

Enzymstudien.

II. Mitteilung.

Über die Messung und die Bedeutung der Wasserstoffionen- konzentration bei enzymatischen Prozessen.¹⁾

Von

S. P. L. Sørensen.

(Aus dem Carlsberg-Laboratorium, Kopenhagen.)

(Eingegangen am 29. Mai 1909.)

Mit 8 Figuren im Text und 1 Tafel.

Inhalt. Einleitung. 1. Säuregrad — Wasserstoffionenkonzentration, S. 131. — 2. Die Größe der Wasserstoffionenkonzentration. Der Wasserstoffionenexponent, S. 133. — 3. Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration verglichen mit dem der Temperatur. Wasserstoffionenkonzentrationskurven, S. 134. — 4. Meßmethoden zur Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration, S. 139. — A. Elektrometrische Messungen. a) Die Meßmethode, S. 150; b) Bestimmung von π_o , S. 153; c) Bestimmung der Dissoziationskonstante des Wassers, S. 161; d) Die Standardlösungen und ihre Messung auf elektrolytischem Wege; die Hauptkurventafel, S. 167; e) Besondere Fälle, wo die elektrometrische Messung mit Schwierigkeiten verbunden ist, S. 190. — B. Colorimetrische Messungen. a) Das angewandte Verfahren, S. 201; b) Fehlerquellen der Methode, S. 206; c) Die untersuchten Indikatoren, S. 221. — C. Die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration bei enzymatischen Spaltungen. a) Invertin, S. 256; b) Katalase, S. 284; c) Pepsin, S. 288; Kurze Übersicht, S. 300.

Einleitung.

1. Säuregrad — Wasserstoffionenkonzentration.

Es ist eine wohlbekannte Tatsache, daß die Geschwindigkeit, mit welcher eine enzymatische Spaltung verläuft, unter anderem

¹⁾ Wird gleichzeitig in französischer Sprache in den Compt. rend. du Lab. de Carlsberg 8, 1, 1909 veröffentlicht.

von dem Aciditäts- oder Alkalinitätsgrade der vorliegenden Lösung abhängig ist. Gewöhnlich — ja sozusagen immer — wird bei enzymatischen Prozessen der Aciditäts- oder Alkalinitätsgrad nach der ganzen zugegebenen Säure- oder Basenmenge berechnet und angegeben, und es ist keineswegs üblich, auf den Dissoziationsgrad der angewandten Säure oder Base Rücksicht zu nehmen; noch seltener wird das Vermögen der betreffenden Lösung, Säure oder Base zu binden, mit in Betracht gezogen.

Es unterliegt jedoch keinem Zweifel, daß die Ansichten über die Natur der Lösungen, welche auf der Theorie Arrhenius' über die elektrolytische Dissoziation fußen, auch in solchen Fällen wie die hier erwähnten zur Anwendung zu bringen sind. Wenn zum Beispiel eine Pepsinverdauung sich in einer salzsäuren Lösung abspielt, welche in bezug auf ihren Gesamtgehalt an Salzsäure 0,1 normal ist, dann darf man nicht außer acht lassen, daß eine 0,1 normale Salzsäure nicht vollständig dissoziiert ist, und daß der „wirkliche Säuregrad“, welcher rationell als die Wasserstoffionenkonzentration zu bezeichnen ist, infolge dessen etwas kleiner als 0,1 n ist. Zugleich muß man in Betracht ziehen, inwieweit die Lösung Salze — z. B. Phosphate —, mit welchen die Salzsäure sich umsetzen kann, oder andere Stoffe, welche die Wasserstoffionenkonzentration beeinflussen können, enthält, und namentlich darf man nicht vergessen, daß das Substrat, in diesem speziellen Falle ein passender Proteinstoff, Säure bindet. Da die Wasserstoffionenkonzentration der Lösung nur von der anwesenden Menge freier dissoziierter Säure abhängig ist, und da selbstverständlich die an den Proteinstoff gebundene Säuremenge von der Natur und Menge dieses Stoffes abhängt, so ist unmittelbar einleuchtend, daß zwei Lösungen, deren die eine z. B. 1 g, die andere 5 g Proteinstoff in 100 cm 0,1 n-Salzsäure enthält, und die folglich nach der allgemein üblichen Ausdrucksweise von demselben Säuregrad sind, einen weit verschiedenen „wirklichen Säuregrad“, eine weit verschiedene Wasserstoffionenkonzentration haben.

Das hier über den Säuregrad und die Wasserstoffionenkonzentration einer Pepsinverdauung Gesagte hat für alle enzymatischen Prozesse Gültigkeit. Ich habe die Pepsinspaltung als Beispiel gewählt, weil dieser Prozeß am besten bei einer

größeren Wasserstoffionenkonzentration vor sich geht, weshalb die Verhältnisse hier übersichtlicher und wohl auch einigermaßen bekannt sind. Aber auch bei solchen enzymatischen Vorgängen, welche sich am besten bei schwach saurer, neutraler oder alkalischer Reaktion abspielen, muß eine ganz gleiche Betrachtungsweise geltend gemacht werden. Es wird aus den im letzten Abschnitte (s. S. 255) dieser Abhandlung angeführten Beispielen hervorgehen, daß die Größe der Wasserstoffionenkonzentration für die anderen Enzymspaltungen von ebenso wesentlicher Bedeutung ist wie für die Pepsinverdauung; der Unterschied liegt nur in der Größenordnung der Wasserstoffionenkonzentrationen, mit welchen man in den verschiedenen Fällen zu rechnen hat.

2. Die Größe der Wasserstoffionenkonzentrationen. Der Wasserstoffionenexponent.

Wenn man die Konzentrationen der Wasserstoffionen, der Hydroxylionen und des Wassers in einer wässrigen Lösung mit beziehungsweise $C_{H'}$, $C_{OH'}$ und C_{H_2O} bezeichnet, dann wird, wie bekannt, kraft des Gesetzes der chemischen Massenwirkung die folgende Gleichung gelten:

$$\frac{C_{H'} \times C_{OH'}}{C_{H_2O}} = \text{konstant.}$$

Da C_{H_2O} für eine wenn auch nur einigermaßen verdünnte Lösung als konstant anzusehen ist, wird auch das Produkt

$$C_{H'} \times C_{OH'} = \text{konstant.}$$

Dieses Produkt, welches gewöhnlich, auch in dieser Abhandlung, die Dissoziationskonstante des Wassers genannt wird, wird bei 18° gleich $0,64 \times 10^{-14}$ gesetzt; in einer Reihe Messungen, welche hier im Laboratorium ausgeführt wurden und in einem späteren Abschnitte (s. S. 163) beschrieben werden, haben wir den Mittelwert $0,72 \times 10^{-14}$, oder, anders geschrieben, $10^{-14,14}$, gefunden. Die Größe ermöglicht, wie leicht zu ersehen ist, die Wasserstoffionenkonzentration einer wässrigen Lösung zu berechnen, wenn die Konzentration der Hydroxylionen bekannt ist und umgekehrt. Weil natürlich der Wert der Dissoziationskonstante des Wassers mit Fehlern behaftet ist, und weil weiter die Konzentration der Wasserstoffionen gewöhnlich genauer und bequemer als die der Hydroxyl-

ionen sich bestimmen läßt, ist es rationeller, wie H. Friedenthal¹⁾ vorgeschlagen hat, soweit als möglich immer die Wasserstoffionenkonzentration einer Lösung zu bestimmen und in Rechnung zu bringen, auch dann, wenn die Lösung alkalisch reagiert. Dieses Verfahren wird deshalb auch im folgenden gebraucht, indem z. B. eine Lösung, deren Normalität, auf Wasserstoffionen bezogen, gleich 0,01 gefunden ist, mit 0,01 n oder, unter Weglassung der Normalitätsbezeichnung, kurzweg mit 10^{-2} bezeichnet wird. In derselben Weise wird die Wasserstoffionenkonzentration einer Lösung, welche auf Hydroxylionen bezogen, z. B. 0,01 normal ist, durch $10^{-12,14}$ angegeben, indem $10^{-12,14} \times 10^{-2} = 10^{-14,14}$ ist. Vollständig reines Wasser und wirklich neutrale Lösungen werden beim Gebrauch derselben Ausdrucksweise eine Wasserstoffionenkonzentration von $10^{-7,07}$ haben, da $10^{-7,07} \times 10^{-7,07} = 10^{-14,14}$.

Die Größe der Wasserstoffionenkonzentration wird demgemäß durch den auf die Wasserstoffionen bezogenen Normalitätsfaktor der betreffenden Lösung ausgedrückt, und dieser Faktor wird in der Form einer negativen Potenz von 10 geschrieben. Indem ich übrigens auf einen folgenden Abschnitt verweise (s. S. 159), will ich hier nur anführen, daß ich den Namen „Wasserstoffionenexponent“ und die Bezeichnung p_H für den numerischen Wert des Exponenten dieser Potenz benütze. In den drei oben angeführten Beispielen wird p_H demgemäß bzw. 2, 12,14 und 7,07.

3. Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration verglichen mit dem der Temperatur. Wasserstoffionenkonzentrationskurven.

Die Konzentration der Wasserstoffionen spielt bei enzymatischen Prozessen eine ganz ähnliche Rolle wie die Temperatur. Unter der Temperaturkurve eines Enzyms versteht man gewöhnlich die Kurve, welche die in der Zeiteinheit unter gegebenen Umständen gespaltete Substratmenge als Ordinaten hat, während die Versuchstemperaturen als Abszissen dienen. Eine solche Temperaturkurve gibt folglich Auskünfte über die Geschwindigkeit, mit welcher das Substrat bei verschiedenen Tempe-

¹⁾ Zeitschr. f. Elektrochem. 10, 114, 1904.

raturen, aber bei sonst gleichen Verhältnissen gespalten wird, und zeigt des weiteren, wie bekannt, daß es für jedes einzelne Enzym eine bestimmte Temperatur, die Optimaltemperatur, gibt, bei welcher die Spaltung ihre größte Geschwindigkeit erreicht. In der Nähe der Optimaltemperatur — in der Optimalzone — verläuft die Spaltung mit ungefähr ebenso großer Schnelligkeit wie bei der Optimaltemperatur selbst, in größerer Entfernung aber nimmt die Geschwindigkeit zu beiden Seiten ab, gewöhnlich am stärksten bei steigender Temperatur, so daß das Substrat so gut wie nicht gespalten wird, wenn die Temperatur hinreichend niedrig, bzw. hoch ist. Daß die Geschwindigkeit der Spaltung mit sinkender Temperatur abnimmt, hat gewiß nicht in einer Destruktion des Enzyms seinen Grund; dagegen kann man kaum bezweifeln, daß das starke Absteigen der Temperaturkurve bei Temperaturen über denen der Optimalzone von einer unter diesen Umständen stattfindenden Zerstörung des Enzyms herrührt. Die Temperaturkurve ist somit als die Differenz zweier Kurven aufzufassen, die wirkliche Temperaturkurve, welche nicht nur unter, sondern wahrscheinlich auch über der Optimalzone mit der Temperatur gleichförmig steigend verlaufen wird, und andererseits die Zerstörungskurve des Enzyms, die bei niedrigen Temperaturen, unter der Optimaltemperatur, kleinere Ordinaten¹⁾ hat, während sie bei höheren Temperaturen stark ansteigt, um bald einen Verlauf beinahe parallel der Ordinatenachse²⁾ zu nehmen.

Es ist leicht zu ersehen, daß eine Kurve, welche mit diesen zwei Kurven, der „wirklichen Temperaturkurve“ und der Destruktionskurve des Enzyms, gemeinsame Abszissen hat, während ihre Ordinaten der Differenz der Ordinaten dieser Kurven gleich

¹⁾ Selbstverständlich ist ein solcher Vergleich nur dann möglich, wenn die Ordinaten der zwei Kurven in denselben Maßeinheiten ausgedrückt werden. Die Ordinaten der Zerstörungskurve des Enzyms müssen deshalb den Unterschied zwischen der im Versuch gespaltenen Menge Substrat und der Menge, welche gespalten worden wäre, wenn das Enzym nichts von seinem Wirkungsvermögen eingebüßt hätte, angeben.

²⁾ Siehe z. B. Th. Madsen et L. Walbum, *Recherches sur l'affaiblissement de la présure*. Festschrift tillegnad Olof Hammarsten 1906, Abh. Nr. 10; und L. W. Famulener und Thorvald Madsen, Die Abschwächung der Antigene durch Erwärmung. *Diese Zeitschr.* 11, 186, 1908.

sind, ganz wie die gewöhnliche Temperaturkurve eines Enzyms verlaufen wird. Ganz ähnliche Verhältnisse gelten auch für die Wasserstoffionenkonzentrationskurve eines Enzyms; damit wird die Kurve gemeint, welche man bekommt, wenn man die unter den gegebenen Versuchsbedingungen in der Zeiteinheit gespaltene Substratmenge als Ordinaten benutzt, während der Wasserstoffionenexponent der Versuchsflüssigkeit als Abszisse fungiert. Eine solche Wasserstoffionenkonzentrationskurve, welche somit über die Spaltungsgeschwindigkeiten bei verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen, wenn alles übrige gleich bleibt, Aufklärung gibt, hat (siehe den letzten Abschnitt dieser Abhandlung, S. 255), ganz wie die Temperaturkurve, ihren Optimalpunkt, ihre Optimalzone und ihr Absteigen sowohl bei zunehmender als auch bei abnehmender Wasserstoffionenkonzentration. Ob die Analogie zwischen dem Einflusse der Temperatur und dem der Wasserstoffionenkonzentration noch weiter geht, so daß z. B. das Absteigen des einen Kurvenzweiges von einer langsameren Wirkung des Enzyms bei den diesem Zweig entsprechenden Ionenkonzentrationen herrührt, während das Absteigen des anderen Zweiges in einer zunehmenden Destruktion des Enzyms bei den entsprechenden Ionenkonzentrationen seine Ursache hat, oder ob etwa die beiden Kurvenzweige den Grund ihres Sinkens in dem letztgenannten Umstande haben, ist von uns noch nicht experimentell durchgearbeitet worden, aber diesbezügliche Arbeiten sind hier im Laboratorium in Angriff genommen.

Durch diesen Vergleich zwischen dem Einflusse der Temperatur und dem der Wasserstoffionenkonzentration — ein Vergleich, welcher bei der Betrachtung der Wasserstoffionenkonzentrationskurven sich ganz von selbst aufdrängt — habe ich nur so stark wie möglich hervorheben wollen, daß die Kenntnis der Wasserstoffionenkonzentration der Flüssigkeit, in welcher ein enzymatischer Prozeß stattfindet, von ebenso ausschlaggebender Bedeutung ist, als die Kenntnis irgendeines anderen Faktors, z. B. der Temperatur, welcher die Geschwindigkeit des Prozesses beeinflußt.

Bevor ich zur Besprechung der Methoden übergehe, welche bei der Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration solcher Lösungen, wie die hier in Rede stehenden, anwendbar sind, mag es zweckmäßig sein, hier vorerst kurz zu begründen, warum

bei der Konstruktion der Wasserstoffionenkonzentrationskurven mit dem Wasserstoffionenexponenten, und nicht mit dem eigentlichen, den Gehalt an Wasserstoffionen direkt angegebenden Normalitätsfaktor gerechnet wird.

Erstens muß man sich dann erinnern, wie klein der wirkliche Gehalt an Wasserstoffionen ist bei allen Enzymspaltungen, die Pepsinverdauung allein ausgenommen. Handelt es sich z. B. um die Spaltung des Rohrzuckers mittels Invertins, welche in schwach saurer Flüssigkeit am besten vor sich geht, und nehmen wir an, daß die Lösung die für diesen Prozeß optimale Ionenkonzentration besitzt, dann zeigt eine einfache Rechnung, daß der Gesamtbetrag an Wasserstoffionen in 100 ccm einer solchen Lösung kleiner ist als der Gehalt an Wasserstoffionen in 1 Tropfen 0,1 n-Salzsäure. Das heißt, anders gesagt, daß ein Zusatz von nur 1 Tropfen 0,1 n-Natriumhydroxydlösung zu 100 ccm einer solchen Lösung, welche mit reinem Zucker und unter Benutzung einer durch Dialyse oder sonst irgendwie tunlichst von säure- oder basebindenden Stoffen befreiten Invertinlösung zubereitet ist, ihren Charakter ganz verändern wird, derart, daß sie von schwach sauer schwach alkalisch werden wird, wodurch jede Wirkung des Enzyms aufhört.¹⁾ Da es sich folglich bei Enzymspaltungen gewöhnlich um außerordentlich kleine absolute Mengen von Wasserstoffionen handelt, wird man leicht zu der Annahme geführt, daß erst solche Änderungen ihrer Konzentration, die eine deutliche Änderung des Wasserstoffionenexponenten herbeiführen, eine nachweisbare Veränderung der Geschwindigkeit der Enzymspaltung bewirken werden.

Eine einfache Rechnung zeigt, daß eine Verdoppelung oder eine Halbierung der Ionenkonzentration eine Verminderung, bzw. eine Vergrößerung des Ionenexponenten mit ca. 0,3 herbeiführt, so daß z. B. eine Lösung mit dem Wasserstoffionenexponenten 4,6 eine 2mal so große Wasserstoffionenkonzentration hat als eine Lösung mit dem Exponenten 4,9, diese letztere wieder eine doppelt so große Konzentration der Wasserstoffionen als eine mit dem Wasserstoffionenexponenten 5,2 und so fort.

¹⁾ Eine für säure- und basebindende Stoffe ganz freie Invertinlösung läßt sich natürlich nicht darstellen; es macht aber keine Schwierigkeiten, eine Enzymlösung darzustellen, welche so rein ist, daß die Wirkung kleiner Mengen alkalischer Stoffe, z. B. von alkalisch reagierenden Glasarten herrührend, deutlich zu spüren ist. Siehe z. B. die schöne Arbeit G. Bertrands, *Recherches sur l'influence paralysante exercée par certains acides sur la laccase*. Bull. de la Soc. chim. de France [4], 1, 1120, 1907.

Das hier Angeführte scheint indessen nicht nur für diejenigen Enzymspaltungen zu gelten, welche bei kleinen Wasserstoffionenkonzentrationen stattfinden, sondern insofern als die bisher ausgeführten Versuche ein Urteil darüber erlauben, auch für die Pepsinverdauung. Auch hier bedingt eine Verdoppelung der Wasserstoffionenkonzentration keine durchgreifende Änderung der Geschwindigkeit des Prozesses, obschon hier von stark sauren Flüssigkeiten die Rede ist, indem die optimale Wasserstoffionenkonzentration der Pepsinverdauung bei 10^{-1} bis 10^{-2} liegt.

Kurz, es hat sich, was die bisher untersuchten enzymatischen Prozesse betrifft, gezeigt, daß die Änderung der Geschwindigkeit des Prozesses von der relativen Größe der Änderung der Wasserstoffionenkonzentration und nicht von dem absoluten Wert derselben Änderung abhängt. Infolgedessen ist es bei Studien dieser Art zweckmäßig, nicht mit den absoluten Werten der Wasserstoffionenkonzentrationen, sondern mit ihren Logarithmen, das heißt, mit dem Wasserstoffionenexponenten zu rechnen. In dieser Weise ausgedrückt, wird eine Änderung der Ionenkonzentration z. B. von 10^{-6} auf 10^{-4} dieselbe Bedeutung haben wie eine Änderung von 10^{-2} auf 10^{-1} .

So ist es auch möglich, den Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration in übersichtlicher Weise graphisch darzustellen, mittels der Ionenkonzentrationskurven, wie oben erwähnt. Das würde kaum tunlich sein, falls man die eine oder die andere absolute Menge Wasserstoffionen, z. B. die der Konzentration 10^{-7} entsprechenden, als Einheit der Abszissen benutzen würde. Lösungen mit der Wasserstoffionenkonzentration 10^{-6} und 10^{-5} einerseits und 10^{-8} und 10^{-9} andererseits würden in diesem Falle durch die Abszissen 10 und 100 bzw. 0,1 und 0,01 repräsentiert werden, und noch ungünstiger wäre die Sachlage, wenn die graphische Darstellung einen noch größeren Bereich von Ionenkonzentrationen umfassen sollte.

Ob diese Zweckmäßigkeitsgründe, welche mich die hiererwähnte Bezeichnungsweise der Wasserstoffionenkonzentration zu benutzen bewogen haben, eine wirkliche Ursache decken, ob, mit anderen Worten, die Wasserstoffionenkonzentration nicht mit ihrem absoluten Betrag, sondern mit ihrem Logarithmus in den mathematischen Ausdruck des Zusammenhanges

zwischen dem Geschwindigkeitsverlauf des Prozesses und der Ionenkonzentration der Versuchslösung eintritt, das wird sich erst entscheiden lassen, wenn wir über ein weit ausgedehnteres Versuchsmaterial verfügen als das zurzeit vorliegende.

4. Meßmethoden zur Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration.

Solche Lösungen, wie diejenigen, von welchen bei enzymatischen Spaltungen die Rede ist, enthalten so gut wie immer größere oder kleinere Mengen von unvollständig dissoziierten Verbindungen (z. B. schwachen Säuren oder schwachen Basen) oder von hydrolysierbaren Stoffen (z. B. Phosphaten oder Verbindungen der Proteinstoffe oder deren Spaltungsprodukten mit Säuren oder Basen). Der Gesamtbetrag dieser sämtlichen Stoffe bestimmt den Inhalt der Lösung an Wasserstoff- und an Hydroxylionen, deren Produkt nach dem früher entwickelten konstant sein soll. Wird das Gleichgewicht einer Lösung gestört, etwa durch Zusatz von ein wenig Base, d. h. durch Zufuhr von Hydroxylionen, müssen eben solche verbraucht werden, um das Gleichgewicht wiederherzustellen.

Ein solcher Verbrauch kann z. B. dadurch entstehen, daß die Hydrolyse anwesender Salze schwacher Säuren zurückgedrängt wird, oder dadurch, daß Hydroxylionen sich mit Wasserstoffionen zu Wasser vereinigen, was wiederum eine Neubildung von Wasserstoffionen (z. B. durch weitere Dissoziation schwacher Säuren oder weitere Hydrolyse etwaiger Salze schwacher Basen) mit sich bringt. Ein Zusatz von Basen oder Säuren zu solchen Lösungen bewirkt somit nicht nur die Neutralisation einer äquivalenten Menge Säure oder Base, sondern es werden auch Dissoziations- und Hydrolyseprozesse hervorgerufen, deren Umfang natürlich von der Art und Menge der anwesenden Stoffe abhängt, deren quantitativer Verlauf aber sich gewöhnlich jeder Berechnung entzieht.

Hat man es z. B. mit einer Lösung eines Proteins in Pepsin-Salzsäure zu tun, dann kann man durch Titrierung mittels eines passend gewählten Indicators feststellen, wieviel Säure die Lösung enthält über die Menge hinaus, welche erforderlich ist, um die Wasserstoffionenkonzentration, bei welcher der Indicator umschlägt, zu geben. Daraus kann aber nichts gefolgert werden bezüglich der Ionenkonzentration der Lösung

vor der Titrierung; denn die titrierte Säuremenge war gewiß nur teilweise frei, teilweise war sie an Proteinstoffe gebunden, von denen sie erst während der Titrierung nach und nach abgespalten worden ist.

Es ist demnach einleuchtend, daß eine Methode bei welcher die Konzentration der Wasserstoffionen während der Messung abgeändert wird — und das gilt ja von der ganzen großen Gruppe von Methoden, welche auf titrimetrischen Bestimmungen der Acidität oder der Alkalinität basiert sind — für die Bestimmung dieser Konzentration unbrauchbar ist.

Auch eine von H. Dreser¹⁾ seit ein paar Jahren publizierte Methode zur Bestimmung der freien Salzsäure im Magensaft entgeht den oben erwähnten Fehlerquellen nicht ganz. Dreser behandelte den Magensaft mit festem Bariumoxalat oder Bariumchromat und bestimmte die dadurch in Lösung gegangene Bariummenge. Zu gleicher Zeit verdünnte er eine Salzsäure so weit, daß sie gegen Lauge durch Tüpfeln mit Kongo titriert denselben Inhalt an „freier“ Salzsäure wie der Magensaft zeigte, und ermittelte, wieviel Barium durch Behandlung der genannten Bariumsalze mit dieser Säure unter den gleichen Bedingungen wie mit dem Magensaft in Lösung übergeführt wurde. Aus den in solcher Weise gefundenen Barytmengen berechnet Dreser die „Avidität“ des Magensaftes. Dreser bemerkt selbst, daß eine gewöhnliche Titriermethode für die Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration unbrauchbar ist; er sieht aber nicht, daß die von ihm vorgeschlagene Methode Fehlerquellen von gleicher Art in sich birgt, indem der Magensaft nicht ohne weiteres mit der reinen verdünnten Salzsäure zu vergleichen ist. Der erstere enthält einen Teil gebundener Salzsäure, die Menge dieser letzteren ist unter anderem von der Art und Menge der anwesenden stickstoffhaltigen Körper abhängig — und diese gebundene Salzsäure kann zum Teil durch das Schütteln mit dem unlöslichen Bariumsalze abgespalten werden. Die Bestimmungen der „Avidität“ derselben Flüssigkeit geben ihm dann auch verschiedene Resultate, je nachdem er das Chromat oder das Oxalat anwendet.

