

18° stehen gelassen. Im Vakuum bei 30° eingedampft, mit H₂O versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Ätherlösung mit verd. H₂SO₄, Na₂CO₃ und H₂O gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, eingedampft. 20 mg Rohprodukt, zeigte Doppel-Smp. 108°/115—116°. Über 0,8 g Al₂O₃ chromatographiert. Die mit Petroläther-Benzol (bis 20% Benzol) eluierbaren Anteile gaben aus Äther-Petroläther 11 mg farblose Körner, Smp. 120—123°, $[\alpha]_D^{22} = +63,2^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,704$ in Aceton).

7,040 mg Subst. zu 0,9995 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{22} = +0,44^\circ \pm 0,02^\circ$

3,690 mg Subst. gaben 10,275 mg CO₂ und 3,008 mg H₂O

C₂₁H₃₀O₃ (330,45) Ber. C 76,32 H 9,15%

Gef. „ 75,99 „ 9,12%

Der Stoff gibt in wenig CHCl₃ mit Tetranitromethan eine Gelbfärbung. Die Mischprobe mit dem bei 134—135° schmelzenden 3-Keto-*äti*-cholen-(11)-säure-methylester¹⁾ schmolz bei 110—128°.

Die erst mit Benzol-Äther eluierbaren Anteile gaben aus Äther-Petroläther ca. 3 mg Krystalle, Smp. 176—178°. Mischprobe mit dem gleich schmelzenden (XVI)²⁾ schmolz ebenso.

Die Mikroanalysen wurden im mikroanalytischen Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich (Leitung *W. Manser*) ausgeführt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

186. Viskosität und Ladung des Albuminions³⁾

von Wolfgang Pauli.

(8. X. 45.)

Bei Überführung der zwitterionischen Form eines elektrolyt-frei gereinigten, wasserlöslichen Eiweiss, z. B. Serumalbumin, Hämoglobin in die einsinnig ionische — etwa durch Bildung von Albuminchlorid mit steigendem HCl-Zusatz — kommt es zu einem beträchtlichen Anstieg der Viskosität (η), dessen Verlauf, wie die Bestimmung der Gegenionenaktivität (Cl') lehrte⁴⁾, mit der Zunahme der Aufladung der Proteinionen symbar erfolgt. Dieser Anstieg von η passiert nun, mit Annäherung der Protonaufnahme an die Grenze der Säurebindung durch das Protein, ein Optimum, woran sich bei weiterer Säurezugabe im Überschuss der Gegenionen, entsprechend deren zunehmender Inaktivierung durch das vielwertige Proteinion, ein Abfall von η anschliesst. In Versuchen am Hämoglobin⁵⁾ hatten sich bemerkenswerte Einzelheiten betreffend die Unterlagen des Viskositätsanstieges in Abhängigkeit von der wachsenden Aufladung

¹⁾ *A. Lardon, T. Reichstein, Helv. 26, 607 (1943).*

²⁾ *A. Lardon, T. Reichstein, Helv. 26, 705 (1943).*

³⁾ Zum Teil nach Versuchen mit Fr. *Trude Löcker* aus den Jahren 1933—34.

⁴⁾ *J. Frisch, Pauli und E. Valko, Bioch. Z. 164, 401 (1925); Literatur bei Pauli-Valko, Kolloidch. d. Eiweissk. Dresden-Leipzig 1933.*

⁵⁾ *Pauli und W. Schwarzacher, Helv. 28, 645 (1945).*

der Proteinionen ergeben. Der Gang von η weist auf einen zweiteiligen Mechanismus dieses Anstieges, indem er nach Überschreiten eines kritischen Schwellenwertes der Aufladung eine jähe Steigerung erfährt, als Folge ausgiebiger Auseinanderspreizung im Eiweissteilchen durch die intraionischen Abstossungskräfte. Bis zu diesem Schwellenwert der Aufladung kommt es nur zu einer mässigen Zunahme von η im Zusammenhange mit einer Erhöhung der Hydratationswirkung.

