausbildet, andererseits darf es nicht überflüssig eng sein, um den Widerstand nicht unnötig zu erhöhen, denn die Berechnung des Stromfeldes beruht auf der Annahme, daß der Widerstand der Agarzuleitung verschwindend klein ist gegenüber dem Widerstand des Überführungsrohres. Nur die äußerste Spitze des Agarrohres, welche in den spitzwinkligen Teil des Abführungsrohres hineinragt, darf etwas enger ausgezogen werden.

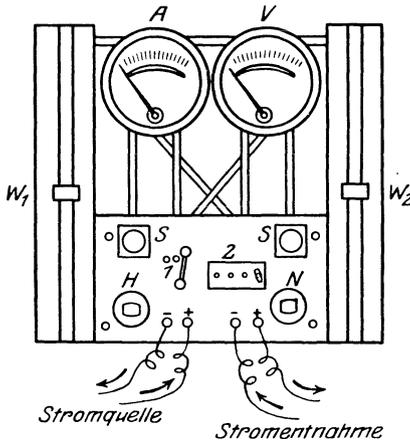


Abb. 17. Schematische Ansicht einer einfachen Schalttafel. Der Strom der Elektrizitätsquelle (Gleichstrom von 110 oder 220 Volt) wird zu den gezeichneten 2 Polklemmen geführt. Der in den Überführungsapparat zu schickende Strom wird aus zwei anderen Polklemmen abgenommen.  $W_1$  und  $W_2$  sind regulierbare Gleitwiderstände, ein gröberer und ein feinerer.  $A$  Amperemeter,  $V$  Voltmeter, beide mit drei Meßbereichen; das Amperemeter genau ablesbar zwischen 3 und 0,001 Ampère; das Voltmeter ablesbar zwischen 220 und 0,001 Volt. 1 Umstellvorrichtung für die verschiedenen Meßbereiche des Amperemeters, 2 ebensolche für das Voltmeter.  $SS$  Sicherungen.  $H$  Einschalter für den Strom.  $N$  Einschaltung für Stromentnahme durch Nebenschluß.

Die beiden Seitengefäße sind mit einer Millimeterteilung versehen, welche so weit um den Umfang des Glases herumgeführt ist, daß eine parallaxefreie Ablesung möglich ist. Als Versuchs-

beispiel kann man eine kolloidale Mastixlösung wählen, welche wie in Übung 4 hergestellt wird; man mache eine kräftig getriebte, fast milchige Lösung. Um sie spezifisch schwerer zu machen, fügt man etwa 1 vH. Zucker hinzu, außerdem gibt man z. B.  $\frac{1}{20}$  Volumen einer Phosphatmischung „8“ hinzu. Als Seitenlösung benutzt man ebenfalls eine 20fach verdünnte Phosphatmischung „8“, aber ohne Zucker und ohne Mastix. Der Zusatz der Phosphate dient dazu, erstens das  $p_h$  genau zu definieren, denn vom  $p_h$  hängt die Wanderungsgeschwindigkeit ab; zweitens die Leitfähigkeit der Mittel- und Seitenflüssigkeit gleich und daher das elektrische Feld homogen zu machen. Ohne Salzzusatz würde die Leitfähigkeit der Lösung nur von den spurweise vorhandenen Verunreinigungen abhängen, welche wahrscheinlich in der Mittelflüssigkeit und in der Seitenflüssigkeit verschieden sein werden. Im übrigen ist das Verfahren wie das der vorigen Übung. Sobald bei der Kataphorese das Niveau der Mastixsäule den Nullpunkt der Graduierung erreicht hat, notiert man die Zeit und mißt von nun an die Geschwindigkeit der Bewegung. Die Stärke des elektrischen Feldes wird bestimmt, indem man die angelegte äußere Spannung durch die Länge des Stromweges von einer Agarspitze zur anderen durch den ganzen Apparat hindurch, ausgedrückt in Zentimetern, dividiert.

Die Regulierung der äußeren Spannung geschieht zweckmäßig durch eine Schalttafel, mit der man von der Lichtleitung beliebige Spannung abnehmen kann. Empfehlenswert sind 50, 100 oder 200 Volt. Von der Schalttafel wird der Strom über einen Stromwender (Wippe) in den Überführungsapparat geführt.

Dieser Überführungsapparat hat auch den Vorteil, daß seine Depolarisationsvorrichtung symmetrisch funktioniert. Man darf während der Beobachtung durch Stromwendung den Vorgang umkehren, während bei dem vorigen Apparat (52. Übung) die Stromrichtung vorgeschrieben ist.

Es fand sich in einem solchen Versuch folgendes: Länge des Stromweges zwischen den Agarspitzen 32 cm: angelegte äußere Spannung 100 Volt, Stärke des Stromfeldes daher 3,2 Volt/cm. Etwa 8 Minuten nach Stromschluß passiert das scharfe Niveau des Mastix den Nullpunkt der Graduierung. Nunmehr steigt das Niveau in je 2 Minuten um 1,0 mm; also umgerechnet auf eine Feldstärke von 1 Volt/cm pro Minute um 0,157 cm, oder pro Sekunde um  $2,62 \cdot 10^{-3}$  cm. Man überzeuge sich, daß bei Verdoppelung der angelegten Spannung, also auf 200 Volt, die Geschwindigkeit verdoppelt wird, oder bei Halbierung der Spannung halbiert wird, ferner daß bei Wendung des Stromes die

Geschwindigkeit in umgekehrter Richtung, aber von derselben Größe ist. Bei allen diesen Manipulationen muß wenigstens für längere Zeit eine scharfe Grenzfläche zwischen der Mastixlösung und der klaren Flüssigkeit bestehen bleiben.

#### 54. Übung.

### Elektrische Kataphorese von roten Blutkörperchen bei Beobachtung im Mikroskop<sup>1)</sup>.

Zur fehlerfreien Beobachtung der Elektrokataphorese im mikroskopischen Präparat bedarf es einer zweckmäßig hergestellten Kammer. Wenn man einfach einen Tropfen der Suspension zwischen Objektträger und Deckglas ausbreitet und in dieser kapillaren Schicht die Kataphorese beobachtet, so erhält man trügerische Resultate, die man sofort verstehen wird, wenn man sich die Theorie dieser Erscheinung klar macht. Diese ist nämlich folgende: Legt man an die beiden Enden einer mikroskopischen Kammer eine elektrische Spannung an, so tritt erstens eine Bewegung der suspendierten Teilchen gegen die Flüssigkeit ein: die eigentliche elektrische Kataphorese, welche man beobachten will. Außerdem aber wird die Grenzschicht der Flüssigkeit gegen die obere und die untere Wand der Kammer verschoben, weil Wasser in Berührung mit der Glaswand eine elektrische Ladung annimmt, in der Regel eine positive Ladung. Denken wir uns zunächst die Kammer geschlossen, so hat diese Verschiebung der obersten und der untersten Wasserlamelle zur Folge, daß das Wasser in der Mittelschicht zurückströmen muß, um auszuweichen. Denken wir uns das Wasser in der Kammer in zahlreiche dünne horizontale Lamellen zerlegt, so strömt also die oberste und die unterste Lamelle unter der Wirkung einer angelegten Spannung zur Kathode, die mittelste Lamelle zur Anode. Die dazwischen liegenden Lamellen zeigen alle Übergänge dieser Bewegungen. Die kathodische Geschwindigkeit nimmt daher von oben her mit zunehmender Tiefe der Schicht ab, ist in einer bestimmten Kammertiefe gleich 0, kehrt weiterhin um, hat in der mittelsten Schicht den größten Betrag in anodischer Richtung, und in der unteren Hälfte der Kammer wiederholt sich dieses symmetrisch. Diese Strömung des Wassers addiert sich zu der kataphoretischen Bewegung der suspendierten Teilchen, und nur in denjenigen Schichten beobachtet man die kataphoretische Bewegung der suspendierten Teilchen in reiner

<sup>1)</sup> In Anlehnung an HÖBER, R.: Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **101**, 607. 1904 vereinfacht und modifiziert.

Form, in welchen die Wasserströmung gleich 0 ist. Nach v. SMOLUCHOWSKI<sup>1)</sup> herrscht in denjenigen beiden Schichten keine Wasserströmung, welche von der oberen Kammerwand die Entfernung  $d \left( \frac{1}{2} \pm \sqrt{\frac{1}{12}} \right)$  haben, wo  $d$  die ganze Tiefe der Kammerschicht bedeutet, d. h. also rund in der Schicht  $\frac{1}{5} d$  und  $\frac{4}{5} d$ .

Zu exakten Beobachtungen der Kataphorese ist es daher erforderlich, daß die suspendierten Teilchen während der Beobachtung sich nicht wesentlich sedimentieren, weil sie dabei ihre Schichthöhe verändern. Dies ist bei Blutkörperchen kaum

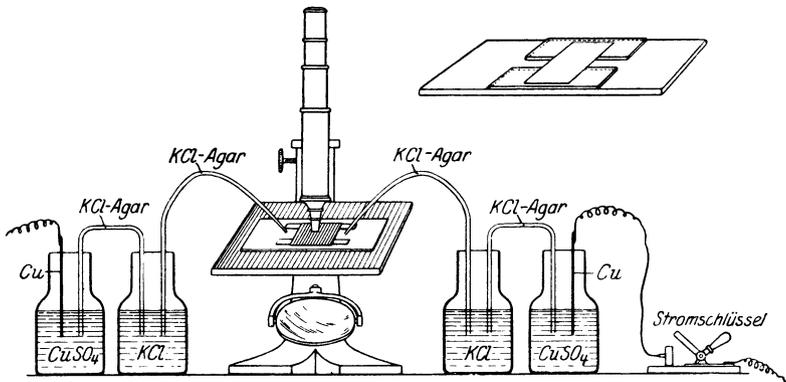


Abb. 18. Elektrische Kataphorese. Rechts oben die mikroskopische Kammer allein.

zu erreichen, die Beobachtungen sind hier daher im wesentlichen qualitativer Natur. Ein günstigeres Objekt sind Bakterien, z. B. Staphylokokken, an denen man die Umkehr der Bewegung von den Rändern der Kammer nach der Mitte zu recht gut beobachten kann.

Die Kammer stellt man sich am einfachsten folgendermaßen her: auf einen Objektträger werden, wie in Abb. 18, oben, zwei Leisten aus nicht zu dünnen Deckglasstreifen (0,1—0,2 mm dick) mit Kanadabalsam (oder recht gut auch mit Paraffin) aufgekittet, nach mehrtägigem Trocknen vom überflüssigen Balsam befreit, die zu untersuchende Suspension in die Kammer eingefüllt und die Mitte der Kammer durch ein Deckglas bedeckt. Die Flüssig-

<sup>1)</sup> In GRÄTZ: Handbuch der Elektrizität 2. 1912; unveränderter Abdruck in der 2. Auflage 1920.

keit muß sich also über den vom Deckglas bedeckten Raum nach beiden Seiten noch fortsetzen.

In diese überragenden Flüssigkeitstropfen wird rechts und links die Elektrode eingetaucht. Diese besteht aus einem passend gebogenen Glasrohr, welches an einem Ende in eine feine Spitze ausgezogen ist. Es ist mit einer Lösung von 10 vH. NaCl oder KCl in 3proz. Agar gefüllt. Das andere Ende dieses Agarrohrs taucht in eine Flasche mit ebenso starker oder gesättigter Salzlösung. In diese Salzlösung tauchen die metallischen Elektroden ein, die mit den Polen eines Gleichstroms von 100 Volt verbunden werden. Die Stromleitung ist durch einen Stromschlüssel vorläufig unterbrochen, der in der Nähe des Mikroskops steht.

Für kurzdauernde Einzelversuche kann man als Elektrode einfach Kupferdrähte benutzen. Für länger dauernde Versuchsreihen ist folgende Anordnung zu empfehlen. Der Agarheber taucht wie vorher in die Salzlösung; diese ist durch einen zweiten Glasheber, der wiederum mit KCl-Agar gefüllt ist, mit einer zweiten Flasche verbunden, die mit 10proz. Lösung von  $\text{CuSO}_4$  gefüllt ist, und in diese erst tauchen die Kupferdrähte.

Als Versuchsobjekt nimmt man eine 50fache Verdünnung irgendeines defibrinierten Blutes in 0.85 vH. NaCl-Lösung oder eine recht dünne Aufschwemmung von Staphylokokken in Wasser.

Man beobachtet im Mikroskop, bis das Strömen der Blutkörperchen aufgehört hat, am besten mit einem Fadenkreuz- oder Mikrometerokular. Jetzt wird der Strom geschlossen. Diejenigen Blutkörperchen, welche sich in der mittleren Tiefe der Kammer befinden, strömen dann energisch zur Anode. Wendet man den Strom, so ändert sich auch die Strömungsrichtung, immer zur Anode hin.

Besonders bei Bakterien kann man beobachten, daß die oberste und unterste Schicht sich in umgekehrter Richtung wie die mittlere Schicht bewegt. Maßgeblich für die wahre Kataphorese ist die mit der Mikrometerschraube aufzusuchende Schichttiefe 0,2 d und 0,8 d. Insbesondere bei Blutkörperchen ist die Beobachtung der allerobersten Schicht deshalb unmöglich, weil die Körperchen zu schnell sedimentieren, und die Beobachtung der untersten Schicht ist ebenfalls unmöglich, weil die Blutkörperchen an ihr ankleben. Immerhin aber ist die Beobachtung der geforderten Schichten noch möglich, und rein qualitativ kann man sich an die Beobachtung der mittleren Kammertiefe halten, in welcher die Bewegung von der der geforderten Schichten nicht allzusehr abzuweichen pflegt.

Setzt man zu einer solchen Blutkörperchenaufschwemmung eine Spur Aluminiumchlorid, so ist die Wanderungsrichtung umgekehrt, zur Kathode.

Mit derselben Versuchsanordnung kann man auch bei Verwendung eines Ultrakondensators auch kolloide Lösungen (Mastix, Eiweiß usw.) untersuchen.

### 55. Übung.

#### Mikroskopische Beobachtung der elektrischen Kataphorese in einer Ölsuspension.

Die in der vorigen Übung beschriebene Versuchsanordnung gestattet nicht gut, die Stärke des elektrischen Feldes zu berechnen, weil die Stromzuleitung durch die Agarrohre meist einen nicht zu vernachlässigenden Widerstand im Vergleich zu dem Widerstand in der Kammer hat. Sie hat aber den Vorteil, daß ihre Depolarisation auch bei großen Stromstärken sehr gut ist. Für Objekte, bei denen man mit kleineren Spannungen auskommt, kann man mit einer Anordnung arbeiten, welche die genaue Berechnung des Potentialabfalles pro Zentimeter gestattet. Für größere Spannungen versagt sie, weil ihre Depolarisation dann ungenügend wird und in der Kammer sich Gasblasen an den Elektroden entwickeln. Die Anordnung unterscheidet sich von der vorigen nur dadurch, daß man statt der Agarzuleitung direkt Kupferdrähte benutzt. Je ein blanker Kupferdraht wird entsprechend eingeknickt (etwa wie ein Stromabnahmebügel der Straßenbahn), daß man ein geradliniges Stück Kupferdraht gerade so zwischen Deckglas und Objektträger der oben beschriebenen Kammer einklemmen kann, daß er den Spalt einigermaßen dicht verschließt. Statt des aufzulegenden Deckglases verwende man ein Stück eines nicht zu dicken Objektträgers, welches man mit einer Objektischklammer festklemmen kann. Vor der Benutzung werden die Kupferdrähte gegläht, um sie mit einer Oxydschicht zu überziehen. Diese Kupferdrähte werden unmittelbar als Elektroden benutzt. In schlechtleitenden Flüssigkeiten kann man sie bei Spannung von ungefähr 10 Volt benutzen, ohne daß sich Gasblasen bilden. Ein geeignetes Versuchsobjekt ist eine durch Zerschütteln in Wasser hergestellte Emulsion von Anilin. Die nötigen 10 Volt kann man z. B. der Lichtleitung mit Hilfe einer Schalttafel mit Nebenanschlußvorrichtung entnehmen. Die Berechnung der Feldstärke geschieht, indem man die angelegte Spannung durch die Entfernung der Kupferdrähte voneinander, in Zentimetern, dividiert; sonst

gilt dasselbe wie in der vorigen Übung. Man findet für Anilintröpfchen in Wasser eine Geschwindigkeit von etwa  $10^{-3}$  cm pro Sekunde bei einer Feldstärke von 1 Volt/cm.

## 56. Übung.

## Elektrische Endosmose durch eine Tonzelle.

Der Apparat hat folgende Anordnung<sup>1)</sup> (Abb. 19). Die Tonzelle (Pukallfilter) A wird an einem Stativ in dem großen Becherglas B schwebend gehalten. A ist mit dem doppelt durchbohrten

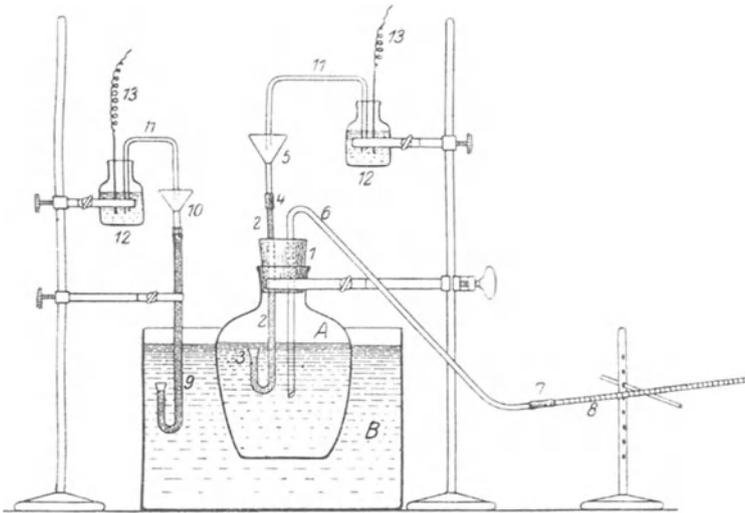


Abb. 19. Elektroendosmose.

Stopfen 1 verschlossen. Durch die eine Bohrung geht das Glasrohr 2, welches unten umgebogen ist. Es ist mit einer Gallerte von 3proz. Agar in gesättigter KCl-Lösung gefüllt (s. S. 170). Das Ende des aufgebogenen Teiles, 3, ist frei von der Gallerte, um ein Herabsinken der allmählich herausdiffundierenden starken KCl-Lösung zu verhindern. Nach oben setzt sich das Rohr in den Gummischlauch 4 fort, der den Trichter 5 am anderen Ende trägt. Der Schlauch und der Trichter ist mit gesättigter KCl-Lösung gefüllt. A und B werden mit der gleichen Lösung gefüllt, z. B. 1/1000 nKCl-Lösung.

<sup>1)</sup> In Anlehnung an die Versuchsanordnungen älterer Physiker (WIEDEMANN, QUINCKE u. a.) modifiziert.

Die andre Bohrung des Stopfens trägt das Glasrohr 6, das vermittelt des Gummistücks 7 in das Steigrohr (graduierte 1 ccm-Pipette) 8 übergeht. Indem der Gummistopfen 1 gelüftet wird, saugt man vom Ende der Pipette die Rohre 6, 7, 8 voll Flüssigkeit und schließt sofort den Stopfen wieder. Andererseits taucht in das große Becherglas das mit KCl-Agar gefüllte Glasrohr 9, von gleichem Bau wie 2; es endet oben vermittelt eines Gummistücks in den Trichter 10, der mit gesättigter KCl-Lösung gefüllt ist. In den Trichter 5 und 10 taucht je eine Elektrode von gleicher Beschaffenheit. Sie besteht aus dem mit KCl-Agar gefüllten Glasheber 11, der andererseits in eine mit 10proz.  $\text{CuSO}_4$ -Lösung gefüllte Flasche 12 taucht. In diese ragt der Kupferdraht 13 als Stromzuführung hinein.

Man gebe dem Steigrohr 8 eine ganz schwache Neigung ( $5-10^\circ$ ), so daß das Flüssigkeitsniveau irgendwo an der Kalibrierung der Pipette steht. Man überzeugt sich, daß das Niveau einerseits sich auf einen festen Stand einstellt, andererseits bei Bewegungen der Pipette frei spielt. Nun schließt man eine elektrische Gleichstromleitung von 110 oder 220 Volt an. Beim Stromschluß tritt eine Bewegung des Wassers ein, und zwar wird es von der Kathode angezogen. Bei Wechsel der Stromrichtung geht es umgekehrt, stets zur Kathode. Die Tonzelle ist also negativ, das Wasser positiv geladen. Man erhält Wasserbewegungen, die als langsames Kriechen des Niveau leicht erkennbar sind; z. B. in der Minute 0,1—0,2 ccm.

### 57. Übung.

#### **Elektrische Endosmose durch eine Kollodiummembran<sup>1)</sup>.**

Die Anordnung ist die gleiche, nur ersetzt man die Tonzelle durch eine Kollodiummembran. Sie wird zweckmäßig folgendermaßen hergestellt. Ein zylindrisches Glasgefäß von 15 cm Höhe und 3 cm Durchmesser ist an dem einen Ende zu einem 3 mm breiten plangeschliffenen Wulst aufgetrieben. Dieser wird auf ein rundes, mit Kollodium bestrichenes Stück Filtrierpapier aufgedrückt und dieses an den Rändern umgebogen und an die abgeschrägte Außenwand des Glaswulstes auch noch mit Kollodium aufgeklebt. Das Filtrierpapier wird dann noch außen und innen mit einer dünnen Schicht Kollodium begossen und getrocknet. Man überzeuge sich von der Dichtigkeit des Verschlusses und setze diesen Zylinder an die Stelle des Pukallfilters im vorigen

<sup>1)</sup> In Anlehnung an LOEB, JACQUES: Journ. of gen. physiol. 1. 1918, mit einigen Änderungen.

Versuch. Das Resultat ist das gleiche, die Wasserbewegung nur langsamer. Durch eine Kollodiummembran wandert das Wasser unter allen Umständen immer nur nach der Kathode; ist die Lösung (statt 1:1000 KCl) eine starke Säure (1/100 nHCl) oder  $\text{AlCl}_3$ , so ist die Wanderung allerdings sehr träge oder hört sogar ganz auf. Aber niemals tritt eine Umladung ein.

Durchtränkt man eine Kollodiummembran einige Stunden mit 1proz. Gelatinelösung, so verhält sie sich wie eine Gelatinemembran<sup>1)</sup>. Sie hat in saurer Lösung positive (also das Wasser negative), in alkalischer Lösung negative (das Wasser positive) Ladung.  $\text{Al}^{+++}$ -Ionen wirken ebenso wie  $\text{H}^+$ -Ionen.

Auch kann man ohne Kollodiumgrundlage eine Membran aus Gelatine oder Agar herstellen, indem man ein Blatt Filtrierpapier an den Glaszylinder mit der flüssigen Gallerte anklebt und eine Schicht der Gallerte auf das Papier gießt. Gelatine verhält sich ebenso wie die gelatinierte Kollodiummembran, amphoter. Agar ist stets negativ geladen, wie reines Kollodium.

## X. Adsorption.

### 58. Übung.

#### Übersicht über die Typen der Adsorptionsmittel und Adsorbenda<sup>2)</sup>.

Es gibt verschiedene Typen von Adsorbentien:

1. Kohle. Sie ist von allen bekannten Adsorbentien das wirksamste und vielseitigste, adsorbiert Elektrolyte und Nichtelektrolyte, saure und basische Farbstoffe, in besonders hohem Maße oberflächenaktive Nichtelektrolyte.

Man verwende „Carbo animalis“ Merck. Sie ist nicht ganz frei von Asche. Ihr Feuchtigkeitsgehalt beträgt unter gewöhnlichen Bedingungen gegen 20 vH. und kann für die folgenden Versuche unberücksichtigt bleiben.

2. Unlösliche Pulver von elektrolytartigem Charakter (unlösliche Salze, Säuren, Basen). Sie haben gegen reines Wasser entweder eine negative Ladung (Typus: Kaolin) oder, seltener, eine positive Ladung (Typus: Eisenhydroxyd).

3. Organische („indifferente“) Substanzen vom Charakter der Zellulose (Filtrierpapier, Baumwolle, negativ geladen).

<sup>1)</sup> LOEB, JACQUES, l. c.

<sup>2)</sup> In Anlehnung an die Versuchsanordnungen von FREUNDLICH, H.: Zeitschr. f. physikal. Chem. und MICHAELIS, L. und RONA: Biochem. Zeitschr., mehrere Arbeiten, ebenda 1908, 1919, 1920.

4. Organische „amphotere“ Substanzen vom Typus des Eiweiß (Seide, Wolle, fixiertes Gewebseiweiß).

Man bereite folgende Lösungen als Adsorbenda:

1. Gesättigte wässrige Lösung (s. S. 83) von Tributyrin oder Heptyl- oder Oktylalkohol, als Typus eines stark oberflächenaktiven, schwerlöslichen Stoffes.

2. 0,1 n-Essigsäure, als Typus eines sehr schwachen Elektrolyten mit deutlicher, aber nicht exzessiver Oberflächenaktivität.

3. Etwa 0,1 n-Azetonlösung (0,58proz. Lösung), als Typus eines Nichtelektrolyten von gleicher Oberflächenaktivität wie Essigsäure.

4. Eine 2proz. Lösung von Traubenzucker als Typus eines nicht oberflächenaktiven (die Oberflächenspannung sogar etwas erhöhenden) Nichtelektrolyten.

5. Eine Lösung von Eosin 1 : 10 000 als Typus eines nicht kolloidalen sauren Farbstoffes.

6. Eine Lösung von Kongorot 1 : 10 000 als Typus eines kolloidalen sauren Farbstoffes.

7. Eine Lösung von Methylenblau 1 : 10 000 als Typus eines basischen Farbstoffes.

Man benutzt für jeden Versuch 100 ccm Flüssigkeit, 2 g Kohle bzw. 20 g Kaolin bzw. 20 g Eisenhydroxyd. Eine Probe der Flüssigkeit wird vorher analysiert; das mit dem Adsorbens versetzte Gemisch wird in einer Flasche 3 Minuten geschüttelt, filtriert und das Filtrat nochmals analysiert.

Die Analyse der Essigsäure: durch Titration gegen 0,1 n-Natronlauge (Phenolphthalein). Azeton: jodometrisch. Traubenzucker: polarimetrisch.

Tributyrin (bzw. Heptyl-, Oktylalkohol) stalagmometrisch; Vergleichung der Tropfenzahl vor und nach der Adsorption. Bei den Farbstoffen ist keine Analyse erforderlich.

Man findet für Kohle: Tributyrin (bzw. Heptyl- oder Oktylalkohol) wird von der Kohle völlig adsorbiert. Das Filtrat zeigt die Tropfenzahl des reinen Wassers.

Essigsäure und Azeton werden zu einem deutlich erkennbaren Bruchteil adsorbiert.

Traubenzucker wird sehr wenig, wenn auch nachweisbar adsorbiert. Nimmt man 3—4 mal soviel Kohle, wird die Adsorption deutlicher.

In allen Farblösungen wird der Farbstoff total adsorbiert.

Für Kaolin: Tributyrin (bzw. die genannten Alkohole) werden gar nicht adsorbiert. Azeton wird gar nicht adsorbiert. Traubenzucker wird gar nicht adsorbiert.