Eine andere große Gruppe von Meßmethoden bilden diejenigen, welche zur Messung der Wasserstoff- oder Hydroxylionenkonzentration einer Lösung ihr Vermögen, solche Prozesse katalytisch zu beschleunigen, deren Geschwindigkeit proportional der Ionenkonzentration der Versuchsflüssigkeit ist, heranziehen.

Die älteste dieser Bestimmungsmethoden ist die Rohrzuckerinversionsmethode, welche auf W. Ostwalds An-

¹⁾ Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 8. 285, 1906.

regung und auf den Untersuchungen W. Ostwalds¹⁾ fußend, von F. Albin Hoffmann²⁾ ausgearbeitet wurde.

Wie bekannt, wird der Rohrzucker durch Behandlung mit Säuren invertiert, und die Geschwindigkeit der Inversion ist der Wasserstoffionenkonzentration proportional, wenn die Säure hinreichend verdünnt ist, wie es von W. Palmaer³⁾ später dargetan wurde. Vergleicht man nun die Geschwindigkeiten der Inversion einer Rohrzuckerlösung, wenn alles übrige gleich bleibt, bei Behandlung einerseits mit der zu untersuchenden Lösung, andererseits mit einer passenden verdünnten Salzsäure, deren Wasserstoffionenkonzentration sich leicht berechnen läßt, dann werden diese Geschwindigkeiten sich direkt wie die Ionenkonzentrationen verhalten. Da die zu untersuchende Lösung (z. B. eine Probe Magensaft) bisweilen optisch aktive Stoffe, deren Drehung durch Erwärmung verändert wird, oder invertierende Enzyme enthalten kann, so muß man natürlich durch passende Kontrollversuche eventuelle Nebenprozesse eliminieren.

Kurze Zeit nachher veröffentlichte F. A. Hoffmann eine Methode gleicher Art und ebenfalls auf den Untersuchungen Ostwalds fußend.⁴⁾ Eine wässrige Lösung von Methylacetat wird durch Stehenlassen in Essigsäure und Methylalkohol gespalten. Der Geschwindigkeitsverlauf dieses Prozesses wird katalytisch beschleunigt durch Zusatz einer Säure, und auch hier ist die Geschwindigkeit der Verseifung proportional der Wasserstoffionenkonzentration. Auch Hydroxylionen besitzen bekanntlich die Fähigkeit, die Spaltungsgeschwindigkeit der Alkylsalze zu beschleunigen. J. Shields⁵⁾ hat damit den Gehalt an Hydroxylionen in Lösungen von Salzen schwacher Säuren ermittelt, indem er die verseifende Wirkung der betreffenden Lösungen Äthylacetat gegenüber maß.

¹⁾ Journ. f. prakt. Chem. N. F. 29, 385, 1884.

²⁾ Centralbl. f. klin. Med. 10, 793, 1889.

³⁾ Zeitschr. f. physikal. Chem. 22, 492, 1897.

⁴⁾ W. Ostwald. Journ. f. prakt. Chem. N. F. 28, 449, 1883. — J. Walker, Zeitschr. f. physikal. Chem. 4, 322, 1889. — F. A. Hoffmann, Verhandlungen des X. internationalen medizinischen Kongresses, Berlin 1890; Abteilung V, S. 201.

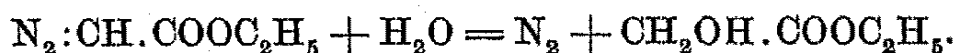
⁵⁾ Zeitschr. f. physikal. Chem. 12, 167, 1893.

Von derselben Art ist auch eine von K. Koelichen¹⁾ vorgeschlagene Methode zur Messung der Konzentration von Hydroxylionen. Koelichen hat gefunden, daß die Umwandlung von Diacetonalkohol in Aceton



freiwillig und unter bedeutender Ausdehnung des Volumens verläuft, so daß der Prozeß sich dilatometrisch messen läßt. Die Hydroxylionen beschleunigen den Vorgang, dessen Geschwindigkeit mit ihrer Konzentration proportional ist.

Endlich haben G. Bredig und W. Fraenkel²⁾ in der neuesten Zeit eine schöne Methode der Bestimmung von Wasserstoffionenkonzentrationen ausgearbeitet, indem sie als Grundlage die von Th. Curtius³⁾ beschriebene Spaltung des Diazoessigesters durch verdünnte Säure unter Entwicklung von freiem Stickstoff benutzen:



Da der entwickelte Stickstoff sich leicht messen läßt, da ferner die Reaktion genau nach erster Ordnung verläuft und die Reaktionsgeschwindigkeit proportional der Wasserstoffionenkonzentration ist, und da endlich die katalytische Wirkung sehr groß ist, so daß selbst ziemlich schwache Konzentrationen von Wasserstoffionen (bis zu $\frac{1}{5000}$ herunter) gemessen werden können, so ist diese Methode offenbar in vielen Fällen vor den sonst am meisten benutzten Messungsmethoden — durch Inversion von Rohrzucker und durch Verseifung von Methylacetat — vorzuziehen.

Abgesehen von der Methylacetatmethode und der damit analogen Shieldschen Methode, erfüllen alle diese Methoden den obenerwähnten Hauptanspruch: daß die Konzentration der Wasserstoffionen nicht während der Messung geändert wird, und selbst bei der Methylacetatmethode ist die von der bei der Spaltung gebildeten Essigsäure herrührende Vermehrung der Wasserstoffionen nur ganz geringfügig, indem die Essigsäure, wie bekannt, nur wenig dissoziiert ist.

¹⁾ Zeitschr. f. physikal. Chem. 33, 129, 1900, — Vgl. auch W. Will und G. Bredig, Umwandlung von Hyoscyamin in Atropin durch Basen. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 21, 2777, 1888.

²⁾ Zeitschr. f. Elektrochemie 11, 525, 1905; Zeitschr. f. physikal. Chem. 60, 202, 1907. — Vgl. auch Bror Holmberg, ibid. 62, 726, 1908.

³⁾ Journ. f. prakt. Chem. N. F. 38, 396, 1888.

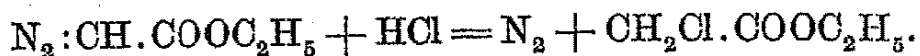
Wenn diese Methoden trotz des hier angeführten nur eine sehr kleine Anwendbarkeit für den hier in Rede stehenden Zweck besitzen, hat es vornehmlich seinen Grund darin, daß sie nur bei verhältnismäßig großen Konzentrationen der Wasserstoff- oder Hydroxylionen benutzt werden können, so daß schon deshalb ihre Anwendbarkeit sich auf eine einzige enzymatische Spaltung, die Pepsinverdauung, beschränkt. Würde man z. B. den Versuch machen, die Rohrzuckerinversionsmethode zur Bestimmung niedrigerer Wasserstoffionenkonzentrationen, beispielsweise solcher in der Nähe des Optimalpunktes des Enzyms Invertin (siehe S. 266) heranzuziehen, dann müßte man, um eine von der Wirkung der Wasserstoffionen allein herrührende Inversion zu bekommen, eine sehr hohe Temperatur benutzen. Welche Fehler man dadurch zu begehen ausgesetzt wäre, läßt sich nicht leicht überschauen; mit den oben erwähnten Dissoziations- und Hydrolysenverhältnissen vor Augen ist es aber selbstverständlich, daß die Temperatur, bei welcher man die Wasserstoffionenkonzentration mißt, so nahe wie möglich an derjenigen liegen muß, die man bei dem enzymatischen Prozesse bedacht ist anzuwenden, dessen Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration man zu messen bezweckt.

Hierzu kommt aber noch, daß bei der Anwendung mehrerer von diesen Methoden — z. B. der der Rohrzuckerinversion, der Methylacetatverseifung und der Diacetonalkoholspaltung — die sogenannte „Neutralsalzwirkung“¹⁾ sich geltend macht, und endlich, was nicht am wenigsten ins Gewicht fällt, daß, während das Verfahren wenig zusammengesetzten Lösungen gegenüber einfach und leicht ist, es sich oft überhaupt nicht anwenden läßt, wenn man es mit solchen sehr komplizierten Gemischen zu tun hat, wie diejenigen, von welchen bei enzymatischen Spaltungen die Rede ist. So haben G. Bredig und P. F. Ripley²⁾ gezeigt, daß die schönste der oben erwähnten Methoden, die Diazoessigester methode, ganz unbrauchbar wird, sobald selbst nur kleine Mengen von Chlor- oder Sulfationen zugegen

¹⁾ Sv. Arrhenius, Zeitschr. f. physikal. Chem. 1, 110, 1887; 4, 237, 1889 und 31, 197, 1899.

²⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 40, 4015, 1907. — Siehe auch: W. Fraenkel, Zeitschr. f. physikal. Chem. 60, 202, 1907.

sind, weil dann, unter Änderung der Wasserstoffionenkonzentration, Nebenprozesse eintreten, wie z. B.



Zu bemerken ist ferner, daß Taav. Laitinen¹⁾ den Hydroxylionengehalt des Blutes mittels der oben angeführten Diacetonalkoholmethode Koelichens zu ermitteln versucht hat, dabei aber zu Werten von einer ganz anderen Größenordnung als der gewöhnlich gefundenen gelangt ist.

Ich bin daher der Ansicht, daß bei enzymatischen Prozessen auch nicht diese zweite Gruppe von Meßmethoden fähig ist allgemeine Anwendung bei der Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration zu finden, und in den seltenen Fällen, wo eine der genannten Methoden benutzt werden kann, dies nur unter Wahrnehmung genügender Kontrolle und Kritik geschehen darf.

Es gibt noch zwei Verfahrungsweisen, durch welche die Wasserstoff- oder Hydroxylionenkonzentration einer Lösung bestimmt werden kann, nämlich die Gaskettenmessung und die Bestimmung mittels Indicatoren, auch die elektrometrische, bzw. die colorimetrische Methode genannt.

Diese beiden Verfahren werden hier im Laboratorium bei enzymatischen Untersuchungen benutzt. Sie ergänzen einander, indem die elektrometrische die genaueste, dabei aber auch bei weitem die umständlichere ist, während die colorimetrische Methode wohl etwas weniger genau ist, {dafür aber sich durch eine außerordentlich einfache Ausführung auszeichnet. Die letztere eignet sich somit vorzüglich z. B. für die vorläufigen, orientierenden Versuche, welche notwendig sind, ehe man den Plan zu einem genaueren Studium der Abhängigkeit zwischen Enzymwirkung und Wasserstoffionenkonzentration entwerfen kann.

Indessen wird nicht nur in der Enzymologie, sondern auch — und zwar in gleichem Maß — in den damit verwandten Zweigen der Wissenschaft das Bedürfnis einer einfachen Methode zur Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration sich fühlbar machen. Es ist darum der Hauptzweck dieser Ab-

¹⁾ Festskrift tillegnad Olof Hammarsten 1906, Abh. Nr. 9.

handlung, erstens eine ausführliche Beschreibung der colorimetrischen Methode zu geben, wie sie hier im Laboratorium während einer Reihe von Jahren durchgearbeitet worden und am praktischsten zu gebrauchen ist, und zweitens die Brauchbarkeit sowohl der colorimetrischen als auch der elektrometrischen Methode unter verschiedenen Umständen auf einer breiten kritisch-experimentellen Grundlage zu beurteilen.

Die elektrometrische Methode. Wird eine mit Platinschwarz bedeckte Platinplatte in eine wäßrige — saure, neutrale oder alkalische — Lösung getaucht und die Lösung mit Wasserstoff gesättigt, so findet man zwischen der Platinplatte und der Lösung eine Potentialdifferenz, deren Größe gesetzmäßig von der Wasserstoffionenkonzentration der Lösung abhängt.¹⁾ Es wird deshalb möglich sein, die Wasserstoffionenkonzentration der betreffenden Lösung durch Messung dieser Potentialdifferenz zu ermitteln. Das praktische Verfahren einer solchen Spannungsmessung, welche in jüngster Zeit vielfach Anwendung gefunden hat, wird hier den Hauptzügen nach als bekannt angesehen. Übrigens ist auf einen folgenden Abschnitt zu verweisen (Hauptabschnitt A, Elektrometrische Messungen S. 150), wo eine Reihe Einzelheiten des Verfahrens beschrieben werden, wie wir es bei unseren elektrometrischen Messungen anwenden (S. 156), wo ferner die bei elektrometrischen Messungen in Lösungen verschiedener Natur erreichbare Genauigkeit ausführlich besprochen wird (S. 156, S. 175 und S. 200) und wo schließlich mehrere Fälle beschrieben werden, in welchen die Anwendung dieses Verfahrens besondere Schwierigkeiten bietet (S. 190).

Die colorimetrische Methode. Der Umschlag des Indicators bei einer gewöhnlichen Titrierung bedeutet ja, wie bekannt, daß die Konzentration der Wasserstoffionen der vorliegenden Lösung eine gewisse Größe von der einen oder der anderen Seite her erreicht oder überschritten hat. Diese Größe, welche für die verschiedenen Indicators verschieden ist, gibt die Ionenkonzentration beim Umschlagspunkte des betreffenden Indicators an. Es ist daher einleuchtend, daß man von der

¹⁾ W. Nernst, Zeitschr. f. physikal. Chem. 4, 129, 1889.
Biochemische Zeitschrift Band 21.

Farbennuance, welche eine Lösung beim Zusatz eines Indikators annimmt, imstande ist zu schließen, wie weit diese Lösung eine größere oder eine kleinere Wasserstoffionenkonzentration besitzt als diejenige, welche dem Umschlagspunkt des benutzten Indicators entspricht.

Dieses ganz einfache Prinzip bildet die Grundlage der Indicatormethode oder der colorimetrischen Methode. Die Grundlage ist seit langer Zeit bekannt, aber erst durch die schönen Untersuchungen von Friedenthal und Salm¹⁾ ist das zerstreute Material durchgearbeitet und an gewissen Stellen vervollständigt worden, so daß es ihnen möglich geworden ist, eine vollständige Reihe Indikatoren mit Umschlagspunkten bei den verschiedensten Ionenkonzentrationen zusammenzustellen. Friedenthal und Salm gebührt somit die Ehre, die erste colorimetrische Methode zur Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration ausgearbeitet zu haben; sie haben aber während ihrer Arbeit offenbar ganz andere Zwecke verfolgt, als diejenigen, welche für meine Untersuchungen maßgebend gewesen sind. Würde jemand das Verfahren von Friedenthal und Salm, besonders die von ihnen empfohlenen Indikatoren, direkt und ohne Kritik, auf solche Lösungen wie die der enzymatischen Spaltungen anwenden, so würde er, was mehrere Beispiele im folgenden lehren werden (siehe S. 217 und S. 218) in die größten Irrtümer verfallen können. Ein Indicator, der zufriedenstellende Resultate gibt, wenn die Lösung einfach zusammengesetzt ist, kann gegenüber Lösungen von Proteinstoffen oder deren Spaltungsprodukten ganz unbrauchbar sein. Es ist deshalb notwendig gewesen, die Brauchbarkeit jedes einzelnen Indicators solchen Lösungen gegenüber durchzuprüfen, und zwar sowohl, um die unbrauchbaren zu verwerfen, als auch um die Genauigkeit zu ermitteln, welche die brauchbaren zu erreichen gestatten.

Diese sehr umfassende und langwierige Arbeit — wir haben etwa 100 Indikatoren untersucht, von denen eine ganze Reihe

¹⁾ H. Friedenthal, Zeitschr. f. Elektrochemie 10, 113, 1904. — Ed. Salm, *ibid.* 10, 341, 1904; 12, 99, 1906. — Ed. Salm und H. Friedenthal, *ibid.* 13, 125, 1907. — Ed. Salm, Zeitschr. f. physikal. Chem. 57, 471 1906; 63, 83, 1908; vgl. auch W. Salessky, Zeitschr. f. Elektrochem. 10, 204, 1904, und Bruno Fels, *ibid.* 10, 208, 1904.

hier im Laboratorium dargestellt worden sind — welche, abgesehen von einigen Unterbrechungen, uns mehrere Jahre hindurch beschäftigt hat, ist jetzt zu einem wenigstens vorläufigen Abschluß gebracht. Es sei hiermit nicht gesagt, daß nicht noch etwas zu wünschen übrig bleibt mit Rücksicht auf eine Vervollkommnung des Verfahrens z. B. durch Einfügung neuer Indikatoren an Stellen, wo solche erwünscht erscheinen, oder durch Vertausch der benutzten gegen neue von größerer Anwendbarkeit oder mit schärferem Umschlag (siehe z. B. S. 248). Daß unsere hier erwähnten Untersuchungen — ein paar vereinzelte Noten in einer früheren Abhandlung¹⁾ ausgenommen — nicht früher veröffentlicht worden sind, liegt darin, daß ich es im Interesse der Sache besser gefunden habe, die Methode nicht früher zu publizieren, als ihre Brauchbarkeit durch praktische Anwendung während längerer Zeit festgestellt wäre, und als hinlängliche Versuchsdaten ein Urteil über die damit zu erreichende Genauigkeit möglich machen würden.

Die Einzelheiten der Methode wird man in einem späteren Abschnitt (Hauptabschnitt B, Colorimetrische Messungen S. 201) ausführlich beschrieben finden, hier muß ich mich damit begnügen, das Verfahren in seinen Hauptzügen zu skizzieren.

Sobald es sich um mehr als eine rein qualitative Schätzung handelt, wird es unmöglich sein, die Stärke oder die Nuance einer Farbe zu beurteilen, wenn man nicht über Farben ähnlicher Stärke oder ähnlicher Nuance zum Vergleiche verfügt. Deshalb ist es unsere erste Aufgabe gewesen, Standardlösungen darzustellen, durch deren Vermischung in passenden Verhältnissen man sich nach Bedürfnis Vergleichsflüssigkeiten von jeder gewünschten, im voraus genau definierten Wasserstoffionenkonzentration verschaffen könnte. Diese Standardlösungen sollten leicht darzustellen und ferner von solcher Beschaffenheit sein, daß die dadurch bereiteten Vergleichsflüssigkeiten immer, praktisch genommen, dieselbe Wasserstoffionenkonzentration haben würden, selbst wenn die Standardlösungen Monate hindurch, z. B. in alkalisch reagierenden Glasflaschen, aufbewahrt gewesen wären. Wie ein folgender Abschnitt (siehe S. 167) dartut, ist es uns gelungen, diesen Teil der Aufgabe

¹⁾ Diese Zeitschr. 7, 52 und 97 bis 98, 1907.

völlig zu lösen. Eine Reihe einfacher Stoffe, deren Reinheit durch später beschriebene Proben nachzuweisen ist, und welche bei der Firma C. A. F. Kahlbaum, Berlin, in garantiert reinem Zustande zu haben sind, werden in ausgekochtem Wasser gelöst. Die Lösungen werden in Woulffschen Flaschen aufbewahrt, welche mit einer Bürette und den gewöhnlichen Einrichtungen versehen sind, um das Abziehen ohne Zutritt der Kohlensäure der Luft zu gestatten. Durch Abmessen und Vermischen dieser Lösungen in passenden Verhältnissen ist man imstande, Vergleichsflüssigkeiten irgendeiner gewünschten Wasserstoffionenkonzentration von etwa 10^{-1} bis etwa 10^{-13} darzustellen. Auf der Hauptkurventafel, welche in verkleinertem Maßstabe (siehe S. 176) dieser Abhandlung beigegeben ist, ist die Wasserstoffionenkonzentration irgendeiner dieser Mischungen bequem graphisch abzulesen.

Die nächste Frage, die Wahl passender Indikatoren, ist mit ungleich größeren Schwierigkeiten verknüpft gewesen. Die allermeisten Indikatoren verbinden sich mit den genuinen Proteinen, ja einige verbinden sich sogar mit den Spaltungsprodukten mehr oder weniger abgebauter Proteine, und wenn auch nicht immer ein sichtbarer Niederschlag dadurch entsteht, wird doch der Indicator gewöhnlich eine andere Farbe annehmen, und der Indicator ist somit unter solchen Umständen unbrauchbar. Es ist deshalb, wie schon früher erwähnt, notwendig gewesen, die Brauchbarkeit jedes einzelnen Indicators zu prüfen und die durch denselben erreichbare Genauigkeit gegenüber vielen verschiedenen Gemischen, besonders von Proteinen und deren Spaltungsprodukten in der Weise zu ermitteln, daß man die wirkliche Wasserstoffionenkonzentration des Gemisches durch eine elektrometrische Messung, die somit als Fundamentalmethode diene, feststellte. Es würde zu weit führen, hier den Einzelheiten der gewonnenen Resultate näher zu treten; ich muß mich damit begnügen, auf den Hauptabschnitt B zu verweisen, wo eine passende Auswahl von experimentellem Material zusammengestellt ist; hier mag ich nur bemerken, daß, während einzelne Indikatoren, wie p-Nitrophenol und Phenolphthalein, eine sehr ausgedehnte Anwendbarkeit besitzen, andere, z. B. das von den Physiologen so sehr beliebte Kongorot, dagegen ganz außer

stande sind, Dienste zu leisten, sobald selbst verhältnismäßig stark abgebaute Proteinstoffe anwesend sind.

Der letzte Abschnitt dieser Abhandlung (Hauptabschnitt C, die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration bei enzymatischen Spaltungen S. 255) enthält die Beschreibung einiger Versuchsreihen, welche mit verschiedenen Enzymen ausgeführt wurden und bei welchen die Wasserstoffionenkonzentration mittels der oben skizzierten colorimetrischen Methode gemessen wurde. Damit habe ich erstens bezweckt, die Einzelheiten der Methode bei ihrer Anwendung bei enzymatischen Studien darzulegen. Zweitens aber, und nicht am wenigsten, ist es meine Absicht gewesen, durch diese Beispiele, welche Teile größerer Reihen von Untersuchungen bilden, die große, bisher aber zu wenig beachtete Rolle, welche die Wasserstoffionenkonzentration bei enzymatischen Prozessen spielt, ans Licht zu ziehen. Endlich habe ich die Benutzung von „Puffern“ bei enzymatischen Studien befürworten wollen. Ich habe schon im vorausgehenden erwähnt, daß es schwierig sein kann, die Konzentration der Wasserstoffionen konstant zu halten bei solchen Enzymspaltungen, wo weder das Substrat noch seine Spaltungsprodukte säuren- oder basenbindend sind, was u. a. bei der Inversion des Rohrzuckers durch Invertin der Fall ist, und zwar, weil z. B. alkalische Bestandteile des Glases oder in anderen Fällen die Kohlensäure der Luft einen wesentlichen Einfluß auf die Ionenkonzentration ausüben können. In solchen Fällen ist es zweckentsprechend, die Konzentration der Wasserstoffionen festzulegen durch Zusatz eines Puffers, das heißt eines passenden Salzgemisches, welches übrigens die Geschwindigkeit der Enzymreaktion nicht wesentlich beeinflußt, dessen Bedeutung aber die ist, daß es die Wasserstoffionenkonzentration während des Versuches konstant hält, indem der Puffer von solcher Natur ist, daß die Zufuhr kleiner Mengen Säure oder Base nur unwesentliche Änderungen der Ionenkonzentration hervorrufen können. Die Natur selbst arbeitet mit solchen Puffern, gewöhnlich passenden Gemischen von Phosphaten, bisweilen auch von Carbonaten oder von Proteinen oder deren Abbauprodukten (siehe S. 187). Es ist leicht verständlich und wird übrigens aus den im letzten Abschnitte dieser Abhandlung auf-

geführten Beispielen deutlich hervorgehen, daß passende Gemische der früher erwähnten, bei der colorimetrischen Methode benutzten Standardlösungen, vorzügliche Puffer abgeben.