Die hier folgenden Beobachtungen am Seralbumin sollen unser Bild vom Mechanismus des Abfalles der Viskosität (aus ihrem Optimum) in seiner Abhängigkeit von der Natur und Verteilung der Ionen im Felde des Eiweissions vervollständigen. Ein näherer Einblick in die Feldwirkung des Proteinions erwies sich auch allgemein kolloidchemisch von Interesse.

I.

Versuchsmaterial. Pferdeserum — durch sofortigen Toluolzusatz vor Fäulnis geschützt — wurde durch $\frac{1}{3}$ -Sättigung mit Ammoniumsulfat puriss. — von Euglobulin, hierauf durch Halb-Sättigung mit dem Salz vom Pseudoglobulin befreit. Das Seralbumin-haltige Filtrat wurde in der Kälte mit festem Ammoniumsulfat gesättigt, 12 Stunden stehen gelassen und filtriert, der Niederschlag zwischen Filterpapier abgepresst und in möglichst wenig Wasser gelöst. Die Lösung wurde im Faltendialysator bis zur Leitfähigkeit $\kappa \sim 10^{-4}$ r. O. vorgereinigt, dann im *Pauli*-Elektrodialysator auf κ^{25° von $6 - 9 \cdot 10^{-6}$ r. O. gebracht. Zu verdünntes Seralbumin wurde durch Zusatz von Kaliumsulfatlösung (0,001-n.) mittels Elektrodekantation konzentriert, wobei die Schichtung durch die schwache Säuerung (geringere Membrandurchlässigkeit für SO_4'') begünstigt wird. Die Kontrolle erfolgte durch die κ -Werte, welche den Standarddaten¹⁾ befriedigend entsprechen (Tabelle I, unkorrigiert für $\kappa_{\text{H}_2\text{O}}$).

Tabelle I.
(Seralbuminsole).

| Sole | A | B | C | C' | D | D' | E |
|----------------------|-------|-------|-------|-------|------|------|------|
| C % | 1,954 | 2,905 | 1,986 | 1,998 | 3,16 | 2,94 | 3,04 |
| $\kappa \times 10^6$ | 5,73 | — | 7,05 | 5,46 | 9,55 | 7,47 | 6,61 |

Die verwendeten Salzlösungen wurden durch genaue gravimetrische Bestimmung der Anionen Cl' , Br' , J' , SCN' , SO_4'' eingestellt, die Natriumsalze der Trichloressig- und Sulfosalicylsäure durch Zusatz äquivalenter Mengen NaOH zu den genauest gestellten Säuren bereitet. Nach einem Jahre ausgeführte Kontrollproben der im Jenaer Schliffkolben aufbewahrten Lösungen gaben unveränderte Werte.

Zur Bestimmung der relativen Viskosität dienten *Ostwald*'sche Viskosimeter von möglichst gleicher Durchflusszeit (gegen 550 Fünftelsekunden), gleichen Kapillaren und gleichem Volumen. Messungen im Thermostaten $25^\circ \text{C} \pm 0,02^\circ$. Die Lösungen wurden in Jenaer Eprovetten mit Schliffverschluss gemischt, kräftig durchgeschüttelt, darauf 10' lang zentrifugiert, da die Werte sonst durch vereinzelte Faserbildung im Eiweiss fehlerhaft sein können. Das gefüllte Viskosimeter wurde 20' im Thermostaten vorgewärmt. Jedesmal 4 auf 1 Fünftelsekunde reproduzierbare Ablesungen. Unerlässlich ist die sorgfältigste Reinigung des Viskosimeters für die Eiweisslösungen. Nach jeder Füllung wurde

¹⁾ D. v. *Klobusitzky* und *Pauli*, *Bioch. Z.* **260**, 201 (1933).

mit Wasser, dann mit heisser 1—2-proz. Sodalösung, darauf mit Säure und schliesslich mit Wasser gründlich gewaschen, nach jeder 6. bis 8. Messung mit Chromsäure (heiss) entfettet und der Wasserwert kontrolliert.