Also: Die Oberflächenaktivität eines Stoffes hat gar keinen analytisch nachweisbaren Einfluß darauf, ob er von Kaolin adsorbiert wird.

Eosin wird gar nicht adsorbiert. Dagegen wird Methylenblau und Kongorot adsorbiert.

Also: Basische Farbstoffe werden adsorbiert; saure höchstens dann, wenn sie kolloidal sind.

Für Eisenhydroxyd alles ebenso wie für Kaolin, nur mit dem Unterschied, daß saure Farbstoffe adsorbiert werden, nicht aber basische (Methylenblau).

Hieraus sieht man, daß die Adsorption der sogenannten oberflächenaktiven Stoffe nicht allein von der dargebotenen Oberflächengröße abhängt, sondern auch von der chemischen Natur der Oberfläche. Es gibt zahlreiche Pulver, die auch bei denkbar größter Oberflächenentwicklung keine Spur eines oberflächenaktiven Nichtelektrolyten adsorbieren (Kaolin, Eisenoxyd).

### 59. Übung.

#### Die Verdrängungserscheinungen.

Zwei in Lösung befindliche adsorbierbare Stoffe verdrängen einander von der adsorbierenden Oberfläche. Ist der eine an sich schon schwer adsorbierbar, so kann er durch einen besser adsorbierbaren ganz an der Adsorption gehindert werden.

a) 100 ccm 0,1 n-Essigsäure + 5 ccm Wasser + 2 g Kohle: Filtrat enthält weniger Essigsäure als vorher.

b) 100 ccm 0,1 n-Essigsäure + 5 ccm Azeton + 2 g Kohle: Im Filtrat ist der Essigsäureverlust geringer.

Ferner: a) 100 ccm 2proz. Traubenzuckerlösung + 5 ccm Wasser + 5 g Kohle. Das Filtrat zeigt einen deutlichen Verlust an Zucker.

b) 100 ccm 2proz. Traubenzuckerlösung + 5 ccm Azeton + 5 g Kohle. Das Filtrat hat denselben Zuckergehalt wie vor der Adsorption.

Die beiden Versuche b) stelle man einmal so an, daß zuerst der eine Stoff mit der Kohle in Berührung gebracht, dann der andere, und darauf ein zweites Mal umgekehrt: Das Resultat ist das gleiche. Diese Adsorption ist reversibel, es entsteht ein echtes Gleichgewicht.

### 60. Übung.

#### Adsorption der Elektrolyte und der Farbstoffe.

Die Adsorption eines Elektrolyten setzt sich additiv zusammen aus der seiner Ionen. Von allen physiologisch in Be-

tracht kommenden Ionen werden die  $H^+$ - und  $OH^-$ -Ionen am stärksten adsorbiert. Daher wird  $HCl$  oder  $NaOH$  viel stärker adsorbiert als  $NaCl$ .

Man versetze je 100 ccm einer 0,1 molaren Lösung dieser drei Stoffe mit 15 g Blutkohle. Bei  $NaCl$  ist eine Adsorption nur soeben nachweisbar ( $Cl^-$ -Titration), bei  $HCl$  und  $NaOH$  ist sie fast vollkommen<sup>1)</sup>.

Die Adsorption von  $HCl$  wird durch die Anwesenheit von  $NaCl$  gefördert (Gegenstück des Verdrängungsgesetzes):

100 ccm 0,01 n  $HCl$  + 1 g Kohle. Das Filtrat ist etwa 0,006 n an  $HCl$ .

100 ccm einer Lösung von 0,01 n  $HCl$  + etwa n  $KCl$ , d. h. eine Mischung von 1 ccm n  $HCl$  und 99 ccm n  $KCl$  + 1 g Kohle: das Filtrat ist etwa 0,0045 n an  $HCl$ .

Die Adsorption von Filtrierpapier (Zellulose) wird am einfachsten durch die Methode der „Kapillarisation“ geprüft. Man taucht 1 cm breite, 20 cm lange Streifen Filtrierpapier in Lösungen (1 promill.) von Methylenblau, Eosin und Kongorot. Methylenblau ist ein basischer Farbstoff. Er wird stark adsorbiert, daher steigt der Farbstoff nicht weit, das in die Höhe gesaugte Wasser ist bald farblos. Eosin ist ein echt gelöster saurer Farbstoff. Er wird schlecht adsorbiert und steigt daher sehr hoch, fast so hoch, wie das Wasser. Kongorot ist zwar auch ein saurer Farbstoff, aber ein kolloider. Er wird wie Methylenblau adsorbiert. Es ist sehr wahrscheinlich, daß das adsorbierende Vermögen der Zellulose für nicht kolloidale Farbstoffe an die stets vorhandenen Beimengungen von Aschebestandteilen, vor allem Kalziumsilikat, gebunden ist.

Taucht man den Streifen in eine Lösung von eosinsaurem Methylenblau (einige Tropfen MAY-GRÜNVALDSches Farbgemisch in 10 ccm destilliertes Wasser), so trennen sich die Farbstoffe. Das Eosin kriecht weiter als das Methylenblau. Verdünnt man jedoch das Farbgemisch nicht mit Wasser, sondern mit Chloroform, so kriecht das Methylenblau höher als das Eosin.

Man versetze eine 1 proz. wäßrige Lösung von Eosin mit etwas verdünnter Salzsäure und schüttele 10 ccm davon mit 10 ccm Xylol durch. Nachdem das Xylol sich abgesetzt hat, ist es farblos. Taucht man einen Streifen Filtrierpapier in das farblose Xylol, so färbt er sich intensiv rot.

<sup>1)</sup> Eine durch Verkohlen von reinem Rohrzucker hergestellte und durch sehr starke Erhitzung „aktivierte“ Kohle verhält sich anders; sie adsorbiert  $HCl$ , aber nicht  $NaOH$ . (MILLER, Journ. Amer. Chem. Soc. 44, 1866 [1922].)

Ein ähnlicher Versuch mit einem basischen Farbstoff:

Eine 1 promill. wäßrige Lösung von Nilblau wird mit etwas NaOH versetzt und mit Xylol ausgeschüttelt. Dieses färbt sich bräunlichrot. Taucht man einen Streifen Filtrierpapier oder Wolle in diese rote Lösung, so wird sie augenblicklich tiefblau.

Färbt man einen Blutausschlag auf einem Objektträger (Technik wie in der klinischen Hämatologie!) nach  $\frac{1}{4}$ stündiger Fixation in Alkohol (oder 2 Minuten in Methylalkohol) mit einer dünnen wäßrigen Eosinlösung (1 : 1000; Zusatz einer Spur Essigsäure ist förderlich), so färben sich die roten Blutkörperchen und das Protoplasma der polynukleären Leukocyten. Die Kerne bleiben farblos. Färbt man mit einem basischen Farbstoff (Methylenblau oder Nilblau 1 : 1000), so färben sich am intensivsten die Kerne der polynukleären Leukocyten, bei genügender Verdünnung des Farbstoffs fast diese allein.

Färbt man ein solches Präparat mit der Lösung der Eosinsäure oder der Nilblaubase in Xylol, so erhält man in beiden Fällen eine diffuse Untergrundfärbung des Eiweißes der Blutflüssigkeit. Die Kerne nehmen nicht einmal spurweise selbst das basische Nilblau an. Die theoretische Deutung dieser für die Histologie bedeutungsvollen Beobachtungen steht noch aus. Sie mögen als Anregung für die Forschung dienen.

Man färbt ein Bakterientrockenpräparat. Eine Platinöse Kolibazillen wird mit einem Tropfen Wasser auf dem Objektträger ausgestrichen, kalt getrocknet, in der Flamme wie üblich fixiert und mit einer 1proz. Lösung von Methylenblau einige Minuten gefärbt. Beim Abspülen mit Wasser haftet die Färbung fest. Diese Adsorption ist „irreversibel“, d. h. nicht auswaschbar. Wenn man aber mit einer 1proz. Lösung von Bismarckbraun oder Chrysoidin (beides basische Farbstoffe wie Methylenblau) nachfärbt, wird das Methylenblau extrahiert und an seine Stelle tritt der zweite Farbstoff.

Ein wenig analog ist folgender Versuch. Invertase (Herstellung s. S. 194, vierfach verdünnte Stammlösung) wird mit reichlichen Mengen kolloider Eisenhydroxydlösung (gleiches Volumen 4fach verdünnter Eisenlösung) versetzt. Es entsteht eine dichte Fällung, welche bis zu 100 vH. des Ferments der Lösung entrisen hat. Das Filtrat ist dann wirkungslos auf Saccharose (Beobachtung im Polarisationsapparat). Auch beim Schütteln mit Wasser gibt der Niederschlag kein Ferment ab. Versetzt man aber den Niederschlag mit einer 5proz. Saccharoselösung, so wird diese invertiert. Filtriert man die Lösung nach  $\frac{1}{2}$ stündigem sanften Schütteln

ab, so geht die Invertierung im Filtrat immer weiter. Das Ferme, ist also durch den Zucker vom Niederschlag abgelöst worden<sup>1)</sup>.

Im Falle Methylenblau-Chrysoidin hat sich das Chrysoidin an die Stelle des adsorbierten Methylenblau gesetzt; in dem Falle des Ferments ist die Ablösung durch den Zucker vermittelt eines noch ungeklärten Mechanismus erfolgt.

### 61. Übung.

#### Die FREUNDLICHsche Adsorptionsisotherme.

Variiert man bei konstantem Volumen der Lösung und konstanter Temperatur die Menge des Adsorbens und des Adsorbendum, so steht nach eingetretenem Adsorptionsgleichgewicht die Konzentration  $c$  des noch in Lösung befindlichen Adsorbendum zu der adsorbierten Menge desselben  $x$  in dem Verhältnis.

$$\frac{x}{m} = k \cdot c^n,$$

wo  $m$  die Gewichtsmenge der Kohle ist.  $k$  ist eine Konstante, welche von der zufälligen Beschaffenheit der Kohle abhängt und als ein Maß für ihr Adsorptionsvermögen betrachtet werden kann, wenn man verschiedene Kohlenproben auf dasselbe Adsorbendum wirken läßt.  $n$  ist eine Konstante, die von der Art des Adsorbendum abhängt und in der Regel nicht sehr verschieden von 0,5 ist. Als Versuchsobjekt wird Essigsäure oder Azeton empfohlen. Je 100 ccm der Lösung, variierend von 0,3 normal bis 0,002 normal, werden in einer gut verschließbaren Flasche, in welche vorher eine genau abgewogene Menge Kohle von etwa 1 g eingefüllt ist, 5 Minuten geschüttelt, filtriert, der erste Anteil des Filtrats verworfen und von dem übrigen eine ausreichende Menge zur Titration benutzt. Proben der gleichen Lösungen werden ohne Behandlung mit Kohle ebenfalls titriert. Man berechnet die Gesamtmenge des Stoffes, wie sie in 100 ccm ohne Behandlung mit Kohle gewesen wäre, und wie sie nach Maßgabe der Analyse des Filtrats in 10 ccm nach Behandlung mit Kohle anzusetzen ist.

Die Menge drückt man am besten in Millimol aus (1 Millimol Essigsäure ist die Menge, welche 1 ccm n. NaOH entspricht; 1 Millimol Azeton = 0,058 g).

<sup>1)</sup> ERIKSSON, A.: Hoppe-Seylers Zeitschr. physiol. Chem. **72**, 313. 1911 und MEYERHOF, O.: Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **157**, 251. 1914.

Es fand sich z. B.:

In 100 cem der Lösung waren ur- sprünglich Äzeton in Millimol a	Menge der Kohle in m	Im Filtrat wurden wiedergefunden		Adsorbierte Menge	
		Millimol pro 100 cem F	Konzentra- tion in Normalität c	Äzeton im ganzen a - F = x	pro g Kohle $\frac{x}{m}$
0,421	0,8987	0,234	0,0234	0,187	0,208
2,103	1,0320	1,465	0,1465	0,638	0,618
5,257	1,0688	4,103	0,4103	1,154	1,077
10,50	1,0951	8,862	0,8862	1,64	1,498
20,34	1,2425	17,76	1,776	2,58	2,08
30,52	1,2556	26,90	2,690	3,62	2,88

Um  $k$  und  $c$  zu ermitteln, verfährt man folgendermaßen. Durch Logarithmieren der Gleichung S. 134 erhält man

$$\log \frac{x}{m} = \log k + n \cdot \log c$$

$\log \frac{x}{m}$  ist also eine lineare Funktion von  $\log c$ ;  $n$  ist die Tangente des Neigungswinkels dieser Geraden;  $k$  hat die Bedeutung:

$$\log k = \log \frac{x}{m} - n \log c.$$

Ist  $c = 1$ , so ist  $n \log c = 0$ , und  $\log k = \log \frac{x}{m}$ .

Wir schreiben zunächst die einander entsprechenden Werte von  $\log \frac{x}{m}$  und  $\log c$  hin:

$\log \frac{x}{m}$	$\log c$
- 0,682	- 1,631
- 0,209	- 0,834
+ 0,032	- 0,387
+ 0,176	- 0,052
+ 0,318	+ 0,247
+ 0,459	+ 0,430

Tragen wir diese in ein Koordinatensystem ein, so erhalten wir Abb. 20.

Aus dem Diagramm ergibt sich durch graphische Ausmessung:

$$n = 0,52; \quad \log k = 0,23, \text{ also } k = 1,7.$$

$k$  ist von der Wahl der Maßeinheiten abhängig; definiert man z. B. nicht, wie hier geschehen, die Konzentration in Mol/Liter, sondern etwa als Millimol pro 100 ccm, so wird  $k$  ganz anders. Dagegen ist  $n$  von der Wahl der Maßeinheiten unabhängig. Die gezogene Gerade ist durch geradlinige Interpolation nach Augenmaß gezogen, wobei der unterste Punkt nicht berücksichtigt wurde. Er weicht recht merklich von der Geraden ab. Das ist

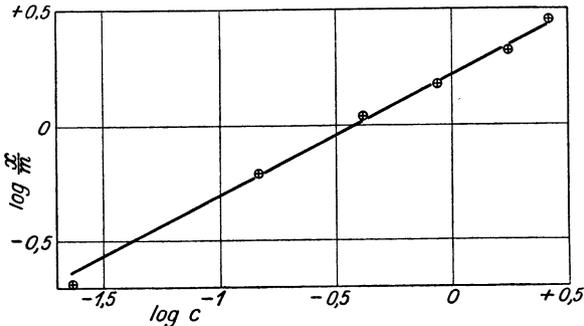


Abb. 20. Adsorptions-Isotherme für Azeton.

kein Versuchsfehler, sondern der Ausdruck dafür, daß die FREUNDLICHsche Adsorptionsisotherme nur eine für ein gewisses Bereich annähernd gültige Interpolationsformel ist.

## XI. Einfluß der $h$ auf die Fermentwirkung.

In ähnlicher Weise wie auf die Farbe molekulardisperser Indikatoren (als Typus einer Reaktion im molekulardispersen System), wie ferner auf den Zustand von Kolloiden, haben von allen physiologisch in Betracht kommenden Ionenarten die H-Ionen einen so überwiegenden Einfluß auch auf die Fermentwirkung, daß die Wirkung der anderen physiologischer Weise vorkommenden Ionenarten dagegen oft fast ganz vernachlässigt werden darf. Es gibt auch Ausnahmen: Die Wirkung der Speicheldiastase ist in hohem Maße auch von der Cl'-Konzentration abhängig. Betrachtet man aber die Cl'-Verbindung der Diastase als das eigentliche Ferment, so fügt sie sich dem obigen Gesetz ein.

Die Deutung der H-Wirkung ist in doppelter Weise möglich: entweder man schreibt der  $h$  einen Einfluß auf den Dissociationszustand der als Elektrolyte betrachteten Fermente zu, oder man schreibt der  $h$  einen Einfluß auf den kolloidalen Zustand

der als Kolloide betrachteten Fermente zu. Beides ist möglich, beide Fälle sind durch Übergänge miteinander verbunden und keine prinzipiellen Gegensätze.

62. Übung.

**Der Einfluß der h auf die Wirkung der Speicheldiastase<sup>1)</sup>.**

Die Wirksamkeit der Speicheldiastase auf Stärke hängt in besonders hohem Maße von der Konzentration der Cl-Ionen und der H-Ionen ab. Ohne Cl (bzw. einige andere ähnliche Ionenarten wie Br) wirkt die Diastase überhaupt nicht. Mit steigender Cl-Konzentration erreicht die Wirkung bald ein Maximum, welches bei weiterer Steigerung des Cl-Gehalts nicht überschritten wird. Ein Gehalt von einigen Promille Cl reicht schon zur Entfaltung der maximalen Wirkung aus. Mit den H-Ionen ist es anders. Bei einer bestimmten h besteht ein Optimum der Wirkung, welches sowohl bei Über- wie Unterschreitung desselben verschlechtert wird. Wir werden im folgenden Versuch einen reichlich bemessenen, konstanten Cl-Gehalt wählen und die h variieren, um die optimale h zu suchen.

Man kocht 2,5 g „lösliche Stärke“ in 500 ccm 0,3proz. NaCl-Lösung auf und füllt in 7 Erlenmeyerkolben je 50 ccm davon ein. Außerdem gebe man von den S. 85 beschriebenen Phosphatlösungen dazu:

	Nr. 1	2	3	4	5	6	7
$\frac{m}{3}$ prim. Phosphat. .	4,7	4,4	3,3	2,5	1,7	0,6	0,3
$\frac{m}{3}$ sekund. Phosphat.	0,3	0,6	1,7	2,5	3,3	4,4	4,7

Nun füllt man etwa 30 Reagenzgläser mit je 5 ccm einer äußerst stark verdünnten, ganz schwach hellgelben LUGOLSchen Lösung (etwa  $\frac{1}{1000}$  normal Jodlösung) und hält diese für die weiteren Untersuchungen in Bereitschaft. In die 7 Erlenmeyerkolben gibt man in Abständen von genau 2 Minuten der Reihe nach je 5 ccm eines 100—1000fach verdünnten Speichels. Dann entnimmt man aus dem Kölbchen Nr. 4 alle paar Minuten 5 ccm und gibt sie in ein Jodröhrchen. Zunächst wird eine blaue Farbe entstehen, weiterhin eine violette, dann rot. Wenn die Farbe rotviolett bis fast rot geworden ist, beginnt die eigentliche

<sup>1)</sup> In Anlehnung an RINGER, W. E.: Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. 67, 332. 1910, MICHAELIS, L. und PECHSTEIN, H.: Biochem. Zeitschr. 59, 77. 1914.

Reihenentnahme. Man entnimmt den 7 K lbehen der Reihe nach in Abständen von 2 Minuten je 5 ccm und gibt sie in ein Jodr hren. Das Resultat wird z. B. sein:

1	2	3	4	5	6	7
blau	violett	rot	gelbrot	rot	rotviolett	violett

Die Wirkung ist also am weitesten fortgeschritten in Nr. 4. Nun bestimmt man mit der in der 18. Übung beschriebenen Methode das  $p_h$  der in dem Erlenmeyerkolben übrig gebliebenen Lösung. Man wird finden  $p_h$  etwa = 6,8.

### 63. Übung.

#### Das Wirkungsoptimum des Pepsin<sup>1)</sup>.

Die Wirkung des Pepsins hängt so überwiegend von der  $h$  ab, daß die Wirkung der anderen Ionenarten dagegen fast verschwindend gering ist. Dies gilt ganz besonders, wenn das zu verdauende Eiweiß in gelöster Form, nicht als feste oder koagulierte Eiwei st cke zugegen ist.

2 g Edestin werden 24 Stunden bei 37  mit 50 ccm 0,1 nNaOH behandelt, dann mit Wasser auf 490 ccm und schließlich mit nHCl auf 500 ccm aufgefüllt. Dies ist dann eine 0,4proz. Edestinl sung in 0,01 nHCl + 0,01 nNaCl. Diese Lösung ist im folgenden als „Edestinl sung“ bezeichnet.

Eine 0,5proz. Lösung von „Pepsin Grübler“ in Wasser wird als „Pepsinlösung“ bezeichnet. Man stelle nun eine Reihe von Mischungen von je 6 ccm Edestinl sung, 0,4 ccm nHCl, 3,6 ccm Wasser und 0,5 ccm Pepsinlösung in 5–6 Reagenzgläschen in gleichmäßiger Weise an, lasse sie bei Zimmertemperatur und unterbreche in Abständen von einigen Minuten die Verdauung der Reihe nach durch Zusatz von reichlich Natriumazetat in Substanz. Das unverdaute Edestin f llt dadurch aus. Man probiert auf diese Weise aus, wieviel Minuten man ungefähr braucht, um das Edestin zu einem bedeutenden Teil, aber noch nicht völlig, zu verdauen. Hat man diese Zeit ungefähr bestimmt, so stelle man folgende Reihe an:

	Nr. 1	2	3	4	5	6
Edestinl�sung ccm . . . . .	6	6	6	6	6	6
nHCl ccm . . . . .	0	0,2	0,4	0,8	1,6	3,2
destilliertes Wasser ccm . . . . .	4	3,8	3,6	3,2	2,4	0,8
Pepsinlösung ccm . . . . .	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

<sup>1)</sup> MICHAELIS, L. und MENDELSSOHN, A.: Biochem. Zeitschr. 65, 1. 1914.

Nach Ablauf der im Vorversuch ermittelten Zeit unterbreche man in allen Röhrcchen die Verdauung durch Zusatz von festem Natriumazetat und stelle fest, wo die Verdauung am weitesten vorgeschritten ist. Dies wird z. B. Nr. 2 sein. Die  $p_{\text{H}}$ -Messung wird am besten elektrometrisch gemacht, indem man ein Röhrcchen der gleichen Zusammensetzung herstellt und, ohne Zusatz von Natriumazetat, zur  $p_{\text{H}}$ -Messung benutzt. Man wird als Optimum  $p_{\text{H}} = \text{etwa } 1,7$  finden.

## 64. Übung.

**Das Wirkungsoptimum der Katalase<sup>1)</sup>.**

Eine stark wirksame Katalasewirkung erhält man folgendermaßen<sup>2)</sup>. 50 g Kalbsleber werden mit Sand und Kieselguhr im Mörser verrieben und mit 30 ccm 93proz. Alkohol verrührt. Nach einer Viertelstunde wird der Brei in einer Presse gut ausgepreßt und der Preßsaft verworfen. Nun preßt man zweimal hintereinander mit 30 ccm Wasser aus, nachdem dieses vor dem Pressen mit dem Preßkuchen jedesmal gut verrührt worden ist. Diese beiden wäßrigen Preßsäfte vereinigt man; sie sind die Urlösung der Katalase. Die Lösung ist sehr lange haltbar, wenn sie mit etwas Toluol versetzt wird. Ein etwa allmählich sich abscheidender Niederschlag wird vor dem Versuch abfiltriert. Von dieser Urlösung braucht man für den Versuch eine Verdünnung von 1 : 50 000 in destilliertem Wasser (etwa 1 Liter). Ferner braucht man etwa 1 Liter Wasserstoffsuroxyd (Perhydrol Merck) in der Verdünnung 1 : 1000.

Man setzt nun in einer Reihe von Erlenmeyerkolben folgende Mischungen an:

	Nr. 2	3	4	5	6	7
0,1 n Natriumazetat ccm . . . . .	2	2	2	2	2	2
0,1 n Essigsäure . . . . .	0	0,12	0,5	2	—	—
1 n Essigsäure . . . . .	—	—	—	—	0,8	3,2
destilliertes Wasser . . . . .	3,2	3,08	2,7	1,2	2,4	0

Ein weiterer Erlenmeyerkolben wird mit 1 ccm m/15 sekundärem Natriumphosphat (s. S. 37) + 4,2 ccm destilliertem Wasser versetzt und als 1. Röhrcchen vor die anderen gestellt. Nun füllt man in jedes der 7 Röhrcchen je 100 ccm der  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Lösung ein, und dann in Abständen von je 2 Minuten je 50 ccm der Fermentverdünnung. Von Nr. 2 entnimmt man alle 5 Minuten eine Probe

<sup>1)</sup> MICHAELIS, L. und PECHSTEIN, H.: Biochem. Zeitschr. **53**, 320.1913.

<sup>2)</sup> SÖRENSEN, S. P. L.: Biochem. Zeitschr. **21**, 131. 1909.

von 10 ccm, mischt sie mit etwa 5 ccm verdünnter Schwefelsäure und titriert sie mit  $\frac{1}{20}$  n. Kaliumpermanganatlösung. Zu Anfang wird man etwa 3 ccm Permanganat verbrauchen, nach 10—20 Minuten nur noch die Hälfte. Ist so ein guter Fortschritt der Wirkung erkennbar geworden, so entnimmt man allen Kolben der Reihe nach in Abständen von 2 Minuten 25 ccm, gibt sie sofort in ein Gefäß, welches 10 ccm verdünnte Schwefelsäure enthält und titriert mit Permanganat. Nach dem Zusatz der Schwefelsäure braucht die Titration nicht gleich zu erfolgen. Man beende erst in Ruhe alle Entnahmen. Man wird finden, daß die einzelnen Kölbchen weniger Permanganat verbrauchen als dem Anfangswert entspricht. Der Umsatz ist am größten und untereinander fast gleich von Nr. 1—3, dann wird er kleiner, und in Nr. 7 verbraucht man fast die Anfangsmenge des Permanganat. Das Optimum ist also sehr breit und erstreckt sich von stark alkalischer Reaktion ( $p_h$  fast = 9) bis  $p_h = 5,5$ . Nach der alkalischen Seite wird es bei dieser Versuchsordnung noch nicht einmal überschritten, wohl aber nach der sauren Seite. Die Messung der  $h$  kann in den übrig gebliebenen Proben kolorimetrisch geschehen; man wartet damit am besten, bis alles  $H_2O_2$  zerstört ist.