Es kann, wie schon früher angedeutet, wohl keinem Zweifel unterliegen, daß die Frage, welche den Gegenstand dieser Abhandlung bildet, die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration bei enzymatischen Prozessen weit mehr als die eigentliche Enzymologie umfaßt; die Größe der Wasserstoffionenkonzentration ist zweifellos ein Faktor, mit dem bei allen biologischen Prozessen zu rechnen ist. Da es beim Studium eines solchen Prozesses oft von großer Bedeutung sein kann, die Versuchsbedingungen, und darunter auch die Ionenkonzentration, soweit als irgend möglich während der ganzen Versuchsdauer konstant zu halten, ist es nicht schwer, Fälle zu nennen, wo ein solcher Zusatz eines passenden Puffers von großem Nutzen sein kann. Ein naheliegendes Beispiel gibt die Zusammensetzung der Nährflüssigkeiten für Mikroorganismen ab, welche oft durch ihr Wachstum die Ionenkonzentration des Substrates ändern, insofern letzteres nicht passende Mengen von säuren- oder basenbindenden Stoffen, d. h. von einem passenden Puffer, enthält.

Bei der Ausarbeitung der experimentellen Grundlage, auf welcher die vorliegende Abhandlung fußt, hat Herr S. Palitzsch mir vorzügliche Hilfe geleistet. Er hat mit großem Geschick und unermüdlichem Interesse den weitaus größten Teil der im folgenden erwähnten elektrometrischen Messungen ausgeführt, so daß es mir eine angenehme Pflicht ist, auch an dieser Stelle ihm meinen besten Dank abzustatten.

A. Elektrometrische Messungen.

a) Die Meßmethode.

Bei allen Messungen dieser Art haben wir immer dieselbe Versuchsanordnung benutzt: Das Element, dessen elektromotorische Kraft wir gemessen haben, bestand aus einer Quecksilber-Kalomelelektrode in einer 0,1 n-Kaliumchloridlösung und einer Platin-Wasserstoffelektrode in der zu untersuchenden Lösung als Elektrodenflüssigkeit. Das Diffusionspotential zwischen den

zwei Elektrodenflüssigkeiten wurde in der von N. Bjerrum¹⁾ angegebenen Weise eliminiert, indem zwischen die zwei Elektrodenflüssigkeiten eine 3,5 n- bzw. eine 1,75 n-Kaliumchloridlösung eingeschaltet und der Unterschied der dadurch gefundenen Potentiale als Extrapolationsaddend benutzt wurde.

R. Abegg und A. C. Cumming²⁾ schlagen vor, statt des Kaliumchlorids Ammoniumnitrat zu gebrauchen. Dieses Salz ist viel löslicher in Wasser als Kaliumchlorid, und die Ionen desselben wandern ebenfalls mit beinahe derselben Geschwindigkeit. Es unterliegt keinem Zweifel, daß man bei Untersuchung saurer Flüssigkeiten sich gewöhnlich mit Vorteil starker Ammoniumnitratlösungen bedienen kann, wodurch das Diffusionspotential ganz verschwindet und die jedenfalls etwas unsichere Extrapolation somit vermieden wird; das Ammoniumnitrat ist aber bei Untersuchung alkalischer Flüssigkeiten nicht zu gebrauchen, und da ich es für richtiger halte, immer dieselbe Versuchsanordnung anzuwenden, habe ich das Verfahren Bjerrums vorgezogen, welches sowohl sauren als auch alkalischen Flüssigkeiten gegenüber gute Dienste leistet.

Übrigens ist sowohl die Versuchsmethodik, als auch die theoretische Grundlage elektrometrischer Messungen mittels Wasserstoffelektroden so oft und so ausführlich beschrieben³⁾ worden, daß ich mich hier mit einigen Bemerkungen über die Einzelheiten des angewandten Verfahrens begnügen kann.

Das benutzte Wasserstoffelektrodengefäß war ganz derselben Art wie das in der unten zitierten Abhandlung N. Bjerrums abgebildete. Im großen und ganzen habe ich die Arbeitsweise des Herrn Dr. Bjerrum befolgt, und es ist mir eine

¹⁾ Zeitschr. f. physikal. Chem. 53, 428, 1905.

²⁾ Zeitschr. f. Elektrochem. 13, 17, 1907.

³⁾ Ich verweise hier auf eine Reihe Arbeiten — im wesentlichen physiologische Zwecke verfolgend — von Stefan Bugarszky und Leo Liebermann, R. Höber, Ladislaus v. Rhorer, P. Fraenkel, G. Farkas, Fr. Tangl, Alexander Szili, H. Benedict und mehreren, deren Hauptabhandlungen in Pflügers Archiv der letzten 10 Jahre zu finden sind. Auch die Abhandlung Carlo Foà's in Archivio di Fisiologia 3, 369, 1906 verdient Erwähnung. Eine sehr ausführliche Beschreibung sowohl der Methode, als auch ihrer praktischen Ausführung findet man in H. J. Hamburger: Osmotischer Druck und Ionenlehre in den medizinischen Wissenschaften 2, 332, 1904. Auch bei R. Höber in seiner Physikalischen Chemie der Zelle und der Gewebe, 2. Aufl. (1906) Kap. V findet man eine ausführliche Beschreibung. Endlich ist die Methode beschrieben von N. Bjerrum: Det Kgl. Danske Videnskabernes Selsk. Skr. [7] Naturv. og mathem. Afd. 4, 13, 1906.

angenehme Pflicht, ihm auch an dieser Stelle für die Liebenswürdigkeit zu danken, mit welcher er uns immer bei der Ausführung dieser Messungen erlaubt hat, von seinen reichen Erfahrungen Nutzen zu ziehen.

Sowohl die platinieren Platin Elektroden als auch die Quecksilber-Kalomel Elektroden wurden dargestellt ganz wie in: Ostwald-Luther, Physiko-chemische Messungen (1902) angegeben. Die Messungen wurden nach der Kompensationsmethode Pogendorffs ausgeführt. Als „Nullinstrument“ diente ein Lippmannscher Capillarelektrometer mit ovalem, ziemlich weitem Capillar. Der 1 m lange Meßdraht war in Millimeter geteilt und sorgfältig korrigiert durch eine Reihe von Messungen, welche am physikalischen Laboratorium des hiesigen Polytechnikums dank dem Wohlwollen des Herrn Professor K. Prytz von den Herren Thorkelsson und Hansen ausgeführt wurden. Ich bitte diese Herren, meinen herzlichsten Dank empfangen zu wollen.

Als Normalelement wurde angewandt ein Westonelement, welches bei 18° eine elektromotorische Kraft von 1,0191 Volt besaß.

Der verwendete Wasserstoff wurde dargestellt durch Elektrolyse einer 10%igen Kalilauge mittels Elektroden von Eisen. Er wurde zuerst zweimal mit einer alkalischen Pyrogallollösung gewaschen, nachher mit reinem Wasser und dann durch ein Zylinderglas mit reiner Baumwolle geleitet, ehe er in dem Elektrodengefäß anlangte, woselbst er mit etwas der zu untersuchenden Lösung gewaschen wurde (s. auch S. 158).

Die Messungen wurden ausgeführt in einem Zimmer, wo die Temperatur so nahe wie möglich konstant gleich 18° — Normaltemperatur für alle Versuche — gehalten wurde; nur äußerst selten hat eine Abweichung von $\frac{1}{2}^{\circ}$ stattgefunden. Die Barometerhöhe hat während der langen Zeit, über welche sich die Versuche erstreckt haben, sehr stark variiert (von 722 bis 794 mm) und die Messungen sind deshalb auf einen Druck von 760 mm feuchten Wasserstoffs reduziert worden.¹⁾

¹⁾ W. Ostwald, Lehrbuch der allgemeinen Chemie, 2. Aufl., 2, Teil 1, S. 895, 1893. — F. J. Smale, Zeitschr. f. physik. Chem. 14, 582, 1894.

b) Bestimmung von π_o .

Bezeichnet man mit π_p die elektromotorische Kraft eines Elementes bestehend aus einer Quecksilber-Kalomelektrode in einer 0,1 n-Kaliumchloridlösung und einer Platin-Wasserstoffelektrode in einer Elektrodenflüssigkeit, deren Wasserstoffionenkonzentration (mit einer 1 n-Lösung von Wasserstoffionen als Einheit) gleich $C_p (=10^{-p})$ ist, und bezeichnet man mit π_q und $C_q (=10^{-q})$ die entsprechenden Größen eines anderen, ähnlichen Elementes, dann wird man haben:

$$\pi_p - \pi_q = K \log \frac{C_q}{C_p}, \quad (\text{I})$$

wo K mit ausreichender Annäherung gleich

$$0,0577 + 0,0002 (t^\circ - 18^\circ)^1)$$

gesetzt werden kann. Da alle in dieser Abhandlung besprochenen Messungen bei 18° ausgeführt sind, wird K hier gleich 0,0577 sein.

Ermittelt man durch Versuche das π_p einer Elektrodenflüssigkeit, z. B. einer passenden Salzsäure, deren Wasserstoffionenkonzentration C_p aus der Normalität (S_p) und dem Dissoziationsgrade (α) der Säure berechnet werden kann, und setzt man die Werte von π_p und C_p in obenstehende Gleichung (I) ein, so wird diese nur noch die Unbekannten π_q und C_q enthalten; es ist dann möglich, den Wert des π_q mittels irgend eines gegebenen Wertes von C_q zu berechnen und umgekehrt. Ist nun π_o die elektromotorische Kraft eines Elementes der hier behandelten Art, und ist die Elektrodenflüssigkeit der Wasserstoffelektrode desselben 1-normal in bezug auf die Wasserstoffionen ($C_o = 10^0 = 1$), so wird, wie man sogleich sieht:

$$\pi_o = \pi_p - 0,0577 \log \frac{C_o}{C_p} = \pi_p - 0,0577 \log \frac{1}{C_p}. \quad (\text{II})$$

In der folgenden Tabelle 1 ist eine bedeutende Anzahl von Messungen zusammengestellt, welche mit Salzsäure ver-

¹⁾ W. Nernst, Zeitschr. f. physik. Chem. 4, 129, 1889; Zeitschr. f. Elektrochem. 10, 630, 1904.

schiedener Konzentrationen ausgeführt sind, um den Wert der Größe π_0 zu bestimmen.

Der erste Stab der Tabelle enthält die Zusammensetzung der Lösungen. Man sieht, daß während die Konzentration der Salzsäure stark variiert (von 0,1 n bis 0,005 n), ist die Konzentration der gesamten Chloride, einen einzelnen Versuch ausgenommen, unverändert dieselbe geblieben, und zwar gleich 0,1 n. Ich habe nun mit Arrhenius¹⁾ angenommen, daß die Salzsäure in allen diesen Versuchen den gleichen Dissoziationsgrad (α) besitzt. Unter Benutzung des von Kohlrausch²⁾ gegebenen Wertes des Äquivalent-Leitvermögens von 0,1 n-Salzsäure bei 18° (351), und unter der Voraussetzung, daß das Äquivalent-Leitvermögen bei unendlicher Verdünnung gleich 383 ist, wird α gleich 0,9165. In derselben Weise findet man in dem einzigen Versuche mit 0,01 n-Salzsäure ohne Zugabe von Natriumchlorid α gleich 0,9661.

Im zweiten Stab der Tabelle ist die Wasserstoffionenkonzentration (C) der Lösungen angegeben; man bekommt dieselbe einfacherweise durch Multiplikation des Normalitätsfaktors der Säure mit dem Dissoziationsgrad derselben. Der dritte Stab enthält die Werte des Produktes $0,0577 \log \frac{1}{C}$.

Im vierten und fünften Stab findet man die mit eingeschalteten 1,75 n-, bzw. 3,5 n-Kaliumchloridlösung gemessenen elektromotorischen Kräfte, und im sechsten Stab den mittels dieser beiden Zahlen extrapolierten Wert des π . Der letzte Stab endlich enthält den mittels der obenstehenden Gleichung (II) berechneten Wert des π_0 .

Tabelle 1. Die elektromotorische Kraft π_0 eines Elementes, welches aus einer Quecksilber-Kalomielektrode in einer 0,1 n-Kaliumchloridlösung und aus einer Platin-Wasserstoffelektrode in einer 1-normalen Lösung von Wasserstoffionen bei 18° besteht.

¹⁾ Zeitschr. f. physik. Chem. 31, 204, 1899.

²⁾ F. Kohlrausch und L. Holborn, Das Leitvermögen der Elektrolyte, 1898, S. 160.

Die Versuchslösungen hatten			π	π	π	π_o
die .Zusammen- setzung	die Wasserstoffionen- konzentration C_H ($=S \times \alpha$)	$0,0577 \times \log \frac{1}{C_H}$	(1,75 n-Kaliumchlorid- lösung)	(3,5 n-Kaliumchlorid- lösung)	(extrapoliert)	($=\pi_{\text{extrap.}}$ $-0,0577 \times \log \frac{1}{C}$)
Salzsäure	Natrium- chlorid					
0,1 n	0,0916 ₅	0,0599	0,4066	0,4020	0,3974	0,3375
"			0,4082	0,4029	0,3976	0,3377
0,05 n + 0,05 n	0,0458 ₃	0,0773	0,4219	0,4184	0,4149	0,3376
0,02 n + 0,08 n	0,0183 ₃	0,1002	0,4415	0,4401	0,4387	0,3385
0,01 n + 0,09 n	0,00916 ₅	0,1176	0,4569	0,4560	0,4551	0,3375
0,005 n + 0,095 n	0,00458 ₃	0,1350	0,4733	0,4733	0,4733	0,3383
0,01 n (ohne)	0,00966 ₁	0,1163	0,4599	0,4571	0,4543	0,3380
0,02 n + 0,08 n	0,0183 ₃	0,1002	0,4402	0,4392	0,4382	0,3380
"			0,4390	0,4382	0,4374	0,3372
0,01 n + 0,09 n	0,00916 ₅	0,1176	0,4576	0,4568	0,4560	0,3384
"			0,4569	0,4563	0,4557	0,3381
0,005 n + 0,095 n	0,00458 ₃	0,1350	0,4733	0,4733	0,4733	0,3383
"	"	"	0,4726	0,4726	0,4726	0,3376
0,1 n	0,0916 ₅	0,0599	0,4070	0,4022	0,3974	0,3375
"	"	"	0,4064	0,4015	0,3968	0,3367
"	"	"	0,4065	0,4017	0,3969	0,3370
"	"	"	0,4063	0,4015	0,3967	0,3368
0,06 n + 0,04 n	0,0549 ₉	0,0727	0,4167	0,4134	0,4101	0,3374
"	"	"	0,4170	0,4134	0,4098	0,3371
0,04 n + 0,06 n	0,0366 ₆	0,0828	0,4252	0,4227	0,4202	0,3374
"	"	"	0,4251	0,4225	0,4199	0,3371
0,02 n + 0,08 n	0,0183 ₃	0,1002	0,4405	0,4390	0,4375	0,3373
"	"	"	0,4404	0,4389	0,4374	0,3372
0,01 n + 0,09 n	0,00916 ₅	0,1176	0,4566	0,4555	0,4544	0,3368
"	"	"	0,4560	0,4553	0,4546	0,3370
0,1 n	0,0916 ₅	0,0599	0,4082	0,4032	0,3982	0,3383
0,06 n + 0,04 n	0,0549 ₉	0,0727	0,4187	0,4148	0,4109	0,3382
"	"	"	0,4187	0,4146	0,4105	0,3378
0,04 n + 0,06 n	0,0366 ₆	0,0828	0,4267	0,4241	0,4215	0,3387
"	"	"	0,4273	0,4243	0,4213	0,3385
0,02 n + 0,08 n	0,0183 ₃	0,1002	0,4418	0,4402	0,4386	0,3384
"	"	"	0,4419	0,4403	0,4387	0,3385
"	"	"	0,4420	0,4406	0,4392	0,3390
"	"	"	0,4410	0,4393	0,4376	0,3374
Mittel						0,3377

Die starken Querlinien der Tabelle bezeichnen, daß die zusammengestellten Messungen in vier Versuchsreihen zerfallen, aus denen der erste vor etwa drei Jahren von mir persönlich, die drei anderen zu verschiedenen Zeiten später von Herrn S. Palitzsch ausgeführt wurden.

Der Mittelwert des π_0 , mittels sämtlicher Messungen berechnet, ist 0,3377, und die Abweichung von diesem Mittelwert ist nur in einem Falle größer als 1 Millivolt, gewöhnlich aber viel kleiner. Die Abweichungen der Versuche sind somit von derselben Größe wie in den Messungen Bjerrums¹⁾; die von mir gefundene Durchschnittszahl (0,3377) liegt indessen um ein Millivolt höher als die von Bjerrum erhaltene (0,3367), stimmt aber übrigens mit dem Mittelwert (0,3376), welchen Bjerrum unter Benutzung der Planckschen Formel zur Elimination des Diffusionspotentials aus seinen Versuchen berechnet hat, vorzüglich überein.

Jedermann, der mit Wasserstoffelektroden gearbeitet hat, weiß, daß es, wenn sonst die Elektrode in Ordnung ist, keine Schwierigkeiten macht, bei Messungen solcher Lösungen wie diejenigen, von welchen hier die Rede ist, konstante Resultate zu erhalten, d. h. wiederholte Messungen ein und derselben Lösung weichen gewöhnlich nur um einige Zehntel Millivolt von einander ab. Es könnte demnach sonderbar erscheinen, beim ersten Blick auf die Tabelle hier einer etwas größeren Nichtübereinstimmung zu begegnen. Zur Erläuterung dieses Verhältnisses habe ich alle unsere Meßresultate mitgeteilt und werde nur noch einige Bemerkungen über die Umstände anknüpfen, welche die Genauigkeit des Resultates würden beeinflussen können.

Diese Bemerkungen gelten nicht nur für die eben besprochenen Messungen, sondern im großen und ganzen auch für die im folgenden beschriebenen Messungen einfach zusammengesetzter Lösungen, bei welchen man auf eine ähnliche Übereinstimmung wie bei der Bestimmung von π_0 rechnen kann und in der Tat auch bei wiederholten Messungen während der verfloßenen Zeit eine solche erreicht hat (s. z. B. S. 175).

Die untersuchten Lösungen waren alle mit solcher Sorgfalt dargestellt, daß ihre Zusammensetzung gewiß niemals einen elektrometrisch meßbaren Unterschied aufgewiesen hat.

Es kamen gewöhnlich mehr als eine Kalomelelektrode zur Anwendung, und jedenfalls wurde eine Elektrode verworfen

¹⁾ Siehe Zeitschr. f. physikal. Chem. 53, 432, 1905; Det Kgl. danske Vidensk. Selskabs Skr. [7] naturv. og math. Afd. 4, 15, 1906; Studier over basiske Kromiforbindelser 1908, S. 38.

wenn sie, was einzelne Male vorgekommen ist, Resultate gab, die mehr als ein paar Zehntel Millivolt von den mit Hilfe von anderen Kalomelektroden unter sonst gleichen Umständen ermittelten Werten abwichen. Auch die Kalomelektroden können demnach nicht Fehler von nennenswerter Bedeutung verursacht haben.

Etwas anders liegt die Sache in betreff der Wasserstoffelektroden. Es ist allgemein bekannt, daß eine Wasserstoffelektrode sich nicht immer wie die andere verhält, und zwar kann es, wenn auch nur selten, vorkommen, daß eine bisher tadellose Elektrode plötzlich falsche Resultate liefert. Man darf es daher nicht unterlassen, den Wasserstoffelektroden eine besondere Aufmerksamkeit zu widmen und in irgendeiner Weise zu kontrollieren, inwiefern sie normal sind oder nicht. Wir haben diese Kontrolle derart ausgeübt, daß wir von Zeit zu Zeit oder auf gegebene Veranlassung einzelne passende Gemische der später beschriebenen Lösungen, z. B. ein Gemisch von 8 Raumteilen Glykokolllösung + 2 Raumteilen 0,1 n-Salzsäure maßen. Diese Gemische sind von einer Zusammensetzung gewählt, welche Gewähr dafür leistet, daß eine geringe Verunreinigung, z. B. alkalische Bestandteile des Glases, keinen Einfluß auf das Resultat der Messung ausüben kann, und welche die Extrapolation und somit auch den dadurch bedingten Fehler hinfällig macht. Auf diese Weise bekommt man eine gute Kontrolle, welche das Verwerfen abnorm wirkender Elektroden ermöglicht; es ist aber klar, daß hier immer die Möglichkeit eines nicht kleiner als $\frac{1}{2}$ Millivolt zu schätzenden Fehlers vorliegt.

Auch die angewandte Methode selbst, die Elimination des Diffusionspotentials durch Extrapolation, birgt selbstverständlich eine Fehlerquelle in sich, welche man nicht außer acht lassen darf. Andererseits zeigt die Tabelle nicht die geringste Andeutung einer Abhängigkeit zwischen der Größe der Extrapolation und dem Werte von π_0 . Der Wert der Extrapolation sinkt in solchen Lösungen, in welchen die Konzentration der Chlorionen als konstant betrachtet werden darf, einigermaßen in demselben Verhältnis wie die Konzentration der Wasserstoffionen.

Zusammensetzung der Lösungen	0,1 n Salzsäure	0,06 n HCl + 0,04 n NaCl	0,05 n HCl + 0,05 n NaCl	0,04 n HCl + 0,06 n NaCl	0,02 n HCl + 0,08 n NaCl	0,01 n HCl + 0,09 n NaCl	0,005 n HCl + 0,095 n NaCl
Durchschnittliche Größe der Extra- polation in Milli- volt	4,9	3,7	3,5	2,7	1,4	0,8	0,0

Man hat somit kaum Grund anzunehmen, daß das durchschnittliche Mittel für π_0 infolge der Extrapolation wesentlich nach der einen oder der anderen Richtung hin verschoben sei.

Zieht man dagegen in Betracht, wie die Extrapolationen der einzelnen Versuche von dem eben angeführten Mittel derselben abweichen, so wird man sehen, daß der Fehler, mit welchem die Einzelbestimmungen behaftet sein können, kaum kleiner als ein halbes Millivolt geschätzt werden kann.

Bei Messungen dieser Art ist eine möglichst vollständige Isolation aller benutzten Apparate von wesentlichem Belang. Wenn auch dies selbstverständlich sein mag, mache ich doch darauf aufmerksam, weil uns während dieser Arbeit eine Reihe von Schwierigkeiten begegnet sind, die offenbar von einer mangelhaften Isolation herrühren. Wir beseitigten dieselben erst, indem wir alle Teile des Meßapparates, dem Rate des Herrn Prof. Prytz folgend, auf Paraffinklötze stellten und den Wasserstoff auf dem Wege vom elektrolytischen Entwicklungsapparat nach dem Elektrodengefäß zwei Chlorcalciumröhren mit einem zwischenliegenden Glasrohre passieren ließen. Durch diese letztere Anordnung erreichten wir jedenfalls, daß kein Häutchen von Feuchtigkeit an der Innenseite des Rohres als Leiter der Elektrizität auftreten konnte. Früher konnten wir bisweilen einen größeren oder kleineren Ausschlag des Capillarelektrometers wahrnehmen, wenn wir den Kurzschluß unterbrachen oder wiederherstellten, selbst wenn das Elektrometer in einen Stromkreis nicht eingeschaltet war. Nachdem aber diese Vorsichtsmaßregeln zur Anwendung gekommen waren, haben wir niemals einen sicher wahrnehmbaren Ausschlag des Elektrometers konstatieren können, wenn der Stromkreis unterbrochen war. Ich

betone dieses Verhältnis deshalb so stark, weil es mir scheinen will, als ob die Ursache der Abweichungen zwischen den Versuchsergebnissen der Tabelle 1 in solchen zum großen Teil unkontrollierbaren Fehlerquellen zu suchen ist. Da die Mittelwerte von π_0 in den vier Versuchsreihen beziehungsweise 0,3379, 0,3379, 0,3371 und 0,3383 betragen, und da die beiden letzteren, voneinander am meisten abweichenden Reihen nach der Einführung der obengenannten Vorsichtsmaßregeln ausgeführt sind, scheint es mir darauf zu deuten, daß es wegen solcher unbekannter Fehlerquellen wie die obenerwähnten wahrscheinlich Zeitperioden geben kann, in welchen die Messungen durchgehends etwas zu klein ausfallen, und andere Zeiten, wo das Gegenteil der Fall ist, auch wenn man übrigens ganz unter denselben Bedingungen arbeitet. Dasselbe sonderbare Verhältnis haben wir nicht nur bei diesen zwei Versuchsreihen konstatiert, sondern wir haben bei unseren vielen und langen Reihen von Messungen des öfteren Gelegenheit gehabt, etwas ähnliches wahrnehmen zu können.