Aus dem Verlauf der Protonaufnahme des Seralbumins mit steigendem Säurezusatz (HCl) lässt sich die maximale Aufnahme je 1 g Protein mit 148×10^{-5} n.¹⁾ und aus dem Mgw $\sim 70\,000$ die maximale Wertigkeit oder Ladungszahl (Lz) des positiven Albuminions mit 103 je Teilchen bestimmen. Im η -Optimum des 1-proz. Seralbumins, das bei 0,015-n. HCl liegt, ist nur 116×10^{-5} -n. je 1 g Protein, also ca. 79% der möglichen Höchstaufnahme an H⁺, gebunden, was einer Lz je Teilchen von ~ 80 entspricht. Das Albuminion dieser Wertigkeit bildet im folgenden das eigentliche Versuchsobjekt.

In beistehender Tabelle II (Fig. 1 und 2) sind unter Zusammenfassung unserer früheren Daten die Normalitäten n^{III} des Proteinions bzw. die Ladungszahlen je Teilchen (Lz) mit steigender HCl-Zugabe und der Gang von η an 1% Seralbumin ergänzt zusammengefasst.

Tabelle II.

1% Seralb., p_H = 5,27, a_H = $5,37 \times 10^{-6}$, $\eta = 1,054$.

0,88% Seralb., p_H = 5,79, a_H = $1,62 \times 10^{-6}$, $\eta = 1,044$.

| n.HCl $\times 10^3$ | 1% Seralbumin | | | | 0,88% Seralbumin | | |
|---------------------|------------------------------|--------------------------------|---------|----------|--------------------------------|--------|--------|
| | a _H ^{II} | n ^{III} $\times 10^3$ | Lz | η^2 | n ^{III} $\times 10^3$ | Lz | η |
| 1,0 | $2,95 \times 10^{-5}$ | 0,97 | 6,79 | — | — | — | — |
| 1,75 | $5,50 \times 10^{-5}$ | 1,69 | 11,85 | 1,075 | — | — | — |
| 3,0 | $1,12 \times 10^{-4}$ | 2,88 | 20,16 | 1,112 | — | — | — |
| 5,0 | $2,18 \times 10^{-4}$ | 4,77 | 33,97 | 1,194 | 4,71 | 37,465 | 1,240 |
| 7,5 | $5,75 \times 10^{-4}$ | 6,88 | 48,16 | — | — | — | — |
| 10,0 | $1,02 \times 10^{-3}$ | 8,89 | 62,23 | 1,354 | 8,63 | 68,65 | 1,380 |
| 12,5 | — | — | — | — | 10,0 | 79,55 | 1,390 |
| 15 | $3,04 \times 10^{-3}$ | 11,6 | 81,2 | 1,420 | — | — | — |
| 20 | $6,17 \times 10^{-3}$ | 13,04 | 91,31 | 1,396 | 12,41 | 98,71 | 1,358 |
| 30 | $1,43 \times 10^{-2}$ | 13,66 | 95,62 | 1,325 | 12,9 | 102,8 | 1,292 |
| 40 | $2,24 \times 10^{-2}$ | 14,25 | 99,75 | 1,253 | 13,0 ³⁾ | 103,34 | 1,254 |
| 50 | $3,06 \times 10^{-2}$ | 14,55 | 102,2 | 1,212 | 13,0 | 103,34 | 1,214 |
| | | (14,7) | (103,6) | | | | |

¹⁾ Pauli und F. Blank, Bioch. Z. **202**, 337 (1928). Dieser Wert (an 0,88% Seralb. ermittelt) stimmt vorzüglich mit dem aus den Daten von J. Frisch, Pauli, E. Valko, Bioch. Z. **164**, 401 (1925) für 1% Seralb. ableitbaren 147×10^{-5} n. überein. Die dort durch ein Versehen falsch angeführten 3 Werte in der letzten Kolonne sind in obiger Tabelle II richtig berechnet, welche zugleich die Versuche von Pauli und W. Kölbl (vgl. Helv. **28**, 659 (1945)) berücksichtigt und erstmalig alle zugehörigen Lz wiedergibt.

²⁾ In der korrespondierenden Tabelle VIIa (Helv. **28**, 659 (1945)) hat es statt ($\eta - \eta'$) richtig ($\eta - 1$) zu lauten und in VIIb soll in der Reihe III zuletzt statt 147 richtig 159,5 als maximale Laugenbindung stehen.