### Elektrische Messungen.

Wenn ein elektrisch geladener Massenpunkt von der Ladung  $e$  sich in der Entfernung  $r$  von einem zweiten Massenpunkt mit der Ladung  $e'$  befindet, so besteht zwischen diesen beiden Punkten eine elektrische Kraft  $K$ , welche bei passender Wahl der Maßeinheiten ausgedrückt werden kann:

$$K = \frac{e \cdot e'}{r^2}.$$

Hat  $e$  und  $e'$  gleiches Vorzeichen, so wirkt die Kraft abstoßend und wird positiv gerechnet. Hat  $e$  und  $e'$  ungleiches Vorzeichen, so ist sie anziehend oder negativ. Die Kraft wird also positiv gerechnet, wenn sie  $r$  zu vergrößern sucht. Wir denken uns den Punkt mit der Ladung  $e$  fixiert, den Punkt mit der Ladung  $e'$  frei beweglich. Wenn der bewegliche Punkt unter der Wirkung der elektrischen Kraft sich von dem fixierten Punkt um die Strecke  $dr$  weiter entfernt, so leistet er dabei die Arbeit (Produkt aus Kraft und Weg):

$$dA = \frac{e \cdot e'}{r^2} \cdot dr$$

Bewegt sich der Punkt aus der Entfernung  $r_1$  auf einem beliebigen Wege bis zur Entfernung  $r_2$ , so leistet er also die Arbeit:

$$A = e \cdot e' \int_{r_1}^{r_2} \frac{dr}{r^2} = e \cdot e' \left( \frac{1}{r_1} - \frac{1}{r_2} \right).$$

Bewegt sich der Punkt aus der Entfernung  $r$  bis ins Unendliche, so leistet er die Arbeit  $A = \frac{e \cdot e'}{r}$ . Hat der bewegliche Punkt die Ladung  $e' = +1$ , so leistet er auf seinem Wege vom  $r$  bis ins Unendliche die Arbeit:

$$A = \frac{e}{r}.$$

Ein solcher Massenpunkt mit der positiven Einheitsladung heißt ein elektrischer Probekörper. Die Arbeit, welche er leistet, wenn er sich von dem Punkt mit der Ladung  $e$  aus der Entfernung  $r$  bis ins Unendliche entfernt, wird bezeichnet als das Potential, welches die Ladung  $e$  auf einen in der Entfernung  $r$  gelegenen Punkt des Raumes ausübt. Der Potentialunterschied in zwei Raumpunkten von der Entfernung  $r_1$  und  $r_2$  von dem geladenen Punkt beträgt daher

$$\frac{e}{r_1} - \frac{e}{r_2}.$$

Haben wir statt eines geladenen Massenpunktes ein System von Massenpunkten, z. B. einen zusammenhängenden elektrisch geladenen Körper, so übt dieser auf einen bestimmten Punkt des Raumes ein Potential aus, welches gleich der Summe der Potentiale der einzelnen geladenen Massenpunkte ist, also im Betrage von

$$\frac{e_1}{r_1} + \frac{e_2}{r_2} + \frac{e_3}{r_3} + \dots + \frac{e_i}{r_i} + \dots \quad (1)$$

Hier bedeutet  $e_i$  die Ladung eines Volumelements des Körpers und  $r_i$  die Entfernung, welche der Bezugspunkt von ihm hat. Ist das isolierende Medium ein anderer Stoff als die Luft, so beträgt sowohl die Kraft wie das Potential nur den  $D^{\text{ten}}$  Teil des angegebenen Wertes, und  $D$  ist die Dielektrizitätskonstante des Mediums.

Die ganze Ladung eines elektrisch geladenen Körpers übt auch auf jeden einzelnen Punkt dieses Körpers selbst ein Potential aus gemäß (1).

Ist der geladene Körper ein Leiter, welcher von der Umgebung isoliert ist, so verteilt sich die Elektrizität stets so, daß das Potential der ganzen Ladung des Körpers auf jeden beliebigen einzelnen Punkt innerhalb dieses Körpers gleich ist. Es bedarf daher der gleichen Arbeit, um einen elektrischen Massenpunkt von der Ladung  $l$  aus dem Unendlichen entweder bis zu irgendeinem beliebigen Punkt der Oberfläche oder des Inneren des Körpers heranzuführen. Daher ist es erlaubt, von einem ganz bestimmten Potential eines elektrisch geladenen Leiters zu sprechen.

2. Wenn zwei verschiedene elektrisch geladene Leiter von verschiedenem Potential durch einen leitenden Draht miteinander verbunden werden, so verteilt sich die Elektrizität dergestalt, daß das Potential des ganzen Systems alsbald gleich wird. Zu diesem Zweck fließt Elektrizität von dem Körper mit höherem Potential zu dem mit niederem. Wenn nun durch irgendeine Vorrichtung dafür gesorgt wird, daß das ursprüngliche Potential der beiden Körper sich immer wieder herstellt, und zwar schneller als der Ausgleich erfolgt, so fließt ein dauernder elektrischer Strom. Um diesen zu charakterisieren, definiert man folgende Größen: 1. die elektromotorische Kraft  $E$ . Sie ist gleich dem Potentialunterschied der beiden geladenen Körper und wird gemessen in Volt.

2. Die Stromstärke  $i$ . Sie wird gemessen durch die Elektrizitätsmenge oder die Zahl der Coulombs, welche in der Zeiteinheit einen beliebigen Querschnitt des Stromes passieren. Da der Strom stationär sein soll, also nirgends eine Stauung von Elektrizität eintritt, muß die Stromstärke in jedem beliebigen Querschnitt des Stromweges die gleiche sein.

3. Der Widerstand  $w$ . Dieser hängt von der physikalischen und chemischen Beschaffenheit aller einzelnen Teile des Stromweges ab und wird gemessen in Ohm.

Diese drei Größen stehen in der Beziehung zueinander  $i = \frac{E}{w}$ .

Der Widerstand des ganzen Systems setzt sich additiv zusammen aus dem Widerstand der einzelnen Teile.

Die elektromotorische Kraft eines Stromkreises wird nur vorgeschrieben durch diejenigen Mechanismen, welche den Potentialunterschied zwischen verschiedenen Stellen des Systems erzeugen und aufrecht erhalten. Der Sitz dieser Mechanismen ist in der Regel die Grenzfläche zweier Phasen (Kontaktfläche von Metall und Lösung) oder jedenfalls eine Stelle, an der sich die chemische oder physikalische Beschaffenheit von Punkt zu Punkt ändert

(Diffusionsgebiet zweier sich berührender Lösungen). Eine galvanische Kette enthält stets mehrere solcher Grenzflächen, welche stationäre Potentialunterschiede erzeugen, und die elektromotorische Kraft ist die Summe aller dieser lokalisierten Potential-sprünge. Der Widerstand dagegen wird durch jeden einzelnen Punkt des ganzen Stromkreises beeinflußt. Die folgenden Übungen betreffen nur die Messung von Widerständen bzw. ihres reziproken Wertes, der Leitfähigkeiten, und vor allem der elektromotorischen Kräfte.

## XII. Messung der elektrischen Leitfähigkeit einer Lösung.

### 65. Übung.

1. Schema des Apparates in der Anordnung nach KOHL-RAUSCH (Abb. 21). *A* ist ein Akkumulator, dessen Pole über das kleine Induktorium *I* und einen regulierbaren Gleitwiderstand (man braucht nur wenige Ohm) vermittelt eines Stromschlüssels geschlossen werden können. Der Vorschaltwiderstand wird derart eingestellt, daß gerade eben noch das Induktorium mit dem WAGNERSCHEN Hammer in Betrieb gehalten werden kann; je schwächer der Strom, desto besser. Die Klemmschraubenpole des Sekundärstroms werden wie in der Zeichnung geschaltet. *R* ist ein Rheostat von mindestens 1—1000 Ohm (für schlecht leitende Flüssigkeit braucht man bis 10 000 Ohm), *W* ist der zu messende Widerstand in dem Widerstandsgefäß, das noch genauer weiter unten beschrieben wird. *ab* ist ein dünner, auf einem in Millimeter geteilten Maßstab von 1 m Länge ausgestreckter Draht aus Platin-Iridium oder aus Konstantan, *d* ist ein Gleitkontakt, *T* ein Telephon.

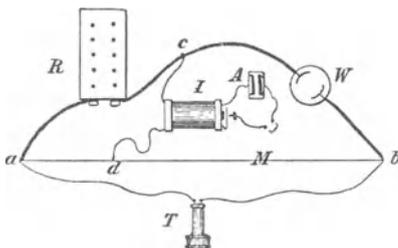


Abb. 21. Schema des Apparates zur Messung der Leitfähigkeit.

Das Induktorium wird von einem Kasten überdeckt, damit sein Ton nicht direkt hörbar ist.

Wenn sich der Widerstand *db* zu dem Widerstand *ad* verhält wie  $R : W$ , ist zwischen den Punkten *a* und *b* kein Potentialunterschied, und das Telephon schweigt. Die Messung des unbekanntes Widerstandes *W* besteht also darin, daß man die-

jenige Stellung des Schleifkontaktes  $d$  ausprobiert, bei der das Telephon schweigt oder wenigstens ein Tonminimum vorhanden ist.

Den Widerstand  $R$  kann man beliebig wählen; am vorteilhaftesten so, daß der Schleifkontakt nicht zu weit von der Mitte des Meßdrahtes entfernt ist, wenn das Telephon schweigt; dann sind die Fehlerquellen der Messung am kleinsten.

Es wird ein geprüfter Rheostat und ein gut geprüfter (eventuell mit nötigen Korrekturangaben versehener) Meßdraht als gegeben vorausgesetzt. (Siehe hierüber OSTWALD-LUTHER, Physikochemische Messungen.)

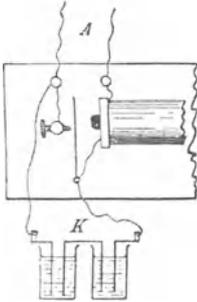


Abb. 22. Schaltung des Kondensators  $K$  als Funkentöter.

Vorteilhaft ist es, einen „Funkentöter“ an das Induktorium zu schalten. Dieser besteht aus einem Kondensator von  $\frac{1}{2}$  Mikrofarad in der Schaltung der Abb. 22 ( $K$ ).

Das Aufsuchen des Tonminimum geschieht, indem man, das Telephon am Ohr, den Gleitkontakt in pendelnder Bewegung um den Ort des Tonminimums auf- und abschiebt, die Exkursionen immer mehr einengt und so das Minimum auf möglichst weniger als 1 mm genau ermittelt. Die Güte des Tonminimum ist u. a. um so schärfer, je größer die Elektrodenfläche im „Widerstandsgefäß“,

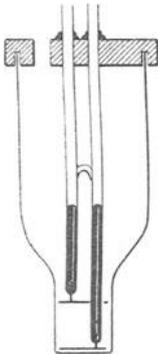


Abb. 23. Widerstandsgefäß.

aber auch, je größer der Widerstand (bis zu einer gewissen Grenze) in demselben ist. Zur Erhöhung der Oberfläche der Elektroden werden diese mit Platinschwarz überzogen.

2. Das Widerstandsgefäß hat für physiologische Zwecke am besten die nebenstehende Form von ARRHENIUS. Die Elektroden bestehen aus zwei starken, nicht biegsamen Platinblechen, die in starrer, unbeweglich fester Lage mittels starker kurzer Platindrähte an Glasröhren angeschmolzen sind. Die Platindrähte durchbohren das Glasrohr, innen werden sie mittelst eines Quecksilberkontakts und eingesteckter Kupferdrähte an den Stromkreis angeschlossen. Die Platinplatten werden zunächst mit konzentrierter  $H_2SO_4$  + Bichromat gereinigt, gewässert und dann mit Platinschwarz überzogen. Dies geschieht, indem man in das Gefäß die Platinierungsflüssigkeit nach LUMMER (1 g Platinchlorid + 0,02 g Bleiazetat auf 100 g Wasser) füllt und den Strom eines zweizelligen Akkumulators (4 Volt) unter zeitweiliger Wen-

derung des Stromes 10—15 Minuten hindurchschickt. Die Platinplatten müssen samtschwarz sein; bei Elektroden, die schon wiederholt platinirt worden sind, genügen 1—2 Minuten. Dann werden die Elektroden mit Wasser gewaschen und die letzten hartnäckig haftenden Reste des Platinsalzes dadurch reduziert, daß man das Gefäß mit verdünnter  $H_2SO_4$  füllt und wieder unter wiederholter Wendung den Strom hindurchschickt. Zum Schluß werden die Elektroden mehrere Stunden in destilliertem Wasser gewaschen, welches häufig gewechselt wird.

Da die Leitfähigkeit stark von der Temperatur abhängig ist, muß das Leitfähigkeitsgefäß in einem Wasserbad mit genau regulierter Temperatur stehen.

3. Man beginnt die Untersuchung damit, daß man den Widerstand einer sehr genau hergestellten 0,1 n. KCl-Lösung mißt. Das KCl (pro analysi, KAHLBAUM) wird vor der Abwägung schwach gegläht und nach dem Erkalten im Exsikkator gewogen. 7,44 g werden auf 1 Liter ausgekochtes und wieder abgekühltes Wasser (besser noch in Leitfähigkeitswasser, s. unten) gelöst.

Findet man den Widerstand =  $W$  Ohm, so nennt man  $\frac{1}{W}$  die Leitfähigkeit der KCl-Lösung in diesem Widerstandsgefäß. Die Leitfähigkeit muß aber bezogen werden auf ein Leitfähigkeitsgefäß von 1 qcm großen Elektroden im Abstand von 1 cm; dies ist die spezifische Leitfähigkeit der Lösung,  $\kappa$ . Die (bekannte) spezifische Leitfähigkeit dieser 0,1 n. KCl-Lösung beträgt bei  $18^\circ$  0,01119; bei  $19^\circ$  0,01143; bei  $25^\circ$  0,01288; bei  $35^\circ$  0,01539. Findet man nun in dem benutzten Gefäß bei  $18^\circ$  eine Leitfähigkeit  $\frac{1}{W}$ , so muß man diese mit  $0,01119 \cdot W$  multiplizieren, damit

0,01119 herauskommt. Mit diesem Faktor  $0,01119 \cdot W$  muß man dann jede Leitfähigkeit, die man mit diesem Gefäß mißt, multiplizieren, um die „spezifische“ Leitfähigkeit zu erhalten. Den Faktor  $0,01119 \cdot W = C$  nennt man die Kapazität des Gefäßes.  $W$  ist, wie ersichtlich, der Widerstand der 0,1 n. KCl-Lösung in dem Gefäß, gemessen in Ohm. So wird die Kapazität des Gefäßes geeicht, und diese Eichung öfters wiederholt, besonders nach einer Platinierung. Findet man z. B.  $W = 50$  Ohm, so ist die Kapazität des Gefäßes  $C = 50 \cdot 0,01119 = 0,5595$ . Mißt man dann eine unbekannte Lösung und findet ihren Widerstand z. B. = 60 Ohm, so ist die Leitfähigkeit dieser Lösung in diesem Gefäß =  $\frac{1}{60}$ , also die spezifische

Leitfähigkeit  $\kappa = \frac{1}{60} \cdot 0,5595 = 0,00933$ .

Ist die zu untersuchende Flüssigkeit die Lösung eines einheitlichen reinen chemischen Stoffes, und ist  $\kappa$  die spezifische Leitfähigkeit desselben, so heißt das: ein parallelepipedisches Stück dieser Lösung, dessen Länge 1 cm und dessen Querschnitt 1 qcm beträgt, hat einen Widerstand von  $\frac{1}{\kappa}$  Ohm. Hat die Lösung die molare Konzentration C, d. h. befinden sich im Liter C Mole des gelösten Stoffes, so befinden sich in dem Einheitsparallepid  $\frac{C}{1000}$  Mole. Wenn man  $\kappa$  durch die in dem Einheitsparallepid vorhandenen Mole der Substanz dividiert, so nennt man das die „molare Leitfähigkeit des gelösten Stoffes“,  $\mu$ . Es ist also

$$\mu = \frac{1000 \cdot \kappa}{C}.$$

Im allgemeinen ist  $\mu$  für einen gegebenen Elektrolyten nicht konstant, sondern hängt von C ab, und zwar wird  $\mu$  in der Regel größer, wenn C kleiner wird. Der Grenzwert für  $C = \frac{1}{\infty}$  wird  $\mu_{\infty}$  genannt. In der Regel mißt man die Konzentration verwirrenderweise nicht in Molen, sondern in Äquivalenten, was nur bei einwertigen Ionen identisch ist. So z. B. bezeichnet man eine Lösung von 1 Mol  $\text{CaCl}_2$  im Liter in der Regel als 2fach äquivalentnormal. Bezeichnen wir die Konzentration in Molen pro Liter, so wollen wir mit  $C_m$  bezeichnen. In diesem Fall ist die molare Leitfähigkeit  $\mu$  also

$$\mu = \frac{1000 \cdot \kappa}{C_m}.$$

Messen wir die Konzentration aber in Äquivalenten pro Liter, so nennen wir sie  $C_n$ , und die „Äquivalentleitfähigkeit“  $\lambda$  ist dementsprechend

$$\lambda = \frac{1000 \cdot \kappa}{C_n}.$$

Ebenso wie  $\mu$  von  $C_m$ , ist natürlich auch  $\lambda$  von  $C_n$  abhängig. Der Grenzwert von  $\lambda$  für  $C_n = \frac{1}{\infty}$  ist der „Grenzwert des Äquivalentleitvermögens“,  $\lambda_{\infty}$

$$\lambda_{\infty} = \lim \frac{1000 \cdot \kappa}{C_n} \text{ für } C_n = \frac{1}{\infty}.$$

Bei den starken Elektrolyten (die meisten Salze, die Säuren HCl, HNO<sub>3</sub> und einige andere Mineralsäuren; die Basen KOH, NaOH, Ba(OH)<sub>2</sub>) und sehr wenige ähnliche starke Laugen) ändert sich  $\lambda$  mit der Konzentration nur wenig, bei den schwachen Elektrolyten (z. B. Essigsäure, Ammoniak) aber sehr stark. Das zeigen folgende zwei Beispiele, deren Nachprüfung zum Gegenstand einer Übung gemacht werden mag:

(Temperatur 18° C)

HCl		
	für C = 1	$\lambda = 301$
	0,1	351
	0,01	370
	0,001	377
Essigsäure	C = 1	$\lambda = 1,32$
	0,1	4,60
	0,01	14,3
	0,001	41

Wie man sieht, nähert sich  $\lambda$  bei HCl mit steigender Verdünnung einem Grenzwert, den man durch eine Extrapolation auf  $C = \frac{1}{\infty}$  mit ausreichender Genauigkeit schätzen kann. Bei Essigsäure ist aber selbst für  $C = 0,001$   $\lambda$  immer noch so sehr im Steigen begriffen, daß eine Extrapolation auf  $C = \frac{1}{\infty}$  illusorisch wäre.

Die Ursache für die Zunahme des molaren Leitvermögens bei der Essigsäure — und allen anderen schwachen Elektrolyten — ist die Zunahme des Dissoziationsgrades mit steigender Verdünnung: nur die Ionen leiten den Strom. Die Zunahme des Leitvermögens bei HCl und allen sogenannten starken Elektrolyten (fast alle Salze; die Mineralsäuren, die starken Laugen) kann ausreichend erklärt werden, ohne daß man eine Änderung des Dissoziationsgrades mit der Verdünnung anzunehmen braucht. Die zwischen den Ionen wirkenden elektrostatischen Kräfte, welche mit zunehmender Ionenkonzentration ebenfalls zunehmen, genügen, um die Abnahme des Leitvermögens mit zunehmender Konzentration ausreichend zu erklären. Man kommt daher zu der Annahme, daß die starken Elektrolyte bei allen Konzentrationen praktisch vollkommen dissoziiert sind und daß das Äquivalentleitvermögen bei ihnen kein Maß für den Dissoziationsgrad ist. Bei den schwachen Elektrolyten treten dagegen wegen der geringen Ionenkonzentrationen die interionischen elektrostatischen Kräfte

so in den Hintergrund, daß sie zur Erklärung der Änderung des Leitvermögens mit der Konzentration nicht im Entferntesten ausreichen.

Hat die zu untersuchende Lösung eine sehr geringe spezifische Leitfähigkeit (etwa  $< 0,001$ ), so genügt zur Reinigung des Lösungswassers nicht das Austreiben der  $\text{CO}_2$  durch Kochen; auch die Leitfähigkeit der sonstigen Verunreinigungen fällt dann störend ins Gewicht. Man benutzt „Leitfähigkeitswasser“. Man benutzt für schlecht leitende Lösungen ferner nicht platinierete, sondern blanke Platinelektroden.

Die spezifische Leitfähigkeit des reinsten bekannten Wassers ist  $= 0,4 \cdot 10^{-7}$ . Zweimal destilliertes, in Silberkühlern aufgefangenes Wasser hat eine Leitfähigkeit meist nicht größer als  $2 \cdot 10^{-6}$ , was für die meisten Zwecke ausreichend rein ist. Gewöhnliches destilliertes Wasser hat je nach seinem  $\text{CO}_2$ -Gehalt Leitfähigkeiten um  $10^{-5}$ . Leitfähigkeitswasser kann in parafinierten Glasballons von KAHLBAUM bezogen werden. Bei der Entnahme muß es vor der  $\text{CO}_2$  der Luft gehütet werden.

### XIII. Messung elektromotorischer Kräfte.

Die Messung elektromotorischer Kräfte hat sich als eine Methode von unabsehbarer Fruchtbarkeit für die Biochemie erwiesen. Sie übertrifft die Leitfähigkeitsmessungen an Vielseitigkeit der Verwendungsmöglichkeit und an Eindeutigkeit der Befunde bei weitem. Sie ist die Grundlage für die Messung der  $h$ ; alle anderen Methoden der  $h$ -Messung müssen durch diese geeicht werden. Ihr Anwendungsgebiet erweitert sich ständig.

Die Entstehung der elektrischen Potentialdifferenz an der Grenze eines Metalls gegen eine Flüssigkeit kann man sich folgendermaßen vorstellen. Die Atome an der Metalloberfläche haben das Bestreben in Lösung zu gehen. Dies ist nur möglich, wenn sie ein Elektron, also eine negative elektrische Ladung, im Metall zurücklassen und selbst als positiv geladene Ionen in Lösung gehen. Eine unbeschränkte Trennung der entgegengesetzten Elektrizitäten wird aber verhindert durch die Anziehung entgegengesetzter Ladungen. Es bildet sich eine Schicht negativer Ladung auf der Metalloberfläche und in einer gewissen Entfernung davon in der Flüssigkeit eine Schicht positiv geladener Ionen. Das Gleichgewicht wird dadurch vorgeschrieben, daß der elektrolitische Lösungsdruck des Metalls durch die elektrische Gegenkraft gerade kompensiert wird. Die elektrische Gegenkraft ist der Unterschied des Potentials der beiden Schichten. Das

Potential innerhalb einer Schicht soll heißen: das Potential, welches sämtliche elektrische Ladungen beider Schichten zusammen auf einen beliebigen Punkt der einen Schicht ausüben. Alle Punkte innerhalb einer Schicht haben das gleiche Potential, aber zwischen jedem Punkt der einen Schicht und jedem Punkt der anderen Schicht besteht ein bestimmter Potentialunterschied. Dieser ist um so größer, je dichter die Schichten elektrisch belegt sind, d. h. je mehr Ionen bzw. Elektronen in 1 qcm sind, und zweitens je entfernter die Schichten voneinander sind. Eine bestimmte Potentialdifferenz kann daher auf ganz verschiedene Weise erzeugt werden. Verdoppelt man die elektrische Dichte der Schichten und halbiert gleichzeitig ihre Entfernung, so bleibt der Potentialunterschied ungeändert. Die elektromotorischen Erscheinungen werden aber nur durch den Potentialunterschied bestimmt. Wird eine elektrische Ladung durch das Metall hindurch in die Lösung transportiert, so findet diese keine elektrische Gegenkraft innerhalb des Metalls. Beim Überschreiten der Grenze gelangt sie plötzlich in einen Raum von anderem Potential. Hierbei leistet die bewegte Elektrizität Arbeit oder verbraucht Arbeit, je nachdem das Potential fällt oder zunimmt. Sobald die Grenze überschritten ist, geschieht der Transport wieder kräftefrei.

Der Potentialsprung an der Grenze hängt ab erstens von der Natur des Metalls. Je unedler dieses ist, um so größer ist die Kraft, mit der es Ionen in die Lösung zu treiben sucht. Zweitens hängt sie ab von der Konzentration der Ionen dieses Metalls, welche in der Lösung schon vorhanden ist. Je mehr Ionen in Lösung sind, um so größer ist das Widerstreben der Lösung, neue Ionen aufzunehmen. Drittens hängt der Potentialunterschied von der Temperatur ab. Der Potentialunterschied an der Grenze ist so bei einem einwertigen Metall

$$\begin{aligned} E &= - RT \ln c + C \\ &= - 0,001983 \cdot T \log c + C. \end{aligned}$$

Hier ist C die für die Metallart charakteristische Konstante, c die Konzentration der Ionen dieses Metalls in der Lösung, T die absolute Temperatur und R die Gaskonstante, welche, wenn das Potential in Volt ausgedrückt und gleichzeitig die natürlichen in dekadische Logarithmen verwandelt werden, den oben angegebenen Zahlenwert hat. Besteht eine Kette aus zwei Elektroden des gleichen Metalls, welche in zwei Lösungen von verschiedener Konzentration der zugehörigen Ionenart tauchen,

so ist die elektromotorische Kraft  $E$  gleich der Differenz der beiden Potentialsprünge, also

$$E = E_1 - E_2 = 0,001983 \cdot T \log \frac{c_2}{c_1}.$$

Vorausgesetzt ist dabei, daß an der Berührung der beiden Lösungen nicht ein neuer Potentialsprung hinzukommt. Dies kann man durch geeignete Vorrichtungen praktisch annähernd erreichen. — In den folgenden Übungen werden die Methoden und Apparate zur Messung von elektromotorischen Kräften gezeigt.

## 66. Übung.

### Herstellung eines Normalelements<sup>1)</sup>.

Ein Normalelement ist ein galvanisches Element mit genau bekannter elektromotorischer Kraft, welches als Vergleichswert zur Messung anderer elektromotorischer Kräfte benutzt wird.

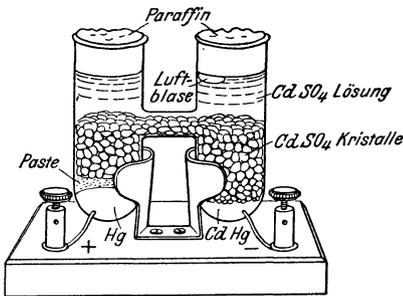


Abb. 24. Normalelement.

Das gebräuchlichste Normalelement ist das Kadmium-Normalelement. Das Gefäß dieses Elements (Abb. 24) hat eine H-förmige Form und ist mit zwei eingeschmolzenen Platindrähten versehen, die zu den Klemmschrauben führen. Man braucht zu seiner Füllung folgende Reagenzien:

1. Reines Quecksilber. Dasselbe kann aus käuflichem, reinem, destilliertem Queck-

silber folgendermaßen bereitet werden. In einer 50 ccm fassenden Flasche werden 20 ccm Quecksilber mit 20 ccm einer etwa 1 proz. Lösung von Mercuronitrat (nicht Merkurinitrat) und einigen Tropfen Salpetersäure  $\frac{1}{2}$  Stunde lang heftig geschüttelt, die Lösung vom Hg abgegossen, das Quecksilber mit destilliertem Wasser gewaschen und diese Prozedur noch einmal wiederholt. Nachdem das Hg gründlich mit destilliertem Wasser gewaschen ist, wird der Inhalt der ganzen Flasche in eine Porzellschale gegossen, das Wasser abgegossen und der Rest mit Bäuschen von Filtrierpapier aufgesaugt. Will man das Hg noch filtrieren, so geschieht das durch ein Filter, in dessen Spitze mit einer Glasnadel einige feine Löcher gebohrt sind.

<sup>1)</sup> Im wesentlichen nach OSTWALD-LUTHER: Physiko-chemische Messungen.

2. Reines Kadmium. Man bestelle es gleich in Stücken von 1—2 g, da es sich sehr schwer zerschlagen läßt. Das reinste Kadmium von KAHLBAUM war bisher immer brauchbar (d. h. absolut Zn-frei). Über die Reinheitsprüfung des Kadmium siehe OSTWALD-LUTHER, Physiko-chemische Messungen.

3. Reines Kadmiumsulfat und eine gesättigte Lösung desselben, etwa 50 ccm. Diese Lösung wird einige Tage vorher angesetzt, da die Sättigung nur langsam erfolgt.

4. Merkursulfat (nicht Merkurisulfat). Es wird von allen löslichen Hg-Salzen dadurch befreit, daß man es in einem Bechergläschen mit einigen Kubikzentimetern der Kadmiumsulfatlösung einige Minuten wäscht, dekantiert, und dies dreimal wiederholt. Zum Schluß wird die Lösung, soweit es geht, abgegossen und verworfen.