Zieht man dies alles in Erwägung und erinnert man sich, daß die hier erwähnten Messungen durch zwei Personen, zu weit verschiedenen Zeiten und mit ganz verschiedenen Lösungen und Elektroden vorgenommen wurden, so glaube ich kaum, daß man eine größere Übereinstimmung der in den einzelnen Versuchen gefundenen Werte des π_0 als die von uns gefundene erwarten darf. Andererseits meine ich, daß die große Anzahl der Versuche uns berechtigt, den Mittelwert des π_0 : 0,3377 als sehr nahe an dem richtigen zu betrachten, und diesen Wert haben wir deshalb immer im folgenden gebraucht.

Wird diese Zahl in die Gleichung (II) (S. 153) für π_0 eingesetzt, so nimmt dieselbe folgende Form an:

$$\pi_p = 0,3377 + 0,0577 \log \frac{1}{C_p} \quad (\text{III})$$

C_p , das ja den Normalitätsfaktor der Lösung auf Wasserstoffionen bezogen oder, mit anderen Worten, die Zahl der Grammatome Wasserstoffionen pro Liter bedeutet, ist in den gesamten in dieser Abhandlung behandelten Fällen kleiner als 1 und kann gleich 10^{-p} gesetzt werden. Für die Zahl p schlage ich den Namen „Wasserstoffionenexponent“ und die Schreibweise p_H vor. Unter dem Wasserstoffionen-

exponenten (p_{H}) einer Lösung wird dann der Brigg'sche Logarithmus des reziproken Wertes des auf Wasserstoffionen bezogenen Normalitätsfaktors der Lösung verstanden.¹⁾

Setzt man in die obenstehende Gleichung (III) statt C_p den Wert $10^{-p_{\text{H}}}$ ein, so hat man:

$$\pi = 0,3377 + 0,0577 \times p_{\text{H}} \quad (\text{IV})$$

und

$$p_{\text{H}} = \frac{\pi - 0,3377}{0,0577} \quad (\text{V})$$

Man ersieht, daß die beiden letzten Gleichungen sowohl die Berechnung von π aus der Wasserstoffionenkonzentration oder dem Wasserstoffionenexponenten als auch die umgekehrte Berechnung ermöglichen.

Man ersieht ebenfalls, daß das Verhältnis zwischen π und p_{H} sich graphisch durch eine Gerade ausdrücken läßt, die, wenn die Werte des π als Ordinaten und die des p_{H} als Abszissen eingetragen werden, die Ordinatenachse im Punkte 0,3377 schneidet und deren Richtung durch den Faktor 0,0577 völlig bestimmt ist. Eine Änderung des Wertes des π_0 (0,3377) wird somit diese Gerade im Koordinatensystem verschieben, nicht aber ihre Richtung verändern. Dagegen wird ihre Richtung verschieden sein für die verschiedenen Temperaturen, indem der Faktor 0,0577 nur bei 18° Gültigkeit hat (siehe S. 153).

Auf der Hauptkurventafel, welche diese Abhandlung in verkleinertem Maßstabe (siehe S. 176) begleitet, findet man diese Gerade leicht, sie ist als die Exponentiallinie bezeichnet. Ihre Bedeutung ist die, daß man mittels ihr ohne jegliche Rechnung, in rein graphischer Weise einen gemessenen Wert von π in den entsprechenden Wert von p_{H} , oder umgekehrt, umsetzen kann.

¹⁾ Weil nur selten von stärkeren Wasserstoffionenlösungen als 1-normalen die Rede sein wird, habe ich die obenstehende Definition des Wasserstoffionenexponenten gewählt. Derselbe wird danach gewöhnlich eine positive Zahl sein, und nur in den seltenen Ausnahmefällen, wo man es mit stärkeren Wasserstoffionenlösungen als der 1-normalen zu tun hat, wird er negativ sein.

c) Bestimmung der Dissoziationskonstante des Wassers.

Wenn es auch, wie schon in der Einleitung (siehe S. 133) erwähnt, am rationellsten ist, mit der Wasserstoffionenkonzentration zu rechnen, weil diese sich genauer als die der Hydroxylionen direkt ermitteln läßt, können doch viele Fälle vorkommen, wo man es der besseren Übersichtlichkeit wegen vorziehen würde, den Hydroxylionengehalt einer alkalischen Flüssigkeit anzugeben, und die genaue Kenntnis der Dissoziationskonstante des Wassers ist deshalb von großem Belang. Diese Größe ist, wie es am Ende dieses Abschnittes hervorgehen wird, bisher auf vielen verschiedenen Wegen mit ziemlich gut übereinstimmenden Resultaten bestimmt worden. Ich habe indes geglaubt, daß eine Neubestimmung auf elektrometrischem Wege und im Zusammenhange mit unseren übrigen elektrometrischen Messungen nicht ohne Interesse sein würde; ich werde daher in diesem Abschnitt einige Versuchsreihen erwähnen, die wir zu diesem Zweck ausgeführt haben.

Das Prinzip des Verfahrens war das ganz einfache, durch elektrometrische Messungen der oben erwähnten Art die Wasserstoffionenkonzentration passender verdünnten Lösungen von Natriumhydroxyd zu ermitteln, in dem der Dissoziationsgrad und demzufolge die Konzentration der Hydroxylionen der Lösungen im voraus bekannt waren. Das Produkt der gemessenen Konzentration der Wasserstoffionen und andererseits der berechneten der Hydroxylionen gab dann die gesuchte Größe.

Außerdem hat diese Arbeit uns Gelegenheit geboten, zu kontrollieren, inwiefern die Extrapolation, welche bei Messungen von Natriumhydroxydlösungen verschiedener Stärke natürlich eine verschiedene Größe besaß, Fehlerquellen von wesentlicher Bedeutung verbarg. Das folgende wird dartun, daß solches nicht der Fall war, und wir sehen darin einen Beweis dafür, daß die Extrapolationsmethode Bjerrums auch bei der Messung selbst recht stark alkalischer Flüssigkeiten zu empfehlen ist.

In der Tabelle II sind die gemachten Versuche zusammengestellt.

Tabelle II.

Dissoziationskonstante des Wassers bei 18° ($C_{H^+} \times C_{OH^-}$).

Die Versuchslösungen hatten		π (1,75 n- Kalium- chlorid- lösung)	π (3,5 n- Kalium- chlorid- lösung)	π (extra- pollert)	Die aus $\pi_{extrap.}$ berechn. Wasser- stoff- ionen- konzentr. (C_{H^+} $=10^{-p}$) p	Die Dissoziations- konstante des Wassers ($C_{H^+} \times C_{OH^-}$ $=10^{-p} \times 10^{-q}$) $p + q$ $k \times 10^{-14}$ k	
die Zusammensetzung	die Hydroxyl- ionen- konzentration (C_{OH^-} $=10^{-q}$) q						
0,1 n-Natrium- hydroxyd-Lsg. . .	1,075	1,0849	1,0871	1,0893	13,026	14,101	0,79 ₃
"	"	1,0861	1,0880	1,0899	13,036	14,111	0,77 ₄
"	"	1,0873	1,0892	1,0911	13,057	14,132	0,73 ₈
"	"	1,0876	1,0895	1,0914	13,062	14,137	0,72 ₉
"	"	1,0852	1,0871	1,0890	13,021	14,096	0,80 ₂
"	"	1,0848	1,0867	1,0886	13,014	14,080	0,81 ₅
0,05 n-NaOH-Lsg. + 0,05 n-NaCl-Lsg.	1,376	1,0700	1,0713	1,0726	12,736	14,112	0,77 ₃
"	"	1,0699	1,0708	1,0717	12,721	14,097	0,80 ₀
0,02 n-NaOH-Lsg. + 0,08 n-NaCl-Lsg.	1,775	1,0480	1,0488	1,0496	12,338	14,113	0,77 ₁
"	"	1,0478	1,0487	1,0496	12,338	14,113	0,77 ₁
0,01 n-NaOH-Lsg. + 0,09 n-NaCl-Lsg.	2,075	1,0315	1,0315	1,0315	12,024	14,099	0,70 ₆
"	"	1,0316	1,0316	1,0316	12,026	14,101	0,70 ₃
0,1 n-Natrium- hydroxyd-Lsg. . .	1,075	1,0890	1,0910	1,0930	13,090	14,165	0,68 ₄
"	"	1,0885	1,0902	1,0919	13,071	14,146	0,71 ₅
"	"	1,0884	1,0900	1,0916	13,066	14,141	0,72 ₃
0,06 n-NaOH-Lsg. + 0,04 n-NaCl-Lsg.	1,297	1,0767	1,0780	1,0793	12,853	14,150	0,70 ₈
"	"	1,0772	1,0786	1,0800	12,865	14,162	0,68 ₉
0,04 n-NaOH-Lsg. + 0,06 n-NaCl-Lsg.	1,474	1,0673	1,0683	1,0693	12,679	14,153	0,70 ₃
"	"	1,0675	1,0685	1,0695	12,683	14,157	0,69 ₇
0,02 n-NaOH-Lsg. + 0,08 n-NaCl-Lsg.	1,775	1,0509	1,0514	1,0519	12,378	14,153	0,70 ₂
"	"	1,0508	1,0514	1,0520	12,379	14,154	0,70 ₁
0,01 n-NaOH-Lsg. + 0,09 n-NaCl-Lsg.	2,075	1,0345	1,0345	1,0345	12,076	14,151	0,70 ₆
"	"	1,0343	1,0343	1,0343	12,073	14,148	0,71 ₁

Tabelle II (Fortsetzung).

Die Versuchslösungen hatten die Zusammensetzung	die Hydroxyl- ionen- konzentration $C_{OH'}$ $=10^{-q}$	π			Die aus $\pi_{extrap.}$ berechn. Wasser- stoff- ionen- konzentr. $(C_{H'}$ $=10^{-p})$	Die Dissoziations- konstante des Wassers $(C_{H'} \times C_{OH'})$ $= 10^{-p} \times 10^{-q}$	
		(1,75 n- Kalium- chlorid- lösung)	(3,5 n- Kalium- chlorid- lösung)	π (extra- poliert)		$p + q$	$k \times 10^{-14}$ k
0,1 n-Natrium- hydroxyd-Lsg. . .	1,075	1,0887	1,0902	1,0917	13,067	14,142	0,72 ₁
„	„	1,0880	1,0901	1,0922	13,076	14,151	0,70 ₆
„	„	1,0873	1,0889	1,0905	13,047	14,122	0,75 ₅
„	„	1,0872	1,0895	1,0918	13,069	14,144	0,71 ₈
„	„	1,0877	1,0902	1,0927	13,085	14,160	0,69 ₂
0,06 n-NaOH-Lsg. + 0,04 n-NaCl-Lsg.	1,297	1,0759	1,0771	1,0783	12,835	14,132	0,73 ₈
„	„	1,0763	1,0778	1,0793	12,853	14,150	0,70 ₈
„	„	1,0762	1,0778	1,0794	12,854	14,151	0,70 ₆
0,04 n-NaOH-Lsg. + 0,06 n-NaCl-Lsg.	1,474	1,0668	1,0679	1,0690	12,674	14,148	0,71 ₁
„	„	1,0673	1,0683	1,0693	12,679	14,153	0,70 ₃
0,02 n-NaOH-Lsg. + 0,08 n-NaCl-Lsg.	1,775	1,0507	1,0512	1,0517	12,374	14,149	0,71 ₀
„	„	1,0507	1,0514	1,0521	12,381	14,156	0,69 ₈

Der Mittelwert (siehe S. 164) der Dissoziationskonstante
des Wassers: $0,72 \times 10^{-14} = 10^{-14,14}$.

$$C_{H'} = C_{OH'} \text{ (für reines Wasser und neutrale Lösungen)} \\ = 0,85 \times 10^{-7} = 10^{-7,07}.$$

Im ersten Stabe der Tafel ist aufgeführt die Zusammensetzung der untersuchten Lösungen. Man ersieht, daß, während die Konzentration des Natriumhydroxyds stark wechselt (von 0,1 n bis 0,01 n), der Gesamtgehalt an Natrium in allen Versuchen dagegen unverändert derselbe (0,1 n) ist, und deshalb habe ich mit demselben Dissoziationsgrade (α) des Natriumhydroxyds (vgl. S. 154) bei allen Versuchen gerechnet. Wenn die Zahl Kohlrauschs¹⁾ für das Äquivalent-Leitvermögen einer 0,1 n-Natriumhydroxydlösung bei 18° (183) benutzt wird, und das Äquivalent-Leitvermögen bei unendlicher Verdünnung gleich 217,6 (der Summe der Wanderungsgeschwindigkeiten der zwei Ionen $43,6 + 174$)²⁾ gesetzt wird, so wird α gleich 0,841.

¹⁾ F. Kohlrausch und L. Holborn, Das Leitvermögen der Elektrolyte, 1898, S. 160.

²⁾ Kohlrausch, Lehrbuch der praktischen Physik, 1901, S. 596.

Im zweiten Stab ist die aus dem Dissoziationsgrade und dem Natriumhydroxydgehalt berechnete Konzentration der Hydroxylionen angegeben.

Im dritten und vierten Stabe findet man die bei Einschaltung einer 1,75 n- bzw. 3,5 n-Kaliumchloridlösung gemessenen elektromotorischen Kräfte, im fünften Stabe den mittelst dieser beiden Werte extrapolierten Wert des π , und im sechsten den aus dem extrapolierten π nach Gleichung (V) (S. 160) berechneten Wert des Wasserstoffionenexponenten.

In den zwei letzten Stäben endlich ist aufgeführt das Produkt der Konzentrationen der Wasserstoff- und der Hydroxylionen der gemessenen Lösung, ausgedrückt teils als eine negative gebrochene Potenz von 10, teils als ein mit 10^{-14} multiplizierter Faktor.

Die Querlinien der Tabelle bezeichnen, daß die Messungen in drei verschiedene Versuchsreihen fallen, welche zu verschiedenen Zeiten mit verschiedenem Material und mit jedesmal frisch bereiteten Lösungen ausgeführt wurden. Eine Durchsicht des letzten Stabes der Tafel zeigt deutlich, daß der Wert der Dissoziationskonstante des Wassers durchgehend höher in der ersten als in den zwei letzten Versuchsreihen gefunden ist; das Mittel für k in den drei Reihen ist $0,78_0$, $0,70_4$ und $0,71_4$. Die erste Reihe ist vor, die zwei letzten nach der Einführung der oben (siehe S. 158) erwähnten Vorsichtsmaßregeln ausgeführt, weshalb es passend erscheint, den zuletzt gefundenen Werten das größte Vertrauen zu bemessen. Da indes die Messungen der ersten Reihe sonst nichts zu wünschen übrig ließen, habe ich es für das richtigste gehalten, alle drei Versuchsreihen mitzuteilen, bei der Berechnung des endlichen Mittels aber den Werten der zweiten und dritten Reihe ein doppeltes Gewicht den Werten der ersten Reihe gegenüber beizulegen. Der in dieser Weise berechnete Mittelwert der Dissoziationskonstante des Wassers bei 18° wird

$$0,72 \times 10^{-14} = 10^{-14,14}.$$

Reines Wasser und wirklich neutrale Lösungen haben somit die folgende Konzentration der Wasserstoff- und Hydroxylionen:

$$0,85 \times 10^{-7} = 10^{-7,07}.$$

Eine Durchsicht des Zahlenmaterials der Tabelle zeigt, daß die Abweichungen zwischen den Messungsergebnissen gleich zusammengesetzter Lösungen hier größer als in der Tabelle I sind, und zwar daß die Abweichung von den Mittelwerten einzelne Male sogar mehr als 2 Millivolt beträgt. Ich hebe dies ausdrücklich hervor, weil eine so große Abweichung sonst bei Messungen normalen Verlaufes außerordentlich selten ist.

Es geht aus der Tabelle deutlich hervor, daß die Extrapolation keine Fehlerquelle von wesentlicher Bedeutung in sich birgt; denn die Größe der Konstante k im letzten Stabe variiert gar nicht mit der Extrapolation. Was letztere im übrigen betrifft, ist sie, verglichen mit der Extrapolation der Messungen von Salzsäure entsprechender Konzentration, wie es zu erwarten war, bedeutend kleiner und von entgegengesetztem Vorzeichen. Wie aus der untenstehenden Zusammenstellung erhellt, nimmt die Extrapolation mit der Konzentration des Natriumhydroxydes gleichmäßig ab:

Zusammensetzung der Lösungen	0,1 n- NaOH	0,06 n- NaOH 0,04 n- NaCl	0,05 n- NaOH 0,05 n- NaCl	0,04 n- NaOH 0,06 n- NaCl	0,02 n- NaOH 0,08 n- NaCl	0,01 n- NaOH 0,09 n- NaCl
Durchschnittliche Größe der Extra- polation in Millivolt	1,9	1,4	1,1	1,0	0,7	0,0

Zum Vergleich mit dem oben gefundenen Werte der Dissoziationskonstante des Wassers bei 18°

$$C_{H^+} \times C_{OH^-} = (0,85 \times 10^{-7})^2 = 0,72 \times 10^{-14}$$

sollen unten in aller Kürze die wichtigsten der bisher ausgeführten Bestimmungen dieser Größe angeführt werden. Der Temperaturkoeffizient ist so groß, daß die bei 25° gefundenen Werte von C_{H^+} und C_{OH^-} bei der Umrechnung auf 18° um etwa 24% verkleinert werden.¹⁾

1. Mittels Gaskettenmessung zwischen Normalsäure und Normalbase (nähere Daten fehlen) hat W. Ostwald²⁾ einen Spannungsunterschied von ca. 0,7 Volt gefunden. Daraus berechnet W. Nernst³⁾, daß die Dissoziationskonstante des Wassers bei 18° gleich $0,64 \times 10^{-14}$ ist.

2. Auf Grund der Beobachtungen Shields über die Hydrolyse des Natriumacetats findet S. Arrhenius⁴⁾ die Dissoziationskonstante des

¹⁾ Kohlrausch und Heydweiller, Wied. Annal. 53, 234, 1894.

²⁾ Zeitschr. f. physikal. Chem. 11, 521, 1893.

³⁾ Ibid. 14, 155, 1894.

⁴⁾ Zeitschr. f. physikal. Chem. 11, 827, 1893.

Wassers bei 25° gleich $(1,125 \times 10^{-7})^2 = \text{ca. } 1,27 \times 10^{-14}$. Durch Umrechnung auf 18° bekommt man $\text{ca. } 0,73 \times 10^{-14}$.

3. J. J. A. Wijs¹⁾ hat auf Veranlassung van't Hoff's die Verseifungsgeschwindigkeit des Methylacetats in reinem Wasser untersucht und daraus die Dissoziationskonstante des Wassers bei $24,8^{\circ}$ gleich $(1,2 \times 10^{-7})^2 = 1,44 \times 10^{-14}$ berechnet. Bei Umrechnung auf 18° bekommt man ungefähr $0,83 \times 10^{-14}$.

4. F. Kohlrausch und A. Heydweiller²⁾ haben das Leitvermögen von Wasser, welches mit der möglichsten Sorgfalt gereinigt war, bestimmt, und dabei gefunden, daß 1 l Wasser

bei 18° : $0,8 \times 10^{-7}$ g Wasserstoffionen
und bei 25° : $1,05 \times 10^{-7}$ g „

enthält.

Das gibt die folgende Dissoziationskonstante des Wassers:

$$\left(\frac{0,8}{1,008} \times 10^{-7} \right)^2 = 0,63 \times 10^{-14} \text{ bei } 18^{\circ}$$

und

$$\left(\frac{1,05}{1,008} \times 10^{-7} \right)^2 = 1,09 \times 10^{-14} \text{ bei } 25^{\circ}.$$

5. R. Löwenherz³⁾ hat die elektromotorische Kraft solcher Elemente gemessen, welche aus zwei Wasserstoffelektroden, die eine in Salzsäure (0,1 n oder 0,01 n) die andere in Natriumhydroxydlösung (0,1 n oder 0,01 n) getaucht, bestanden; eine äquimolekulare Lithiumchloridlösung diente als Zwischenflüssigkeit, und die Diffusionspotentiale wurden nach Planck berechnet. Das Prinzip der Methode war also ganz dasselbe wie das unseren Versuchen zugrunde liegende. Aus acht Versuchen (die größte Abweichung vom Mittelwerte des π war 3,1 Millivolt) mit 0,1 n-Salzsäure und 0,1 n-Natriumhydroxydlösung berechnete Löwenherz den Wert $1,187 \times 10^{-7}$ und aus 6 Versuchen (die größte Abweichung vom Mittelwerte des π war 3,8 Millivolt) mit 0,01 n-Salzsäure und 0,01 n-Natriumhydroxydlösung berechnete er den Wert $1,075 \times 10^{-7}$. Das Mittel dieser zwei Werte ergibt, daß die Dissoziationskonstante des Wassers bei 25° bis 26° $(1,13 \times 10^{-7})^2 = 1,28 \times 10^{-14}$; oder auf 18° umgerechnet $\text{ca. } 0,74 \times 10^{-14}$.

Aus den späteren Jahren kann angeführt werden:

6. C. W. Kanolt⁴⁾ hat die Hydrolyse des Ammoniumsalzes von Diketotetrahydrothiazol untersucht und daraus die Dissoziationskonstante des Wassers zu $0,82 \times 10^{-14}$ bei 25° und $0,46 \times 10^{-14}$ bei 18° berechnet.

¹⁾ Ibid. 11, 492, 1893; 12, 514, 1893. — Vgl. auch J. J. van Laar, ibid. 13, 736, 1893.

²⁾ Wied. Annal. 53, 209, 1894.

³⁾ Zeitschr. f. physikal. Chem. 20, 283, 1896.

⁴⁾ Journ. Amer. Chem. Soc. 29, 1402, 1907.

7. H. Lundén¹⁾ hat die Hydrolyse des Trimethylpyridinsalzes von p-Nitrophenol gemessen und dadurch die Dissoziationskonstante des Wassers bei 15° zu $0,46 \times 10^{-14}$ und bei 25° zu $1,05 \times 10^{-14}$ berechnet; rechnet man auf 18° um, hat man ca. $0,61 \times 10^{-14}$.

d) Die Standardlösungen und ihre elektrometrische Messung; die Hauptkurventafel.

Die schon in der Einleitung erwähnten (siehe S. 147), bei der colorimetrischen Messung benutzten Standardlösungen sind die folgenden:

1. Eine 0,1 n-Salzsäure (wenn kein Mißverständnis möglich ist, wird diese Lösung bisweilen ganz einfach mit HCl bezeichnet).

2. Eine 0,1 n-Natriumhydroxydlösung (die Lösung wird NaOH bezeichnet).

3. Eine natriumchloridhaltige 0,1 n-Glykokollösung, welche in einem Liter 7,505 g Glykokoll und 5,85 g reines Natriumchlorid enthält (die Lösung wird Glykokoll genannt).²⁾

4. Eine $\frac{1}{15}$ mol. Lösung primären Kaliumphosphats, welche somit 9,078 g KH_2PO_4 in einem Liter enthält (die Lösung wird prim. Phosphat genannt).

5. Eine $\frac{1}{15}$ mol. Lösung sekundären Natriumphosphats, welche 11,876 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ im Liter enthält (die Lösung wird sek. Phosphat genannt).

6. Eine 0,1 mol. Lösung sekundären Natriumcitrats; dieselbe wird durch Lösung von 21,008 g krystallisierter Citronensäure in 200 ccm n-Natronlösung und Verdünnung mittels Wassers bis zu einem Liter hergestellt (die Lösung wird Citrat genannt).

7. Eine alkalische Borsäurelösung, hergestellt durch Lösung von 0,2 g mol. Borsäure (12,404 g) in 100 ccm n-Natronlösung und Verdünnung mit Wasser auf einen Liter (die Lösung wird Borat genannt).

Bei der Darstellung dieser Lösungen wurde immer destilliertes Wasser benutzt, welches durch Auskochen in verzinnten

¹⁾ Meddelanden från Vetenskapsakademiens Nobelinstitut 1, Nr. 8, 1907.

²⁾ Des geringen Leitvermögens des Glykokolls wegen ist es mit Rücksicht auf die elektrometrische Messung notwendig gewesen, Natriumchlorid zu der Glykokollösung zu fügen.

Kupferflaschen von Kohlensäure befreit worden war, und die verwendeten Meßkolben wie auch die Woulffschen Flaschen, welche zur Aufbewahrung dienten (siehe S. 148), waren im voraus mit kohlensäurefreier Luft gefüllt worden. Gewöhnlich wurden 4 l Lösung, in zwei 2-Liter-Meßkolben, auf einmal dargestellt. Nach Füllung bis zur Marke und gutem Schütteln wurde der Meßkolben durch einen zweifach durchbohrten Kautschukstöpsel verschlossen, welcher mit zwei Glasröhren, einer ganz kurzen und einer bis zum Boden des Meßkolbens reichenden, versehen war; diese einfache Einrichtung ermöglichte die Überführung der Flüssigkeit aus dem Meßkolben in die Woulffsche Flasche, ohne daß sie mit der äußeren, kohlensäurehaltigen Luft in Berührung kam.