³⁾ Das würde für 1% Seralb. n^{III} $\times 10^3 = 14,77$ oder 148×10^{-5} n. als Grenzwert der Protonaufnahme je 1 g Protein entsprechen.

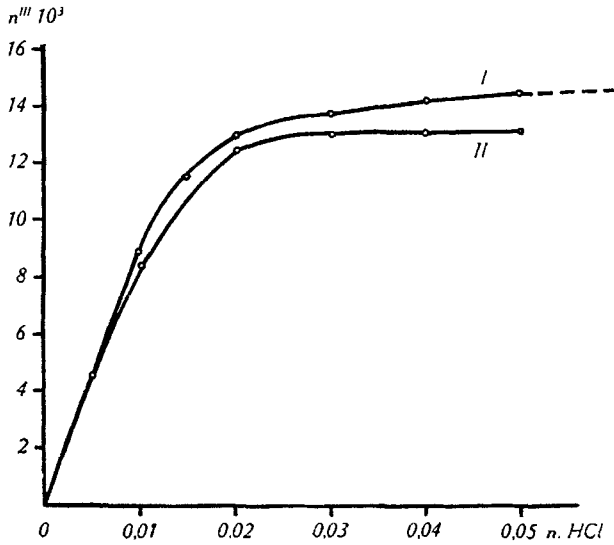


Fig. 1.

Protonaufnahme (n^{III}) von 1% (I) und 0,88% (II) Seralbumin aus HCl.

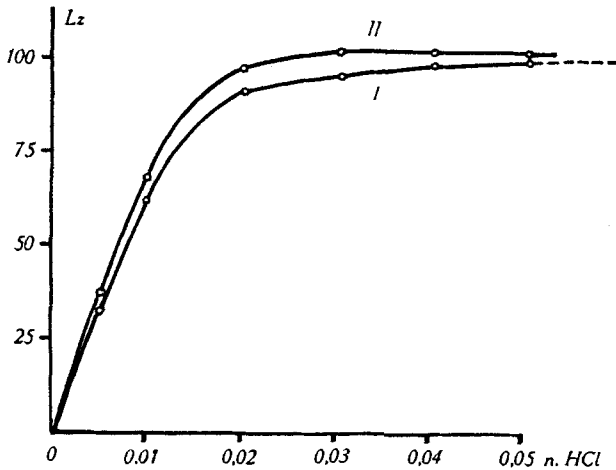


Fig. 2.

Ladungszahlen (Lz) der Teilchen in 1% (I) und 0,88% (II) Seralbumin mit steigendem HCl-Zusatz.

Der Vergleich der Daten in Tabelle II für 1% und 0,88% Seralbumin zeigt, dass für denselben HCl-Gehalt in der höheren Eiweisskonzentration eine grössere Zahl von Protonen (n^{III}) aufgenommen wird, zugleich jedoch im niedrigeren Eiweissgehalt jeweils grössere Ladungszahlen je Teilchen (Lz) erreicht werden. Dieses Verhalten wird sehr deutlich durch die Fig. 1 und 2.

illustriert. Dementsprechend bedurfte es zur Erlangung der Höchstwerte von n^{III} und des praktisch zusammenfallenden Maximums von Lz beim 1% Seralb. noch einer geringfügigen graphischen Extrapolation (in den Figg. gestrichelt). Sehr beachtenswert ist ferner die gute Übereinstimmung der $Lz \approx 80$ (79,6 bzw. 81,2) im η -Optimum trotz der verschiedenen Lage desselben (0,0125-n. HCl für 0,88% gegen 0,015-n. für 1% Seralb.). Eine noch schärfere Bestimmung des Optimums sowie der zugehörigen Daten, die hier durch graphische Intrapolation erfolgte, könnte die geringen Abweichungen weiter einschränken.