Gleichzeitig bereite man Kadmiumamalgam. Ein abgewogenes Stück Kadmium (etwa 2 g) wird mit der 6- bis 8fachen Gewichtsmenge (nicht mehr und nicht weniger!) des reinen Quecksilbers in einer Porzellanschale zusammengeschmolzen, ein wenig gekühlt und noch flüssig in den einen Schenkel des H-Gefäßes soweit eingefüllt, daß der eingeschmolzene Platindraht sehr reichlich bedeckt ist. Das Amalgam erstarrt bald. Diesen Pol des Elements markiere man sofort als den negativen.

In den anderen Schenkel wird etwa ebensoviel reines Quecksilber eingefüllt. Das währenddessen gewaschene, noch feuchte Merkursulfat wird nunmehr mit einigen Tropfen Quecksilber und ganz wenig Kadmiumsulfatlösung in einer Reibschale zu einem gleichmäßigen grauen Brei verrührt. Von diesem gieße man auf das Quecksilber (nicht auf das Amalgam!) eine etwa 5 mm hohe Schicht. Nun fülle man beide Schenkel locker mit groben Kristallstücken von Kadmiumsulfat und mit der gesättigten Kadmiumsulfatlösung. Die Öffnungen werden mit nicht überstehenden, einigermäßen schließenden Korkscheiben verschlossen. Mindestens unter einer derselben muß eine Luftblase bleiben, um Wärmeausdehnung der Flüssigkeit zu gestatten. Die Korken werden mit geschmolzenem Paraffin oder Siegellack gedichtet und gefestigt. Das Element kann sogleich benutzt werden. Es ist das Eichungsinstrument für elektromotorische Kräfte. Seine EMK beträgt bei Zimmertemperatur 1,0187 Volt und hängt innerhalb aller in Betracht kommenden Temperaturintervalle kaum von der Temperatur ab. Je nach der Reinheit der angewandten Materialien können kleine Abweichungen vorkommen; bei reinen Materialien ist der erlaubte Fehler  $\pm 0,0002$  Volt. Es kann durch Vergleich mit einem von der

physikalisch-technischen Reichsanstalt geeichten „transportablen Westonelement“ geeicht werden. Die Eichung des „Gebrauchselements“ erfolgt auf die Weise, daß mit der gleich zu beschreibenden Kompensationsmethode mit Hilfe eines amtlich geeichten Elements die EMK eines Akkumulators bestimmt wird, und dann mit Hilfe dieses Akkumulators sofort hinterher die EMK des zu prüfenden Elements. Das „Westonelement“ enthält kein überschüssiges  $\text{CdSO}_4$ , sondern bei  $4^\circ$  gesättigte Lösung. Seine EMK soll 1,0186 Volt bei Zimmertemperatur (innerhalb aller in Betracht kommenden Temperaturschwankungen) betragen. Die Haltbarkeit eines Kadmiumelements ist unbegrenzt, wenn man ihm keinen Strom entnimmt, wenn es also immer nur in ganz oder nahezu kompensierter Schaltung zur Eichung des Akkumulators benutzt wird. Ist einmal vorübergehender Kurzschluß vorgekommen, so kann die EMK um mehrere Millivolt sinken, erholt sich aber nach einigen Stunden wieder. Man benutzt zur Arbeit immer nur das selbstgefertigte Kadmiumelement. Das geeichte Westonelement dient nur zur gelegentlichen Kontrolle des Arbeitselements.

### 67. Übung.

#### Der Gebrauch des Kapillarelektrometers.

Das Kapillarelektrometer besteht aus einem Stativ mit kleinem Mikroskop (50fache Vergrößerung), dem Elektrometerrohr und dem Kurzschluß. Das Stativ (S. 158 Abb. 28) dient dazu, das Elektrometerrohr in richtiger Weise vor dem Mikroskop einstellen zu können. Als Elektrometerrohr benutzt man am besten eine geschlossene Form, wie nebenstehende Abbildung (Abb. 25). *D* ist ein Deckgläschen, welches mit Kanadabalsam aufgekittet wird. Die Dicke der Kapillare ist von größter Wichtigkeit für die Empfindlichkeit des Instrumentes. Sie soll nicht zu weit sein; aber auch nicht zu eng, weil dann das Hg oft nicht frei spielt. Vor dem Instandsetzen des Apparats wird durch geeignetes Kippen der größere Teil des Quecksilbers zunächst in das nicht zur Kugel erweiterte Glasrohr gebracht. Nunmehr halte man das Rohr fast senkrecht, so, daß das Glaskugelende nur leicht nach unten geneigt ist, und lasse so viel Quecksilber durch die Kapillare in die Kugel übertropfen, daß, wenn das Abtropfen durch plötzliches Aufrichten des Kugelendes unterbrochen wird, sein Meniskus etwa in der Mitte des Deckglases stehen bleibt. Nunmehr wird das Rohr am Stativ befestigt und so eingestellt, daß man den Meniskus scharf im Mikroskop sieht.

Künstliche Beleuchtung ist bei geeignetem Licht (Tisch am Fenster) nicht erforderlich. Die Verbindungsdrähte werden wie in dem Schema Abb. 26 geschaltet. Es müssen gut isolierte Drähte genommen werden für alle Leitungen. *c* stellt den „Kurzschluß“ dar. Er ist zweckmäßig auf dem Fuß des Stativ befestigt als ein Quecksilbertauchkontakt oder als Winkelhebelkontakt. Die mit Pfeilen bezeichneten Leitungsdrähte sind für Zu- und Abfuhr des zu messenden Stroms bestimmt; auf ihrem Wege muß sich irgendwo eine Unterbrechungsstelle befinden, die nur im Augenblick der Messung kurze Zeit (1 Sekunde und weniger) geschlossen wird. Der Kurzschluß dagegen muß dauernd ge-

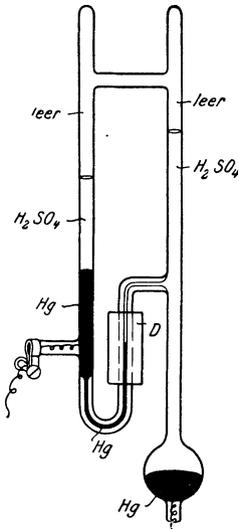


Abb. 25. Kapillarelektrometer.

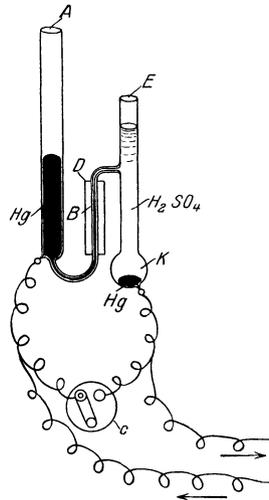


Abb. 26. Schema der Schaltung des Kapillarelektrometers.

schlossen sein und wird nur ganz unmittelbar vor jeder Messung geöffnet und nach derselben (d. h. 1 Sekunde später) wieder geschlossen. Das auf dem Stativ montierte Elektrometerrohr muß zunächst mehrere Stunden, am besten 24 Stunden, bei geschlossenem Kurzschluß stehen bleiben. Es ist brauchbar, sobald es folgende Proben besteht: 1. Wenn man den Kurzschluß öffnet (sowenig als irgend möglich mit den Fingern anfassen!), muß der Meniskus in Ruhe bleiben oder jedenfalls in einigen Sekunden keine größere Bewegung machen. 2. Wenn man vorsichtig nunmehr bei geöffnetem Kurzschluß einen schwachen Strom durchschickt, muß er sich deutlich bewegen. Einen solchen Prüfungs-

strom erzeugt man einfach folgendermaßen. Man steckt in die beiden Klemmschrauben des Kurzschlusses statt der mit Pfeilen bezeichneten Drähte (Abb. 26) zwei kurze einzelne Drähte aus ungleichem Metall (z. B. Cu-Messing oder selbst nur zwei Messingproben, oder Cu-Fe; schließlich bestehen die Klemmschrauben selber niemals aus ganz gleichem Metall) und berührt, nachdem man kurz vorher den Kurzschluß geöffnet hat, die beiden Drähte mit zwei verschiedenen, nicht allzu trocknen Fingern. Der Meniskus muß sich kräftig bewegen. Wechselt man die Drähte um, muß er sich ebenso leicht nach der anderen Seite bewegen. Man warte bei diesen Beobachtungen nicht, bis der Stand des Meniskus konstant geworden ist. Bloße Konstatierung einer Bewegung über mehrere Striche des Mikrometerokulars genügt; dann schließe man sofort wieder kurz.

Ist das Elektrometer unempfindlich, so wird es oft durch folgenden Kunstgriff empfindlicher. Man schicke einen Strom (wie oben) längere Zeit (minutenlang) hindurch in derjenigen Richtung, daß der Meniskus im Mikroskop nach oben (in Wirklichkeit nach unten) geht. (Niemals aber schicke man längere Zeit einen Strom durch, bei dem der Meniskus im Mikroskop nach unten geht; dann entwickelt sich am Meniskus eine Wasserstoffblase und das Elektrometer muß ganz von vorn wieder in Ordnung gebracht werden.) Dann schließt man wieder kurz, bis die oben angegebenen Prüfungszeichen richtig ausfallen. Bei guter Behandlung bleibt ein Meniskus über Monate brauchbar. Der Anfänger wird ihn häufig erneuern müssen.

### 68. Übung.

#### **Herstellung der Kompensationsschaltung zur Messung elektromotorischer Kräfte mit Hilfe eines Meßdrahts.**

Alle Leitungsdrähte müssen bis auf ihre Enden gut isoliert sein. Die Enden der Drähte müssen blank geputzt werden. Kontaktstellen, besonders federnde oder schleifende Kontakte (z. B. am Kurzschluß des Elektrometers in dem beschriebenen Modell) müssen gelegentlich mit einem Tropfen Petroleum befeuchtet werden.

Die Schaltung geschieht nach dem Schema Abb. 27. *A* ist ein Akkumulator, *BC* der Meßdraht (wie bei der Leitfähigkeitsmessung), *D* der Schleifkontakt. *G* ist das Kapillarelektrometer, *H* das in Frage stehende galvanische Element, in unserem Falle das Kadmiumelement. Man achte genau auf die Stellung der Pole von Akkumulator und Kadmiumelement! Anderenfalls

kompensieren sich die elektromotorischen Kräfte nicht, sondern addieren sich; das Normalelement und das Elektrometer werden auf lange Zeit unbrauchbar gemacht.

Nicht in der Abbildung gezeichnet, aber nicht zu vergessen ist ein Kontakt zum Öffnen und Schließen zwischen  $A$  und  $B$ , und ein zweiter irgendwo auf der Strecke  $DGHC$ . Der Stromkreis  $ABDCA$  heißt der Hauptstromkreis. Er wird einige Zeit vor Beginn des Versuchs geschlossen und kann am besten die ganze Zeit des Versuchs geschlossen bleiben. Die Drähte  $AB$  und  $AC$  müssen stark (1 mm) und nicht überflüssig lang sein.

Der Kreis  $DGHCD$  heißt der Nebenstromkreis. Die Drähte in demselben dürfen beliebig dünn sein.

Der Stromweg  $DGHC$  muß zunächst ungeschlossen bleiben (der Kurzschluß des Elektrometers natürlich geschlossen!);  $H$  soll also zunächst repräsentiert werden durch das Kadmiumelement. Man stelle den Schleifkontakt  $D$  etwa in die Mitte des Meßdrahtes. Das ist die Grundstellung des Apparats, von der wir immer wieder ausgehen.

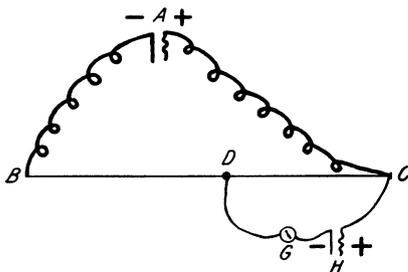


Abb. 27. Schema der Kompensationsschaltung.

## 69. Übung.

### Messung der EMK des Akkumulators.

Der Akkumulator hat frisch nach der Ladung eine EMK von merklich mehr als 2 Volt. Man lasse den Hauptstromkreis, wenn der Akkumulator frisch geladen ist, erst einige Zeit geschlossen. Dann fällt die EMK ein wenig und hält sich lange Zeit konstant gegen 2—1,85 Volt, ganz allmählich abnehmend. Sobald sie 1,85 Volt erreicht, lade man neu auf. Im Zustande mittlerer Ladung (bei etwa 2 Volt) bleibt die EMK sehr lange gleich. In diesem Zustande beginne man die Messung seiner EMK, von der Grundstellung ausgehend, folgendermaßen: 1. Schließen des Hauptstromkreises. 2. Öffnen des Elektrometerkurzschlusses, rasch beobachten, ob der Meniskus des Elektrometers in 1—2 Sekunden sich nicht ändert, dann sofort auf einen Bruchteil einer Sekunde den Nebenstromkreis schließen, indem man gleichzeitig das Elektrometer beobachtet. Sobald man die Bewegung desselben

gesehen hat, den Nebenstromkreis wieder öffnen. 3. Kurzschluß des Elektrometers wieder schließen.

Man hat nun beobachtet, ober der Meniskus nach oben oder nach unten gegangen ist. Nun verstellt man den Schleifkontakt D ein wenig, wiederholt das ganze und beobachtet, ob der Ausschlag des Elektrometers größer oder kleiner wird. Je nach dem erhaltenen Resultat verschiebt man nun den Schleifkontakt D nach der Richtung, daß der Ausschlag voraussichtlich kleiner wird, und wiederholt die Beobachtung. Man verschiebt weiter, bis der Ausschlag nach der anderen Seite erfolgt, und sucht diejenige Stelle auf, bei der der Ausschlag = 0 wird. Wird der Elektrometersausschlag kleiner und kleiner (3—4 Teilstriche des Mikrometerokulars), so kann man den Nebenstromkreis etwas länger zur Beobachtung geschlossen halten. Ist der Ausschlag nur noch spurenweise, aber erst dann, so kann man zur definitiven Aufsuchung der Nullstellung besser folgendes Verfahren anwenden: 1. Öffnen des Elektrometerkurzschlusses, 2. Schließen des Nebenstromkreises auf 2—3 Sekunden, ins Mikroskop blicken und dann den Elektrometerkurzschluß plötzlich schließen. Man sieht das Elektrometer in seine Ruhestellung zurückkehren. Dieses Zurückzucken geht schneller als das Umgekehrte, ist daher leichter zu beobachten. Dann sofort wieder den Nebenstromkreis öffnen. Mit diesem Verfahren findet man die wirkliche Nullstellung innerhalb eines Bruchteiles eines Millimeters des Meßdrahtes genau.

Ein gut empfindliches Elektrometer soll, wenn die Stellung um 1 mm von der Nullstellung entfernt ist, einen Ausschlag von 2—4 Teilstrichen des Okularmikrometers geben. Man prüfe hiernach die Empfindlichkeit des Elektrometers gelegentlich.

Berechnung des Versuchs. Da der Widerstand  $AB + AC$  gegenüber dem Meßdraht vernachlässigt werden kann, ist zwischen B und C dieselbe Potentialdifferenz, wie zwischen den Klemmen des Akkumulators,  $E_{Acc}$ . Es ist nun bei Nullstellung die EMK des Kadmiumelements,  $E_{Cad}$ , gleich der Potentialdifferenz zwischen D und C ( $E_{DC}$ ).

Nun ist

$$E_{DC} : E_{BC} = \text{Länge}_{DC} : \text{Länge}_{BC}.$$

Also die gesuchte EMK des Akkumulators,  $E_{BC}$

$$E_{BC} = E_{DC} \cdot \frac{\text{Länge}_{BC}}{\text{Länge}_{DC}}$$

oder

$$E_{Acc} = E_{Cad} \cdot \frac{BC}{DC}$$

(Man beachte, daß hier das Verhältnis  $BC : DC$  maßgeblich ist, während bei der Leitfähigkeitsmessung  $BD : DC$  gesucht wird!) Ist also z. B.

$E_{\text{Cad}} = 1,0185 \text{ Volt}$ ,  $BC = 1000 \text{ mm}$ ,  $DC = 555,5 \text{ mm}$ ,  
so ist

$$E_{\text{Acc}} = 1,0185 \cdot 1000 : 555,5 = 1,8335 \text{ Volt.}$$

### 70. Übung.

#### Der Gebrauch der Rheostaten mit Vorschaltwiderstand<sup>1)</sup>.

##### Direkte Ablesung der Millivolt.

Wer viel Messungen macht, dem sei folgendes Verfahren empfohlen: An Stelle des Meßdrahtes BDC in Abb. 27 benutze man zwei Rheostatenkästen in der Schaltung der Abb. 28. Jeder Kasten hat einen Satz von 1, 2, 2, 5, 10, 20, 20, 50, 100, 100, 200, 500 Ohm (zusammen 1110 Ohm). Die Stöpsel des linken Rheostaten entferne man vor der Messung völlig. Wenn man jetzt z. B. den 50-Ohmstöpsel des rechten Kastens auf die entsprechende Stelle des linken steckt, ist es dasselbe, als wenn man an einem 1110 mm langen Meßdraht den Schleifkontakt von seinem äußersten rechten Ende 50 mm nach links gerückt hätte. Jedes Ohm, welches man vom rechten Kasten zum linken befördert, bewirkt, daß der Potentialabfall zwischen D und C um  $\frac{1}{1110}$  des ganzen Akkumulatorwertes vermehrt wird. Der Abfall zwischen D und C ist also den aus dem rechten Kasten in den linken übertragenen Ohmzahlen proportional. Man kann diesen Proportionalitätsfaktor der Bequemlichkeit wegen so einrichten, daß jedes Ohm ein Millivolt bedeutet. Zu diesem Zweck braucht man nur die EMK des Akkumulators durch einen zwischen A und B (Abb. 27) eingeschalteten Vorhaltwiderstand so zu schwächen, daß, wenn 1018,5 Ohm nach links herübergestöpselt sind, gegen das Kadmiumelement Stromlosigkeit herrscht. Der Vorschaltwiderstand ist ein regulierbarer Gleitwiderstand von insgesamt 1500—2500 Ohm (Abb. 28), mit einer groben und einer feinen Regulierung, ohne sonstige Kalibrierung. Man verfährt also folgendermaßen:

Man entfernt alle Stöpsel des linken Rheostaten und bringt 1018 Ohm von rechts nach links. Man stellt zunächst den Vorschaltwiderstand etwa in mittlerer Stellung des Gleitkontaktes

<sup>1)</sup> MICHAELIS, L.: Die Wasserstoffionenkonzentration, 2. Aufl. Berlin: Julius Springer 1922.

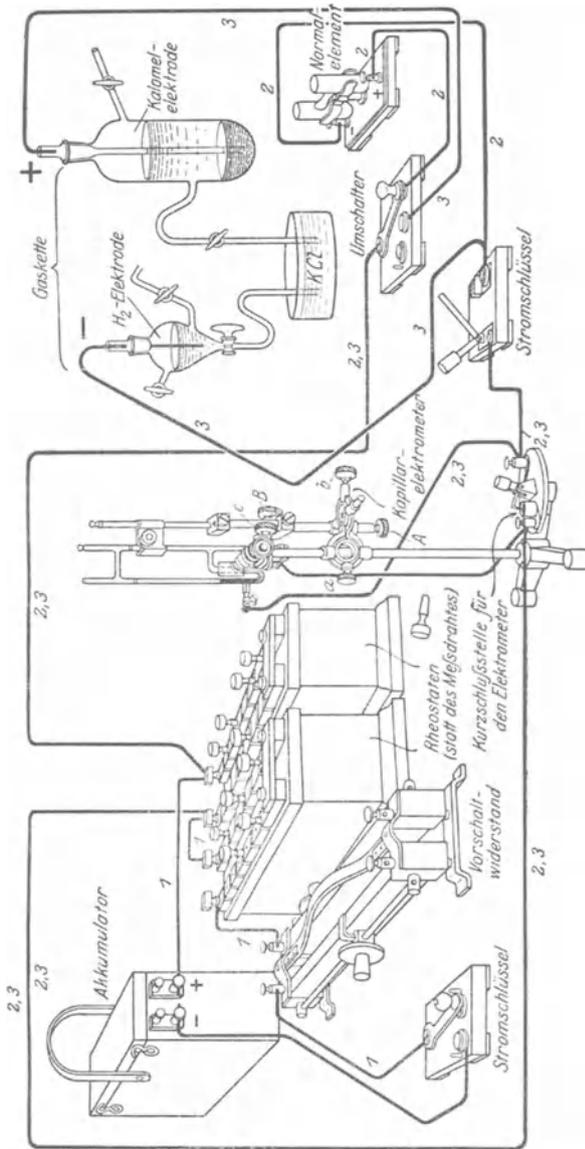


Abb. 28. Halbschematische Darstellung der Kompensationseinrichtung mit Rheostatenkästen und Vorschaltwiderstand. Als das zu messende galvanische Element ist eine „Gaskette“ gezeichnet, bestehend aus einer Wasserstoffelektrode (Birnforn) und einer Kalomelektrode.

ein und macht wie früher eine Ablesung am Kapillarelektrometer. Man sucht nun diejenige Stellung des Vorschaltwiderstandes heraus, bei welcher Stromlosigkeit ist. Genauer: man sucht diejenige Stellung, bei der die Stöpselung 1018 Ohm einen kleinen Ausschlag des Elektrometers in der einen Richtung, 1019 einen ebensolchen in der anderen Richtung gibt. Wenn man so arbeitet, braucht man niemals die EMK des Akkumulators selbst zu kennen. Man reguliert nur immer den Vorschaltwiderstand, daß er der obigen Bedingung genügt. Dann bedeutet bei den nunmehr folgenden Messungen unbekannter elektromotorischer Kräfte, welche an die Stelle des Kadmiumelements gesetzt werden, jedes Ohm, das von rechts nach links gesetzt werden muß, um Ruhe des Elektrometers zu erreichen, genau ein Millivolt. Die Zehntel-Millivolt werden geschätzt. Hiermit ist der Apparat für die Messung einer beliebigen EMK vorbereitet.

Eine noch feinere Abstufung erhält man auf folgende Weise. Zwischen die beiden Rheostaten wird in den Stromkreis noch ein Meßdraht mit Gleitkontakt eingeschaltet, von derselben Art wie der Meßdraht des Leitfähigkeitsapparats, aber viel kürzer. Die ganze Länge des Meßdrahts hat einen Widerstand von 1 Ohm (oder auch 2 Ohm), die Skala ist in  $\frac{1}{10}$  Ohm eingeteilt. Die eine Abzweigung des Nebenstromkreises beginnt dann nicht, wie in Abb. 28, an der Klemmschraube des Rheostaten, sondern an dem Gleitkontakt des Meßdrahts. Durch Verschieben des Gleitkontaktes können Bruchteile eines Ohms verteilt werden. Ein solcher Meßdraht kann aus einem Holzbrett, einem Stück Nickelin- oder Konstantandraht von 0,5—1 mm Dicke, welches zu einem Gesamtwiderstand von 1 Ohm (oder 2 Ohm) bemessen und an zwei Kupferbleche angelötet ist, leicht improvisiert werden. Der Gleitkontakt kann durch die Kante eines Messingblechs dargestellt werden, welcher an einem Holzklötz, denselben etwas überragend, aufgenagelt ist.

## 71. Übung.

### Herstellung von Kalomelelektroden und Cl-Konzentrationsketten mit solchen.

Eine Kalomelelektrode nennt man eine Elektrode aus Quecksilber, welches irgendeine mit Kalomel gesättigte Flüssigkeit berührt. Das Potential einer solchen Elektrode hängt von der Zusammensetzung dieser Flüssigkeit ab. Wir wählen als Flüssigkeit zunächst eine 0,1 normale KCl-Lösung. Reinstes KCl (pro analysi, KAHLBAUM) wird kurz schwach gegläht. Nach dem Erkalten im Exsikkator werden 74,56 g in Wasser gelöst und genau auf einen Liter (im Meßkolben) aufgelöst. Dies ist eine normale Lösung, von der man durch sehr genaues Verdünnen eine 10fache Verdünnung herstellt.

Als Elektrodengefäß benutzt man die nebenstehende Form (Abb. 29). Der Boden des Gefäßes wird mit einer Schicht reinen Quecksilbers (Reinigung s. S. 150) gefüllt, so weit, daß der Platinkontakt gut untertaucht. Es ist zu empfehlen, diesen Platinkontakt vorher zu amalgamieren. Es kommt leicht vor, daß das blanke Platin, trotzdem es unter das Quecksilber taucht, durch eine kapillare Schicht von Flüssigkeit mit der über das Quecksilber zu schichtenden Lösung in Berührung tritt. Dann

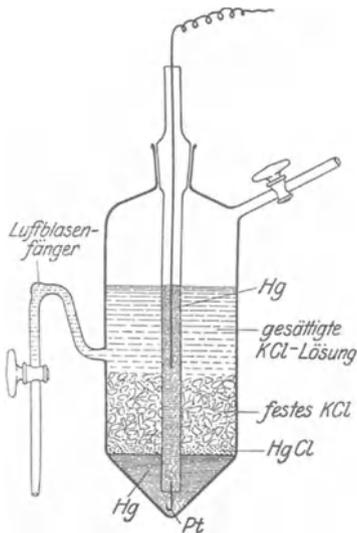


Abb. 29. Kalomelektrode.  
Als Füllung ist die der „gesättigten“ Kalomelektrode dargestellt (siehe 75. Übung). Hier wäre an Stelle von „gesättigte KCl-Lösung“ zu setzen: „0,1 n. KCl-Lösung“, und die Schicht „festes KCl“ würde fortfallen.

erhält man oft um mehrere Millivolt falsche oder schwankende Potentiale. Diese Amalgamierung geschieht folgendermaßen. Der Platinkontakt wird in konzentrierter Schwefelsäure gereinigt und gewaschen und als Kathode in ein Gefäß mit einer Lösung von 1 vH. Merkuronitrat mit einigen Tropfen  $\text{HNO}_3$  gesteckt, während als Anode eine kleine Platinelektrode fungiert. Nun wird der Strom eines einzelligen (2 Volt) Akkumulators ganz kurze Zeit hindurchgeschickt, nicht länger als bis das Platin von einer grauen Quecksilberschicht soeben überzogen scheint (1 Minute). Amalgamiert man zu lange oder mit zu starkem Strom, so haftet das Quecksilber nicht, sondern setzt sich in glänzenden Tropfen ab. Nun wird in Wasser abgewaschen und durch Absaugen mit Fließpapier vorsichtig getrocknet. Der Platinkontakt wird jetzt in das Elektrodengefäß eingesetzt, der Glasschliff gefettet.