Die 0,1 n-Salzsäure wurde aus einer mittels Natriumoxalats als Urtitersubstanz sehr sorgfältig eingestellten 1,0 normaler Salzsäure durch Verdünnung hergestellt.

Die 0,1 n-Natriumhydroxydlösung stellten wir durch Verdünnung einer carbonatfreien,¹⁾ auf die obengenannte 1,0 n-Salzsäure gestellten, 1,0 n-Natronlösung dar.

Für Darstellung der übrigen Standardlösungen war es notwendig, Stoffe zu benutzen, welche — außerdem, daß sie auch sonst für diesen Gebrauch geeignet sind — teils einigermaßen leicht von hinreichender Reinheit dargestellt werden könnten, teils längere Zeit hindurch sich unverändert aufbewahren ließen, und deren Reinheit endlich durch einfache Proben zu kontrollieren wäre. Unten findet man diese Reinheitsproben in

¹⁾ 250 g Natriumhydroxyd aus Natrium (C. A. F. Kahlbaum) wurden mit 300 ccm Wasser in einem engen, mit Glasstöpsel versehenen Zylinder behandelt. In einer Lauge dieser Stärke ist das Natriumcarbonat unlöslich und sinkt im Laufe von ein paar Tagen zu Boden, so daß eine so gut wie vollständig carbonatfreie Hydroxydlösung abgezogen werden kann. (Eine entnommene Probe, welche mit kohlensäurefreiem Wasser verdünnt, mit Phenolphthalein versetzt und durch Zutropfen von Salzsäure ganz schwach rosa gefärbt worden ist, darf durch Zugabe selbst ziemlich großer Mengen einer ausgekochten neutral reagierenden Bariumchloridlösung nicht entfärbt werden). In der Annahme, daß dieses einfache und vorzügliche Verfahren zur Darstellung carbonatfreier Natronlauge nicht allgemein bekannt ist, habe ich es hier mitgeteilt. Zum ersten Male habe ich es bei Herrn Laboratoriumsvorsteher R. A. Petersen, Struers Laboratorium, Kopenhagen, gesehen.

bezug auf jeden einzelnen der angewandten Körper, welche alle bei der Firma C. A. F. Kahlbaum zu Berlin in garantiert reinem Zustand, das heißt den hier gestellten Anforderungen der Reinheit genügend, zu beziehen sind.

Glykokoll. a) 2 g Glykokoll sollen mit 20 ccm Wasser eine klare Lösung geben, welche entweder völlig sulfat- und chlorfrei ist oder höchstens eine äußerst geringe Spur von Chlorid enthält.

b) 5 g Glykokoll dürfen nach Glühen höchstens 2 mg Asche hinterlassen.

c) Bei der Destillation von 5 g Glykokoll und 300 ccm 5%iger Natronlauge in einem gewöhnlichen Destillationsapparat nach Kjeldahl darf die überdestillierte Ammoniakmenge nicht mehr als 1 mg Stickstoff entsprechen.

d) Der Stickstoffgehalt des Glykokolls, nach Kjeldahl bestimmt, soll $18,67 \pm 0,1\%$ betragen.

Verschiedene Kahlbaumsche Glykokollpräparate genügten den gesamten hier gestellten Anforderungen.

Primäres Kaliumphosphat. a) Das Salz muß in Wasser klar löslich sein und darf weder Sulfat noch Chlorid enthalten.

b) Getrocknet 24 Stunden bei 100° und 20 bis 30 mm Druck darf das Salz höchstens $0,1\%$ verlieren (ca. 5 g werden für die Probe benutzt), und bei nachfolgendem vorsichtigem Glühen im Platintiegel soll der Gewichtsverlust $13,23 \pm 0,1\%$ betragen.

Beispiel: Ein Präparat von Kahlbaum verlor beim Trocknen $0,01\%$ und beim nachfolgenden Glühen $13,26\%$.

Sekundäres Natriumphosphat. $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$. Ein sekundäres Natriumphosphat mit sehr nahe dieser Zusammensetzung beschreibt Julius Thomsen¹⁾; dieser Forscher hat gezeigt, daß die Aufnahme der ersten zwei Moleküle Krystallwasser durch das wasserfreie Salz eine größere Wärmetönung (pro. Molekül Krystallwasser berechnet) hervorruft als die der folgenden zehn. Später ist das Salz, soweit mir bekannt, nicht erwähnt worden. Es hat den Vorteil vor den gewöhnlichen, bekannten Salzen mit zwölf oder mit sieben mol. Wasser, daß es bei gewöhnlicher Temperatur und gewöhnlichem

¹⁾ Thermochem. Untersuch. 3, 120, 1883.

Feuchtigkeitsgrade der Zimmerluft luftbeständig ist. Es wird ganz einfach durch Verwitterung reinen gewöhnlichen Natriumphosphats unter passenden Umständen dargestellt, welche sich leicht beschaffen lassen, und man erhält es dann als ein weißes, körniges Pulver, welches beim Stehenlassen nicht zusammenbackt wie das gewöhnliche Natriumphosphat. Da das Salz sich jahrelang unverändert aufbewahren läßt, eignet es sich vorzüglich als Standardstoff, da es nur notwendig ist, ein für allemal den Wassergehalt in einer größeren Portion zu bestimmen. Die unten aufgeführten Bestimmungen zeigen übrigens, daß der Wassergehalt immer so nahe an dem von der Theorie verlangten liegt, daß man bei allen gewöhnlichen Analysen mit der theoretisch berechneten Zusammensetzung des Salzes rechnen darf.

Für die Darstellung des Salzes verfährt man am besten folgendermaßen: Man breitet reines, gewöhnliches, sekundäres Natriumphosphat in einigermaßen dünnen Schichten auf Papier aus und läßt es, soweit als möglich gegen den Staub geschützt, bei gewöhnlicher Zimmertemperatur (18° bis 22°) liegen. Bei täglichem gutem Umrühren, und wenn man die nach einigen Tagen etwa gebildeten Klumpen zerstößt, ist die Verwitterung nach 8 bis 14 Tagen beendet; die Geschwindigkeit der Verwitterung ist aber natürlich von der Temperatur und dem Feuchtigkeitsgrade der Luft abhängig.

In feuchten Sommern, wo der Feuchtigkeitsgrad der Luft sehr hoch ist, geht die Verwitterung nur sehr langsam von statten, und man gelangt häufig nur zu dem Salz mit $7 \text{ H}_2\text{O}$. Sobald aber der Feuchtigkeitsgrad bis 50% oder darunter sinkt, was ja so gut wie immer der Fall ist im Zimmer während der kalten Jahreszeit, schreitet die Verwitterung weiter bis zum Salz mit $2 \text{ H}_2\text{O}$, und sowohl die Firma C. A. F. Kahlbaum als auch ich, die wir mehrere Male größere Mengen des Salzes darstellten, haben ohne nennenswerte Schwierigkeiten eben den richtigen Wassergehalt bekommen. Zu bemerken ist jedoch, daß die Verwitterung weiter vorschreiten kann, wenn das Salz erwärmt oder die Luft künstlich ausgetrocknet wird; ein solches zu stark abgewässertes Salz unter normale Verhältnisse (18° bis 22° C und 30 bis 50% Feuchtigkeit) gebracht, wird aber sehr bald die Zusammensetzung $\text{Na}_2\text{HPO}_4, 2 \text{ H}_2\text{O}$ annehmen.

Wenn die Verwitterung scheinbar vorbei ist, wägt man auf einem Stück Papier 100 g des Salzes (auf 0,1 g genau) und kontrolliert durch erneuertes Wägen nach ein paar

Tagen (Liegenlassen an der Luft), ob die Verwitterung zu Ende ist oder nicht. Verfügt man über eine Probe im voraus analysierten Salzes von der Zusammensetzung $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, dann ist es zu empfehlen, auch 100 g von diesem Salz abzuwägen und es als Kontrolle neben die andere Portion zu legen; ändert nun diese Kontrollprobe ihr Gewicht nicht, dann kann man sicher sein, daß die vorhandenen Temperatur- und Feuchtigkeits-Verhältnisse passend sind.

Die Anforderungen hinsichtlich der Reinheit sind die folgenden:

a) Das Salz muß klar löslich in Wasser sein und weder Sulfat noch Chlorid enthalten.

b) Beim Trocknen 24 Stunden bei 100° und 20 bis 30 mm Druck und nachfolgendem vorsichtigem Glühen, bis das Gewicht konstant wird, soll der gesamte Gewichtsverlust $25,28 \pm 0,1\%$ betragen. Für die Probe werden etwa 5 g angewandt.

Eine Reihe von mir zu verschiedenen Zeiten dargestellter Präparate haben einen Gewichtsverlust von bzw. $25,24 - 25,23 - 25,30 - 25,23\%$ erlitten; ein von C. A. F. Kahlbaum empfangenes Salz verlor $25,36\%$.

Citronensäure. a) Die Säure muß klar löslich in Wasser sein und darf weder Schwefelsäure noch Salzsäure enthalten. Der Aschengehalt, in 5 g der Säure bestimmt, darf nur ganz geringfügig sein.

In zwei zu verschiedenen Zeiten von C. A. F. Kahlbaum empfangenen Präparaten fand ich nur etwa $0,01\%$ Asche.

b) Der Gehalt von Krystallwasser wird durch Trocknen bei 70° und 20 bis 30 mm Druck bis zum konstanten Gewicht ermittelt; die Säure muß hierbei völlig farblos bleiben, und der Gewichtsverlust $8,58 \pm 0,1\%$ betragen. Bei 100° verliert die Citronensäure alles Wasser im Laufe der ersten 24 Stunden, durch weiteres Trocknen verliert sie aber noch mehr und wird bräunlich.

Eine Citronensäure von Kahlbaum verlor bei 70° während acht Tagen in allem $8,58\%$ und während der folgenden 5 Tage nichts; eine andere Probe hat $8,59\%$ verloren.

c) Die Acidität der Citronensäure wird durch Titrierung mittels $0,2\text{ n}$ -Bariumhydroxydlösung und Phenolphthalein als Indicator festgestellt. Es wird zur ausgesprochenen roten Farbe und nicht zu einem schwachen rötlichen Tone titriert. Trotz

des Niederschlages von Bariumnitrat ist der Umschlag sehr scharf. Bei Anwendung von Natriumhydroxyd bleibt die Flüssigkeit klar; der Umschlag ist aber weniger scharf. Werden ungefähr 30 ccm 0,2 n-Bariumhydroxydlösung verbraucht, so darf die verbrauchte Menge nicht mehr als höchstens 0,1 ccm von der berechneten abweichen.

Als Beispiele mögen einige mit Kahlbaumschen Präparaten ausgeführte Titrierungen dienen: Verbraucht 29,35 oder 29,40 ccm 0,2 n-Bar. (berechnet 29,36 ccm); verbraucht 36,43 ccm 0,2 n-Bar. (berechnet 36,48 ccm).

Borsäure. 20 g Borsäure werden mit 100 ccm ausgekochtem Wasser in einem kleinen Kolben auf stark siedendem Wasserbade erwärmt, wodurch alles in Lösung gehen muß. Nach Abkühlung der Lösung, zuletzt in Eiswasser, wodurch der größte Teil der Borsäure wieder ausfällt, wird filtriert und abgesaugt und das Filtrat auf etwaige Verunreinigungen untersucht.

a) Das Filtrat darf weder Sulfat noch Chlorid enthalten.

b) In kleine Reagensgläser werden 3 > 5 ccm des Filtrats abpipettiert und zu jeder Probe 2 Tr. Methylorangelösung (0,1 g Methylorange in 1 l Wasser) gegeben, wodurch alle drei Proben orange gefärbt werden müssen. Fügt man jetzt 1 Tr. 0,1 n-Natriumhydroxydlösung zu der einen Probe, so muß sie dadurch gelb werden, während 1 Tr. 0,1 n-Salzsäure zu einer anderen der Proben gefügt, dieselbe ausgesprochen rot macht.

Diese einfache Probe fußt auf der Tatsache, daß eine wässrige Lösung reiner Borsäure mit Methylorange versetzt die Umschlagsfarbe des Indicators (vgl. S. 186) annimmt, aber alkalische bzw. saure Reaktion zeigt, wenn kleine Mengen von Basen oder von fremden Säuren zugegen sind. Kontrollversuche mittels reiner, mehrere Male umkrystallisierter Borsäure haben gezeigt, daß diese Probe es ermöglicht, einen Gehalt an Basen oder an fremden, einigermaßen starken Säuren zu entdecken, wenn derselbe in 1 g Borsäure wenigstens einen Tropfen einer 0,1 n-Lösung entspricht.

c) 20 ccm vom Filtrate, 4 g Borsäure entsprechend, werden in einem gewogenen Platintiegel eingedampft, mit etwa 10 g käuflicher Flußsäure und etwa 5 ccm konzentrierter Schwefelsäure versetzt, dann wieder eingedampft, gegläht und gewogen.

Das Gewicht des Glührückstandes, nötigenfalls für den Gehalt der Flußsäure an nicht flüchtigen Stoffen korrigiert, darf nicht mehr als 2 mg betragen.

Zwei verschiedene Kahlbaumsche Präparate von Borsäure entsprachen den gesamten hier gestellten Anforderungen.

Die Wasserstoffionenkonzentration verschiedener passender Gemische der erwähnten Standardlösungen wurde in der oben beschriebenen Weise (siehe S. 150) elektrometrisch bestimmt; die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen III bis VI zusammengestellt. Der erste Stab der Tabelle enthält die Zusammensetzung von 10 ccm des Gemisches; der zweite Stab enthält die gefundene elektromotorische Kraft π eines Elementes, welches aus einer Quecksilber-Kalomelelektrode in 0,1 n-Kaliumchloridlösung und einer Platin-Wasserstoffelektrode mit der vorliegenden Lösung als Elektrodenflüssigkeit besteht; der dritte Stab endlich gibt den Wert des Wasserstoffionenexponenten (p_H), welcher mittels Gleichung V (S. 160) aus der gemessenen elektromotorischen Kraft π berechnet ist.

Die angeführten Werte des π sind Durchschnittszahlen von mindestens zwei, gewöhnlich aber von mehreren Bestimmungen, welche zu verschiedenen Zeiten mittels verschiedener Elektroden und mit verschiedenen Lösungen ausgeführt sind. Um einen Begriff von der Übereinstimmung zu geben, werde ich hier die Meßergebnisse einzelner, der Kontrolle der Elektroden wegen besonders häufig gemessener Lösungen mitteilen:

Mit der Mischung „8 ccm Glykokoll + 2 ccm HCl“ wurden die folgenden Werte von π gefunden:

0,5064 — 0,5065 — 0,5049 — 0,5067 — 0,5063 — 0,5063 — 0,5064
— 0,5067 — 0,5057 — 0,5067 — 0,5070 — 0,5068 — 0,5064 —
0,5064 — 0,5065 — 0,5066 — 0,5052 — 0,5052;

Mittel 0,5063.

Das Gemisch „3 ccm sek. Phosphat + 7 ccm prim. Phosphat“ gab die folgenden Werte:

0,7111 — 0,7111 — 0,7112 — 0,7104 — 0,7106;

Mittel: 0,7109.

Tabelle III. Glykokollmischungen.

Zusammensetzung der Mischung	Die elek- tromoto- rische Kraft π	Der Wasser- stoff- ionenex- ponent p_{H}	Zusammensetzung der Mischung	Die elek- tromoto- rische Kraft π	Der Wasser- stoff- ionenex- ponent p_{H}
10 ccm Glykokoll	ca. 0,6900	ca. 6,106	10 ccm Glykokoll	ca. 0,6900	ca. 6,106
9,9 ccm Glykokoll + 0,1 ccm HCl	0,5922	4,411	9,9 ccm Glykokoll + 0,1 ccm NaOH	0,7883	7,809
9,75 ccm Glykokoll + 0,25 ccm HCl	0,5680	3,991	9,75 ccm Glykokoll + 0,25 ccm NaOH	0,8130	8,237
9,5 ccm Glykokoll + 0,5 ccm HCl	0,5500	3,679	9,5 ccm Glykokoll + 0,5 ccm NaOH	0,8325	8,575
9 ccm Glykokoll + 1 ccm HCl	0,5305	3,341	9 ccm Glykokoll + 1 ccm NaOH	0,8529	8,929
8 ccm Glykokoll + 2 ccm HCl	0,5063	2,922	8 ccm Glykokoll + 2 ccm NaOH	0,8780	9,364
7 ccm Glykokoll + 3 ccm HCl	0,4881	2,607	7 ccm Glykokoll + 3 ccm NaOH	0,8982	9,714
6 ccm Glykokoll + 4 ccm HCl	0,4692	2,279	6 ccm Glykokoll + 4 ccm NaOH	0,9228	10,140
5 ccm Glykokoll + 5 ccm HCl	0,4492	1,932	5,5 ccm Glykokoll + 4,5 ccm NaOH	0,9425	10,482
4 ccm Glykokoll + 6 ccm HCl	0,4326	1,645	5,1 ccm Glykokoll + 4,9 ccm NaOH	0,9763	11,067
3 ccm Glykokoll + 7 ccm HCl	0,4196	1,419	5 ccm Glykokoll + 5 ccm NaOH	0,9900	11,305
2 ccm Glykokoll + 8 ccm HCl	0,4099	1,251	4,9 ccm Glykokoll + 5,1 ccm NaOH	1,0050	11,565
1 ccm Glykokoll + 9 ccm HCl	0,4038	1,146	4,5 ccm Glykokoll + 5,5 ccm NaOH	1,0356	12,095
10 ccm HCl	0,3976	1,038	4 ccm Glykokoll + 6 ccm NaOH	1,0531	12,399
			3 ccm Glykokoll + 7 ccm NaOH	1,0690	12,674
			2 ccm Glykokoll + 8 ccm NaOH	1,0795	12,856
			1 ccm Glykokoll + 9 ccm NaOH	1,0862	12,972
			10 ccm NaOH	1,0916	13,066

Für „9 ccm Glykokoll + 1 ccm NaOH“ haben wir gefunden:
 0,8525 — 0,8526 — 0,8529 — 0,8525 — 0,8532 — 0,8529 — 0,8531
 — 0,8528 — 0,8531 — 0,8533;

Mittel: 0,8529.

Wie man ersieht, ist die Abweichung vom Mittelwerte nur in ganz vereinzelten Fällen größer als 1 Millivolt, gewöhnlich

Tabelle IV. Phosphatmischungen.

Zusammensetzung der Mischung	Dielek- tromo- torische Kraft π	Der Wasser- stoff- ionenex- ponent p_H	Zusammensetzung der Mischung	Dielek- tromo- torische Kraft π	Der Wasser- stoff- ionenex- ponent p_H
10 ccm sek. Phos- phat	0,8167	8,302	4 ccm sek. Phos- phat + 6 ccm prim. Phosphat	0,7210	6,643
9,9 ccm sek. Phos- phat + 0,1 ccm prim. Phosphat	0,8092	8,171	3 ccm sek. Phos- phat + 7 ccm prim. Phosphat	0,7109	6,468
9,75 ccm sek. Phos- phat + 0,25 ccm prim. Phosphat	0,8015	8,038	2 ccm sek. Phos- phat + 8 ccm prim. Phosphat	0,6977	6,239
9,5 ccm sek. Phos- phat + 0,5 ccm prim. Phosphat	0,7914	7,863	1 ccm sek. Phos- phat + 9 ccm prim. Phosphat	0,6787	5,910
9 ccm sek. Phos- phat + 1 ccm prim. Phosphat	0,7790	7,648	0,5 ccm sek. Phos- phat + 9,5 ccm prim. Phosphat	0,6608	5,600
8 ccm sek. Phos- phat + 2 ccm prim. Phosphat	0,7616	7,347	0,25 ccm sek. Phos- phat + 9,75 ccm prim. Phosphat	0,6438	5,305
7 ccm sek. Phos- phat + 3 ccm prim. Phosphat	0,7500	7,146	0,1 ccm sek. Phos- phat + 9,9 ccm prim. Phosphat	0,6248	4,976
6 ccm sek. Phos- phat + 4 ccm prim. Phosphat	0,7402	6,976	10 ccm prim. Phos- phat	0,5990	4,529
5 ccm sek. Phos- phat + 5 ccm prim. Phosphat	0,7308	6,813			

aber weit kleiner. Ich glaube deshalb, daß man hier auf eine ähnliche Genauigkeit, wie bei der Bestimmung von π_0 (siehe S. 156) rechnen darf, und zwar, daß die in den Tabellen angeführten Werte des π weniger als 1 Millivolt von den wahren Werten dieser Größe abweichen (siehe auch unten S. 178).

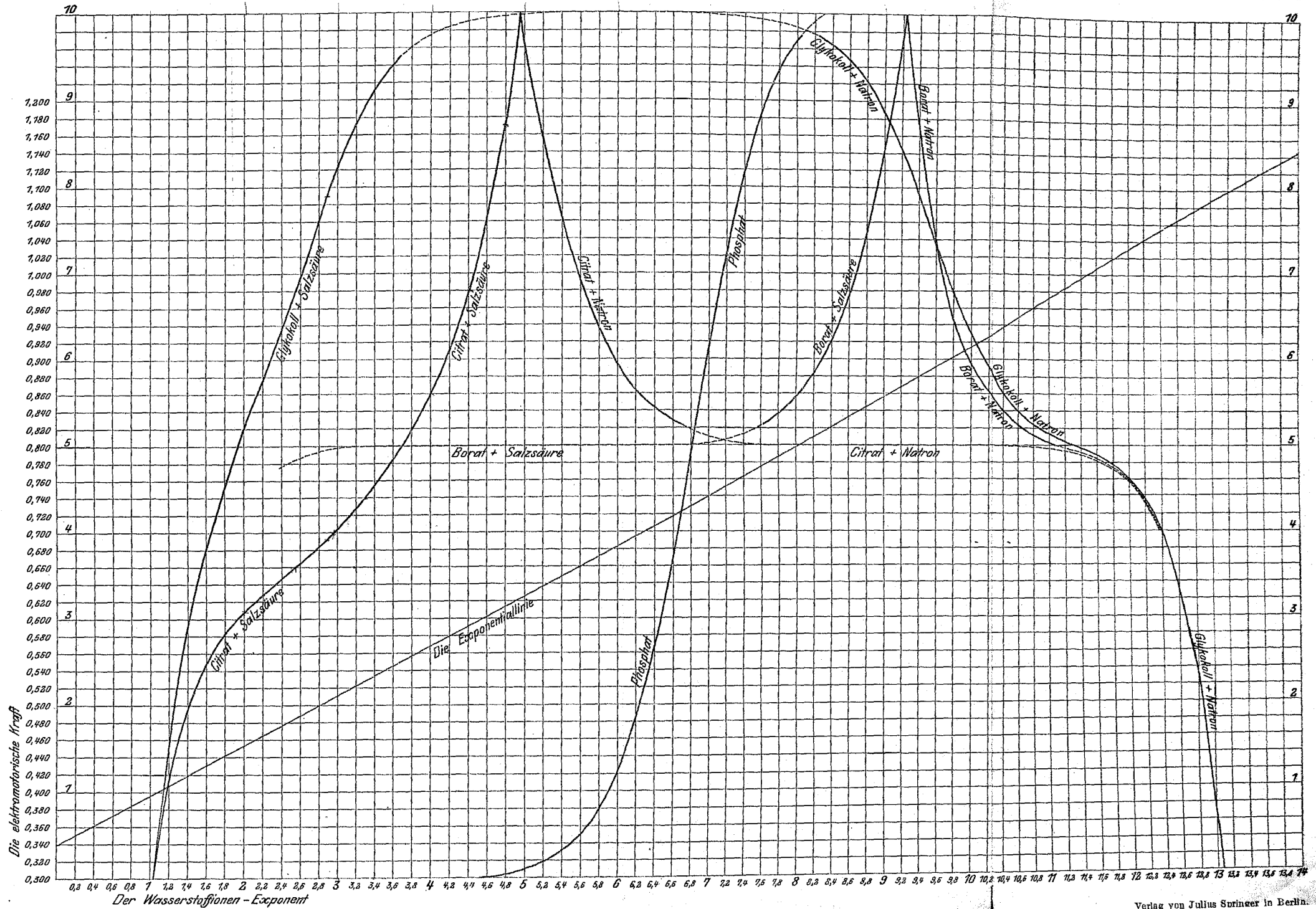
Nur vollständigkeithalber soll es bemerkt werden, daß bei den Messungen der sauersten und der alkalischsten dieser Gemische eine Extrapolation notwendig war, deren Größe und Vorzeichen ganz dem entsprachen, was in betreff dieser Frage oben angeführt ist (siehe S. 157 und S. 165). Natürlich sind es die extrapolierten Werte des π , welche in diesen Fällen in den Tabellen gegeben sind.