Man kann die als η -Abfall erkennbare Abnahme der freien Ladung des Proteinions im η -Optimum, als Folge einer Erhöhung des Gehaltes an Gegenionen und der damit einhergehenden stärkeren Inaktivierung derselben, entweder durch weitere Zugabe von Säure (hier HCl) oder eines Salzes bewirken. Im ersten Falle steigt zugleich die Wertigkeit des Proteinions durch Protonaufnahme bis zu ihrem Maximum, im zweiten Falle bleibt sie konstant. Diesem Unterschied ist es wohl in erster Linie zuzuschreiben, dass bei gleicher Gegenionenkonzentration der Abfall von η aus dem Optimum mit zusätzlicher Säure geringer ist als bei Zugabe von deren Salz. So entsprach in einem Versuche das Absinken von η ($\Delta\eta$ gleich der Differenz von η im Maximum und nach Zufügen von Säure bzw. Salz) für 1% Seralb. + 0,015-n. HCl ($\eta=1,409$) in der Kombination mit 0,015-n. HCl + 0,0025-n. HCl ($\eta = 1,399$) einem $\Delta\eta \times 10^3 = 10$, während für den Gehalt 0,015-n. HCl + 0,0025-n. NaCl das $\Delta\eta \times 10^3 = 63$ wird.

Es ist vielleicht nicht überflüssig, in diesem Zusammenhange hervorzuheben, dass die Abnahme der Viskosität im Überschusse der Gegenionen sowohl mit weiterer Säure wie auch mit Salz niemals bis zu dem niedrigen Ausgangswert des elektrolytfreien, zwitterionischen Albumins führt, sondern oberhalb desselben stehen bleibt. Bei der Bildung der einsinnigen, vielwertigen Proteinionen mittels Säure kommt es im Proteinteilchen zu einem intraionischen Abstossungs- und Spreizeffekt, der durch die Inaktivierung und äussere Anlagerung der Gegenionen nicht restlos rückgebildet werden kann. Damit würde es gleichfalls zusammenhängen, dass der in einem gewissen Bereich praktisch konstante Endwert von η im Überschuss der Säure, welcher einem um ca. 20% höherwertigen Eiweission zugehört, entsprechend höher bleibt als der bei genügendem Salzzusatz konstant gewordene η -Wert.

II.

Zur Herabsetzung der freien Ladung des Albuminions wurde in unseren Versuchen der Weg der Salzzugabe im η -Optimum gewählt. Dieser bietet nicht nur den Vorteil konstanter Wertigkeit des Kolloidions, sondern er gestattet auch bei demselben Gegenion die mit dem Kolloidion gleichsinnigen Ionen, die wir als Nebenionen¹⁾ bezeichnen, zu variieren. Die Analyse der folgenden Versuche, in denen der Eigenbeitrag der Salzionen zur Viskosität gegenüber demjenigen des Proteinions praktisch vollständig zurücktritt, hat gelehrt, dass die Prüfung des Nebenioneneinflusses wertvolle Aufschlüsse über gewisse Besonderheiten der elektrischen Feldwirkung von Kolloidionen zu liefern vermag.

¹⁾ *Pauli-Valko*, Elektrochemie der Kolloide 1929. Berlin. Während unsere Bezeichnung „Gegenionen“ allgemeine Aufnahme fand, war der Verwendungsgebrauch für „Nebenionen“ bisher sehr beschränkt.

Die nächste Tabelle III gibt den Viskositätsabfall wieder, den ein 1% (0,993%) Seralbumin in seinem η -Optimum (mit 0,015-n. HCl) durch den Zusatz von Chloriden der Alkalimetalle Li, Na, K, Rb sowie von NH_4 erfährt. Der Gesamtchlorgehalt ist gegenüber den Angaben von n. Chlorid (wie stets Endkonzentrationen der Mischung) der Tabelle um 0,015-n. der Säure höher, das erreichte Maximum also 0,045-n. Cl'.

Tabelle III.