Nun wasche man ein kleines Löffelchen voll Kalomel (das Präparat der Apotheken, oder von KAHLBAUM) in einer Schale mit etwa 30 ccm der später anzuwendenden (also 0,1 n) KCl-Lösung einige Minuten unter Umrühren mit einem Glasstab, lasse dann das Kalomel sich möglichst absetzen, gieße die Lösung ab und wiederhole das Waschen 5—6 mal. Zum Schluß wird es mit etwas KCl-Lösung in das Elektrodengefäß hineingesogen. Der Pt-Kontaktstößel wird dabei am besten nicht herausgenommen,

erhält man oft um mehrere Millivolt falsche oder schwankende Potentiale. Diese Amalgamierung geschieht folgendermaßen. Der Platinkontakt wird in konzentrierter Schwefelsäure gereinigt und gewaschen und als Kathode in ein Gefäß mit einer Lösung von 1 vH. Merkuronitrat mit einigen Tropfen  $\text{HNO}_3$  gesteckt, während als Anode eine kleine Platinelektrode fungiert. Nun wird der Strom eines einzelligen (2 Volt) Akkumulators ganz kurze Zeit hindurchgeschickt, nicht länger als bis das Platin von einer grauen Quecksilberschicht soeben überzogen scheint (1 Minute). Amalgamiert man zu lange oder mit zu starkem Strom, so haftet das Quecksilber nicht, sondern setzt sich in glänzenden Tropfen ab. Nun wird in Wasser abgewaschen und durch Absaugen mit Fließpapier vor-

um die Platinspitze nicht zu verschmieren. Nachdem das Kalomel sich gesenkt hat (es braucht nur eine Schicht von minimaler Dicke zu bilden), saugt man das Gefäß mit der KCl-Lösung fast voll. Das Abflußrohr muß luftblasenfrei gefüllt sein. Man schließt den Hahn und stellt die Elektrode sofort an einem Stativ so auf, daß das Abflußrohr in eine Lösung von 0,1 n. KCl taucht.

Es soll nun eine Konzentrationskette zwischen einer solchen und einer mit einer anderen Lösung hergestellten Kalomelektrode gemacht werden. Wir wählen als zweite Lösung folgende Mischung: n. KCl-Lösung 2,00 ccm; n. KNO<sub>3</sub>-Lösung (pro analysi, KAHLBAUM, völlig Cl-frei!) 18,0 ccm, destilliertes Wasser auf 200 ccm aufgefüllt. Weiter unten wird erörtert werden, was das Lehrreiche gerade dieser Mischung ist.

Die Elektrode wird genau so wie die erste hergestellt, das Kalomel mit der neuen Lösung statt mit der früheren gewaschen. Man kann aber auch, wenn man einmal eine Elektrode mit einer kostbaren Versuchsflüssigkeit machen will, das Kalomel erst 5—6 mal mit destilliertem Wasser und dann nur noch 3 mal mit der eigentlichen Lösung waschen. Man kann dann auch ebensogut Elektrodengefäße der gleichen Form mit nur 1—1,5 ccm Fassungsraum nehmen und reicht dann einschließlich des Waschens mit 5—10 ccm Flüssigkeit völlig aus.

Man montiere nun die beiden Kalomelektroden so, daß ihre Ausflußöffnungen in ein Gefäß mit gesättigter KCl-Lösung tauchen. Diese „Konzentrationskette“ setzt man nun in den Apparat zur Messung der EMK an Stelle des Kadmiumentments, und zwar so, daß die Cl-ärmere Lösung dem positiven Pol des Kadmiumentments entspricht. Dann mißt man die EMK.

Arbeitet man mit dem Meßdraht (Abb. 27), so schiebt man den Gleitkontakt so, daß Stromlosigkeit besteht. Dann ist die gesuchte elektromotorische Kraft

$$E = E_{\text{Acc}} \cdot \frac{DC}{BC}.$$

Arbeitet man mit Rheostaten und Vorschaltwiderstand (Fig. 28), ist die EMK einfach gleich der Zahl der nach links herübergestöpselten Ohm.

Das Resultat muß sein: 0,0577 Volt, wenn die Messung bei 18° geschah; oder allgemeiner

bei 15° 0,0571	bei 18° 0,0577	bei 21° 0,0583
„ 16° 0,0573	„ 19° 0,0579	„ 22° 0,0585
„ 17° 0,0575	„ 20° 0,0581	„ 23° 0,0587.

Die erlaubte Fehlergrenze ist  $\pm 0,0005$  Volt. Der Ungeübte wird sich mit  $\pm 0,001$  Volt begnügen dürfen. Beispielsweise wurde gefunden: bei  $16^\circ$   $0,0575$  Volt.

Das Potential wird alle 5 Minuten gemessen und die Messungen so lange fortgesetzt, bis sie 3 mal hintereinander konstant bleiben. Man überzeuge sich, daß sie sich dann auch 1 und 2 Stunden später nicht geändert hat. Bei richtigem Arbeiten, besonders wenn der Platinkontakt unter dem Quecksilber amalgamiert war und beim Einfüllen des Kalomels und der Lösung nicht herausgehoben worden ist, stellt sich gleich zu Anfang das definitive Potential mit großer Schärfe ein; langsamere Einstellung (1 Stunde!) kommt allerdings auch vor. Jedenfalls muß die EMK sich kontinuierlich einem definitiven Endwert nähern, wenn die Elektroden in völliger Ruhe stehen. Andernfalls liegen Kontaktfehler, unreines Quecksilber oder dgl. vor, und die Messung ist zu verwerfen.

Die obigen Lösungen wurden für diese Übung deshalb gewählt, weil ihr Resultat theoretisch wichtig ist. Der Cl-Gehalt in den beiden Lösungen verhält sich wie 1 : 10. Da beide Lösungen die gleiche Konzentration an K<sup>+</sup> besitzen, ist auch der Dissoziationsgrad des Cl in beiden Lösungen gleich, und daher verhält sich auch die Konzentration der Cl-Ionen wie 1 : 10. Nach NERNST ist nun die EMK einer Konzentrationskette

$$E = RT \ln \frac{c_1}{c_2},$$

wo  $c_1$  und  $c_2$  die Konzentrationen der stromerzeugenden Ionen bedeuten, R die Gaskonstante, T die Temperatur vom absoluten Nullpunkt gerechnet. Für  $18^\circ$  und unter Umwandlung in dekadische Logarithmen wird daraus

$$E = 0,0577 \cdot \log \frac{c_1}{c_2} \text{ Volt.}$$

Ist  $c_1 : c_2 = 10 : 1$ , so ist  $\log (c_1 : c_2) = 1$  und  $E = 0,0577$  Volt. Diese charakteristische Zahl sollte hier im Experiment vorgeführt werden.

Die stromerzeugenden Ionen sind eigentlich nicht die Cl-Ionen, sondern die Hg-Ionen aus dem gelösten Kalomel. Da aber die Löslichkeit des Kalomel der Cl-Ionenkonzentration umgekehrt proportional ist, kann man die beobachtete elektromotorische Wirkung ebensogut auf die Cl-Ionen beziehen (Elektroden zweiter Ordnung).

Als zweites Beispiel für eine Cl-Konzentrationskette nehme man als die eine Elektrode wiederum die Kalomelektrode mit 0,1 normal KCl, die andere fülle man mit einer Lösung von 0,25 ccm 0,1 n. KCl, 20 ccm n.  $\text{KNO}_3$ , mit (Cl-freiem!) destilliertem Wasser aufgefüllt auf 200 ccm. Dies ist also eine Lösung von 0,000125 n. KCl in 0,1 n.  $\text{KNO}_3$ . Da der Kaliumgehalt beider Lösungen annähernd gleich ist, ist auch der Dissoziationsgrad des KCl gleich. Die Cl-Ionen-Konzentrationen in beiden stehen daher in demselben Verhältnis zueinander wie die Konzentrationen an KCl. Überlegen wir uns erst, welche EMK dieser Kette wir z. B. für  $17,5^\circ \text{C}$  zu erwarten haben. Es muß sein:

$$E = 0,0576 \cdot \log \frac{c_1}{c_2},$$

wo  $c_1$  und  $c_2$  die beiden KCl-Konzentrationen bedeuten.  $\frac{c_1}{c_2}$  ist in unserem Fall = 0,00125, also  $E = 0,0576 \cdot (0,097 - 3) = -0,1672$  Volt. Gefunden wurde, wenn als positiver Pol die Cl-ärmere Lösung angesetzt wurde, z. B.:

sofort nach Ansetzung der Kette	. . .	0,1635	Volt
nach 15 Minuten	. . . . .	0,1655	„
„ 30	„ . . . . .	0,1660	„
„ 1 Stunde und weiterhin konstant	.	0,1666	„

Also innerhalb etwa eines halben Millivolts der erwartete Wert.

Das negative Vorzeichen bei 0,1672 Volt rührt von der willkürlichen Definition der positiven Stromrichtung her. Würden wir als  $c_1$  die stärkere, als  $c_2$  die schwächere Cl-Lösung bezeichnen, so erhielten wir + 0,1672 Volt, da

$$\log \frac{c_1}{c_2} = - \log \frac{c_2}{c_1}.$$

Man kann die Konzentrationskette auch umgekehrt dazu benutzen, um den Cl-Ionengehalt einer Lösung zu bestimmen.

## 72. Übung.

### Elektrometrische Bestimmung der Cl-Ionen in einer unbekanntem Lösung.

Als „unbekannte Lösung“ benutze man eine KCl-Lösung, die von einem anderen Laboranten durch Verdünnung aus der 0,1 n. KCl-Lösung hergestellt worden ist, mit der Anweisung, er möge die Lösung zwischen 0,1 n. und 0,00001 n. machen. Man

lasse sich von dieser (natürlich in größerer Menge hergestellten) Lösung nicht mehr als etwa 8—10 ccm zur Analyse übergeben, um den Bedürfnissen einer Mikroanalyse im Ernstfall gerecht zu werden.

Man verdünnt die erhaltene Lösung genau mit  $\frac{1}{9}$  ihres Volumens mit  $\frac{1}{1}$  n.  $\text{KNO}_3$ -Lösung (die man vorher auf Cl-Freiheit geprüft hat), damit der Dissoziationsgrad<sup>1)</sup> des Cl in dieser Lösung derselbe sei wie in der 0,1 n.  $\text{KCl}$ -Lösung, die man als Vergleichsflüssigkeit für die zweite Elektrode benutzt. Man wasche etwas Kalomel 8—10 mal mit destilliertem Wasser. Es genügt, wenn nach dem Waschen ein kleines Messerspitzen voll Kalomel übrig bleibt. Dieses wasche man noch 3—4 mal mit je 1—1,5 ccm der zu untersuchenden Lösung, rühre jedesmal gut um und gieße jedesmal so weit ab wie möglich. Schließlich gießt man den Rest der Lösung auf das Kalomel und saugt diese Flüssigkeit in die Mikroelektrode (wie Abb. 29, nur ohne Hahn am Ausflußrohr) mit einem Fassungsraum von 1—1,5 ccm, nachdem sie vorher mit ein wenig reinem Quecksilber beschickt ist. Man läßt das mitgesaugte Kalomel absetzen und die Flüssigkeit wieder in dieselbe Schale auslaufen. Man saugt nochmals ein und saugt wieder etwas Kalomel mit. Dies wiederholt man, bis nach dem Absetzen über dem Quecksilber überall eine wenn auch dünne Schicht Kalomel liegt. (Eine dicke Schicht Kalomel zu haben ist unvorteilhaft. Sie verschmiert leicht den Kontakt zwischen dem Quecksilber und dem eintauchenden Platindraht.) Nun setze man mit einer 0,1 n.  $\text{KCl}$ -Kalomelelektrode als zweiter Elektrode eine Konzentrationskette wie in Übung 71 an und bestimme die EMK.

Es ist ratsam, die Mikroelektrode nicht direkt in die gesättigte Kalomellösung tauchen zu lassen. Bei sehr niederem Cl-Gehalt könnte bei der kleinen Elektrodenform doch durch eine Strömung eine Spur in die Elektrode geraten und die Bestimmung fälschen. Man benutze in solchem Falle lieber eine gesättigte Lösung von Ammonnitrat. Hat man noch genug von der zu untersuchenden mit  $\text{KNO}_3$  versetzten Lösung übrig, so kann man besser diese nehmen, um die Mikroelektrode in sie einzutauchen. Die 0,1 n. Elektrode taucht man dann in 0,1 n.  $\text{KCl}$ -Lösung und verbindet die beiden Gefäße durch einen kleinen Glasheber, der mit einer Gallerte aus gesättigter  $\text{KCl}$ -Lösung + 3 vH. Agar (im Dampfkochtopf zusammengekocht) gefüllt ist.

<sup>1)</sup> Besser sollte man sagen: „Der Aktivitätsgrad der Cl-Ionen“ im Sinne der BJERRUMSchen Ionenaktivitätstheorie.

Nun mißt man die EMK wie in Übung 71. Die Berechnung geschieht nach der Formel

$$E = 0,0577 \cdot \log \frac{c_1}{c_2},$$

wenn bei 18° gemessen wurde. Andernfalls setzt man für 0,0577 die S. 161 stehenden Werte ein.  $c_1$  bedeutet die Cl-Konzentration der bekannten,  $c_2$  die der unbekanntem Lösung. Wir schreiben die Gleichung in der Form

$$\log \frac{c_1}{c_2} = \frac{E}{0,0577}.$$

Angenommen, es sei gefunden  $E = 0,1646$  Volt bei 16,5°. Dann ist

$$\log \frac{c_1}{c_2} = \frac{0,1646}{0,0574} = 2,868$$

und daher  $\frac{c_1}{c_2} = 738$ .

$c_1$  ist = 0,1, also ist  $c_2 = \frac{1}{7380}$  normal = 0,0001356 normal.

Das Resultat muß um 10 vH. seines Wertes vermehrt werden wegen der Verdünnung mit der  $\text{KNO}_3$ ; das definitive Resultat ist: 0,000149 normale Cl-Lösung. In Wirklichkeit war die Lösung als eine 0,000138 normale KCl-Lösung hergestellt worden; also ein Fehler von + 8 vH.

Ein Fehler in der Messung von 2 Millivolt bewirkt einen Fehler von etwa 10 vH. des Gesamtwertes. Ein solcher Fehler kann bei einer Mikromessung sowohl nach oben wie nach unten leicht vorkommen; + 10 vH. Fehler kann man als nicht sicher vermeidbar betrachten; der Ungeübte wird auch leicht Fehler von  $\pm 20$  vH. erhalten. Die hier gewählte Cl-Menge steht nicht weit vor der praktisch erreichbaren unteren Grenze, wenn man Wert auf Genauigkeit legt. Wenn man insgesamt 5 ccm Lösung verbraucht, was leicht durchführbar ist, kann man 0,000002 g Cl als die untere Grenze der mit der angegebenen Genauigkeit bestimmbaren Cl-Menge betrachten.

Will man mit dieser Elektrode eine neue Messung machen, so ist unbedingt notwendig, sie ganz auseinander zu nehmen, zu reinigen, zu trocknen (besonders die Platinspitze!) und von neuem zu füllen. Insbesondere ist die Amalgamierung der Platinspitze (s. S. 160) bei diesen Mikroelektroden dringend zu empfehlen.

## 73. Übung.

**Messung eines Diffusionspotentials; seine experimentelle Vernichtung.**

An der Berührungsstelle zweier verschiedener Flüssigkeiten herrscht eine Potentialdifferenz, welche von Menge und Art der Elektrolyte abhängt. Da man diese Potentialdifferenz nur dadurch messen kann, daß man sie mit zwei metallischen Elektroden ableitet, diese aber selber verschiedene Potentiale gegen die beiden Lösungen haben, so kommt das Diffusionspotential in einer Kette in der Regel nur als Summand der gesamten EMK der Kette zur Geltung. Wir wollen einen Fall zur Übung aufstellen, wo man das reine Diffusionspotential messen kann.

Man fülle zwei Kalomelelektroden, die eine mit 0,1 n. KCl, die andere mit 0,1 HCl. Da die Konzentrationen der Cl-Ionen in beiden Lösungen gleich sind, heben sich die Elektrodenpotentiale auf und es bleibt allein das Diffusionspotential übrig. Man tauche die Abflußöffnungen beider Elektroden in eine Schale, welche eine dieser beiden Flüssigkeiten enthält, gleichgültig, welche von beiden, und messe das Potential. Zu erwarten ist für diesen Fall für 18°

$$E = 0,0577 \cdot \log \frac{u_1 + v}{u_2 + v} \text{ Volt.}$$

$u_1$  ist die Wanderungsgeschwindigkeit des Kation des einen Elektrolyten,  $u_2$  die des anderen, und  $v$  die des (gemeinschaftlichen) Anions. Es beträgt

$$\begin{array}{l} \text{für HCl} \quad u_1 = 330 \\ \text{für KCl} \quad u_2 = 65 \end{array} \quad v = 65,$$

$$\text{also} \quad E = 0,0577 \cdot \log \frac{395}{130} = 0,0271 \text{ Volt.}$$

Diesen Wert wird man bei der Messung innerhalb 1 Millivolt genau auch finden (gefunden wurde z. B. 0,0275 Volt).

Nunmehr ändere man nichts weiter, als daß man als Verbindungsflüssigkeit beider Elektroden nicht eine der Elektrodenlösungen benutzt, sondern gesättigte Lösung von KCl, und messe nochmals: die EMK der Kette ist auf 0,0015 Volt gesunken. Zwischenschalten von gesättigter KCl-Lösung vermindert alle Diffusionspotentiale. KCl ist durch NaCl nicht mit gleichem Erfolg ersetzbar (K' und Cl' haben gleiche Wanderungsgeschwindigkeit, nicht aber Na' und Cl').

Das hier gezeigte Diffusionspotential von 27 Millivolt ist für ein Diffusionspotential besonders groß. Die meisten, gewöhnlich vorkommenden Diffusionspotentiale werden durch Zwischenschaltung von gesättigter KCl-Lösung praktisch = 0 gemacht.

## 74. Übung.

### Wasserstoffkonzentrationskette mit strömendem Wasserstoff.

Mit Wasserstoffgas beladenes Platinschwarz hat die elektromotorischen Eigenschaften, als ob es aus metallischem Wasserstoff bestünde. Auf diese Weise kann man Wasserstoffionen-Konzentrationsketten herstellen. Die Form der Elektroden ist je nach den Umständen verschieden zu wählen. Wir wollen als erste Übung die EMK einer  $H^+$ -Konzentrationskette zwischen folgenden zwei Lösungen messen.

1. 0,5 ccm nHCl + 19,5 nKCl + 180 ccm destilliertes Wasser, d. h. eine Lösung von 0,0027 nHCl, welche insgesamt einen Cl-Gehalt von 0,1 n hat. 2. 50 ccm nNaOH + 100 ccm n-Essigsäure + 350 ccm Wasser, d. h. eine Lösung von 0,1 n-Essigsäure + 0,1 n-Natriumazetat („Standardazetat“).



Abb. 30. Wasserstoffelektrode. Birnenform.  $\frac{1}{3}$  nat. Größe.

Man benutze birnenförmige<sup>1)</sup> Elektrodengefäße nach Art der Abb. 30. Die Platinelektrode, in Form eines Platindrahtes, ist an dem eingeschlifften Glasstöpsel befestigt. Sie muß zunächst mit Platinschwarz überzogen werden. In ein kleines Gefäßchen (Abb. 31, oder besser das mit möglichster Ersparnis an Platin gebaute, ebensogut funktionierende Gefäß wie Abb. 32) füllt man etwa 10 ccm einer Lösung von 1 g Platinchlorid + 0,007 g Bleiazetat in 30 ccm Wasser und bringt in diese eine kleine Hilfelektrode aus Platin, welche man mit dem positiven Pol eines 4-Volt-Akkumulators verbindet. In dem Modell Fig. 32 ist die Hilfelektrode in Form einer Platinspitze in die untere Gefäß-

<sup>1)</sup> MICHAELIS, L. und GYEMANT, A.: Biochem. Zeitschr. 109, 165. 1920.

wand eingeschmolzen. Die zu platinierende Platinelektrode dagegen wird zuerst mit konzentrierter Schwefelsäure gereinigt und mit destilliertem Wasser gut abgespült, mit dem negativen Pol des Akkumulators verbunden und in die Platinlösung untergetaucht. Sie überzieht sich unter mäßiger Gasentwicklung bald mit einer samt-schwarzen Schicht von Platinschwarz. Bei neuen

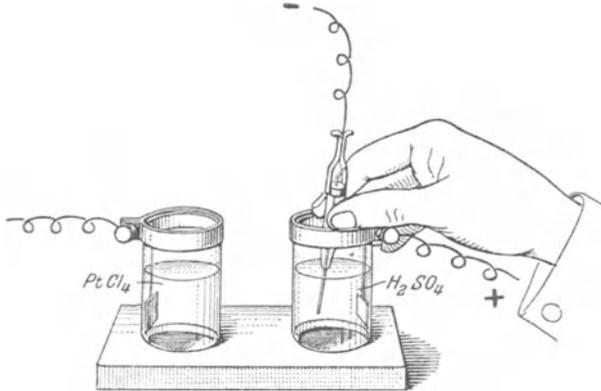


Abb. 31.

Abb. 31 und 32. Zwei Modelle für Platinierungsgefäße.

Elektroden erfordert das bis 5 Minuten, bei schon gebrauchten 1 Minute. Dann wird die Elektrode mit destilliertem Wasser gut ausgewaschen und in einem zweiten elektrolytischen Trog sofort genau ebenso, wie soeben in der Platinlösung, in verdünnter Schwefelsäure behandelt. Es tritt lebhaft Gasentwicklung ein. Stromrichtung gut beachten!

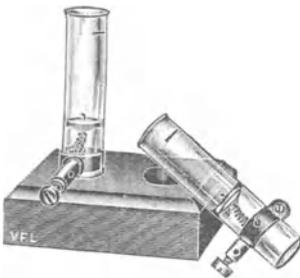


Abb. 32.

Dann wird die Elektrode mit Wasser gut ausgewaschen, in das Elektrodengefäß luftdicht (Schliff trocken und etwas fetten!) eingesetzt und in der Elektrode in mehrfach gewechseltem Wasser 1 Stunde lang weiter gewässert. Dann ist die Elektrode gebrauchsfertig. Die Platinierung muß in der Regel nach einigen Wochen

erneuert werden. Im unbenutzten Zustand müssen alle platinieren Platinelektroden mit destilliertem Wasser gefüllt aufbewahrt werden. Sie sollen niemals ganz trocken werden.

In die eine derartige Elektrode füllt man die eine Lösung, in die andere die andere Lösung ein, indem man die Flüssigkeit bei geeigneter Stellung der Hähne aus einer kleinen Schale einsaugt. Die erste Füllung läßt man wieder auslaufen und erneuert sie, des Auswaschens wegen, noch einmal. Man achte darauf, daß das Abflußrohr, besonders unter dem Glashahn, luftblasenfrei gefüllt ist. Man läßt die Flüssigkeit dann so weit ausfließen, daß der Platindraht zur Hälfte eintaucht und befestigt das Gefäß an einem Stativ. Der Abflußhahn bleibt von jetzt ab vorläufig geschlossen. Nun leitet man Wasserstoff ein. Derselbe wird aus As-freiem Zink und verdünnter Schwefelsäure mit etwas  $\text{CuSO}_4$  oder einigen Tropfen Platinchlorid entwickelt, mit 2proz. Lösung von  $\text{KMnO}_4$  und dann mit konzentrierter Sublimatlösung gewaschen, eventuell noch durch eine dritte Waschflasche, die mit  $\text{NaOH}$  gefüllt ist<sup>1)</sup>, geschickt, und durch den linken (Abb. 30) Glashahn zugeführt, aus dem rechten Hahn abgeleitet. Das Gas perlt durch die Flüssigkeit, treibt ihren Sauerstoff aus, löst sich selbst bis zur Sättigung und erfüllt den Gasraum. Der Gasstrom soll ziemlich lebhaft sein, 3—5 Blasen in der Sekunde. Nach etwa 3 Minuten schließt man erst den abführenden, dann den zuführenden Hahn. Man nimmt den  $\text{H}_2$ -zuführenden Gummischlauch von der Birnenelektrode ab und dreht diese in ihrem „Drehstativ“ (Abb. 33) 30—50 mal um sich selbst. Dies hat den Zweck, das Gleichgewicht zwischen der  $\text{H}_2$ -Atmosphäre und der Lösung zu beschleunigen. Man könnte meinen, daß die bloße Durchströmung mit Wasserstoff dazu genügt, und in der Tat ist das auch meist der Fall. Das Drehen erhöht aber die Exaktheit und Schnelligkeit der Potentialeinstellung sehr merklich. Die Ursache ist wohl folgende. Ist der Wasserstoff auch nur mit den geringsten Spuren eines elektrolytisch wirksamen Gases ( $\text{O}_2$ ) verunreinigt, so nutzt eine noch so lange Durchströmung nichts. Beim Schütteln des in die Elektrode eingeschlossenen Gases jedoch wird diese Spur  $\text{O}_2$  an der katalytisch wirkenden Platinoberfläche zu  $\text{H}_2\text{O}$  reduziert und unschädlich gemacht. Die zweite, mit der anderen Lösung beschickte Birnenelektrode wird genau ebenso behandelt. Nunmehr verbindet man die beiden Elektroden durch je einen Heber mit  $\text{KCl}$ -Agar mit einer Wanne mit gesättigter  $\text{KCl}$ -Lösung. Diese Agarheber haben die Form wie Abb. 33, A. Bei Nichtgebrauch werden sie stets unter gesättigte  $\text{KCl}$ -Lösung versenkt. Es ist vorteilhaft, wenn man

1) Diese dritte Flasche soll Spuren von  $\text{CO}_2$  absorbieren, die sich in der Permanganatflasche durch Oxydation organischer Gase bilden; dies ist besonders bei der Messung alkalischer Lösungen von Bedeutung.

in die (nach oben gerichtete) Ausflußöffnung der Birnenelektrode vor dem Einstecken des Agarhebers noch etwas festes, fein zerriebenes KCl schüttet; dadurch wird die Vernichtung des Diffusionspotentials noch vollkommener<sup>1)</sup>, und man erreicht gleichzeitig, daß die eintauchenden Agarspitzen ihre Sättigung mit KCl nicht einbüßen.

Anmerkung. Wer nicht zwei Birnenelektroden zur Verfügung hat, kann gleich das in der nächsten Übung empfohlene definitive Verfahren anwenden: Man füllt die Elektrode mit der ersten Lösung, mißt den Potentialunterschied gegen die gesättigte Kalomelektrode; dann füllt

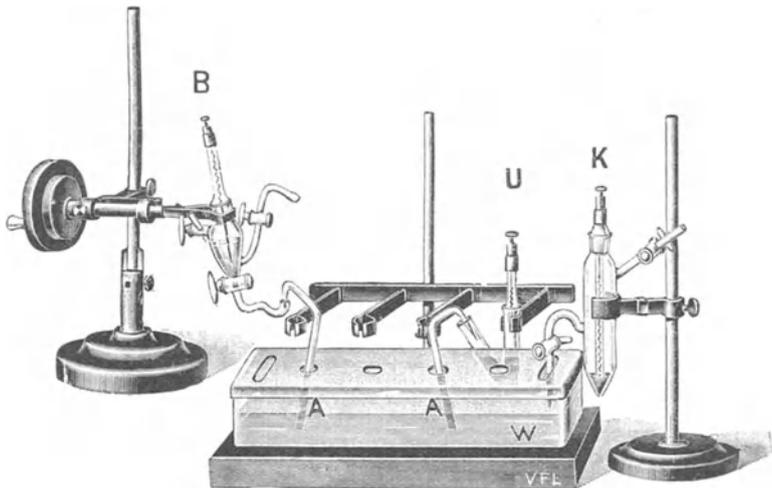


Abb. 33. Elektroden und Stative.