Tabelle V. Citratenmischungen.

Zusammensetzung der Mischung	Dielek- tromo- torische Kraft π	Der Wasser- stoff- ionenex- ponent p_{H^+}	Zusammensetzung der Mischung	Dielek- tromo- torische Kraft π	Der Wasser- stoff- ionenex- ponent p
10 ccm Citr. . . .	0,6238	4,958	10 ccm Citr. . . .	0,6238	4,958
9,5 ccm Citr. + 0,5 ccm HCl . .	0,6197	4,887	9,5 ccm Citr. + 0,5 ccm NaOH .	0,6275	5,023
9 ccm Citr. + 1 ccm HCl . . .	0,6164	4,830	9 ccm Citr. + 1 ccm NaOH . .	0,6325	5,109
8 ccm Citr. + 2 ccm HCl . . .	0,6081	4,652	8 ccm Citr. + 2 ccm NaOH . .	0,6443	5,314
7 ccm Citr. + 3 ccm HCl . . .	0,5943	4,447	7 ccm Citr. + 3 ccm NaOH . .	0,6590	5,568
6 ccm Citr. + 4 ccm HCl . . .	0,5776	4,158	6 ccm Citr. + 4 ccm NaOH . .	0,6821	5,969
5,5 ccm Citr. + 4,5 ccm HCl . .	0,5655	3,948	5,5 ccm Citr. + 4,5 ccm NaOH .	0,7030	6,331
5 ccm Citr. + 5 ccm HCl . . .	0,5507	3,692	5,25 ccm Citr. + 4,75 ccm NaOH .	0,7230	6,678
4,75 ccm Citr. + 5,25 ccm HCl . .	0,5413	3,529	5 ccm Citr. + 5 ccm NaOH . .	0,8600— 0,9200	9,052— 10,002
4,5 ccm Citr. + 5,5 ccm HCl . .	0,5318	3,364	4,5 ccm Citr. + 5,5 ccm NaOH .	1,0343	12,073
4 ccm Citr. + 6 ccm HCl . . .	0,5092	2,972	4 ccm Citr. + 6 ccm NaOH . .	1,0511	12,364
3,33 ccm Citr. + 6,67 ccm HCl . .	0,4689	2,274			
3 ccm Citr. + 7 ccm HCl . . .	0,4488	1,925			
2 ccm Citr. + 8 ccm HCl . . .	0,4195	1,418			
1 ccm Citr. + 9 ccm HCl . . .	0,4054	1,173			
10 ccm HCl . . .	0,3976	1,038			

Die Hauptkurventafel. Auf der Hauptkurventafel, welche die Originalabhandlung in den „Compt. rend. des travaux du Laboratoire de Carlsberg“ begleitet und in verkleinertem Maßstabe, als Illustration, hier beigelegt ist,¹⁾ sind die oben erwähnten, tabellarisch zusammengestellten Messungen graphisch

¹⁾ Eine deutsche Ausgabe der Hauptkurventafel in Originalgröße zum Gebrauche im Laboratorium ist im Verlage von Julius Springer, Berlin, Monbijoupl. 3, erschienen und von dort oder durch jede Buchhandlung zum Preise von M. 1,60 (inkl. Rolle) zu beziehen. Bei direkter Zusendung erhöht sich dieser Betrag im Inland um 20 Pfg., im Ausland um 35 Pfg. (Bestellkarte liegt diesem Hefte bei.)



dargestellt. Die Kurven, die auf der Tafel „Glykokoll + Salzsäure“, „Citrat + Natriumhydroxyd“ usw. bezeichnet sind, haben die in den letzten Stäben der Tabellen III bis VI angeführten Werte des Wasserstoffionenexponenten (p_H) als Abszissen, und den Gehalt der Mischungen (ausgedrückt durch die Zahl von Kubikzentimetern in 10 ccm der Mischung) an bzw. Glykokoll, Citrat, Borat und sek. Phosphat als Ordinaten.

Tabelle VI. Boratenmischungen.

Zusammensetzung der Mischung	Die elek- tromoto- rische Kraft π	Der Wasser- stoff- ionenex- ponent p_H	Zusammensetzung der Mischung	Die elek- tromoto- rische Kraft π	Der Wasser- stoff- ionenex- ponent p_H
10 ccm Borat . .	0,8709	9,241	10 ccm Borat . .	0,8709	9,241
9,5 ccm Borat + 0,5 ccm HCl . .	0,8667	9,168	9 ccm Borat + 1 ccm NaOH . .	0,8778	9,360
9 ccm Borat + 1 ccm HCl . .	0,8620	9,087	8 ccm Borat + 2 ccm NaOH . .	0,8860	9,503
8,5 ccm Borat + 1,5 ccm HCl . .	0,8574	9,007	7 ccm Borat + 3 ccm NaOH . .	0,8960	9,676
8 ccm Borat + 2 ccm HCl . .	0,8517	8,908	6 ccm Borat + 4 ccm NaOH . .	0,9132	9,974
7,5 ccm Borat + 2,5 ccm HCl . .	0,8454	8,799	5 ccm Borat + 5 ccm NaOH . .	0,9768	11,076
7 ccm Borat + 3 ccm HCl . .	0,8384	8,678	4 ccm Borat + 6 ccm NaOH . .	1,0518	12,376
6,5 ccm Borat + 3,5 ccm HCl . .	0,8285	8,506			
6 ccm Borat + 4 ccm HCl . .	0,8160	8,289			
5,75 ccm Borat + 4,25 ccm HCl . .	0,8072	8,137			
5,5 ccm Borat + 4,5 ccm HCl . .	0,7958	7,939			
5,25 ccm Borat + 4,75 ccm HCl . .	0,7774	7,621			
5 ccm Borat + 5 ccm HCl . .	0,7155	6,548			
4,75 ccm Borat + 5,25 ccm HCl . .	0,4745	2,371			

Auf der Hauptkurventafel findet man des weiteren die Exponentiallinie, welche, wie schon erwähnt (siehe S. 160) es möglich macht, den einem gemessenen π entsprechenden Wert von p_H , und umgekehrt, graphisch abzuleiten.

Diese Kurven ermöglichen es somit, sowohl den Wert des π als auch den des p_H für jedes, auch in den Tabellen III bis VI nicht angeführte Gemisch der hier erwähnten Standardlösungen abzulesen. Wünscht man z. B. den Wert dieser beiden Größen für das Gemisch „8,6 cem Glykokoll + 1,4 cem HCl“ kennen zu lernen, so sucht man die Ordinate 8,6 auf und folgt der horizontalen Linie bis zum Schnittpunkt mit der Kurve „Glykokoll + Salzsäure“; die Abszisse dieses Punktes ist 3,15, welche Zahl deshalb das p_H der Mischung angibt. Folgt man der horizontalen Linie vom Schnittpunkt zwischen der Exponentiallinie und der Ordinate der Abszisse 3,15, findet man zu äußerst links auf der Kurventafel den Wert 0,519₅, welcher somit das π des Gemisches angibt.

Die Kurven sind natürlich so konstruiert, daß sie auf dem in den Tabellen III bis VI gegebenen Zahlenmaterial fußen; das schließt aber nicht aus, daß die Zeichnung der Kurven Ausgleichungen bewirkt haben kann. Eine Zusammenstellung der Werte des p_H , welche sich aus der Kurventafel graphisch ableiten lassen, und derjenigen, welche bei der elektrometrischen Messung direkt gefunden worden sind, war deswegen von Interesse. Es hat sich dann gezeigt, daß die Abweichungen zwischen den graphisch abgeleiteten und den direkt gemessenen Werten von p_H immer kleiner als eine Einheit in der zweiten Dezimale des Wasserstoffionenexponenten sind, was der größten Genauigkeit entspricht, die man beim Gebrauch der Kurventafel erwarten darf, in deren Abszissenmaßstab $\frac{1}{2}$ mm oben einer Einheit der zweiten Dezimale des p_H entspricht. Da weiter diese Maximalabweichung des Wasserstoffionenexponenten, 0,01, einer Abweichung der elektromotorischen Kraft von etwas weniger als 0,6 Millivolt entspricht, finde ich in der hier erwähnten schönen Übereinstimmung zwischen den aus den kontinuierlich, ohne Knickpunkte verlaufenden Kurven graphisch abgeleiteten und andererseits den direkt ermittelten Werten des p_H eine weitere Stütze der oben geäußerten Annahme (siehe S. 175), daß die in den Tabellen III bis VI angeführten Werte des π nicht mit Fehlern größer als höchstens 1 Millivolt behaftet sind.

Wenn man die Kurventafel betrachtet, sieht man sogleich, daß die Kurven an gewissen Stellen punktiert sind, wodurch bezeichnet wird, daß sie an diesen Stellen ganz oder zum

Teil unbrauchbar sind. erinnert man sich, daß eine Änderung der Ordinate der Kurve eine Änderung in der Zusammensetzung der Mischung bedeutet, während eine Änderung der Abszisse einer Änderung des Wasserstoffionenexponenten derselben entspricht, dann versteht man leicht, daß die Teile der Kurven welche beinahe oder ganz parallel der Abszissenachse verlaufen für den hier in Rede stehenden Zweck unbrauchbar sind, und zwar weil eine ganz kleine Änderung der Zusammensetzung eine große, bisweilen eine außerordentlich große Änderung der Ionenkonzentration bedingt. Handelt es sich um Verwendung von Standardlösungen, welche längere Zeit z. B. in Woulffschen Flaschen gestanden haben, so muß man auf dieses Verhältnis Bezug nehmen, und ich werde demselben deshalb durch ein paar Beispiele etwas näher treten.

Während der elektrometrischen Messung eines 8 Tage alten Glykokolls („10 ccm Glykokoll“ ohne Zusatz weder von HCl noch von NaOH) wurde π ziemlich schnell konstant und variierte dann im Laufe von $2\frac{1}{2}$ Stunden nur von 0,6842 bis 0,6850. Dasselbe Glykokoll wurde wieder gemessen, als es $\frac{1}{2}$ Jahr alt war; dann war es aber unmöglich, konstante Werte für π zu erhalten; es stieg im Laufe von 3 Stunden von 0,7415 auf 0,7515.

Ein anderes Glykokoll, 10 Tage alt, gab schnell konstante Werte für π , welche dann während 5 Stunden nur von 0,7002 bis 0,7006 variierten. 7 Monate alt wurde dieselbe Glykokolllösung nochmals gemessen mit dem Ergebnis, daß π im Laufe von 3 Stunden von 0,7706 bis 0,7795 stieg.

Man ersieht somit, daß die Standardlösung „Glykokoll“ als solche gar nicht als Vergleichsflüssigkeit bei Wasserstoffionenmessungen zu verwenden ist, und zwar weil kleine Mengen alkalischer oder saurer Verunreinigungen die Konzentration ihrer Wasserstoffionen ganz bedeutend verschieben können.¹⁾ Daß es sich in der Tat nur um ganz kleine Mengen dieser Verunreinigungen handelt, geht daraus hervor, daß Mischungen von Glykokoll und HCl bzw. NaOH immer denselben Wert für π geben, ungeachtet des Alters des Glykokolls; nur bei denjenigen

¹⁾ Daß stark verdünnte Lösungen von Säuren oder Basen aus demselben Grunde sich als Vergleichsflüssigkeiten nur schlecht eignen, ist leicht verständlich.

Glykokollmischungen, welche sehr arm an HCl, bzw. an NaOH sind; macht sich der Einfluß des Alters der Glykokollösung noch fühlbar.

So haben wir z. B. gefunden, daß die Mischung „9,9 ccm Glykokoll + 0,1 ccm HCl“ $\pi = 0,5922$ gab, wenn die Glykokollösung frisch war; war dieselbe aber $\frac{1}{2}$ Jahr alt, bekamen wir $\pi = 0,6036$.

Ebenso gab die Mischung „9,9 ccm Glykokoll + 0,1 ccm NaOH“ $\pi = 0,7882$ (frisches Glykokoll) und $\pi = 0,7922$ ($\frac{1}{2}$ Jahr altes Glykokoll).

Das Versetzen des Glykokolls mit nur ganz wenig Säure oder Base vermindert somit die Unsicherheit in wesentlichem Grade; aber nur erst diejenigen Mischungen, welche etwas reicher an HCl oder NaOH sind, dürfen als vom Alter des Glykokolls unbeeinflußt angesehen werden.

Die Mischung „9,75 ccm Glykokoll + 0,25 ccm NaOH“:

Frishes Glykokoll	$\pi = 0,8130$
7 Tage altes Glykokoll	$\pi = 0,8129$
$\frac{1}{2}$ Jahr altes Glykokoll	$\pi = 0,8140$
$\frac{1}{2}$ Jahr altes Glykokoll	$\pi = 0,8166$

Die Mischung „9,5 ccm Glykokoll + 0,5 ccm NaOH“:

Frishes Glykokoll	$\pi = 0,8325$
$\frac{1}{2}$ Jahr altes Glykokoll	$\pi = 0,8334$
$\frac{1}{2}$ Jahr altes Glykokoll	$\pi = 0,8331$

Die Mischung „9 ccm Glykokoll + 1 ccm NaOH“:

Die oben (siehe S. 174) angeführten 10 Messungen sind mit Glykokollösungen von weit verschiedenem Alter (1 Tag bis $\frac{1}{2}$ Jahr) ausgeführt; π variierte nur von 0,8525 bis 0,8533.

Übereinstimmend mit dem hier Gesagten ist die Kurve, welche Mischungen von Glykokoll und NaOH betrifft, von „10 ccm Glykokoll“ bis „9,75 ccm Glykokoll + 0,25 ccm NaOH“ punktiert, und aus analogen Gründen ist die Kurve der Mischungen von Glykokoll und HCl von „10 ccm Glykokoll“ bis „9,5 ccm Glykokoll + 0,5 ccm HCl“ ebenfalls punktiert.

Von der Phosphatenkurve ist der Zweig, dessen Endpunkt dem unvermischten primären Phosphat entspricht, voll ausgezogen bis zum Ende, weil diese Standardlösung nicht vom Alter beeinflußt zu sein scheint; der andere Zweig dagegen ist von „9,75 ccm sek. Phosphat + 0,25 ccm prim. Phosphat“ bis „10 ccm sek. Phosphat“ punktiert.

Die Zusammensetzung der Phosphatmischungen	Das gefundene π wenn die Standardlösungen	
	frisch her- gestellt sind	9 Monate alt sind
Unvermishtes primäres Phosphat	0,5990	0,5985
Unvermishtes sekundäres Phosphat	0,8167	0,8087
9,9 ccm sek. Phosphat + 0,1 ccm prim. Phosphat	0,8092	0,8035
9,75 ccm sek. Phosphat + 0,25 ccm prim. Phosphat	0,8015	0,7970
9,5 ccm sek. Phosphat + 0,5 ccm prim. Phosphat	0,7914	0,7895
9,0 ccm sek. Phosphat + 1,0 ccm prim. Phosphat	0,7790	0,7778
8,0 ccm sek. Phosphat + 2,0 ccm prim. Phosphat	0,7616	0,7613

Infolge von Messungsergebnissen ganz gleicher Art sind Teile der Citrat- und der Boratkurve punktiert.

Es erhellt aus den oben angeführten Beispielen, daß die Benutzung der punktierten Teile der Kurven die Gefahr eines Fehlers von mehreren Millivolt mit sich bringt, besonders dann, wenn die Standardlösungen nicht frisch hergestellt sind. Unter gewöhnlichen Verhältnissen dagegen, und speziell für alle colorimetrischen Messungen glaube ich die Benutzung der gesamten voll aufgezogenen Kurventeile in ihrem ganzen Umfange empfehlen zu können. In besonderen Fällen jedoch, wo man einer Genauigkeit von etwa 1 Millivolt sicher sein will, ist der Gebrauch derjenigen voll aufgezogenen Kurventeile, welche den punktierten am nächsten liegen, kaum anzuraten, es sei denn, daß die Standardlösungen einigermaßen frisch zubereitet sind.¹⁾

¹⁾ Bei einem enzymatischen Prozesse, der Pepsinverdauung, kann von größeren Wasserstoffionenkonzentrationen die Rede sein als derjenigen, welche dem Wasserstoffionengehalt einer 0,1 n-Salzsäure entspricht. In solchen Fällen haben wir als Vergleichsflüssigkeiten eine Reihe von verdünnten Salzsäuren benutzt, welche mittels der früher erwähnten genau titrierten n-Salzsäure dargestellt waren, und deren Wasserstoffionenkonzentration gemäß den Zahlen Kohlrauschs für das Äquivalent-Leitvermögen bei 18° berechnet wurde. Die untenstehende Tabelle gibt den

Auch die Form der Kurven gibt zu einigen Bemerkungen Anlaß.

Erstens ersieht man, daß alle drei Kurven natriumhydroxydhaltiger Mischungen (Glykokoll + NaOH, Citrat + NaOH und Borat + NaOH) bei der Ordinate 5, somit 5 ccm NaOH — 5 ccm bzw. Glykokoll, Citrat oder Borat entsprechend, einen Wendepunkt haben. Unter der Ordinate 5 (d. h. den Gemischen, welche an NaOH am reichsten sind, entsprechend) laufen die drei Kurven nebeneinander her und fallen bald beinahe zusammen, weshalb auch nur die Kurve der Glykokollmischungen gezeichnet ist. Die Ursache dieses Zusammenfallens der Kurven ist die, daß die Hydroxylionenkonzentration dieser Lösungen so groß ist, daß die Hydrolyse der Natriumsalze von Glykokoll, Citronensäure und Borsäure so gut wie vollständig zurückgedrängt ist. Diese Natriumsalze, welche pro Molekül Glykokoll, Citronensäure und Borsäure bzw. 1, 3 und 1 Atom Natrium enthalten, wirken daher unter diesen Umständen wie andere normale, nicht hydrolysierte Natriumsalze, z. B. Natriumchlorid, und die Hydroxylionenkonzentration der Lösung wird sozusagen ausschließlich durch den Überschuß an Natriumhydroxyd bestimmt, wobei jedoch die durch das anwesende Natrium Salz bedingte unvollständige elektrolytische Dissoziation desselben natürlich nicht außer acht zu lassen ist.

Um diese Sachlage weiter zu erhellen, habe ich in Tab. VII die für eine Reihe Mischungen von 0,1 n-Natriumchloridlösung (oder ein anderes nicht hydrolytisch spaltbares Natrium Salz) und 0,1 n-Natriumhydroxyd berechneten Konzentrationen der Hydroxyl- und Wasserstoffionen zusammengestellt, indem der Dissoziationsgrad stets gleich 0,841 gerechnet ist (siehe S. 163). Die zwei letzten Stäbe der Tabelle enthalten teils den für diese

so berechneten Wasserstoffionenexponenten dieser verdünnten Salzsäuren an; das für Säuren zwischenliegender Konzentrationen geltende p_{H^+} wird durch graphische Interpolation gefunden:

0,1 n-Salzsäure,	$p_{H^+} = 1,03_8$	0,6 n-Salzsäure,	$p_{H^+} = 0,29_7$
0,15 n	„ = 0,86 ₀	0,7 n	„ = 0,23 ₇
0,2 n	„ = 0,74 ₈	0,8 n	„ = 0,18 ₇
0,3 n	„ = 0,57 ₈	0,9 n	„ = 0,14 ₂
0,4 n	„ = 0,46 ₀	1,0 n	„ = 0,10 ₆
0,5 n	„ = 0,37 ₀		

Lösungen berechneten Wasserstoffionenexponenten (p'), teils den für die entsprechenden Glykokollmischungen experimentell gefundenen Wasserstoffionenexponenten (p).

Tabelle VII.

Vergleiche zwischen Mischungen von Natriumsalz des Glykokolls und Lösungen von Natriumhydroxyd einerseits und von Natriumchlorid und Natriumhydroxydlösungen andererseits.

Zusammensetzung der Glykokollmischungen	Für die entsprechende Mischung von 0,1 n-Natriumchloridlösung und 0,1 n-Natriumhydroxydlösung wird berechnet			Der experimentell gefundene Wasser- stoffionen- exponent der Gly- kokolllö- sung ²⁾ p
	Die Alkalinität Alk.	Hydroxyl- ionenkon- zentr. ¹⁾ $\text{Alk.} \times 0,841$ $= 10 - q$ q	Wasser- stoffionen- exponent $14,14_0 - q$ $= p'$ p'	
0 cem Glykokoll + 10 cem NaOH . .	0,1 n	1,07 ₅	13,06 ₅	13,06 ₅
1 cem Glykokoll + 9 cem NaOH (= Gly- kokollnatrium + 8 cem NaOH) . . .	0,08 n	1,17 ₂	12,96 ₈	12,97 ₂
2 cem Glykokoll + 8 cem NaOH (= Gly- kokollnatrium + 6 cem NaOH) . . .	0,06 n	1,29 ₇	12,84 ₃	12,85 ₅
3 cem Glykokoll + 7 cem NaOH (= Gly- kokollnatrium + 4 cem NaOH) . . .	0,04 n	1,47 ₄	12,66 ₆	12,67 ₄
4 cem Glykokoll + 6 cem NaOH (= Gly- kokollnatrium + 2 cem NaOH) . . .	0,02 n	1,77 ₅	12,36 ₅	12,39 ₉
4,5 cem Glykokoll + 5,5 cem NaOH (= Glykokollnatrium + 1 cem NaOH)	0,01 n	2,07 ₅	12,06 ₅	12,09 ₅
4,9 cem Glykokoll + 5,1 cem NaOH (= Glykokollnatrium + 0,2 cem NaOH)	0,002 n	2,77 ₅	11,36 ₅	11,56 ₅
5 cem Glykokoll + 5 cem NaOH (= Gly- kokollnatrium + 0 cem NaOH) . .	neutral	7,07 ₀	7,07 ₀	11,30 ₅

Die im großen und ganzen schöne Übereinstimmung der Werte von p und p' zeigt, daß Glykokollmischungen, welche einen nur einigermaßen bedeutenden Überschuß an Natriumhydroxyd enthalten, im wesentlichen als eine natriumhydroxydhaltige Lösung eines normalen nicht hydrolysierten Natriumsalzes aufzufassen sind.³⁾ Daß die Hydrolyse nicht vollständig

¹⁾ Vgl. Tabelle II, zweiten Stab (S. 162).

²⁾ Vgl. Tabelle III, letzten Stab (S. 174).

³⁾ Da es in diesem Zusammenhang von Interesse ist, das Verhalten normaler Salze schwacher Säuren unter entsprechenden Umständen ken-

zurückgedrängt ist, zeigt sich dadurch, daß p durchgehends etwas größer als p' ist, was gewiß nicht Versuchsfehlern zu-

nen zu lernen, werde ich als Beispiel einige mit Carbonat- und Phosphat-lösungen ausgeführte Messungen hier anführen.

Von chlorid- und sulfatfreiem abgewässertem Natriumcarbonat (C. A. F. Kahlbaum) wurde das reine, wasserfreie Salz durch Erhitzen nach G. Lunge dargestellt; ein Gehalt an Hydroxyd oder Bicarbonat konnte nicht nachgewiesen werden (siehe S. P. L. Sørensen und A. C. Andersen: Zeitschr. f. analyt. Chem. 45, 220, 1906).

Eine 0,05 mol. Lösung dieses Salzes gab elektrometrisch gemessen $\pi = 0,9949$, was $p_{\text{H}} = 11,39_0$ entspricht. Setzt man die Dissoziationskonstante des Wassers $= 10^{-14,14}$, so wird die Hydroxylionenkonzentration der gemessenen Lösung $= 10^{-2,75}$ sein, welches nach einer einfachen Rechnung 3,56% der Natriumcarbonatkonzentration entspricht. Der so gefundene Hydrolysegrad des Natriumcarbonats stimmt gut mit dem von K. Koelichen (Zeitschr. f. physikal. Chem. 33, 173, 1899) mittels der Diacetonalkoholmethode gefundenen, ist aber nicht unbedeutend kleiner als der von J. Shields (Zeitschr. f. physikal. Chem. 12, 175, 1893) mittels der Äthylacetatmethode bestimmte Wert des Hydrolysegrads von Natriumcarbonatlösungen ähnlicher Stärke.