η -Werte. 0,993% Seralbumin + 0,015-n. HCl, $\eta = 1,399$.

| Salzkonz. n. | Li | Na | K | Rb | NH_4 |
|-----------------|-------|-------|-------|-------|---------------|
| 0,0025 | 1,332 | 1,326 | 1,326 | 1,329 | 1,327 |
| 0,005 | 1,289 | 1,285 | 1,288 | 1,293 | 1,283 |
| 0,01 | 1,231 | 1,230 | 1,237 | 1,237 | 1,223 |
| 0,02 | 1,180 | 1,177 | 1,178 | 1,182 | 1,174 |
| 0,03 | 1,157 | 1,151 | 1,152 | 1,155 | 1,141 |

Die am Absinken von η erkennbare Abnahme der freien Ladung des Albuminions infolge der im Überschuss von Chlorid gesteigerten Inaktivierung und Anlagerung der Gegenionen erweist sich für die verschiedenen Alkalimetalle nicht erheblich unterschieden und lässt keine der bekannten Reihungen derselben erkennen. Beim Ammoniumchlorid findet sich eine etwas stärkere depressorische Änderung von η im Vergleiche mit den Alkalimetallen angedeutet. Der Befund einer nicht merklich differenten Wirksamkeit der Alkalimetall-Nebenionen erscheint umso bemerkenswerter, als sich bei anorganischen, positiven Kolloiden¹⁾ (s. u.) eine ganz charakteristische Ordnung mit recht ausgiebigen Differenzen der Alkalimetallionen in der Koagulationshemmung zunehmend von $\text{Li} < \text{Na} < \text{K} < \text{Rb} < \text{NH}_4$ ergeben hat (s. u.).

Noch auffallender wirkt der Befund an den 2-wertigen Nebenionen Ba, Sr, Ca, Mg, die, zu einer Erhöhung und stärkeren Differenzierung des Effektes, an einem 1,58% Seralbumin im η -Optimum (mit 0,02-n. HCl) verwendet wurden. (Tabelle IV, Fig. 3.) Deren Chloride lassen nicht nur bis 0,03-n. (Gesamt-Cl' 0,05-n.) keine erheblichen Differenzen im η -Effekt erkennen, sondern stimmen sogar in ihrer Wirksamkeit mit dem 1-wertigen Nebenion von NaCl quantitativ überein. Erst beim Gehalt 0,06-n. Salz (0,08-n. Cl') treten Unterschiede hervor, indem — gegen die erfahrungsgemäss nächstliegende Erwartung — das NaCl in seiner Erniedrigung des η (von 1,641 auf 1,234) erheblich zurückbleibt hinter den Erdalkalimetallen (auf 1,211). Ferner findet sich bei diesen für $\Delta\eta$ die Reihenfolge $\text{Ba} > \text{Sr} > \text{Ca}$ angedeutet. Mit Ba^{++} als Nebenion erscheint somit die Abnahme der freien Ladung am grössten, mit Ca^{++} am kleinsten, ganz

¹⁾ Pauli und M. Wittenberger, Koll. Z. 50, 228 (1930), Eisenoxydsol; N. Desai, Koll. Beih. 26, 357 (1928), Thoriumoxydsol.

invers zu den Erfahrungen am positiven Eisenoxydsol, bei welchem das Nebenion Ba^{..} am stärksten, Ca^{..} am schwächsten die Koagulation hemmt (s. u.).

Tabelle IV.

η -Werte (Fig. 3).

Seralbumin D 1,58% + 0,02-n. HCl, $\eta = 1,641$.

| Salzkonz. n. | BaCl ₂ | SrCl ₂ | CaCl ₂ | MgCl ₂ | NaCl |
|-----------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------|
| 0,01 | 1,383 | 1,383 | 1,385 | 1,386 | 1,384 |
| 0,03 | 1,259 | 1,259 | 1,264 | 1,263 | 1,262 |
| 0,06 | 1,197 | 1,211 | 1,212 | 1,246 | 1,234 |

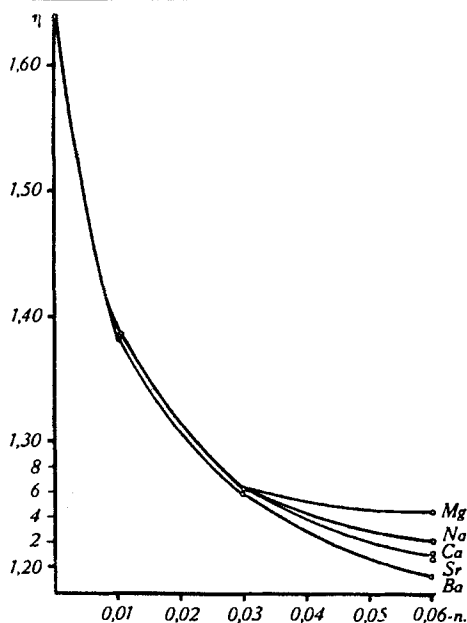


Fig. 3.