*B* Birnenelektrode und Drehstativ. *K* Kalomelektrode. *U* U-Elektrode. *A, A* Glasrohre mit KCl-Agar, zur Verbindung der Gaselektroden mit der Wanne mit gesättigter KCl-Lösung.

man die Birnenelektrode mit der zweiten Lösung, mißt den Potentialunterschied gegen die Kalomelektrode; die Differenz der beiden Messungen ist der gleiche Betrag, als ob man zwei Birnenelektroden, mit Lösung I und II, gegeneinander gemessen hätte.

Dann öffnet man den unteren Glashahn der Elektrode und beginnt die Messung. Die Herstellung des Agarhebers geschieht folgendermaßen:

Ein kleines stark gebogenes Glasrohr, das an einem Ende zu einer kurzen, feinen Spitze ausgezogen ist, wird luftblasenfrei mit einer noch warmen Lösung von 3 g Agar + 40 g KCl in 100 g

<sup>1)</sup> MICHAELIS und FUJITA: Biochem. Zeitschr. 142, 398. 1923.

Wasser (längere Zeit im Wasserbad gekocht!) gefüllt. Der Agar erstarrt in dem Rohr bald. Bei Nichtgebrauch wird das Rohr in gesättigter KCl-Lösung aufbewahrt. Bei Gebrauch wird es abgetrocknet und so befestigt, daß die Spitze gerade in die Elektrodenflüssigkeit und das andere Ende in ein Gefäß mit gesättigter KCl-Lösung eintaucht.

Diese Konzentrationskette setzt man in die Kompensationsanordnung zur Messung der EMK an die Stelle des Kadmiumelements, derart, daß die HCl-Lösung dem positiven, das Standardazetat dem negativen Pol entspricht. Man mißt die EMK in Abständen von 5 Minuten bis zur Konstanz. Sie muß gleich zu Anfang ganz oder beinahe genau den definitiven Wert zeigen, andernfalls ist die Wasserstoffsättigung noch nicht vollkommen und muß nochmals wiederholt werden. Die Kette gibt bei 18° eine EMK = 0,1140 Volt; erlaubte Abweichungen sind bei gutem Arbeiten auf keinen Fall mehr als ± 0,7 Millivolt.

Da nun  $h$  der angewendeten HCl-Lösung bekannt ist, können wir  $h$  des Standardazetats daraus berechnen. Es ist bei 18°

$$E = 0,0577 \log \frac{h_{\text{HCl}}}{h_{\text{Acet.}}}$$

oder

$$\log \frac{h_{\text{HCl}}}{h_{\text{Acet.}}} = \frac{0,1140}{0,0577} = 1,976$$

oder

$$\frac{h_{\text{HCl}}}{h_{\text{Acet.}}} = 94,6.$$

$h_{\text{HCl}}$  wäre bei totaler Dissoziation = 0,0025. Man nimmt nun an, daß der Dissoziationsgrad einer schwachen HCl-Lösung in einem Überschuß von KCl derselbe sei, wie in einer reinen HCl-Lösung von gleichem Cl-Gehalt, also wie in einer 0,1 nHCl-Lösung. Diesen Dissoziationsgrad erfährt man durch Vergleich der molaren Leitfähigkeit der HCl in 0,1 n-Lösung im Vergleich zu der bei unendlicher Verdünnung, und man hat ihn gefunden = 0,917. Demnach hat man in unserer Lösung  $h_{\text{HCl}} = 0,0025 \cdot 0,917 = 0,00229$  n. zu setzen.

$$\text{Also ist } h_{\text{Acet.}} = \frac{0,00229}{94,6} = 2,42 \cdot 10^{-5} \text{ und } p_{\text{H}} 4,616.$$

Anmerkung. Wie schon früher erwähnt, ist es sehr zweifelhaft geworden, ob die  $h$  einer verdünnten HCl-Lösung auf Grund von Leitfähigkeitsdaten richtig berechnet werden kann. Wir

würden die vorigen Betrachtungen auf folgende Weise der neueren Anschauung anpassen. In den Formeln auf der vorigen Seite müssen wir unter  $h$  nicht die wahre Konzentration, sondern die „Aktivität“ der H-Ionen verstehen. Der Faktor 0,917 hat nicht den Sinn eines Dissoziationsgrades, sondern eines Aktivitätsfaktors. Da dieser Faktor mit Hilfe von Leitfähigkeitsmessungen bestimmt worden ist, ist er wahrscheinlich nicht ganz richtig, aber der Fehler kann nur sehr klein sein, sodaß wir ihn an dieser Stelle vernachlässigen wollen. Das Schlußresultat bleibt unter dieser Voraussetzung das gleiche, nur bedeutet  $p_h$  den negativen Logarithmus nicht der Konzentration, sondern der Aktivität der  $H^+$ -Ionen.

### 75. Übung.

#### Herstellung und Eichung einer gesättigten Kalomelektrode<sup>1)</sup>.

Um in einer unbekanntem Lösung  $h$  zu messen, braucht man eine Vergleichselektrode. Diese war in der vorigen Übung eine  $H_2$ -Elektrode in HCl-Lösung von der  $h = 0,00229$  n. Für die Rechnung wäre es einfacher, eine Säurelösung von der  $h = 1$  zu wählen. Das ist wegen des hohen Diffusionspotentials einer solchen Lösung unpraktisch. Aber die Vergleichselektrode braucht überhaupt keine  $H_2$ -Elektrode zu sein, sondern kann eine beliebige Metallelektrode sein, welche sich dadurch auszeichnet, daß sie gut haltbar ist und nicht jedesmal gefüllt zu werden braucht. Für diesen Zweck eignet sich am besten die „gesättigte Kalomelektrode“, welche wie die 0,1 n-Kalomelektrode (S. 160) hergestellt wird, nur nimmt man als Lösung gesättigte KCl-Lösung und schichtet zum Schluß eine dichte hohe Schicht festes KCl noch auf das Kalomel. Die Ausflußöffnung taucht stets in gesättigte KCl-Lösung. Diese Elektrode ist jahrelang haltbar. Gegen die „Normalwasserstoffelektrode“ hat diese Elektrode bei  $18^\circ$  eine Potentialdifferenz von 0,2500 Volt. Man verlasse sich aber auf diese Zahl nicht. Es kommen kleine Abweichungen bei verschiedenen Elektroden vor, und jedes Exemplar muß von Zeit zu Zeit geeicht werden. Die Eichung geschieht dadurch, daß man die Potentialdifferenz gegen eine Wasserstoffelektrode mit Standardazetat bestimmt. Nehmen wir an, diese sei bei  $18^\circ = 0,5160$  Volt gefunden worden. Hieraus soll berechnet werden, wie groß die Potentialdifferenz der Kalomelektrode gegen

<sup>1)</sup> MICHAELIS, L.: Die Wasserstoffionen-Konzentration, 2. Aufl. Berlin: Julius Springer 1914.

eine Wasserstoffelektrode mit der  $h = 1$  fach-normal wäre. Wir hatten  $p_h$  des Standardazetats in der 167. Übung = 4,616 gefunden. Also beträgt die Potentialdifferenz des Standardazetats gegen die Normal-H<sup>+</sup>-Lösung bei 18°

$$E = 4,616 \cdot 0,0577 \text{ Volt} = 0,2663 \text{ Volt.}$$

Folglich hat die Kalomelektrode gegen die Normal-H<sup>+</sup>-Elektrode die Potentialdifferenz  $0,5160 - 0,2663 = 0,2497$  Volt.

Zur Übung der Anwendung messen wir die Potentialdifferenz der so geeichten Kalomelektrode gegen eine Wasserstoffelektrode, gefüllt mit einer Mischung von gleichen Teilen  $m/15$  prim. Kaliumphosphat und  $m/15$  sek. Natriumphosphat (s. 15. Übung). Wir finden  $E = 0,6426$  Volt. Somit hat das Phosphatgemisch gegen die Normal-H<sup>+</sup>-Elektrode den Potentialunterschied  $0,6426 - 0,2497 = 0,3929$  Volt, und  $p_h = 0,3929 : 0,0577 = 6,81$ .

Aus dem Vorangehenden ergibt sich folgende für die Praxis vorteilhafteste

### allgemeine Vorschrift für die $p_h$ -Messung einer beliebigen Flüssigkeit.

1. Man mißt am Tage des Versuches zunächst den Potentialunterschied der dauernd vorrätig gehaltenen gesättigten Kalomelektrode gegen eine Wasserstoffelektrode mit Standardazetat. Dieses Potential werde gefunden =  $E_0$ .

2. Man mißt den Potentialunterschied derselben Kalomelektrode gegen eine Wasserstoffelektrode, welche mit der zu messenden Lösung gefüllt ist. Man finde den Potentialunterschied =  $E_x$ .

3. Man berechne die Differenz  $E_x - E_0 = E$  in Millivolt und dividiere diese durch  $\mathcal{J}$ . Diese Größe von  $\mathcal{J}$  hängt von der Versuchstemperatur ab und ist aus der Tabelle S. 161 zu entnehmen. Die auf diese Weise erhaltene Zahl wird zu 4,62 algebraisch addiert (also, wenn sie eine negative Größe war, von 4,62 subtrahiert). Das erhaltene Resultat ist das  $p_h$  der zu messenden Lösung.

Hat man viele  $p_h$ -Messungen zu machen, so kann der an einem bestimmten Tage gemessene Wert von  $E_0$  allen Messungen des gleichen Tages zugrunde gelegt werden.  $E_0$  pflegt 514 bis 517,5 Millivolt zu betragen, je nach Temperatur, Barometerstand und unkontrollierbaren Einflüssen der Kalomelektrode. Die hier empfohlene Vorschrift gründet sich auf der Beobachtung, daß die H<sub>2</sub>-Azetat-Elektrode besser reproduzierbar ist als eine Kalomelektrode, und auf der Überlegung, daß hierdurch gleichzeitig jede Temperatur- und Barometerstandkorrektur überflüssig gemacht wird. Sie verbindet den technischen Vorteil der immer fertigen Kalomelektrode mit der theoretischen Überlegenheit einer H<sub>2</sub>-Elektrode als Ableitungselektrode.

## 76. Übung.

**Wasserstoffelektrode mit stehender Gasblase<sup>1)</sup>.  
p<sub>H</sub>-Messung in Serum.**

Bei Flüssigkeiten, welche CO<sub>2</sub> enthalten und beim Durchströmen mit Wasserstoff eine Abnahme der h erfahren würden, ist eine andere Elektrodenform notwendig. Sie kann auch sonst immer angewendet werden, erfordert aber für die konstante Einstellung des Potentials längere Zeit. Es wird nebenstehende U-Elektrode empfohlen (Abb. 34).

Die Platinierung geschieht wie vorher. Die zu untersuchende Lösung wird derart eingefüllt, daß zunächst nur der kurze Schenkel ganz und der lange Schenkel zum Teil gefüllt wird. Man lasse nun den — wie oben

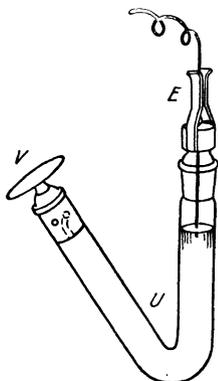


Abb. 34. U-Elektrode.

entwickelten und gewaschenen — Wasserstoff durch ein zu einer 5 cm langen feinen Kapillare ausgezogenes Glasrohr eine Weile strömen, bis sicher alle Luft aus dem Rohr ausgetrieben ist. Jetzt nähere man das Ende dieser Kapillare, während das Gas noch strömt, der Elektrode und stecke die Spitze unter die Flüssigkeitsoberfläche. In demselben Augenblick, wo die Spitze eintaucht, quetsche man die Gasleitung dicht oberhalb der Kapillare mit dem Finger zu. Ein dauerndes Durchströmen würde CO<sub>2</sub> austreiben. Nunmehr bringe man die Kapillarenspitze bis auf die tiefste Stelle der U-Röhre und lüfte den zuklemmenden Finger ganz wenig, so daß kleine H<sub>2</sub>-Blasen zu der Pt-Elektrode aufsteigen. Man fülle so viel Blasen ein, daß die Platinelektrode mit ihrer Spitze gerade soeben noch eintaucht. Schaumbildung schadet nichts. Dann zieht man die Kapillare heraus und füllt den langen Schenkel des U-Rohres mit der Lösung ganz auf, setzt den Glasstopfen auf, ohne daß Luftblasen hineinkommen, kippt das Gefäß in geeigneter Weise hin und her (mit der freien Hand oder mit Hilfe des Drehstativs, Abb. 33), so daß die Wasserstoffblase die ganze Länge des U-Rohres 50 mal hin und 50 mal zurück durchstreicht. Um Druckausgleich herbeizuführen, drehe man gelegentlich, wenn die Gasblase an dem Pt-Ende steht, den Glasstopfen einmal um sich selbst, wobei eine geeignete Bohrung vorübergehend Kommunikation mit der Außenluft herstellt. Wenn das Kippen beendet

<sup>1)</sup> MICHAELIS, L., l. c.

ist und die Gasblase wieder auf der Pt-Seite steht, zieht man den Glasstopfen heraus und befestigt die Elektrode an einem Stativ. Ihre Flüssigkeitsverbindung wird mit einem KCl-Agar-Rohr hergestellt wie S. 170.

Als Versuchsflüssigkeit benutze man Blutserum, als Vergleichselektrode die gesättigte Kalomelektrode als positiven Pol. Je nach der  $\text{CO}_2$ -Abgabe, die das Blutserum beim Stehen an der Luft schon erlitten hat, erhält man verschiedene Werte;  $p_{\text{H}}$  gewöhnlich 7,6—7,7; d. h. die Potentialdifferenz gegen die gesättigte Kalomelektrode um 0,69 Volt.

### 77. Übung.

#### **h-Messung im Blut<sup>1)</sup>.**

Für Blut eignet sich am einfachsten folgende Methode, welche darauf beruht, daß Blut keine Änderung des  $p_{\text{H}}$  erfährt, wenn man es mit physiologischer  $\text{CO}_2$ -freier  $\text{ClNa}$ -Lösung verdünnt. 0,85proz.  $\text{NaCl}$ -Lösung wird in einem Jenaer Kolben ausgekocht und unter Verschuß abgekühlt. Mit dieser Lösung wird eine U-Elektrode wie gewöhnlich gefüllt und mit der  $\text{H}_2$ -Blase versehen, aber noch nicht durchgeschüttelt. Der längere Schenkel bleibt zur Hälfte frei. Nunmehr gibt man an die Wand des frei gebliebenen Teils einige Körnchen Hirudin (eventuell statt dessen Natriumoxalat), entnimmt Blut aus der Ellbogenvene mit einer Spritze und füllt das frische Blut in den leer gebliebenen Teil des U-Rohres völlig auf, verschließt mit dem Glasstopfen und schüttelt dann sofort wie gewöhnlich um. Sollte sich ein Gerinnsel am Platin bilden, so stellt sich kein konstantes oder ein scheinbar konstantes, falsches Potential ein.

Das Potential stellt sich auf die beschriebene Weise schnell zur Konstanz ein. Man wiederhole die Messung der EMK nach der Anordnung der Gaskette alle 5 Minuten so lange, bis 3 aufeinander folgende Ablesungen konstant bleiben.

Man erhält für venöses Blut des Menschen bei  $18^\circ$ : 0,674 Volt gegen die gesättigte Kalomelektrode, entsprechend  $p_{\text{H}} = 7,35$ .

### 78. Übung.

#### **Elektrometrische Mikroanalyse von Kalziumoxyd.**

Es sei die Aufgabe gestellt, eine Menge  $\text{CaO}$  im Betrage von 0,1—0,2 Milligramm quantitativ zu bestimmen. Dieses  $\text{CaO}$  wird wohl stets aus der zu analysierenden Asche in Form von Kalk-

<sup>1)</sup> In Anlehnung an das Prinzip von HASSELBALCH, K. A.: Biochem. Zeitschr. **49**, 451. 1913, nach L. MICHAELIS, l. c.

oxalat gegeben sein. Wir wollen uns nicht die Aufgabe stellen, dieses Oxalat herzustellen, sondern nehmen irgendein organisches Ca-Salz in obigem Betrag als gegeben an. Dieses wird, ebenso wie man es mit dem Oxalat machen würde, durch Glühen in CaO verwandelt, und dieses wollen wir bestimmen. Um eine so kleine Menge CaO mit Genauigkeit zu erhalten, verfahren wir folgendermaßen.

In einem geglühten und gewogenen Platintiegel wird reinstes CaO (pro analysi, KAHLBAUM) fein zerrieben in einer Menge von 0,15—0,2 g eingewogen und am Gebläse bis zur Gewichtskonstanz geglüht. Die Menge CaO betrug z. B. in einem Falle 0,1991 g. Das CaO wird im Platintiegel in einigen Kubikzentimetern verdünnter Milchsäure unter Erwärmen und Umrühren mit einem Glasstab gelöst und dann auf 400 ccm mit (Ca-freiem!) destilliertem Wasser aufgefüllt. Jedes Kubikzentimeter dieser Lösung enthält 0,4978 mg CaO. Wir bringen von dieser Lösung 0,25 ccm, enthaltend 0,1245 mg in einen Platintiegel, trocknen auf dem Wasserbade, glühen einige Minuten, und setzen den Tiegel vorläufig in den Exsikkator.

Nun stellen wir folgende Lösung her: 1 ccm  $\frac{1}{10}$  norm. HCl + 5 ccm n. KCl-Lösung + 44 ccm destilliertes Wasser, also eine 0,002 n. HCl in  $\frac{1}{10}$  n. KCl-Lösung. Von dieser Lösung geben wir 5,00 ccm in den erkalteten Platintiegel und bringen das CaO zur Auflösung. Man rührt mit einem Glasstab um, erwärmt eventuell ganz leicht und hat in wenigen Minuten eine völlige Lösung des CaO erreicht. Mit dieser Lösung füllt man eine Birnenelektrode (s. Abb. 30). Man wäscht sie erst mit reinem Wasser, dann zweimal mit je 1 ccm der Lösung aus und hat dann noch 3 ccm Lösung, welche zur Füllung der Elektrode völlig hinreichend sind. Eine zweite Birnenelektrode füllt man mit einer Probe derselben HCl-Lösung, welche aber kein CaO enthält. Nun durchströmt man beide Elektroden mit Wasserstoff und verbindet sie durch gesättigte KCl-Lösung. Diese Konzentrationskette wird in Kompensationsvorrichtung an Stelle des Normalelements zur Messung der EMK so eingeschaltet, daß die Ca-freie Lösung dem positiven Pol des Normalelements entspricht<sup>1)</sup>. Die Messung ergab

bei 16,5° C 0,0147 Volt.

<sup>1)</sup> Statt dessen kann man nach dem obenentwickelten Prinzip beide Lösungen nacheinander in ein und demselben Birnenelektrodengefäß gegen eine gesättigte Kalomelektrode messen und die Differenz der beiden Messungen der EMK der direkten Konzentrationskette gleich setzen.

Diese Potentialdifferenz rührt daher, daß das CaO einen Teil der HCl gebunden hat. Die EMK der Kette ist daher<sup>1)</sup>

$$E = 0,0574 \cdot \log^{10} \frac{h_1}{h_2},$$

wo  $h_1$  die  $h$  der Ca-freien HCl,  $h_2$  die der Ca-haltigen bedeutet. Da durch das Zufügen von KCl der Gesamt-Ionengehalt in beiden Lösungen fast identisch ist, so ist der Dissoziationsgrad<sup>2)</sup> der HCl in beiden Lösungen der gleiche, und statt des Verhältnisses  $h_1 : h_2$  können wir ebenso das Verhältnis der „freien HCl-Menge“,  $[HCl]_1$  und  $[HCl]_2$  setzen. Es ist also

$$\log \frac{h_1}{h_2} = \log \frac{[HCl]_1}{[HCl]_2} = \frac{0,0147}{0,0574} = 0,256$$

und daher

$$\frac{[HCl]_1}{[HCl]_2} = 1,803;$$

oder

$$[HCl]_2 = 0,00111 \text{ norm.}$$

( $[HCl]_1$  war nämlich = 0,002 norm.)

Die 5 ccm 0,002 nHCl enthielten ursprünglich  $5 \times 0,002 = 0,0100$  Milliäquivalente HCl. Nach dem Ca-Zusatz enthalten sie nur noch  $5 \times 0,00111 = 0,00555$  Milliäquivalente freie HCl; der Rest von 0,00445 Milliäquivalenten sind durch ebensoviele Milliäquivalente CaO gebunden. 1 Milliäquivalent CaO sind 28 mg, also sind gefunden:  $0,00445 \times 28$  mg

$$= 0,1246 \text{ mg CaO;}$$

erwartet waren

$$0,1245 \text{ mg.}$$

Die völlige Übereinstimmung ist ein Zufall. Fehler von  $\pm 5$  vH. des Gesamtwertes können schon vorkommen; wenn das Verhältnis von HCl : CaO ein ungünstigeres ist, können sogar größere Fehler vorkommen. Die besten Analysen geben Ca-Mengen, welche eine Potentialdifferenz zwischen 8 und 50 Millivolt ergeben, oder bei denen das CaO etwa  $\frac{1}{4}$  bis nicht gar viel mehr als  $\frac{3}{4}$  der vorgelegten HCl-Menge bindet.

<sup>1)</sup> Der Faktor 0,0574 gilt für 16,5°. Für andere Temperaturen ersieht man die Zahlen aus Tabelle S. 161.

<sup>2)</sup> Besser sagen wir statt „Dissoziationsgrad“ „Aktivitätsgrad der H-Ionen“ im Sinne der BJERRUMSchen Ionenaktivitätstheorie.

## 79. Übung.

**Das Diffusionspotential an einer Membran von Pergamentpapier<sup>1)</sup>.**

Ein Becherglas wird mit 0,1 n KCl-Lösung gefüllt und in dasselbe eine „Diffusionshülse“ von SCHLEICHER und SCHÜLL eingestellt, welche 0,01 n KCl enthält. In jede der beiden Lösungen taucht ein Glasheber mit 3 vH. Agar, gesättigt mit KCl (s. S. 170). Die Enden des Hebers sind entsprechend der Zeichnung Fig. 35 aufgebogen, das aufgebogene Ende ist frei von Agar. Dadurch wird verhindert, daß das aus dem Agar diffundierende KCl sich der Lösung beimischen und ihre Konzentration ändern kann. Die anderen (in der Zeichnung abgebrochenen) Enden der Heber sind nach unten umgebogen und tauchen je in eine Schale mit

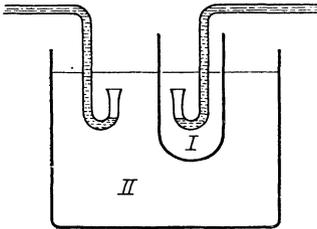


Abb. 35.

gesättigter KCl-Lösung, welche je mit einer mit KCl gesättigten Kalomelektrode in Verbindung steht. Der Potentialunterschied wird durch das Kompensationsverfahren wie gewöhnlich gemessen. Es ergibt sich, daß die verdünntere KCl-Lösung positiver ist als die stärkere, und zwar je nach der Hülse, um 10–14 Millivolt. Bei direkter Berührung würde das

Diffusionspotential = 0 sein. Man kann die Erscheinung so erklären, daß der Durchtritt der Anionen durch die Membranen erschwert wird, so daß die K-Ionen bei der Diffusion voraneilen und der dünneren Lösung eine positivere Ladung erteilen.

Nimmt man statt KCl-Lösungen andere Elektrolytlösungen, so ist ebenfalls das Potential der dünneren Lösung stets etwas positiver als es bei direkter Berührung wäre.

## 80. Übung.

**Das Diffusionspotential an ausgetrockneten Kollodiummembranen<sup>2)</sup>.**

Man stelle den soeben beschriebenen Versuch an, indem man das Pergamentpapier durch eine Kollodiummembran ersetzt, welche auf folgende Weise hergestellt ist. Ein größeres Centrifugiergefäß mit rundem Boden wird mit Kollodiumlösung aus-

<sup>1)</sup> FUJITA, A.: Biochem. Zeitschr. 159, 370. 1925.

<sup>2)</sup> MICHAELIS, L. und FUJITA, A.: Biochem. Zeitschr. 161, 47. 1925.

gegossen, ähnlich wie in der 45. Übung, jedoch so, daß eine etwas dickere Membran entsteht (nur aus Gründen der Festigkeit; das Resultat hängt davon nicht ab). Diese läßt man sehr lange Zeit (Stundenlang) trocknen, ohne sie mit Wasser in Berührung zu bringen, so lange, bis sie sich leicht abziehen läßt. Dann läßt man sie mindestens 1 Tag lang an der Luft weiter trocknen, wobei starke Schrumpfung eintritt. Dann erst wässert man die Hülse einige Minuten lang und benutzt sie zum Versuch. Bei 0,1 gegen 0,01 mol. KCl-Lösung ist die dünnere Lösung, je nach der Hülse, um 45—52 Millivolt positiver. Daraus kann man schließen, daß die Hülse für die Anionen praktisch überhaupt nicht mehr durchlässig ist. Bei einem Verhältnis der Konzentrationen von 1 : 10 hätte man in diesem Fall 57 Millivolt zu erwarten, wenn die Aktivitäten sich ebenfalls wie 1 : 10 verhielten. Daß das Aktivitätsverhältnis etwas kleiner ist (etwa 1 : 9), so wird der Maximalwert 57 Millivolt nicht ganz erreicht. Statt KCl kann man beliebige Salze von einwertigen Kationen nehmen.

Ferner messe man bei gleicher Versuchsanordnung das Diffusionspotential einer 0,1 n-Lösung von KCl gegen eine 0,1 n- (also gleiche Konzentration!) Lösung von HCl, ebenso KCl gegen NaCl, KCl gegen LiCl. Man findet etwa folgende Werte, welche ein wenig individuell für verschiedene Hülsen, aber für jede Hülse innerhalb weniger Millivolt reproduzierbar sind, z. B.:

(Das Vorzeichen bezieht sich auf die KCl-Lösung)

0,1 n KCl gegen 0,1 n HCl	+ 85 bis + 100 Millivolt
0,1 n „ „ 0,1 n KCl	0
0,1 n „ „ 0,1 n NaCl	— 45 bis 50
0,1 n „ „ 0,1 n LiCl	ca. — 70
<hr/>	
0,1 n HCl gegen 0,1 n NaCl	120 bis 140 Millivolt (NaCl positiv).

Es ist ganz belanglos, ob man statt der Chloride irgendwelche anderen Salze dieser Kationen benutzt, auch ist es belanglos, ob z. B. links ein Chlorid, rechts ein Sulfat genommen wird. Dieser Versuch zeigt, daß die Permeabilität der verschiedenen Kationen sehr verschieden ist. Die Reihenfolge der Permeabilität ist dieselbe wie der Beweglichkeit bei der freien Diffusion, nämlich in absteigender Reihe

H K Na Li

aber die Unterschiede zwischen den einzelnen Kationen sind in

der Membran außerordentlich vermehrt, so daß die Membran praktisch eine elektive Permeabilität für nur einige Kationenarten hat. Man beachte ferner die Bemerkung am Schluß der 45. Übung.