Die elektrometrische Messung eines Gemisches von „9 ccm 0,05 mol. $\text{Na}_2\text{CO}_3 + 1$ ccm 0,1 n-NaOH“, welches somit in bezug auf seinen gesamten Natriumgehalt 0,1 n war, gab $\pi = 1,0355$, $p_{\text{H}} = 12,00_1$ entsprechend. Man sieht mithin, daß der Wasserstoffionenexponent dieser Mischung wohl ein wenig höher ist als der des Gemisches „9 ccm 0,1 n-NaCl + 1 ccm 0,1 n-NaOH“ ($p_{\text{H}} = 12,06_6$; siehe Tabelle VII), die Hydrolyse des Natriumcarbonats ist aber doch so weit zurückgedrängt, daß nur wenig mehr als 1% des Natriumcarbonats noch hydrolysiert ist.

Über das normale Natriumphosphat gibt J. Shields (l. c. S. 181 u. 187) an, daß es in wäßriger Lösung völlig hydrolysiert sei, gemäß der Gleichung:



dies Ergebnis stimmt aber nicht mit dem unsrigen.

Durch elektrometrische Messung der folgenden vier Gemische:

- a) 9 ccm 0,05 mol. $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 1$ ccm 0,1 n-NaOH
- b) $6\frac{2}{3}$ „ 0,05 „ „ $+ 3\frac{1}{3}$ „ 0,1 n „
- c) 6 „ 0,05 „ „ $+ 4$ „ 0,1 n „
- d) 2 „ 0,05 „ „ $+ 8$ „ 0,1 n „

wurde gefunden:

- a) $\pi = 0,9850$, $p_{\text{H}} = 11,21_8$; die entspr. OH' -Konzentr. $1,2 \times 10^{-3}$
- b) $\pi = 1,0370$ „ $= 12,11_0$; „ „ „ $0,5 \times 10^{-3}$
- c) $\pi = 1,0490$ „ $= 12,32_7$; „ „ „ $15,4 \times 10^{-3}$
- d) $\pi = 1,0820$ „ $= 12,89_0$; „ „ „ $57,4 \times 10^{-3}$

Wenn das normale Natriumphosphat in wäßriger Lösung vollständig hydrolysiert wäre, dann müßten die hier besprochenen vier Lösungen

zurechnen ist. Indes macht sich die Hydrolyse des Glykokollnatriums erst an solchen Gemischen stärker geltend, welche wie „4,9 ccm Glykokoll + 5,1 ccm NaOH“ nur einen ganz kleinen Überschuß an Natriumhydroxyd enthalten.

Man möchte erwarten, daß der andere Zweig der Glykokollkurve einen ähnlichen Wendepunkt bei dem Gemische „5 ccm Glykokoll + 5 ccm HCl“ (der Verbindung von gleichen Molekülen Glykokoll und Salzsäure entsprechend) hätte; ein solcher Wendepunkt läßt sich vielleicht eben wahrnehmen, tritt aber jedenfalls nicht deutlich zutage. Die Ursache dazu

eine Hydroxylionenkonzentration haben, welche durch die ganze zugegebene Menge Natriumhydroxyd unter Berücksichtigung des gesamten Natriumgehalts bestimmt würde. Da alle vier Lösungen auf Natrium bezogen 0,1 n sind, so muß die Hydroxylionenkonzentration, wenn die Voraussetzung richtig wäre, 0,841mal bzw. 0,01, 0,033, 0,04 und 0,08 betragen, oder anders ausgedrückt, 10^{-3} mal bzw. 8,4, 28,0, 33,6 und 67,3. Man sieht sogleich, daß diese Zahlen weit größer sind, als die oben angeführten, experimentell gefundenen Werte der Hydroxylionenkonzentration; die Hydrolyse ist mithin nicht vollständig gewesen.

Über die Größe des Hydrolysegrades gibt die folgende Berechnung Auskunft:

Die gesamte OH'-Konzentration der untersuchten Lösungen ist . .	a	b	c	d
OH'-Konzentration, herrührend von dem für die Bildung des normalen Phosphats überschüssigen NaOH	$10^{-3} \times 1,2$	9,5	15,4	57,4
Also OH'-Konzentration (<i>k</i>) von der Hydrolyse des normalen Phosphats herrührend	$10^{-3} \times 0$	0	8,4	58,9
OH'-Konzentration (<i>K</i>), wenn das normale Phosphat vollständig hydrolysiert wäre	$10^{-3} \times 1,2$	9,5	7,0	0
<i>k</i> in % von <i>K</i> ausgedrückt	$10^{-3} \times 8,4$	28,0	25,2	8,4
<i>k</i> in % der mol. Konzentration des normalen Phosphats ausgedrückt	14	34	28	0
	12	29	23	0

Es hat sich somit herausgestellt, daß die Hydrolyse am weitesten vorgeschritten ist in der Lösung b, welche sekundäres Phosphat und Natriumhydroxyd eben in dem Verhältnis enthält, in welchem sie sich unter Bildung des normalen Phosphats verbinden; allein auch in diesem Falle ist nur etwa ein Drittel dieses Salzes hydrolysiert. Die Hydrolyse kann durch Zusatz eines der Hydrolyseprodukte, sek. Phosphat oder NaOH noch weiter zurückgedrängt werden, ja im Versuche d, wo der Überschuß an Natriumhydroxyd ziemlich bedeutend ist, ist das normale Phosphat offenbar überhaupt nicht hydrolysiert.

ist in dem Umstand zu suchen, daß der saure Charakter des Glykokolls stärker als der basische hervortritt.

Der andere Zweig der Citratkurven dagegen zeigt einen deutlichen Wendepunkt beim Gemische „3,33 cem Citrat + 6,67 cem HCl“ (freier Citronensäure entsprechend), und die Boratenkurve hat ebenfalls an ihrem zweiten Ast einen ausgesprochenen Wendepunkt beim Gemische „5 cem Borat + 5 cem HCl“ (freier Borsäure entsprechend). In allen Boratmischungen, welche reicher an Salzsäure sind, als die oben genannte, ist die Borsäure für die Größe der Ionenkonzentration ganz belanglos, indem diese Größe lediglich durch den Salzsäureüberschuß und das anwesende Natriumchlorid bedingt ist.

Es möge nur noch erlaubt sein, ein paar Bemerkungen über die Umstände zu machen, welche bei der Wahl der eben besprochenen Standardlösungen für mich ausschlaggebend gewesen sind.

Schon in einer von Fr. Weis hier im Laboratorium ausgeführten, im Jahre 1902 veröffentlichten Arbeit¹⁾ über die proteolytischen Enzyme des Malzes wurde auf die große Rolle aufmerksam gemacht, welche der Gehalt an Phosphaten bei der Proteolyse spielt. Und zwar hat Weis in Übereinstimmung mit den Angaben von A. Fernbach und L. Hubert²⁾ gefunden, daß das proteolytische Vermögen eines Malzauszuges bei Zugabe von Säuren so lange gesteigert wird, bis das anwesende sekundäre Phosphat vollkommen in primäres verwandelt ist; durch weiteren Säurezusatz aber nimmt das proteolytische Vermögen wieder ab. Eine Zugabe von Basen andererseits hemmt die Proteolyse um so mehr, je größer die zugegebene Menge ist; besonders aber zeigt sich die Hemmung, wenn mehr Base zugesetzt wird, als notwendig ist, um das anwesende primäre Phosphat in sekundäres zu verwandeln.

Eine Reihe von Versuchen über das proteolytische Enzym der Hefe, welche von den Herren Ingenieur Fr. Petersen und Chemiker P. R. Sollied hier im Laboratorium in den Jahren 1902 und 1903 ausgeführt wurden, hatten ebenfalls gezeigt, daß die Menge der in den Versuchflüssigkeiten anwesenden primären

¹⁾ Comptes rendus des travaux du Laboratoire de Carlsberg 5, 211 und Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen 26, 558, 1903.

²⁾ Compt. rend. 131, 293, 1900.

und sekundären Phosphate einen wesentlichen Einfluß auf die Schnelligkeit der Proteolyse ausübte.

Da man ferner aus den Untersuchungen Fernbachs¹⁾ wußte, daß auch die lösende Wirkung der Diastase Stärke gegenüber von den anwesenden Phosphaten abhängig ist, indem die primären den Prozeß beschleunigten, die sekundären ihn aber hemmten, war der Gedanke naheliegend, daß man es hier mit einer allgemeinen Wirkung der genannten Salzmischung zu tun hatte.

Da es sich wohl kaum denken läßt, daß primäre oder sekundäre Salze als solche enzymatische Prozesse beeinflussen können, weder in der einen noch in der anderen Richtung, muß man also die Ursache der Bedeutung dieser Salze für die Enzymspaltung anderswo suchen, und es liegt dann am nächsten, an die Wasserstoffionenkonzentration der Versuchsflüssigkeit zu denken, für welche ja das gegenseitige Mengenverhältnis primären und sekundären Phosphats maßgebend ist. Wird eine begrenzte Menge Säure oder Base zu einem solchen Phosphatengemisch gegeben, so bewirkt das nur, daß ein Teil des sekundären Salzes in primäres verwandelt wird oder umgekehrt; der Gehalt der Lösung an Wasserstoffionen wird aber nicht über die dem primären bzw. dem sekundären Phosphat entsprechende Konzentration hinaus verschoben. Ein solches Gemisch von Phosphaten bietet somit einen natürlichen Schutz gegen allzu schroffe Änderungen der Ionenkonzentration, es wirkt — mit einem von Fernbach und Hubert²⁾ in diesem Zusammenhang gebrauchten Bilde — wie ein Puffer³⁾.

¹⁾ Ann. de la Brasserie et de la Distillerie, 5 sept. 10 et 25 oct. 1899; Wochenschr. für Brauerei 17, 34, 1900. Vgl. auch die späteren Arbeiten von L. Maquenne und Eug. Roux über die Verzuckerung der Stärke mittels Diastase (zusammenfassende Darstellung: Bull. Soc. Chim. Paris [3] 35, I bis XV 1906 und Ann. Chim. et Phys. [8] 9, 179, 1906).

²⁾ l. c. S. 295.

³⁾ Vgl. auch R. Höber, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 3, 528, 1903, sowie die aus den späteren Jahren stammenden Arbeiten: G. Bertrand, Bull. Soc. Chim. de France [4], 1, 1130, 1907; L. J. Henderson, Amer. Journ. of Physiol. 15, 257; 21, 427 — L. J. Henderson und O. F. Black, ibid. 18, 250; 21, 420. — G. W. Hall, ibid. 18, 283; die fünf letzten Abhandlungen sind nach den Referaten im Chem. Centralbl. 1906, 1, 1031; 1908, 1, 1190 und 1197; 1908, 2, 335 und 335 zitiert.

Auch Gemische von normalen und sauren Carbonaten sowohl als saure Carbonate mit einem Überschuß von Kohlensäure können als Puffer wirken und fungieren sicher auch oft als solche. Es wurde früher erwähnt (siehe S. 184 Anm.), daß eine 0,05 mol. Lösung von normalem Natriumcarbonat eine Wasserstoffionenkonzentration hat, welche dem Wasserstoffionenexponenten 11,39 entspricht. Eine 0,1 mol. Lösung von saurem Natriumcarbonat hat dagegen den Wasserstoffionenexponenten 8,40, und falls diese Lösung mit Kohlensäure gesättigt wird, sinkt ihr p_{H} bis auf 6,8 bis 6,9¹⁾. Hieraus folgt, wie es ein Blick auf die Hauptkurventafel zeigt, daß eine kohlensäurehaltige Natriumcarbonatlösung als Puffer dienen können wird für einen Konzentrationsbereich, ähnlich demjenigen, über welchen die Phosphatmischungen sich erstrecken, aber etwas mehr nach der alkalischen Seite liegend.

Es gibt indessen einen enzymatischen Prozeß — die Pepsinverdauung —, dessen optimale Wasserstoffionenkonzentration ganz außerhalb des hier erwähnten Bereiches liegt. Bei diesem Prozeß können deshalb weder Phosphate noch Carbonate als Regulatoren benutzt werden; das Substrat selbst, der Proteinstoff

1) Solche stark kohlensäurehaltigen Flüssigkeiten wie die beiden letztgenannten lassen sich nicht elektrometrisch messen (siehe nächsten Abschnitt S. 190); die hier angeführten Werte für p_{H} sind colorimetrisch gefunden.

0,1 mol. Lösungen zweier verschiedenen Proben sauren Natriumcarbonats gaben bei colorimetrischer Messung mit Boratenmischungen als Vergleichsflüssigkeiten und mit Tropäolin 000 Nr. 1 als Indicator $p_{\text{H}} = 8,34$ bis 8,45 und mit Phenolphthalein als Indicator $p_{\text{H}} = 8,39$.

Nach Sättigung dieser Lösungen mit Kohlensäure bei Zimmertemperatur wurde gefunden, mit Phosphatmischungen als Vergleichsflüssigkeit und mit

Rosolsäure als Indicator . . .	$p_{\text{H}} = 6,86$
Neutralrot	6,82 und 6,90
Azolithmin	6,85

Dagegen zeigten reines, kohlensäuregesättigtes Wasser sowohl als auch eine kohlensäuregesättigte Natriumchloridlösung einen weit niedrigeren Wasserstoffionenexponenten, indem beide mit Methylorange als Indicator und Citratenmischungen als Vergleichsflüssigkeiten $p_{\text{H}} = 4,08$, und mit Glykokollgemischen $p_{\text{H}} = 4,00$ gaben.

Das hier angeführte bestätigt vollauf die in der schönen Arbeit E. W. Küsters über die Titrierung carbonathaltiger Alkalilaugen (Zeitschr. f. anorgan. Chem. 13, 127, 1897) geäußerten Ansichten.

und seine Spaltungsprodukte, welche sowohl säure- als auch basenbindend sind, dient hier als Puffer.

Handelt es sich nun um Darstellung von Vergleichsflüssigkeiten, welche ähnliche Konzentrationen der Wasserstoffionen besitzen wie jene, welche bei enzymatischen Prozessen eine Rolle spielen, dann liegt der Gedanke sehr nahe, sich der von der Natur als Puffer verwendeten Stoffe zu bedienen. Die ersten von uns benutzten Vergleichsflüssigkeiten waren deshalb die Phosphat- und die Glykokollmischungen, die letzteren, weil das Glykokoll der einfachste und am leichtesten zu beschaffende Vertreter der Eiweißstoffe und ihrer Abbauprodukte ist. Die Kurventafel zeigt beim ersten Blick, wie schön die diesen Mischungen entsprechenden Kurven einander ergänzen: die Phosphatkurve beherrscht eben den Bereich, in welchem die Glykokollkurve absolut unbrauchbar ist. Es ist kaum zu bezweifeln, daß die übrigen Abbauprodukte der Proteinstoffe, wie auch die Proteinstoffe selbst, sich im wesentlichen in derselben Weise wie das Glykokoll verhalten werden. Neutrale Lösungen dieser Stoffe werden demzufolge durch Zusatz selbst von kleinen Mengen Säure oder Base weit vom Neutralpunkte ($p_H = 7,07$) weggetrieben, es sei denn, daß die Lösungen Phosphate oder Carbonate enthalten, welche als Puffer Dienste leisten können.

Eine nähere Betrachtung der Kurventafel lehrt indessen bald, daß es wohl, wie oben erwähnt, möglich ist, mittels der Phosphat- und Glykokollmischungen Vergleichsflüssigkeiten für den ganzen Konzentrationsbereich von 0,1 n-HCl bis 0,1 n-NaOH darzustellen, die Gestalt der Kurven aber zeigt, daß es zwei Konzentrationsabschnitte gibt, nämlich da, wo die Phosphatkurve endet und die Glykokollkurve (mit HCl bzw. NaOH) anfängt, in welchen ein Bedürfnis nach anderen Standardlösungen sich fühlbar macht. Da dieses Bedürfnis, wie es die Kurventafel zeigt, bei dem einen Abschnitt (mit $p_H =$ etwa 4) besonders dringend ist, und da eben dieser Abschnitt für viele Enzymspaltungen von ganz besonderem Interesse ist (siehe S. 266), so wurde es bald notwendig, die Phosphat- und Glykokollmischungen durch neue Standardlösungen zu ergänzen. Unter den Lösungen, die wir im Hinblick auf dieses Ziel untersuchten, haben wir die früher erwähnten Citrat- und Borat-

mischungen auserwählt, und diese haben sich in jeder Beziehung sehr gut bewährt.

Noch ist zu bemerken, daß auch Friedenthal und Salm in ihren früher erwähnten Arbeiten (siehe S. 146) nach dem Vorschlage von Szilys Phosphatmischungen als Vergleichsflüssigkeiten gebraucht haben. Selbstverständlich beabsichtige ich nicht, die Priorität dieser ausgezeichneten Forscher in diesem Punkt zu bestreiten, andererseits aber habe ich es auch nicht unterlassen wollen, den Gedankengang mitzuteilen, welcher für mich bei der Wahl der Standardlösungen der leitende gewesen ist.

c) Besondere Fälle, in welchen die elektrometrische Messung Schwierigkeiten bietet.

Selbst wenn man bei Anwendung der hier beschriebenen Versuchsanordnung sich im voraus vergewissert hat, daß die benutzte Platin-Wasserstoffelektrode in jeder Beziehung normal ist, gibt es doch Fälle, wo die elektrometrische Messung mit Schwierigkeiten verknüpft ist, weil die zu untersuchende Flüssigkeit während der Messung entweder selbst verändert wird oder in der einen oder der anderen Weise mit der Elektrode in Wechselwirkung tritt. In diesem Abschnitte werde ich einige Beispiele dieser Art anführen.

1. Flüssigkeiten, welche Kohlensäure oder Carbonate enthalten, lassen sich gewöhnlich nicht genau elektrometrisch messen, weil der Wasserstoff nach und nach einen Teil der Kohlensäure austreibt, wodurch die Ionenkonzentration eine andere wird. Nur dann, wenn die vorliegende Flüssigkeit so sauer ist, daß die gesamte Kohlensäure durch den Wasserstoff verjagt werden kann, ohne daß die Wasserstoffionenkonzentration sich dadurch merkbar ändert, oder dann, wenn die Flüssigkeit so alkalisch ist, daß gar keine Kohlensäure beim Durchleiten von Wasserstoff ausgetrieben wird, ist eine genaue elektrometrische Messung durchführbar.

So ist, wie früher erwähnt (S. 184 Anm.), eine 0,05 mol. Lösung von normalem Natriumcarbonat elektrometrisch genau meßbar, wogegen dasselbe mit einer 0,1 mol. Lösung von Natriumbicarbonat nicht der Fall ist. Während die colorimetrische Messung der letztgenannten Lösung $p_{\text{H}} = 8,40$ gab (S. 188

Anm.), war das Ergebnis der elektrometrischen Messung wie folgt: Die Durchleitung des Wasserstoffs fing um 11 Uhr an, die Steigerung von π trat besonders stark zutage von 11⁰⁵ bis 11⁰⁸, zu welcher Zeit die genauen Ablesungen anfangen konnten; es wurde dann gefunden:

Zeit	π	$p_{H'}$
11 ⁰⁸	0,8120	8,22
11 ¹¹	0,8218	8,39
11 ¹⁷	0,8283	8,50
11 ³⁰	0,8341	8,60
12 ³⁰	0,8475	8,84
1 ³⁰	0,8543	8,95
2 ³⁰	0,8591	9,04
4 ³⁰	0,8682	9,19

Aus diesen Zahlen geht unzweideutig hervor, daß es unmöglich ist, die Wasserstoffionenkonzentration einer Lösung wie die vorliegende elektrometrisch zu bestimmen, und zwar weil es ganz willkürlich sein würde, den Wert $p_{H'} = 8,39$ (nach Wasserstoffdurchleitung während 11 Minuten), welcher mit den colorimetrisch gefundenen stimmt, zu wählen. Eher wäre der etwas höhere Wert $p_{H'} = 8,60$ zu akzeptieren, da wir bei unseren elektrometrischen Messungen gewöhnlich nach $\frac{1}{2}$ Stunde Wasserstoffdurchleitung konstante Resultate bekommen. Daß es sich bei diesem Versuche wirklich um eine Änderung der Ionenkonzentration und nicht etwa um eine Vergiftung der Elektrode handelt, wird zur Genüge bewiesen durch die colorimetrische Messung der als Elektrodenflüssigkeit benutzten Lösung. Diese hat am Ende des Versuches mit Glykokollmischungen als Vergleichsflüssigkeiten und Phenolphthaleïn als Indicator $p_{H'} = 9,13$ gegeben.

Bei den im folgenden Hauptabschnitt B beschriebenen Untersuchungen über die Brauchbarkeit verschiedener Indicatoren für die colorimetrische Messung solcher Lösungen, wie die bei enzymatischen Spaltungen vorkommenden, haben wir immer diese eben genannte Fehlerquelle mit in Betracht ziehen müssen. Ihretwegen haben wir immer die Lösung, welche wir untersuchen wollten, tags vorher zubereitet, und mittels Wasserstoffdurchleitung über Nacht dafür gesorgt, die eventuell anwesende Kohlensäure, welche sich durch diese Behandlung entfernen

ließ, auszutreiben. Die so behandelte Lösung wurde dann sowohl elektrometrisch als auch colorimetrisch gemessen, und die Ergebnisse miteinander verglichen. Und zwar nahmen wir keine Rücksicht darauf, ob die Wasserstoffdurchleitung vor der Messung etwa die Ionenkonzentration der Lösung modifiziert hatte; wir gingen nämlich von der, wenn auch nicht selbstverständlichen, doch ziemlich wahrscheinlichen Voraussetzung aus, daß die Genauigkeit der colorimetrischen Messung ganz unabhängig davon sei, ob die Lösung Kohlensäure enthält oder nicht.¹⁾

Bei enzymatischen Untersuchungen kann man sich gewöhnlich derart einrichten, daß man mit so gut wie kohlensäurefreien Flüssigkeiten arbeitet, was diese Fehlerquelle bei der elektrometrischen Messung hinfällig macht. In anderen Fällen — und zwar besonders dann, wenn es sich um eine Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration in „natürlichen“ Flüssigkeiten handelt — liegt die Sache oft bedeutend ungünstiger. Eine einigermaßen kohlensäurehaltige Probe von Meerwasser z. B. läßt sich nach dem oben beschriebenen elektrometrischen Verfahren nicht genau messen; man kann aber, wie oben gesagt, die Kohlensäure austreiben und nachher durch Vergleichung elektrometrischer und colorimetrischer Messungen die Genauigkeit bestimmen, mit welcher Lösungen, die eben das in der Wasserprobe gegenwärtige Salzgemisch enthalten, colorimetrisch gemessen werden können; danach kann man das Wasser selbst colorimetrisch messen und nötigenfalls das Ergebnis korrigieren.

Ein ähnliches Verfahren läßt sich bei der Wasserstoffionennmessung vieler kohlensäurehaltigen „physiologischen“ Flüssigkeiten nicht anwenden. Blut z. B. ist natürlich nicht colorimetrisch zu messen, Plasma und Serum auch nicht, weil es nicht — wenigstens nicht bisher — möglich gewesen ist, Indicatoren zu finden, welche auch nur einigermaßen zuverlässige Resultate geben könnten, wenn es sich um die Messung von Flüssigkeiten, welche große Mengen genuiner Proteinstoffe ent-

¹⁾ In solchen Fällen, wo die Wasserstoffdurchleitung die Ionenkonzentration der Flüssigkeit so stark ändert, daß der für die mit Wasserstoff nicht behandelte Flüssigkeit brauchbare Indicator nicht mehr zu verwenden ist, genügt natürlich ein Zusatz kleiner Mengen von einem passenden Puffer oder auch nur von einer Säure, um die ursprüngliche Wasserstoffionenkonzentration wiederherzustellen.

halten, handelt. In solchen Fällen muß man sich mit der elektrometrischen Messung in etwas abgeänderter Form aus helfen.¹⁾ Das Elektrodengefäß wird beim Anfang des Versuches mit der zu untersuchenden Flüssigkeit ganz gefüllt und luftdicht verschlossen, wonach so viel Wasserstoff zugeleitet wird, daß das Niveau im Elektrodengefäß bis zu einem bestimmten Punkt sinkt, so daß ein Teil der Platinelektrode mit Wasserstoff umgeben ist. Bei diesem Verfahren werden wesentliche Mengen Kohlensäure nicht ausgetrieben; es dauert aber gewöhnlich sehr lange (6 bis 8 Stunden oder mehr), bis die elektromotorische Kraft konstant wird.²⁾

2. Liegt zur Messung eine Lösung vor, deren Wasserstoffionenkonzentration sich stetig ändert, so wird es begreiflicherweise unmöglich sein, mittels der elektrometrischen Messung die Anfangskonzentration der Lösung, d. h. die Wasserstoffionenkonzentration derselben im Herstellungsaugenblicke, zu bestimmen. Erst nach Einbringen der Lösung in den Meßapparat und etwa $\frac{1}{2}$ Stunde Durchleiten von Wasserstoff werden die Messungsergebnisse zuverlässig, und von nun ab können Änderungen des Gehalts an Wasserstoffionen messend verfolgt werden. Man kann dann entweder die Anfangskonzentration durch graphische Extrapolation finden, oder, wenn dies sich tun läßt, dieselbe colorimetrisch herstellen. In solchen Fällen, wo es sich um die Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration gerade im Herstellungsaugenblicke der Lösung handelt, bietet die colorimetrische Methode viele Vorteile; auch hier aber wird man durch eine passende Kombination der beiden Methoden die besten Resultate erreichen. Als Beispiel werde ich die Messung der Änderungen anführen, welche die Wasserstoffionenkonzentration eines passenden alkalischen Gemisches von Witte-Pepton und Pankreatin bei Zimmertemperatur erfährt. Schon

¹⁾ Siehe u. a. Ladislaus v. Rhorer (Pflügers Archiv 86, 586, 1901); G. Farkas (ibid. 98, 551, 1903); M. Pfaundler (Archiv für Kinderheilkunde 41, 161, 1905); Fr. Tangl (Pflügers Archiv 115, 64, 1906); Alex. Szili (ibid. 115, 72 und 82, 1906); H. Benedict (ibid. 115, 106, 1906); vgl. auch P. Fraenckel (ibid. 96, 601, 1903).