Viskositätsabfall von 1,58% Seralb. + 0,02-n. HCl durch Zusatz von ein- und zweiwertigen Metallchloriden. Nebenionenwirkung.

Eine Sonderstellung nimmt schliesslich MgCl₂ allerdings erst in höchster (0,06-n.) Konzentration (0,08-n. Cl[']) ein, indem sein depressorischer η -Effekt nicht nur weit geringer ist als bei den Erdalkalichloriden, sondern auch erheblich unterhalb desjenigen von NaCl gelegen ist. Beim Mg allein würde somit, jedoch erst in höherem Gehalt, erwartungsgemäss eine stärkere Herabsetzung der Gegenionenwirkung auf die freie Ladung des Proteinions verglichen mit Na bemerkbar, welche der Differenz im Aktivitätseinfluss von zwei- und von einwertigem Nebenion entspräche. Der Endabschnitt der Kurven in Fig. 3 zeigt diese Verhältnisse deutlich.

Eine nähere Erörterung der eigenartigen Rolle der Nebenionen im Felde des Albuminions folgt später.

III.

Vorerst seien noch einige ergänzende Beobachtungen über die individuellen Abweichungen und das Ausmass im Gegenioneneffekt auf η angeführt.

In der folgenden Tabelle V (Fig. 4) finden sich an einem 1,58% Serumalbumin + 0,02-n. HCl mit dem Optimum $\eta = 1,641$, dessen η -Depressionen durch Alkalisalze der einwertigen Gegenionen Cl', Br', J', CCl₃COO' und SCN' zusammengestellt. Endwert 0,08-n.Cl.

Tabelle V.
1,58% Serumalb. + 0,02-n. HCl (Fig. 4)

| Salzkonz. n. | NaCl | KBr | KJ | CCl ₃ COONa | KSCN |
|-----------------|-------|-------|-------|------------------------|-------|
| 0,03 | 1,262 | 1,229 | 1,187 | 1,157 | 1,135 |
| 0,06 | 1,234 | 1,168 | 1,118 | 1,102 | 1,096 |

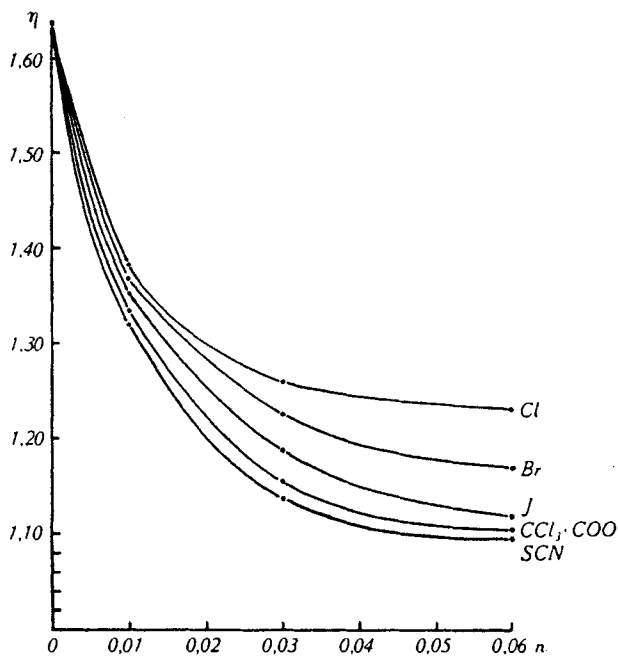


Fig. 4.

η -Abfall von 1,58% Serumalb. + 0,02-n. HCl durch verschiedene einwertige Gegenionen.