### 81. Übung.

#### Das Membranpotential der Apfelschale<sup>1)</sup>.

Von einem unverletzten Apfel wird eine kleine Calotte abgeschnitten. Der Apfel wird, mit der unverletzten Seite nach unten, in eine Petrischale gelegt, welche mit einer flachen Schicht 0,001 mol. KCl bedeckt ist. Eine Kalomelektrode taucht man in gehöriger Entfernung vom Apfelrand in diese Lösung, eine zweite Kalomelektrode bringt man mit der oben befindlichen Schnittfläche des Apfels in Berührung. Man findet eine Potentialdifferenz von ungefähr 0,09 Volt; der negative Pol ist die verletzte Seite des Apfels.

Wiederholt man den Versuch, indem man die unverletzte Seite in 0,01 n KCl tauchen läßt, so erhält man etwa 0,05 Volt; und mit 0,1 n KCl etwa 0,01 Volt.

An der Grenze der Apfelschale gegen eine KCl-Lösung entsteht also ein Potential, welches von der Konzentration der KCl-Lösung abhängig ist. Verhalten sich die KCl-Konzentrationen wie 1 : 10, so erhält man einen Potentialunterschied, der beinahe ebenso groß ist wie der von zwei Kalomelektroden, deren KCl-Konzentration sich wie 1 : 10 verhält (d. h. welche beinahe 0,0577 Volt erreicht).

Das Potential zwischen der unverletzten Membran und der von der Membran entblößten Stelle des Apfels ist also nicht ein in sich eindeutig definierter Wert, sondern hängt von Natur und Konzentration der die Membran berührenden Lösung ab. Dasselbe gilt für tierische Membranen, nur bleibt hier bei einer Konzentrationsdifferenz von 1 : 10 die Potentialdifferenz noch stärker hinter der erwarteten von 0,0577 Volt zurück.

### 82. Übung.

#### Die elektrometrische Titration.

Die elektrometrische Titration einer Säure mit einer titrierten Lauge erfüllt die Aufgabe, die Änderung der  $h$  während der Titration schrittweise zu verfolgen, oder auch, die Änderung des Potentials gegen eine Wasserstoffelektrode schrittweise zu verfolgen.

<sup>1)</sup> LOEB, JACQUES und BEUTNER, R.: Biochem. Zeitschr. 41, 1. 1912. BEUTNER, R.: „Die Entstehung elektrischer Ströme in lebenden Geweben“. Stuttgart 1920.

Man benutzt dazu die in Abb. 36 abgebildete Glockenelektrode. Ein glockenförmiges Glasgefäß ist nach oben zu einem engeren Glasrohr verlängert, das oben einen Glashahn trägt. Dicht oberhalb der Glocke ist durch die Wand des Glasrohres ein Platindraht eingeschmolzen, der über die untere Öffnung der Glocke ein wenig herüberraagt. Das andere Ende des Platindrahtes ist von einem angeschmolzenen Glasstutzen umgeben, in den Quecksilber eingefüllt ist oder statt dessen zu einer Klemmschraube führt. Hiermit wird der ableitende Kupferdraht verbunden. Die Elektrode wird wie in Abb. 36 an einem Stativ über einer Porzellanschale derart befestigt, daß der Glockenrand in die zu titrierende Flüssigkeit etwas eintaucht. Über dieser Flüssigkeit ist ferner die Titrierbürette mit 0,1 nNaOH angebracht. Ferner taucht in die Lösung noch ein KCl-Agar-Heber (s. S. 170) ein, der an seinem anderen Ende in gesättigter KCl-Lösung steht. In diese taucht außerdem eine gesättigte Kalomelelektrode (s. 75. Übung) ein.

Der Platindraht wird vor der Benutzung auf folgende Weise vorbereitet. Das etwa  $\frac{1}{2}$  cm überragende Ende des Drahtes wird vorsichtig in einem kleinen Flämmchen schwach geglüht und der ganze

Draht dann mit Hilfe einer Pinzette in eine leichte Schraubewindung gelegt, so daß er nicht mehr überragt, sondern sogar noch 1–2 mm innerhalb der Glocke endet. Dann befestigt man die Elektrode über einer Schale mit Platinierungsflüssigkeit, saugt die Glocke mit dieser voll und platiniert den Platindraht mit Hilfe einer außen befindlichen Hilfselektrode aus Platin. Dann wird die Platinlösung ausgewaschen und durch verdünnte Schwefelsäure ersetzt und diese kathodisch polarisiert, zum Schluß gewaschen.

Wir stellen uns nun die Aufgabe, 10 ccm 0,03 nHCl (3 ccm 0,2 nHCl + 7 ccm Wasser) mit 0,1 nNaOH zu titrieren. Wir

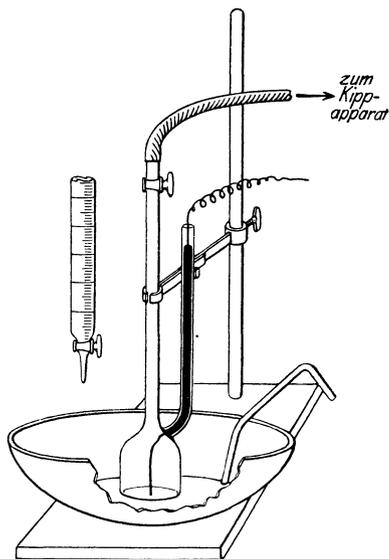


Abb. 36. Elektrometrische Titration mit der Glockenelektrode.

füllen die 10 ccm der Säure in die Porzellanschale, die Lauge in die Bürette, in der Anordnung der Abb. 36. Nun leitet man einen Strom Wasserstoffgas von oben her durch die Glocke, in der Sekunde 1—2 Blasen, etwa  $\frac{1}{2}$ —1 Liter, und dreht den Glashahn zu. Bei richtiger Länge des Platindrahtes gelingt es leicht,

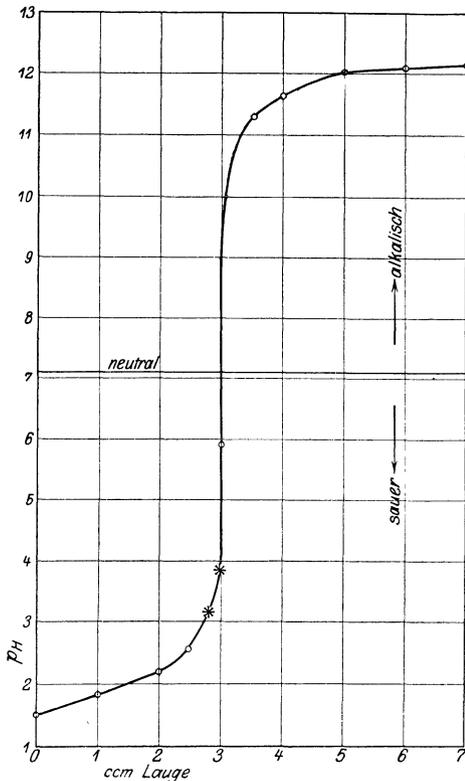


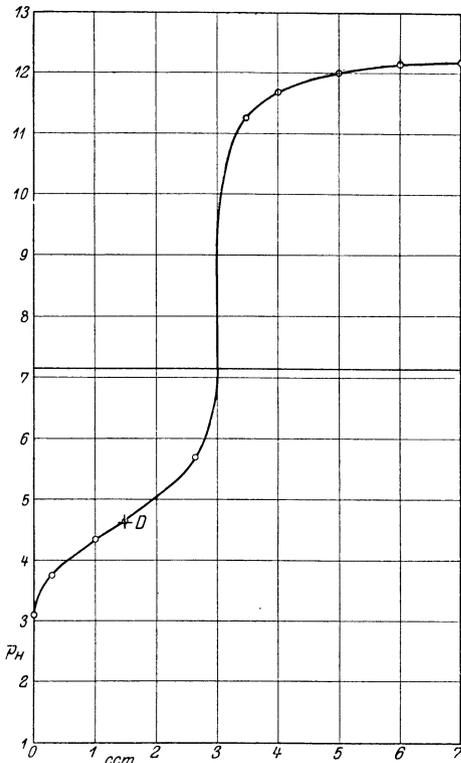
Abb. 37. 3 ccm 0,1 n HCl werden mit steigenden Mengen 0,1 n NaOH versetzt. Abszisse: ccm der Lauge. Ordinate: p<sub>H</sub>.

die Gaszuleitung in einem Augenblick zu unterbrechen, wo die Spitze des Drahtes gerade nur eben noch eintaucht. Während der Gasdurchleitung soll der Draht abwechselnd eintauchen und nicht eintauchen in dem Maße, wie die Glocke sich abwechselnd mit Gas füllt und ruckweise entleert. Hierdurch wird gleichzeitig die genügende Mischung nach jedesmaligem Laugenzusatz bewirkt. Je weniger die Platinspitze zum Schluß eintaucht, um so schneller stellt sich das Potential ein. Mantaucht nun auch den KCl-Agarheber ein, der eine möglichst feine Spitze besitzen soll, und liest das Potential ab. Der positive Pol ist die Kalomel-Elektrode. Während der Einstellung des Potentials muß der Apparat ganz erschütterungsfrei

stehen. Es genügt, die Einstellung auf 2 bis 3 Millivolt genau abzuwarten; die äußerste Genauigkeit in bezug auf endgültige Konstanz ist meist nicht erforderlich. Nun gibt man z. B. 0,5 ccm Lauge zu, mischt um und wiederholt die Wasserstoffdurchleitung. Die Einstellung erfordert jedesmal nur wenige Minuten; ist sie nach 15 Minuten noch nicht konstant, so ist die Platinierung verdorben. Dann läßt man wieder eine

Portion Lauge zu usw. Die gesamte Titration erfordert etwa 2 Stunden.

Man zeichnet nun in einem Koordinatensystem auf der Abszisse die Kubikzentimeter der zugesetzten Lauge, auf der Ordinate die Millivolt auf. Statt dessen zeichnet man besser noch den daraus berechneten Wert von  $p_H$  auf der Ordinate auf. Das Resultat ist im Diagramm 37 wiedergegeben. Die Kreise geben die beobachteten Punkte wieder; sie sind durch die theoretisch berechnete Kurve ergänzt. Das Ende der Titration ist bei 3 ccm Lauge zu erwarten. Hier springt  $p_H$  plötzlich von 4 auf 10; d. h. es springt plötzlich von einem Punkt, der selbst für Methylorange noch sauer ist, auf einen Punkt, der sogar schon für Phenolphthalein alkalisch ist. Man versteht hier erst richtig, warum es gleichgültig ist, mit welchem dieser beiden so unähnlichen Indikatoren man eine Mineralsäure titriert.



Titriert man Essigsäure unter gleichen Bedingungen, so erhält man das Diagramm 38.

Der Sprung bei der äquivalenten Menge NaOH geht hier von  $p_H = 7$  bis  $p_H = 10$ . Er liegt also außerhalb des Bereichs des Methylorange und wird nur von Phenolphthalein angezeigt.

Titriert man ein Gemisch von 3 ccm 0,1 n HCl + 3 ccm 0,1 n Essigsäure (Abb. 39), so macht sich am Schluß der HCl nur eine kleine Aufbiegung bemerkbar, am Schluß der Essigsäure eine zweite, größere.

Abb. 38. 3 ccm 0,1 n Essigsäure werden mit 0,1 n NaOH titriert. Bezeichnung wie in Abb. 37. Bei D ist die Ordinate gleich dem negativen Logarithmus der Dissoziationskonstante der titrierten Säure.

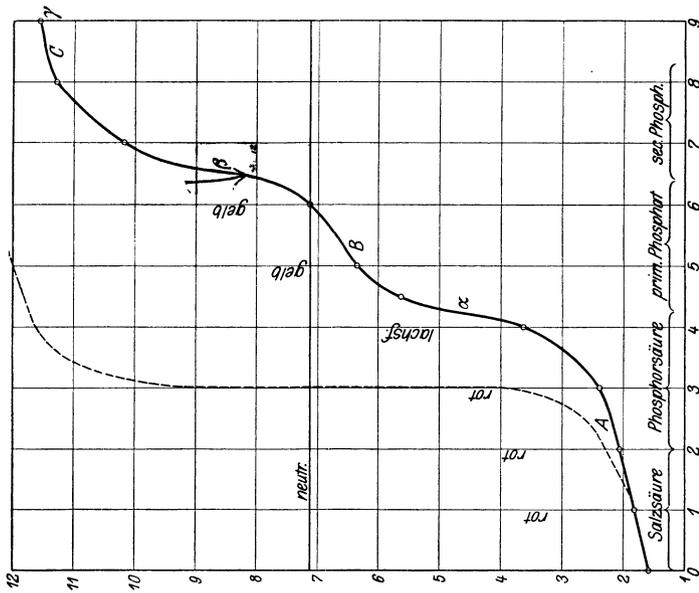


Abb. 40. 2 cem 0,1 n HCl + 2,2 cem 0,1 mol. Phosphorsäure werden mit 0,1 n NaOH titriert.  $\alpha$  ist der Ph Sprung, wenn das primäre Phosphat völlig gebildet ist,  $\beta$  derselbe für das sekundäre Phosphat. Die Farbenangaben beziehen sich auf die Nuanen, welche Dimethylaminocresol (s. 24. Übung) geben würde. Der Pfeil bedeutet den Umschlag des Phenolphthalein.

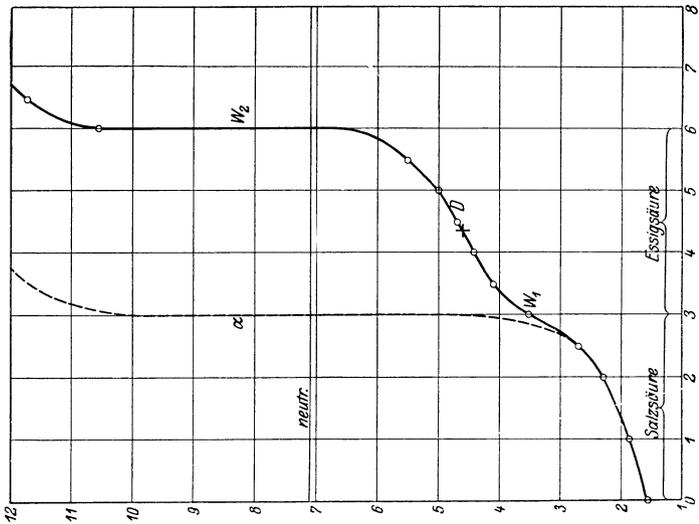


Abb. 39. 3 cem 0,1 n HCl + 3 cem 0,1 n Essigsäure werden mit 0,1 n NaOH titriert. Ohne Essigsäure würde die Kurve sich wie  $\alpha$  forsetzen.  $W_1$  Wendepunkt nach Ausfiltrierung der HCl,  $W_2$  Wendepunkt nach Ausfiltrierung der Essigsäure. Sonstige Bezeichnungen wie Abb. 37 und 38.

Titriert man ein Gemisch von  $\text{HCl} + \text{Phosphorsäure}$  (Abb. 40), so ist zwischen dem Ende der  $\text{HCl}$  und dem Anfang der  $\text{H}_3\text{PO}_4$  keine Grenze bemerkbar, weil beides starke Mineralsäuren sind. Sobald das primäre Phosphat völlig ausgebildet ist, erfolgt ein Sprung von  $p_{\text{H}} = 4$  bis 5 (Methylorange-Umschlag); sobald das sekundäre Salz fertig gebildet ist, ein Sprung von 8 nach 9,5 (Phenolphthalein-Umschlag). Die Bildung des tertiären Phosphats ist schlecht bemerkbar.

### 83. Übung.

#### Die Chinhydronelektrode <sup>1)</sup>.

In allen Fällen, wo  $p_{\text{H}} < \text{etwa } 8,5$  ist, kann man statt der Elektrode mit gasförmigem Wasserstoff eine Elektrode ohne Gasraum mit großem Vorteil für die Technik benutzen: die Chinhydronelektrode nach BIJLMAN. Chinhydron ist eine kristallisierte Verbindung von 1 Mol. Chinon + 1 Mol. Hydrochinon, welche in wäßriger Lösung weitgehend in diese Komponenten zerfällt. Metallisches Platin zeigt gegen eine Lösung, welche Chinon und Hydrochinon enthält, einen Potentialunterschied, der erstens von dem Mengenverhältnis von Chinon und Hydrochinon, zweitens von  $h$  abhängt. Hält man das erstere Mengenverhältnis immer konstant, und zwar = 1 : 1, indem man Chinhydron anwendet, so hängt der Potentialunterschied allein von  $h$  ab. Dabei ist es belanglos, wieviel Chinhydron in Lösung ist, da nur das Verhältnis Chinon : Hydrochinon, nicht aber die absoluten Mengen von Bedeutung sind. Wenn man eine beliebige Lösung mit etwas Chinhydron versetzt und einen Platindraht hineinsteckt, so verhält sich dieser wie eine Wasserstoffelektrode. Der Effekt des Zusatzes von Chinhydron ist derselbe, als ob man das Platin mit gasförmigem Wasserstoff von ganz bestimmtem, aber ungeheuer kleinem Druck in Gleichgewicht gebracht hätte. Macht man eine galvanische Kette aus zwei Platinelektroden und aus zwei Lösungen mit der  $\text{H}^+$ -Ionenkonzentration =  $h_1$  bzw.  $h_2$ , und welche beide etwas Chinhydron enthalten, so ist die EK bei 18°

$$E = 0,0577 \log \frac{h_1}{h_2},$$

wo für 0,0577 je nach der Temperatur die entsprechenden Werte von S. 161 einzusetzen sind.

<sup>1)</sup> BIJLMAN: Festschr. d. Kgl. Univ. Kopenhagen, 1920, S. 34.

Statt eine Kette aus zwei Chinhydronelektroden mit zwei verschiedenen Flüssigkeiten zu machen, kann man auch nacheinander den Potentialunterschied einer Chinhydronelektrode mit der ersten Lösung, und dann den einer Chinhydronelektrode mit der zweiten Lösung gegen eine Kalomelektrode messen. Der Unterschied der beiden elektromotorischen Kräfte ist gleich der EK der direkten Chinhydronkette.

Eine passende Form für die Elektrode ist in Abb. 41 abgebildet.

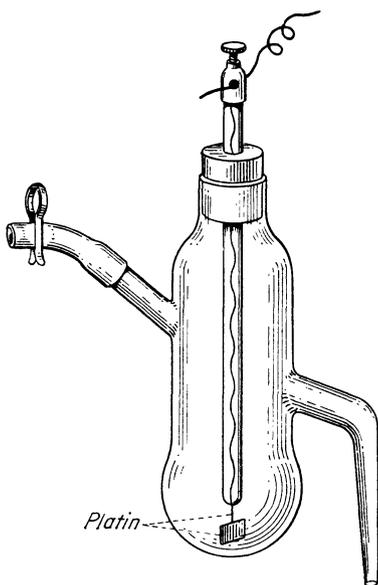


Abb. 41. Chinhydronelektrode  
1/1 bis 1/2 nat. Größe.

Die Platinelektrode besteht entweder aus einem ganz kleinen Stück (3–4 mm breit und lang) Platinblech oder aus einem nicht allzu kurzen (2 cm), spiralförmig gewundenen Platindraht. Das Platin braucht nicht mit Platinschwarz überzogen zu werden, sondern wird vor jeder Messung nur leicht ausgeglüht. Auf den Boden des Gefäßes gibt man eine Messerspitze Chinhydron. Dann wird die zu messende Flüssigkeit in das Gefäß eingefüllt. Man schüttelt ein wenig um, so daß sich etwas Chinhydron auflöst, wodurch die Lösung hellgelb wird. Das Potential stellt sich sehr schnell und sicher ein. Als Übung benutze man einmal Standardazetat (eine Lösung, welche gleichzeitig 0,1 Mole Essigsäure

und 0,1 Mole Na-Azetat pro Liter enthält), das andere eine Lösung von 0,01 mol. Essigsäure, + 0,1 mol. Na-Azetat. Hat man zwei Chinhydronelektroden, so mißt man die Potentialdifferenz direkt, indem man als Verbindungsflüssigkeit eine gesättigte KCl-Lösung benutzt, in welche beide Elektrodenöffnungen eintauchen. Der Potentialunterschied beträgt dann 57,7 Millivolt bei 18°. Hat man nur eine Elektrode, so messe man nacheinander den Potentialunterschied erst der einen Lösung, dann der anderen gegen eine gesättigte Kalomelektrode. Der Unterschied dieser beiden Ketten beträgt wiederum 57,7 Millivolt.

Will man  $p_H$  in einer unbekanntenen Lösung messen, so kann man z. B. folgendermaßen verfahren. Man mißt erst den Po-

tentialunterschied der Chinhydronelektrode mit Standardazetat gegen die gesättigte Kalomelektrode, dann den der Chinhydronelektrode mit der unbekanntem Lösung gegen dieselbe Kalomelektrode. Man beachte, daß die Kalomelektrode den negativen Pol der Kette darstellt, umgekehrt wie bei einer Kette mit der Gaselektrode. Dann ist in der unbekanntem Lösung

$$p_H = 4,62 \pm \frac{E}{57,7},$$

wo E der Unterschied der ersten und der zweiten elektromotorischen Kraft in Millivolt ist, und wo für 57,7, wenn die Temperatur anders als 18° ist, die Zahlen von S. 161 eingesetzt werden müssen. Ist die unbekanntem Lösung von einem positiveren Potential als Standardazetat, so ist das positive Vorzeichen zu benutzen, und vice versa.

Die Chinhydronelektrode hat noch einen anderen als bloß technischen Vorteil. Die gewöhnliche Wasserstoffelektrode ist ein starkes Reduktionsmittel. Leicht reduzierbare Substanzen, wie Farbstoffe, ungesättigte Verbindungen u. dgl. werden daher durch die gewöhnliche Wasserstoffelektrode verändert. In solchem Fall stellt sich kein bestimmtes Potential ein. Die Chinhydronelektrode ist aber äquivalent einer H<sub>2</sub>-Elektrode von so ungeheuer niedrigem H<sub>2</sub>-Druck, daß sie nicht reduzierend wirkt. Daher kann man mit ihr p<sub>H</sub> in solchen Flüssigkeiten ungehindert messen. Als Übung messe man p<sub>H</sub> in einer 0,01 n-Lösung von Pikrinsäure, was mit der gewöhnlichen H<sub>2</sub>-Elektrode nicht möglich ist.

Für stark alkalische Lösungen (p<sub>H</sub> > 9) eignet sich die Methode nicht. In diesem Fall wird durch die Dissoziation des Hydrochinons (welches eine schwache Säure ist) das Mengenverhältnis von Chinon zu (undissoziiertem) Hydrochinon in komplizierter Weise verändert, auch wird das Hydrochinon bei Gegenwart von O<sub>2</sub> in alkalischer Lösung zu Chinon oxydiert.

#### 84. Übung.

### Membranpotentiale und DONNANSches Ionengleichgewicht<sup>1)</sup>.

Wenn zwei Elektrolytlösungen durch eine Membran getrennt sind und sich auf der einen Seite der Membran ein nicht diffusionsfähiges („kolloides“) Ion befindet, welches auf der anderen

<sup>1)</sup> DONNAN, F. G.: Zeitschr. f. Elektrochem. 17, 572. 1911.

Seite der Membran fehlt, so stellt sich zwischen diesen beiden durch die Membran getrennten Lösungen ein eigenartiges Gleichgewicht ein. Die Anwesenheit des kolloiden Ions, welches durch die Membran nicht durchtreten kann, verhindert, daß die Zusammensetzung der beiden Lösungen die gleiche wird. Das wirklich eintretende Gleichgewicht wird durch das Zusammenwirken folgender Gesetze geregelt:

1. Das Gesetz der Elektroneutralität, d. h. die Summe sämtlicher positiver Ionen muß stets gleich der Summe sämtlicher negativer Ionen sein; dies gilt für jede der beiden Lösungen einzeln. Die Gesamtsumme der Ionen muß dagegen in der kolloidhaltigen Lösung größer sein als in der anderen. Dies ist nur möglich, wenn das Kolloidion den äquivalenten Betrag von gleichgeladenen diffusiblen Ionen aus seiner Lösung herausstößt, oder den äquivalenten Betrag entgegengesetzter geladener diffusibler Ionen in seine Lösung hineinzieht, oder unter Wahrung der Äquivalenzgesetze dies beides miteinander kombiniert.

2. Im Gleichgewicht gilt für alle diffusiblen Kationenarten das Gesetz, daß die Verhältnisse ihrer Konzentrationen in den beiden Lösungen untereinander gleich sind, und ferner ist das Verhältnis der Konzentration der Anionen in den beiden Lösungen genau das reziproke des der Kationen.

3. Ist das Verhältnis irgendeiner Kationenart in den beiden Lösungen  $= \gamma : 1$ , so herrscht zwischen den beiden Lösungen eine elektrische Potentialdifferenz im Betrage von  $0,058 \log \gamma$  Volt, d. h. dieselbe Potentialdifferenz, wie in einer Konzentrationskette, bei der das Verhältnis der Ionenkonzentration an beiden Elektroden  $\gamma : 1$  ist. Wir beschreiben eine Versuchsanordnung zur Demonstration dieser Gesetze in Anlehnung an JACQUES LOEB <sup>1)</sup>.

Ein Kollodiumsack mit eingeklebtem Gummistopfen (s. 44. Übung), Inhalt etwa 40 ccm, wird mit einer Lösung von 1 g Gelatine in 100 ccm  $\frac{1}{2000}$  nHCl gefüllt und ein fast kapillares Steigrohr von etwa 20 cm Länge eingesetzt. Dieses Säckchen wird in ein geräumiges Becherglas von etwa 1 Liter Inhalt bis zur Höhe des Gummistopfens eingesenkt, welches mit einer  $\frac{1}{2000}$  nHCl-Lösung gefüllt ist, und einen oder besser zwei Tage lang zur Einstellung des Diffusionsgleichgewichtes sich selbst überlassen. Es stellt sich ein osmotischer Druck von 15—20 cm Höhe ein. Danach entfernt man das Steigrohr und ersetzt es durch ein Trichterchen.

---

<sup>1)</sup> LOEB, JACQUES: Proteins and The Theory of Colloidal Behavior. New York 1922.

Nun mißt man zunächst die Potentialdifferenz der beiden Lösungen auf folgende Weise: Der Kollodiumschlauch wird durch geeignete Stellung (Druck auf den Boden oder gegen die Glaswand) etwas zusammengedrückt, so daß der Inhalt ein wenig in den Trichter steigt. In diesen Trichter bringt man ein KCl-Agarrohr (Abb. 42, *a*), wie in der 79. Übung, mit aufgebogener Spitze, welches man mit Hilfe von gesättigter KCl-Lösung mit einer gesättigten Kalomelektrode leitend verbindet. Ein zweites solches Agarrohr mit aufgebogenem Ende wird in die Außenlösung eingeführt und zu einer zweiten Kalomelektrode abgeleitet. Der Potentialunterschied der beiden Elektroden wird mit Hilfe der Kompensationsmethode genau wie oben gemessen. Es fanden

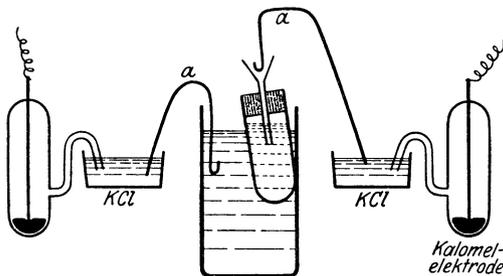


Abb. 42.

sich 0,017 Volt, in dem Sinne, daß die gelatinehaltige Lösung positiv ist gegen die andere.