²⁾ Laut der schönen Untersuchungen Carlo Foàs (Archivio di Fisiologia 3, 383, 1906) ist das doch nicht der Fall mit platinieren und noch weniger mit palladierten Goldelektroden, welche sogar sehr schnell ein bestimmtes Potential annehmen.

in einer früheren Abhandlung¹⁾ ist es bemerkt worden, daß die Wasserstoffionenkonzentration einer solchen Lösung sich stark und ziemlich schnell ändert auch bei gewöhnlicher Temperatur.

Die Messungsergebnisse sind auf der Fig. 1 graphisch dargestellt. Die Zeit in Minuten vom Augenblicke des Vermischens ab ist als Ordinate, und der zu den verschiedenen Zeiten durch Messung ermittelte Wasserstoffionenexponent als Abszisse benutzt. Die von Herrn S. Palitzsch ausgeführten elektrometrischen Messungen sind mit Punkten bezeichnet, während die von mir zu gleicher Zeit vorgenommenen colorimetrischen Bestimmungen mit Punkten, welche von einem kleinen Kreis umgeben sind, bezeichnet werden. Diese letzteren sind mit Boratmischungen als Vergleichsflüssigkeiten und Phenolphthalein als Indicator ausgeführt worden.

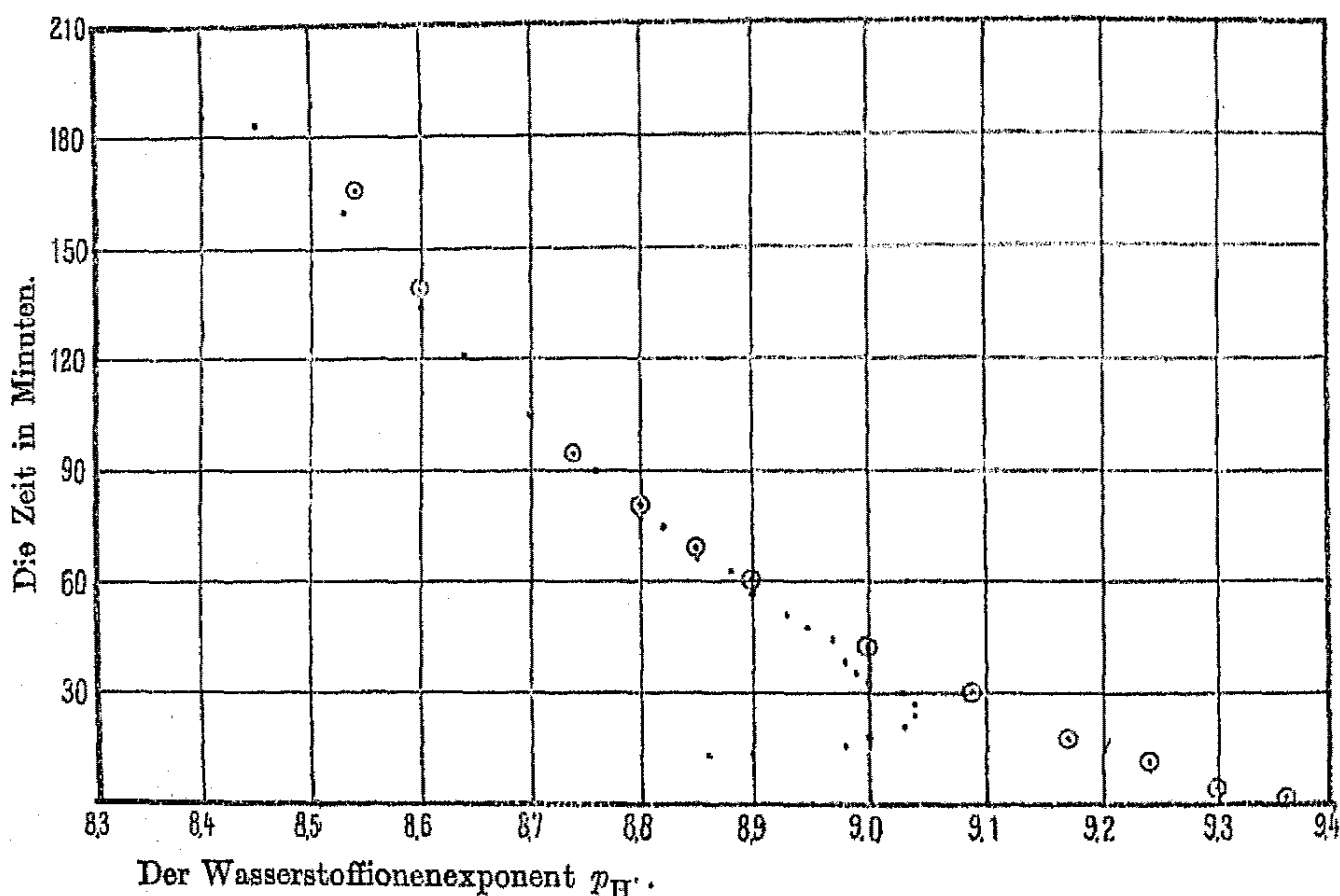


Fig. 1.

Es erhellt aus der Tafel, daß die stete Änderung der elektromotorischen Kraft nicht von irgend einem Fehler der Elektrode oder von einer Unsicherheit der Methode überhaupt herrührt (vgl. S. 156 und S. 200), sondern von einer wirklichen

¹⁾ Diese Zeitschr. 7, 97, 1907.

Änderung der Wasserstoffionenkonzentration; denn die auf ganz anderen Prinzipien fußende colorimetrische Methode zeigt eine ganz entsprechende fortgesetzte Änderung. Die Tafel zeigt ebenfalls, daß der Wasserstoffionenexponent der Lösung im Augenblicke des Vermischens bedeutend größer als der durch die elektrometrische Messung ermittelte Maximalwert (9,04) gewesen ist, und es ist leicht zu ersehen, daß eine Extrapolation über die elektrometrisch bestimmten Punkte hinaus etwa denselben Wert der Wasserstoffionenkonzentration im Vermischungsaugenblicke geben wird, wie jenen (9,3 bis 9,4), welchen die colorimetrische Messung ergab.

Ohne im übrigen auf Einzelheiten, welche außer dem Rahmen dieser Abhandlung liegen, näher einzugehen, ist nur zu bemerken, daß die Kurve, welche die Änderungen des Wasserstoffionenexponenten darstellt, sich einer Geraden nähert, ein Umstand, der darauf hindeutet, daß das Abnehmen des Gehalts der Lösung an Hydroxylionen im wesentlichen wie ein monomolekularer Prozeß verläuft.¹⁾

Schließlich muß ich noch bemerken, daß die Übereinstimmung zwischen den elektrometrischen und den colorimetrischen Bestimmungen hier eine außergewöhnlich gute ist; meistens wird man, wie es der folgende Hauptabschnitt B dartun wird, mit weniger scharfen Indicatoren und bisweilen auch mit dem hier angewandten vorzüglichen Indicator, Phenolphthalein, etwas größere Abweichungen bekommen.

3. Die Wirkung des Toluols bzw. des Chloroforms. Es ist bei enzymatischen Untersuchungen üblich, Lösungen zu verwenden, welche, um den Einfluß der Bakterien zu verhindern, mit Toluol, Chloroform oder dergleichen Antiseptica gesättigt sind. Aus demselben Grunde stellten wir anfangs unsere Standardlösungen mit Toluol gesättigt dar. Bisweilen, besonders bei frisch platinieren Elektroden, zeigten sich indessen Schwierigkeiten bei der Messung von Gemischen solcher toluolgesättigten Standardlösungen, und zwar dauerte es oft sehr lange, bevor die elektromotorische Kraft konstant wurde. Eine genauere

¹⁾ Vgl. auch die jüngst publizierte Arbeit von T. Brailsford-Robertson und C. L. A. Schmidt, Die Rolle des Alkalis bei der Eiweißhydrolyse durch Trypsin (Journ. of Biolog. Chem. 5, 31); hier nach Chem. Centralbl. 1908, 2, 1267, referiert.

Untersuchung hat gezeigt, daß frisch platiniierte Elektroden durch Toluol oder Chloroform stark beeinflußt werden — und zwar stärker, scheint es, in saurer als in alkalischer Flüssigkeit —, doch kann die Elektrode durch Einwirkung längere Zeit hindurch und durch wiederholten Gebrauch in mit Toluol oder Chloroform gesättigten Flüssigkeiten nach und nach ihre Empfindlichkeit diesen Körpern gegenüber verlieren — man möchte sagen, daß sie gewissermaßen „immunisiert“ wird. Die immunisierten Elektroden gaben gewöhnlich beinahe richtige Resultate, besonders wenn wir dafür Sorge trugen, daß die angewandten Standardlösungen nur wenig Toluol enthielten, so daß dasselbe sich durch den Wasserstoffstrom leicht und schnell austreiben ließ. Einige Unsicherheit wurde indessen immer durch dieses Verhältnis verursacht, und da wir andererseits fanden, daß selbst eine reichliche Schimmelvegetation in den Standardlösungen keinen meßbaren Einfluß auf die Wasserstoffionenkonzentration derjenigen Vergleichsmischungen ausübte, welche dem ganzen, vollausgezogenen Teil der Kurven (siehe S. 179) entsprachen, so haben wir in den letzten paar Jahren ausschließlich mit toluolfreien Standardlösungen gearbeitet. Die im vorhergehenden besprochenen Messungen, auf welchen die Kurventafel faßt, sind alle mittels toluolfreier Standardlösungen ausgeführt worden.

Ich mache auf dieses recht sonderbare Verhältnis — von dessen Ursache und Charakter ich keine zufriedenstellende Erklärung zu geben imstande bin — deshalb aufmerksam, weil es meines Wissens bis jetzt noch unbekannt ist, daß diese allgemein gebrauchten Antiseptica eine Rolle bei elektrometrischen Messungen der Wasserstoffionenkonzentration spielen können. Insbesondere bei dem oben erwähnten, abgeänderten Verfahren (siehe S. 193), wo nur eine ganz geringfügige Menge Wasserstoff zugeleitet wird und demzufolge so gut wie alles Toluol oder Chloroform in der Flüssigkeit verbleibt, wird die hier erwähnte Tatsache zweifelsohne oft von Bedeutung sein.

Um die Frage besser zu beleuchten, werde ich einzelne der ausgeführten Versuche kurz beschreiben.

Die Messungen wurden mittels des von uns gewöhnlich benutzten Apparates ausgeführt, nur war eine kleine mit Toluol oder Chloroform beschickte Waschflasche dem Elektrodengefäß unmittelbar voraus eingeschaltet, nebst einer einfachen Zusammenstellung von T-Röhren, verbunden durch mit Schraubenquetschhähnen versehene Kautschukschläuche.

Diese Anordnung ermöglichte es, einerseits den ganzen Apparat, auch den Raum über dem Toluol bzw. Chloroform, beim Anfange des Versuches mit Wasserstoff zu füllen, andererseits während des Versuches entweder reinen Wasserstoff oder solchen mit Toluol oder Chloroform beladenen durch die Elektrodenflüssigkeit streichen zu lassen.

Die Mischung „5 ccm Glykokoll + 5 ccm HCl“ wurde unter Durchleiten reinen Wasserstoffs und Benutzung einer neuplatinierten Elektrode gemessen. Es wurde gefunden $\pi = 0,4489$, und π blieb während 1½ Stunde beinahe konstant. Der Strom reinen Wasserstoffs wurde jetzt unterbrochen und statt dessen mit Toluol beladener Wasserstoff durchgeleitet. Schon nach dem Verlauf von 3 Minuten war ein deutliches Sinken von π (3 bis 4 Millivolt) wahrzunehmen, und dieses Sinken wurde ziemlich regelmäßig, aber schwächer und schwächer fortgesetzt, bis ein Minimum ($\pi = 0,4202$) nach 36 Minuten erreicht wurde. Dann fing π wieder langsam zu steigen an, obgleich das Durchleiten toluolhaltigen Wasserstoffs fortfuhr; selbst nach dem Verlaufe zweier Stunden hatte π aber nur den Wert 0,4306 erreicht. Es wurde nun reiner Wasserstoff wieder durchgeleitet, was im Laufe von 2 Stunden π auf 0,4467 brachte, somit in die Nähe des ursprünglichen Wertes.

Die Elektrode wurde über Nacht in reinem Wasser stehen gelassen und dann für die Messung einer frisch bereiteten Portion desselben Glykokollgemisches gebraucht. Es wurde gefunden, beinahe wie oben: $\pi = 0,4491$ konstant; bei Durchleiten toluolhaltigen Wasserstoffs fing π bald zu sinken an und erreichte schon in 24 Minuten das Minimum, welches diesmal nicht niedriger als bei 0,4411 lag. Unter fortgesetztem Durchleiten von toluolbeladenem Wasserstoff stieg π im Laufe von 1½ Stunden bis auf 0,4435, und ein folgendes Durchleiten von reinem Wasserstoff brachte es in 1½ Stunden wieder auf 0,4491.

Am nächsten Tag wurde der Versuch nochmals wiederholt. π fiel diesmal im Laufe von 20 Minuten von dem konstanten Wert 0,4491 bis zum Minimumwert 0,4451, und stieg wieder unter Durchleiten toluolhaltigen Wasserstoffs während 3 Stunden auf 0,4487, also fast den normalen Wert; bei nachfolgendem Durchleiten reinen Wasserstoffs stieg π nur ½ Millivolt.

Es erhellt deutlich aus diesem und aus mehreren ähnlichen Versuchen, welche hier nicht im Einzelnen Erwähnung finden sollen, daß die Elektrode sowohl während der einzelnen Messung, als auch von Messung zu Messung weniger und weniger empfindlich der Wirkung des Toluols gegenüber wird. Es ist ganz auffallend, daß wir gar keine oder nur eine äußerst geringfügige Wirkung des Toluols in alkalischer Lösung haben verspüren können (wir haben das Glykokollgemisch „6 ccm Glykokoll + 4 ccm NaOH“ verwendet), auch dann nicht, wenn die Elektroden neuplatiniert waren.

Chloroform übt dagegen einen Einfluß auf die Elektrode, sowohl in saurer, als auch in alkalischer Lösung; doch war die Wirkung keineswegs auf alle Elektroden dieselbe.

Als Beispiel einer der größeren Wirkungen werde ich einige Messungen der Mischung „6 cem Glykokoll + 4 cem NaOH“ auführen. Unter Anwendung einer neuplatinierten Elektrode und reinen Wasserstoffs hat dieses Gemisch den konstanten Wert $\pi = 0,9219$ gegeben; das Durchleiten chloroformbeladenen Wasserstoffs brachte das π zu stetem, aber langsamem Sinken bis auf 0,9016, während 3 Stunden. Jetzt wurde wieder reiner Wasserstoff durchgeleitet, was π im Laufe einer Stunde wieder auf 0,9121 brachte, und dieser Wert blieb unter fortgesetzter Durchleitung reinen Wasserstoffs während 18 Stunden konstant.

Obgleich π somit weit davon entfernt war, den richtigen Wert erreicht zu haben, gab die Elektrode doch, nach Abspülen in reinem Wasser, bei der Messung des Gemisches „5 cem Glykokoll + 5 cem HCl“ den richtigen Wert des π , nämlich 0,4495; als aber chloroformhaltiger Wasserstoff jetzt durchgeleitet wurde, fiel π im Laufe einer Stunde bis auf 0,3582, um dann während der nächsten 2 Stunden wieder auf 0,3826 zu steigen. Das nachfolgende Durchleiten reinen Wasserstoffs brachte den Wert des π während einer Stunde auf 0,4423, und dieser Wert wurde durch weiteres Durchleiten von Wasserstoff während 20 Stunden nicht geändert.

4. Wird die zu untersuchende Lösung durch die vereinigte Einwirkung von Wasserstoff und Platinschwarz beeinflusst, so liegt eine Änderung der Wasserstoffionenkonzentration der Lösung, welche die elektrometrische Messung unsicher oder gar unbrauchbar machen würde, auch nicht außer dem Bereich der Möglichkeiten. Noch schlimmer liegt die Sache, wenn durch Behandlung der Lösung mit Wasserstoff Körper, welche auf die Elektrode einen nachteiligen Einfluß haben, gebildet werden; ein Beispiel dieser Art wird jetzt Erwähnung finden.

Das Erreichen konstanter Resultate bei der elektrometrischen Messung von Proteinstofflösungen sehr verschiedener Art und Wasserstoffionenkonzentration ist gewöhnlich nicht mit größerer Mühe verbunden gewesen (siehe S. 200). Nur bei ein paar Versuchen mit Hühnereiweiß, welches erst mit Natriumhydroxydlösung behandelt und nachher durch Salzsäure angesäuert war, hat die elektrometrische Messung sich als eine unbrauchbare erwiesen. Erstens wurde die Platinelektrode durch die Lösung, welche schwach nach Schwefelwasserstoff roch, stark beeinflusst, und zweitens fuhr die Flüssigkeit, auch nachdem sie mittels eines Luft- oder Sauerstoffstroms von Schwefelwasserstoff völlig befreit war, fort, unter Einwirkung von Wasserstoff, und wenn die Elektrode in sie tauchte, kleine Mengen

von Schwefelwasserstoff zu entwickeln und die Elektrode merkbar zu beeinflussen; ohne die Gegenwart der letzteren dagegen wurde durch Durchleiten von Wasserstoff kein Schwefelwasserstoff gebildet.¹⁾

Wenn auch ein Fall wie der hier erwähnte sich nur seltener ereignet, darf man es doch z. B. bei Herstellung passender Lösungen für enzymatische Spaltungen nicht unterlassen, dieses Verhältnis mit in Betracht zu ziehen, wenn man beabsichtigt, die Ionenkonzentration elektrometrisch zu bestimmen. Ich werde deshalb, sowie auch um einen Begriff von der Größe der in Rede stehenden Änderungen zu geben, einige Zahlen aus einem der Versuche anführen.

Die für den Versuch benutzte Lösung wurde folgendermaßen dargestellt: 375 ccm 4% iger Lösung von Hühnereiweiß wurden mit 50 ccm n-Natriumhydroxydlösung bei 37° während 5 Tage stehen gelassen und nachher in allem 70 ccm n-Salzsäure und 255 ccm Wasser zugegeben. Es wurde ein Wasserstoffstrom über Nacht durch die Flüssigkeit geleitet, der Geruch von Schwefelwasserstoff war aber noch nicht völlig verschwunden. Die Flüssigkeit wurde filtriert und sowohl colorimetrisch als auch elektrometrisch gemessen.

Die colorimetrische Messung hat $p_{H^+} = 2,58$ ergeben, indem als Vergleichsflüssigkeiten Glykokollgemische und als Indicatoren Methylviolett, Mauvein oder Gentianaviolett dienten — einige der wenigen Indicatoren, welche in Lösungen, die größere Mengen genuiner oder nur wenig abgebauter Proteine enthalten, einigermaßen brauchbar sind.

Nach Wasserstoffdurchleitung während $\frac{1}{2}$ Stunde wurde eine dem Werte $p_{H^+} = 1,80$ entsprechende elektromotorische Kraft gefunden, durch fortgesetztes Durchleiten von Wasserstoff nahm dieselbe noch weiter ab, dermaßen, daß sie nach 6 Stunden dem Werte $p_{H^+} = 1,25$ entsprach und nach weiterer Behandlung mit Wasserstoff während 19 Stunden nur noch einen $p_{H^+} = \text{ca. } 0,7$ entsprechenden Wert betrug.

Durch den bei diesen Versuchen übrig gebliebenen Teil der Eiweißlösung wurde ein Strom reiner, kohlensäurefreier Luft während 3 Tage geleitet, was den Geruch nach Schwefelwasserstoff vollständig zum Verschwinden brachte. Die colorimetrische Messung der so behandelten Lösung hat beinahe dasselbe Resultat wie oben gegeben;

¹⁾ Es scheint somit ein Zusammenhang zwischen der Bildung von Schwefelwasserstoff und anderseits der Einwirkung auf die Elektrode zu bestehen; anderseits aber haben direkte Versuche uns gezeigt, daß wir einer passend saueren Elektrodenflüssigkeit (wir benutzten die Mischung „8 ccm Glykokoll + 2 ccm HCl“) ziemlich reichliche Mengen von Schwefelwasserstoff zuführen konnten, ohne daß die Elektrode in wesentlichem Grade darunter litt.

die elektrometrische Messung dagegen hat nach Wasserstoffdurchleitung während $\frac{1}{2}$ Stunde $p_H = 2,29$ ergeben, einen Wert, welcher jedoch nicht konstant war, indem er im Laufe von 3 Stunden allmählich auf 2,06 fiel; die im Elektrodengefäß befindliche Flüssigkeit besaß jetzt wieder einen deutlichen Geruch nach Schwefelwasserstoff.

Endlich wurde es versucht, Wasserstoff durch den Rest der gelüfteten, schwefelwasserstofffreien Eiweißlösung und von da durch eine Lösung von Bleiacetat zu leiten; die letztgenannte Lösung wurde aber von einem Tag bis zum anderen nicht geschwärzt. Tauchte dagegen während des Durchleitens des Wasserstoffs eine der gewöhnlichen Platinelektroden in die Eiweißlösung, dann wurde die Bleiacetatlösung in 24 Stunden deutlich geschwärzt.

Es erhellt aus den in diesem Abschnitte angeführten Beispielen, daß die elektrometrische Messung unter gewissen Umständen nicht zuverlässig ist, und daß es demzufolge bei Planung und Ausführung enzymatischer Untersuchungen notwendig ist, die eben erwähnten Verhältnisse in Betracht zu ziehen, wenn man die Konzentration der Wasserstoffionen elektrometrisch zu ermitteln beabsichtigt. Da die Unzuverlässigkeit der Methode in den gesamten beschriebenen Fällen sich durch eine stete Änderung der elektromotorischen Kraft der Lösung bemerkbar gemacht hat, so darf man sich auf eine elektrometrische Messung nicht eher verlassen, bis wiederholte Messungen in angemessenen Zwischenräumen dasselbe Resultat geliefert haben. Es ist bei der Messung der komplizierten, oft nur wenig gekannten Gemische, mit welchen man es bei vielen enzymatischen Prozessen zu tun hat, kaum möglich, eine ebenso große Genauigkeit zu erreichen, wie jene, mit welcher die oben erwähnten Vergleichsflüssigkeiten bestimmt sind. Bei unseren Messungen proteinstoffhaltiger und ähnlicher Lösungen sind wir zufrieden gewesen, wenn die elektromotorische Kraft im Laufe von etwa 1 Stunde konstant wurde und später während 2 bis 3 Stunden nur 1 bis 2 Millivolt variierte. Ich bin deshalb der Ansicht, daß man bei einer elektrometrischen Messung, auch wenn sie sonst tadellos verläuft, in derartigen Fällen nicht mit einer größeren Genauigkeit als ± 3 Millivolt rechnen darf, was einem Fehler von ca. 5 in der zweiten Dezimale des Wasserstoffionenexponenten entspricht.

(Fortsetzung im nächsten Hefte.)