Nunmehr bestimmt man mit Hilfe der Wasserstoffgaskette  $p_H$  sowohl in der Innenlösung, wie in der Außenlösung. Es fand sich außen  $p_H = 3,43$ , innen  $p_H = 3,76$ , eine Differenz von 0,33, entsprechend einem Potentialunterschied der aus beiden Lösungen zusammengesetzten  $H_2$ -Konzentrationskette im Betrage von 0,019 Volt. Das Membranpotential hat also innerhalb der Fehlergrenzen denselben Betrag wie eine Wasserstoff-Ionenkonzentrationskette, welche mit der Außen- und der Innenlösung angesetzt worden wäre; es hat aber gleichzeitig auch denselben Betrag, wie eine für  $Cl'$ -Ionen reversible Konzentrationskette (z. B. mit  $Hg +$  Kalomelektroden), welche mit den beiden Lösungen angesetzt worden wäre.

Die Ungleichheit der Summe der gelösten Ionen und Moleküle in beiden Lösungen bewirkt den Unterschied des osmotischen Druckes, der sich im Steigrohr zeigte, und der ebensogut als „Quellungsdruck“ der Gelatine bezeichnet werden könnte.

## XIV. Reaktionskinetik.

Um einen Einblick in reaktionskinetische Methoden zu erhalten, geben wir zwei wirklich ausgeführte Versuchsbeispiele mit allen ihren Fehlern und betrachten die Resultate theoretisch und auch besonders kritisch auf die infolge der Versuchsfehler zu erwartenden und wirklich vorhandenen Abweichungen von der Theorie.

### 85. Übung.

#### Die Säurespaltung des Rohrzuckers.

20 g Rohrzucker werden zu einem Volumen von 200 ccm in destilliertem Wasser gelöst und in einem 500 ccm fassenden Kolben in ein großes Wasserbad von Zimmertemperatur gestellt. In einem zweiten ebensolchen Kolben werden 200 ccm 4,0 n Salzsäure gebracht und ebenfalls ins Wasserbad gestellt. Während der warmen Sommermonate empfiehlt es sich, die Hälfte dieser Säurekonzentration zu nehmen. Die Temperatur des Wasserbades wird genau festgestellt und während der ganzen Versuchsdauer mindestens innerhalb  $0,1^\circ$  konstant gehalten. Nachdem die Temperatur sich überall ausgeglichen hat, wird der Inhalt beider Kolben vermischt, der Zeitpunkt notiert und so schnell wie möglich mit einer Pipette eine Probe entnommen, in ein Polarisationsrohr gefüllt und sofort im Polarisationsapparat abgelesen. Es werden innerhalb von 1—2 Minuten 5—6 Ablesungen gemacht, bei jeder einzelnen Ablesung die Zeit notiert und dann sowohl von der Zeit wie von den Ablesungen das Mittel genommen. In Abständen von 20—30 Minuten werden weitere Entnahmen gemacht und in derselben Weise abgelesen. Die Ablesungen werden mit Rücksicht auf die etwa fehlerhafte Nullstellung des Apparates korrigiert.

Die Drehung für die Zeit der Vermischung wird durch eine Extrapolation ermittelt. Zwischen Ablesung 2 und 3 hat eine Drehungsänderung von  $0,25^\circ$  stattgefunden, pro Minute also  $0,10^\circ$ . Daraus schließen wir, daß 2 Minuten vor der Entnahme 2 die Drehung um  $0,20^\circ$  größer gewesen wäre und setzen den Anfangswert =  $6,55^\circ$ . Berechnen wir zwischen der Entnahme 2 und 4 die Drehungsabnahme pro Minute, so ergibt sich  $0,091^\circ$ . In diesem Fall würde die Extrapolation auf die Zeit 0 zu dem Anfangswert 6,53 führen. Zwischen weiteren Zeiträumen dürfen wir die mittlere Drehungsabnahme pro Minute nicht mehr berechnen, weil ja hierbei die Voraussetzung gemacht wurde, daß die Geschwindigkeit im Laufe der Zeit sich nicht ändert. Für so

kurze Zeiten können wir allerdings die Geschwindigkeit als gleichförmig betrachten und legen der aus dem größeren Zeitintervall berechneten Extrapolation den größeren Wert bei, zumal sie sich von der anderen nur sehr wenig unterscheidet. Wir setzen also als Anfangswert 6,53 und klammern ihn in der Tabelle ein, zum Zeichen, daß er nicht direkt beobachtet ist.

Es ergab sich in einem Fall folgendes Resultat:

Tabelle 1<sup>1)</sup>.

Nr.	Zeit in Min. t	Drehung in Graden o	Drehungs- abnahme x	$k_0 = \frac{x}{t}$
1.	0	[6,53]	0	
2.	2	6,35	0,18	0,0900
3.	4,5	6,10	0,43	0,0955
4.	25,0	4,26	2,27	0,0908
5.	41,5	3,05	3,48	0,0838
6.	68,5	1,64	4,89	0,0714
7.	98,5	0,65	5,88	0,0598
8.	128,5	— 0,23	6,76	0,0526
9.	149,5	— 0,60	7,13	0,0477
10.	24 Std.	— 2,19	8,72	—

Wir wollen nun die „Reaktionsordnung“ des Prozesses feststellen. Wir setzen als bekannt nur voraus, daß bei genügend langer Zeit die Inversion des Rohrzuckers vollkommen ist, d. h. daß das definitive Gleichgewicht zwischen Sacharose zu Invertzucker derart ist, daß keine meßbare Menge Sacharose neben Invertzucker übrig bleibt. Unter dieser Bedingung sind die einfachsten Möglichkeiten des Reaktionsverlaufs:

1. Der lineare Verlauf oder die Reaktion nullter Ordnung. Die in jedem Augenblick verschwindende Rohrzuckermenge ist unabhängig von der jeweils noch vorhandenen Rohrzuckermenge; in gleichen Zeiten verschwinden gleiche Mengen Rohrzucker:

$$x = k_0 \cdot t.$$

x bedeutet die zur Zeit t verschwundene Rohrzuckermenge oder die zur Zeit t gebildete Invertzuckermenge.  $k_0$  ist ein Pro-

<sup>1)</sup> Die Ablesungen wurden aus äußeren Gründen in einem 18,94 cm langen Rohr gemacht. Sie sind so angegeben, wie sie gemacht wurden.

portionalitätsfaktor, welcher von der Anfangsmenge des Rohrzuckers unabhängig ist. Dagegen kann  $k_0$  von der Temperatur, von der HCl-Konzentration (und anderen Einflüssen) abhängen, die sich in unserem Versuch aber nicht äußern können, da wir Temperatur und HCl-Konzentration konstant halten. Wenn der Reaktionsverlauf dieser ist, so ist

$$\frac{x}{t} = k_0.$$

Hier können wir  $x$  in beliebigen Maßeinheiten messen; das hat nur Einfluß auf den absoluten Wert von  $k_0$ . Wir werden also  $x$  einfach durch die Drehungsabnahme ausdrücken, welche der Menge des verschwundenen Rohrzuckers (und des gebildeten Invertzuckers) proportional sein muß. Die 3. Spalte der Tabelle 1 ist also  $x$ . Wir finden nun für die verschiedenen Entnahmen die in der letzten Spalte notierten Werte für  $k_0$ .

Wir sehen, daß  $\frac{x}{t}$  nicht konstant ist, sondern mit fortschreitender Zeit abnimmt. Die Reaktion verläuft also nicht linear.

2. Die unimolekulare Reaktion oder Reaktion erster Ordnung. Die in jedem Augenblick verschwindende Rohrzuckermenge ist ein ganz bestimmter Bruchteil der jeweils noch vorhandenen Rohrzuckermenge. Diese Annahme ist durch die Differentialgleichung

$$\frac{dx}{dt} = k_1 \cdot (a - x),$$

wo  $x$  wieder die zur Zeit  $t$  verschwundene Menge Rohrzucker (oder gebildete Menge Invertzucker), und  $a$  die Anfangsmenge des Rohrzuckers bedeutet. Integriert lautet die Gleichung:

$$\frac{1}{t} \cdot \log \frac{a}{a-x} = 0,4343 \cdot k_1 = k.$$

Hier kommt zwar im Gegensatz zum linearen Reaktionsverlauf die Anfangsmenge  $a$  vor, aber nur in Form des Bruches

$\frac{a}{a-x}$ . Es ist daher gleichgültig, in welcher Maßeinheit wir  $a$

und  $x$  messen. Wir wollen beide wieder in Graden Drehungsänderung messen.  $a$  ist dann die gesamte durchlaufene Drehung; also nicht die Anfangsdrehung allein, sondern dazu noch der Betrag der Linksdrehung zum Schluß,

$$a \text{ ist also} = 6,53 + 2,19 = 8,72.$$

Wenn eine Sacharoselösung die Drehung  $m$  hat, so hat sie nach vollständiger Inversion die Drehung  $-0,31$  bis  $-0,32 \cdot m$ . Dieser Faktor ist von der Temperatur und auch von der Konzentration des Zuckers ziemlich stark abhängig. Legen wir  $0,32$  der Rechnung zugrunde, so hätte sich als Schlußdrehung ergeben müssen  $-2,09^\circ$ , ein Wert, der in Anbetracht der erwähnten Unsicherheit mit der Beobachtung ( $-2,19^\circ$ ) befriedigend übereinstimmt. Wir legen der Rechnung die wirklich beobachtete Schlußdrehung zugrunde.

Auf diese Weise ist die Tabelle 2 berechnet.

Tabelle 2.

$$a = 8,72.$$

$$\lg a = 0,941.$$

t	x	a-x	lg (a-x)	$\lg \frac{a}{a-x}$	$\frac{1}{t} \cdot \lg \frac{a}{a-x} = k$
0	0	8,72	0,941	—	—
2	0,18	8,54	0,931	0,010	0,00500
4,5	0,43	8,29	0,919	0,022	0,00488
25,0	2,27	6,45	0,810	0,131	0,00524
41,5	3,48	5,24	0,719	0,222	0,00535
68,5	4,89	3,83	0,583	0,358	0,00523
98,5	5,88	2,84	0,453	0,488	0,00500
128,5	6,76	1,96	0,292	0,649	0,00503
149,5	7,13	1,59	0,201	0,740	0,00495

$$\text{Im Mittel } k_m = 0,00508$$

Wir sehen, daß die Ausdrücke der letzten Spalten annähernd konstant sind und finden somit zunächst angenähert, daß die Annahme des unimolekularen Verlaufs zutreffend ist. Um dies noch genauer zu entscheiden, verfahren wir folgendermaßen: Wir nehmen aus den verschiedenen  $k$ -Werten das arithmetische Mittel; es sei  $= k_m = 0,00508$ . Nun rechnen wir aus, wie groß für ein solches  $k_m$  bei jedem Wert von  $t$  der Wert  $(a-x)$  hätte sein müssen. Wir benutzen dazu die letzte Gleichung in der Umformung  $\log (a-x) = \log a - kt$ .

Die Abweichungen der beobachteten und berechneten Werte betragen in keinem Falle mehr als einige hundertstel Grade und liegen somit innerhalb der Fehlergrenzen. Daß auch die Beobachtung nach 2 und nach 4,5 Minuten so gut stimmen, ist ein Zufall. Bei der Kleinheit der Umsätze, der Ungenauigkeit der Zeitbestimmungen für so kleine Intervalle wären hier auch größere Unstimmigkeiten erträglich gewesen.

Diese Rechnung zeigt Tabelle 3.

Tabelle 3.

$$k_m = 0,00508.$$

$$\lg a = 0,941.$$

t	$k_m \cdot t$	$\lg a - k_m t$ = $\lg(a-x)$	a-x berechnet	a-x beobachtet	Differenz zwischen (a-x) beobachtet und berechnet in Graden
0	—	0,941	[8,72]	8,72	—
2,0	0,0102	0,931	8,53	8,54	+ 0,01
4,5	0,0229	0,918	8,28	8,29	+ 0,01
25,0	0,127	0,814	6,52	6,45	- 0,07
41,5	0,218	0,723	5,29	5,24	- 0,05
68,5	0,348	0,593	3,92	3,83	- 0,09
98,5	0,500	0,441	2,76	2,84	+ 0,08
128,5	0,653	0,288	1,94	1,96	+ 0,02
149,5	0,760	0,181	1,52	1,59	+ 0,07

Sieht man von den ersten beiden unsicheren Werten ab, so scheint sich ein leichter „Gang“ der Konstanten bemerkbar zu machen. Die Abweichungen sind erst alle negativ, dann alle positiv, während ein ungeordnetes Pendeln um einen Mittelwert erwartet werden sollte. Die Abweichungen sind zwar klein, aber es ist immerhin auffällig. Haben wir deshalb ein Recht, diesem Umstand eine sachliche Bedeutung beizulegen? Das ist nicht der Fall. Der Wert für a, der der ganzen Rechnung zugrunde liegt, ist durch eine Extrapolation entstanden und trägt eine etwas größere Unsicherheit in sich als die anderen Zahlen. Setzen wir a nur um  $0,02^\circ$  kleiner an, was durchaus im Bereich der Fehlergrenzen liegt, so hat das auf die ganze Rechnung einen derartigen Einfluß, daß von einem „Gang“ der Konstanten nichts mehr bemerkbar ist, wie man nachrechnen möge.

## 86. Übung.

### Die fermentative Spaltung des Rohrzuckers.

Als Ferment benutzen wir die Saccharase (Invertin, Invertase) der Hefe. 100 g frische Bäckerhefe werden in einem Mörser zunächst mit wenig, dann immer mehr Wasser gut verrührt, insgesamt 200 ccm, mit 5 ccm Chloroform versetzt und 4—5 Tage verschlossen im Brutschrank gehalten. Dann wird das Gemisch mit einigen Tropfen starker Essigsäure versetzt und etwa 20 g

feinpulveriges Kaolin zugegeben, gut durchgeschüttelt und nach einigen Minuten durch ein großes Faltenfilter filtriert. Der erste Teil des Filtrats ist oft noch trübe, er wird in die Vorratsflasche zurückgegossen und das Filtrat erst dann endgültig aufgefangen, wenn eine leicht gelbliche, aber völlig klare Lösung durchläuft. Für unsere Zwecke ist eine weitere Reinigung durch Dialyse nicht erforderlich. Das Ferment hält sich, mit etwas Chloroform oder Toluol versetzt, im Eisschrank so gut wie unbeschränkt in voller Wirksamkeit. Seine Wirksamkeit fällt natürlich je nach der Beschaffenheit der Hefe etwas verschieden aus.

Man braucht nun ein Wasserbad mit Rührwerk, welches man auf eine Temperatur um  $25^{\circ}$  einstellt. Die Temperaturschwankung soll  $\pm 0,05^{\circ}$  möglichst nicht überschreiten.

Man stellt eine Lösung von etwa 10 g Sacharose auf 300 ccm destilliertes Wasser her und wärmt sie in einem 500 ccm fassenden Kolben im Wasserbad vor. In einem zweiten ebensolchen Kolben wärmt man eine Mischung von 20 ccm Fermentlösung + 20 ccm 0,1 n. Natriumazetat + 20 ccm 0,1 n. Essigsäure + 140 ccm (d. h. auf 200 ccm) Wasser vor. Gleichzeitig stellt man (außerhalb des Wasserbades) etwa 10—12 Erlenmeyerkolben mit je genau 3 ccm einer 0,5 mol. Lösung von  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  zurecht. (Die Konzentration dieser Sodalösung soll derart sein, daß die auf die gleich zu beschreibende Weise mit ihr vermischte saure Zuckerlösung gegen Lackmuspapier unzweifelhaft alkalisch wird.)

Nachdem die beiden Kolben im Wasserbad genügend vorgewärmt sind, mischt man ihren Inhalt zusammen, notiert die Zeit und entnimmt sobald als möglich mit einer Vollpipette 25 ccm und läßt sie in einen der Kolben mit Sodalösung fließen. Die Zeit dieser ersten Entnahme wird notiert. Dann entnimmt man in genügenden Abständen weitere Proben in derselben Weise.

Die Sodalösung hat einen doppelten Zweck. Erstens unterbricht sie die Fermentwirkung. Zweitens bewirkt sie, daß die Multirotation der durch die Invertierung frisch entstandenen Glukose schnell auf die normale Drehung gebracht wird. (Bei der Säurespaltung tritt gleich die definitive Drehung ein; Alkalisierung für die Ablesung war deshalb nicht nötig.) Die Ansäuerung der Fermentlösung mit dem Azetatgemisch hatte den Zweck, die für die Fermentwirkung günstigste h herzustellen.

Die einzelnen Proben werden dann im Polarisationsapparat untersucht. Die letzte Probe sollte nach 24 Stunden entnommen

werden. Der Endwert ist oft noch nicht genau der theoretisch erwartete, weil die Endstadien der Spaltung sehr langsam verlaufen.

Die zu erwartende Enddrehung kann folgendermaßen berechnet werden. Ist  $+a$  die Anfangsdrehung,  $-b$  die Enddrehung, so ist  $b = 0,313 \cdot a$ . Die gesamte durchlaufene Drehung ist also  $1,313 \cdot a$ .

Es empfiehlt sich, die Eigendrehung der Fermentlösung in einer Kontrollprobe gleicher Zusammensetzung, aber ohne Zucker, zu bestimmen und als Korrektur für jede einzelne Ablesung abzuziehen. Die Eigendrehung des Ferments ist allerdings sehr gering.

Es ergeben sich z. B. in einem Versuch

I	II	III	IV	V
Zeit in Minuten t	Korrigierte Drehung	Drehungs- änderung x	$\frac{x}{t} = k_0$	$\frac{1}{t} \cdot \log \frac{a}{a-x} = k$
0	[4,334]	0	—	—
0,5	4,324	0,010	—	—
21,0	3,945	0,389	0,0185	0,00145
60,0	3,260	1,074	0,0179	0,00151
130,0	2,129	2,205	0,0170	0,00164
190,2	1,330	3,004	0,0158	0,00171
246,0	0,744	3,590	0,0146	0,00176

Drücken wir die Zuckermengen also wieder in Graden der Drehungsänderung aus.

Wir stellen nun die Reaktionsordnung fest. Spalte IV gibt die Rechnung für eine lineare Reaktion. Auch hier hat  $k_0$  einen Gang; es fällt mit der Zeit.

Wir rechnen nun die Konstante  $k = \frac{1}{t} \cdot \log \frac{a}{a-x}$  aus.

Der Wert  $a$  ist gleich der theoretisch erwarteten gesamten erreichbaren Drehungsänderung, also  $4,334 (1 + 0,313) = 5,690$ . Die Rechnung ist in Spalte V ausgeführt.

Also auch die  $k$ -Werte zeigen einen Gang, aber sie steigen mit der Zeit. Um zu sehen, ob das in die Fehlergrenzen fällt, rechnen wir wieder den Mittelwert  $k_m$  aus,  $= 0,001614$ , und

rechnen auf die früher angegebene Weise  $a - x$  zurück. Es ergibt sich

t	$a - x$ berechnet	$a - x$ beobachtet	Differenz zwischen Beobachtung und Berechnung
0	—	5,690	—
21,5	5,167	5,301	+ 0,134
60,0	4,489	4,616	+ 0,127
130,0	3,461	3,485	+ 0,024
190,2	2,766	2,686	— 0,080
246,0	2,248	2,100	— 0,148

Die Differenzen haben einen starken Gang und sind besonders am Anfang und am Ende des Versuchs bestimmt größer als die zu erwartenden Fehlergrenzen. Daß in der Mitte die Abweichungen nur klein sind, liegt daran, daß wir ein mittleres  $k$  der Rechnung zugrunde legen. Der Gang der fermentativen Rohrzuckerspaltung ist also nicht mit einer unimolekularen Reaktion zu vereinbaren. Er liegt in der Mitte zwischen einem linearen und logarithmischen Verlauf, ist „infralogarithmisch“. Die Deutung dieses Verlaufes kann nicht mehr die Aufgabe dieses Buches sein, auch nicht, diejenige Formel anzugeben, welche diesen Verlauf wirklich wiedergibt.

## Logarithmentafel.

(Vgl. dazu S. 31.)

	0	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	5	6	7	8	9
1	000 979	021 979	041 959	061 939	079 921	097 903	114 886	130 870	146 854	161 839	176 824	204 796	230 770	255 745	279 721
2	301 699	312 688	322 678	332 668	342 658	352 648	362 638	371 629	380 620	389 611	398 602	415 585	431 569	447 553	462 538
3	477 523	484 516	491 509	498 502	505 495	512 488	519 481	525 475	531 469	538 462	544 456	556 444	568 432	580 420	591 409
4	602 398	607 393	613 387	618 382	623 377	628 372	633 367	638 362	643 357	648 352	653 347	663 337	672 328	681 319	690 310
5	699 301	703 297	708 292	712 288	716 284	720 280	724 276	728 272	732 268	737 263	740 260	748 252	756 244	763 237	771 229
6	778 222	782 218	785 215	789 211	792 208	796 204	799 201	803 197	806 194	810 190	813 187	820 180	826 174	833 167	839 161
7	845 155	848 152	851 149	854 146	857 143	860 140	863 137	866 134	869 131	872 128	875 125	881 119	886 114	892 108	898 102
8	903 097	906 094	908 092	911 089	914 086	916 084	919 081	922 078	924 076	927 073	929 071	935 065	940 060	944 056	949 051
9	954 046	957 043	959 041	961 039	964 036	966 034	968 032	971 029	973 027	975 025	978 022	982 018	987 013	991 009	996 004

**Der Gang der qualitativen Analyse.** Für Chemiker und Pharmazeuten bearbeitet von Dr. **Ferdinand Henrich**, o. ö. Professor an der Universität Erlangen. Zweite, erweiterte Auflage. Mit 4 Textfiguren. (44 S.) 1925. RM 2.40

---

**Ernst Schmidt. Anleitung zur qualitativen Analyse.** Herausgegeben und bearbeitet von Dr. **J. Gadamer**, o. Professor der Pharmazeutischen Chemie und Direktor des Pharmazeutisch-chemischen Instituts der Universität Marburg. Neunte, verbesserte Auflage. (120 S.) 1922. RM 2.50

---

**Qualitative Analyse** auf präparativer Grundlage. Von Dr. **W. Strecker**, o. Professor an der Universität Marburg. Zweite, ergänzte und erweiterte Auflage. Mit 17 Textfiguren. (205 S.) 1924. RM 6.60

---

**Praktikum der quantitativen anorganischen Analyse.** Von **Alfred Stock** und **Arthur Stähler**. Dritte, durchgesehene Auflage. Mit 36 Textfiguren. (150 S.) 1920. RM 3.50

---

**Einfaches pharmakologisches Praktikum** für Mediziner. Von **R. Magnus**, Professor der Pharmakologie in Utrecht. Mit 14 Abbildungen. (59 S.) 1921. Mit Schreibpapier durchschossen. RM 2.—

---

**Grundbegriffe der Kolloidchemie** und ihre Anwendung in Biologie und Medizin. Einführende Vorlesungen. Von Dr. **Hans Handovsky**, Privatdozent an der Universität Göttingen. Mit 6 Abbildungen. (72 S.) 1923. RM 2.20

---

**Der Gebrauch von Farbenindikatoren.** Ihre Anwendung in der Neutralisationsanalyse und bei der colorimetrischen Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration. Von Dr. **J. M. Kolthoff**, Konservator am Pharmazeutischen Laboratorium der Reichs-Universität Utrecht. Zweite, verbesserte Auflage. Mit 21 Textabbildungen und einer Tafel. (229 S.) 1923. RM 10.—

---

**Die quantitative organische Mikroanalyse.** Von Dr. med. und Dr. phil. h. c. **Fritz Pregl**, o. ö. Professor der Medizinischen Chemie und Vorstand des Medizinisch-Chemischen Instituts an der Universität Graz, korrespondierendes Mitglied der Akademie der Wissenschaften in Wien. Zweite, durchgesehene und vermehrte Auflage. Mit 42 Textabbildungen. (226 S.) 1923. Gebunden RM 12.—

**Praktikum der Physiologischen Chemie.** Von Dr. med. et phil.  
P. Rona, Universitätsprofessor in Berlin.

I. Teil: **Fermentmethoden.** Mit etwa 70 Textabbildungen.

Erscheint im Frühjahr 1926

II. Teil: **Blut, Harn, Körperflüssigkeiten.** In Vorbereitung

III. Teil: **Stoff- und Energiewechsel.** In Vorbereitung

---

**Kurzes Lehrbuch der allgemeinen Chemie.** Von Julius Gróh,  
o. ö. Professor der Chemie an der Tierärztlichen Hochschule Budapest.  
Übersetzt von Paul Hári, o. ö. Professor der Physiologischen und  
Pathologischen Chemie an der Universität Budapest. Mit 69 Abbil-  
dungen. (286 S.) 1923. Gebunden RM 8.—

---

**Kurzes Lehrbuch der Physiologischen Chemie.** Von Dr. Paul  
Hári, o. ö. Professor der Physiologischen und Pathologischen Chemie  
an der Universität Budapest. Zweite, verbesserte Auflage. Mit  
6 Textabbildungen. (364 S.) 1922. Gebunden RM 11.—

---

**Grundzüge der pharmazeutischen und medizinischen Chemie**  
für Studierende der Pharmazie und Medizin bearbeitet. Von Professor  
Dr. Hermann Thoms, Geh. Regierungsrat und Direktor des Pharma-  
zeutischen Instituts der Universität Berlin. Siebente, verbesserte  
Auflage der „Schule der Pharmazie, Chemischer Teil“. Mit 108 Text-  
abbildungen. (562 S.) 1921. Gebunden RM 10.—

---

**Grundzüge der Botanik für Pharmazeuten.** Von Dr. Ernst  
Gilg, Professor der Botanik und Pharmakognosie an der Universität  
Berlin, Kustos am Botanischen Museum zu Berlin-Dahlem. Sechste,  
verbesserte Auflage der „Schule der Pharmazie, Botanischer Teil“. Mit  
569 Textabbildungen. (454 S.) 1921. Gebunden RM 10.—

---

**Biologische Studienbücher.** Herausgegeben von Prof. Dr. Walther  
Schoenichen.

Band 1: **Praktische Übungen zur Vererbungslehre.** Für Studierende,  
Ärzte und Lehrer. In Anlehnung an den Lehrplan des Erbkund-  
lichen Seminars von Prof. Dr. Heinrich Poll. Von Dr. Günther  
Just, Kaiser Wilhelm-Institut für Biologie in Berlin-Dahlem. Mit  
37 Abbildungen im Text. (88 S.) 1923.

RM 3.50; gebunden RM 5.—

Band 2: **Biologie der Blütenpflanzen.** Eine Einführung an der  
Hand mikroskopischer Übungen. Von Professor Dr. Walther  
Schoenichen. Mit 306 Original-Abbildungen. (216 S.) 1924.

RM 6.60; gebunden RM 8.—

Band 3: **Biologie der Schmetterlinge.** Von Dr. Martin Hering,  
Vorsteher der Lepidopteren-Abteilung am Zoologischen Museum  
der Universität Berlin. Mit 82 Textabbildungen und 13 Tafeln.  
(486 S.) 1926. RM 18.—; gebunden RM 19.50

Band 4: **Kleines Praktikum der Vegetationskunde.** Von Dr.  
Friedrich Markgraf, Botanisches Institut der Universität Berlin.  
Mit 31 Textabbildungen. Erscheint im Frühjahr 1926.