Die Versuche zeigen — in Übereinstimmung mit älteren¹⁾ Beobachtungen an einem nur durch lange Dialyse gereinigten Serum — für eine hochgereinigte Albuminfraktion, dass hier bei gleicher Wertigkeit des Gegenions mächtige Unterschiede im depressorischen

¹⁾ Pauli und O. Falek, Bioch. Z. 47, 269 (1912).

η -Effekt auftreten, wobei dieser in der angeführten Reihe von Cl' gegen SCN' stark zunimmt. Die älteren Versuche¹⁾ waren mit konstantem Salzgehalt bei wachsendem HCl-Zusatz durchgeführt. Noch wirksamer als das stärkst wirkende einwertige SCN' erwiesen sich höherwertige Gegenionen wie SO₄' (s. u.).

Nach den Ergebnissen von Chloraktivitätsmessungen²⁾ bei Proteinchloriden, die den Zusammenhang von Viskosität mit Proteinaufladung und mit der Abnahme der freien Ladung im Gegenionenüberschuss bewiesen, lag es nahe, die grossen Unterschiede bei einwertigen Gegenionen auf Differenzen ihrer Inaktivierung bzw. Assoziation durch das Proteinion zu beziehen. Ein indirekter Hinweis darauf ergab sich aus vergleichenden Leitfähigkeitsmessungen³⁾ verschiedener Proteinsalze, wobei die gefundenen Werte den Viskositätsunterschieden entsprechende Abweichungen gegen die berechneten aufwiesen, welche auf korrespondierende Differenzen der Leitfähigkeitskoeffizienten zu beziehen waren.

Einen Einblick in die Aktivitätsverhältnisse der Proteinsalze verschiedener Säuren, deren Gegenionen nicht, wie etwa die der Halogenionen, direkt bestimmbar sind, kann hier die Untersuchung des *Donnan*-Gleichgewichtes beiderseits einer Membran liefern, wobei innen Protein + Säure, aussen eine geeignete Menge der gleichen Säure durch mehrtägige Dialyse ins Gleichgewicht gebracht werden.

Das hier verwendete Verfahren hatte seinerzeit *P. Rona* und *H. Weber*⁴⁾ mit Erfolg zur Bestimmung der Aktivitätskoeffizienten der Myogensalze verschiedener Säuren gedient und gab hier eine analoge Reihe, wie sie in den frühen Versuchen von *Pauli* und Mitarbeitern für η und $[\alpha]_D^0$ abgeleitet worden war. Der gleiche Weg über das Membrangleichgewicht hatte sich zur Bestimmung der Aktivitätskoeffizienten einer Reihe von Silberproteinen⁵⁾ und der Silbersalze von Gummi arabicum⁶⁾ sowie von Agar⁷⁾ bewährt.

Im Gleichgewicht würde dann für eine beliebige, starke Säure, wenn a_i und a_a die Aktivitäten innerhalb und ausserhalb der Membran, An das betreffende Anion anzeigt, die Beziehung

$$a_i^H \cdot a_i^{An} = a_a^H \cdot a_a^{An}$$

gelten. Sieht man, bei den geringen Konzentrationen, aussen von einem Unterschied der Aktivitätskoeffizienten von H' und An' ab, dann wird

$$\left(\frac{a_a^H}{a_a^{An}}\right)^2 = a_i^H \cdot a_i^{An} \quad \text{oder} \quad a_i^{An} = \frac{\left(\frac{a_a^H}{a_a^{An}}\right)^2}{a_i^H}$$

Mittels geeigneter Korrektur für die wenigen Prozente freier Säure innen, kann das zum Protein gehörige aktive Anion angegeben werden, welches, bezogen auf die bekannte Normalität n^{III} (Protonaufnahme) des Eiweiss, einen Aktivitätskoeffizienten seines Gegenions liefert.

In allen Versuchen wurde innen 1,52% Seralbumin + 0,01-n. Säure in einer Pergamenthülle (*Schleicher* und *Schüll*), aussen das gleiche Volumen 0,0025-n. Säure (gleich hoch reichend) verwendet. Zeitweise vorsichtige Rührung. Gleichgewicht nach 5 Tagen sicher erreicht. Die folgende Tabelle VI gibt eine Übersicht, Tabelle VII einige Einzelheiten der Resultate.

¹⁾ *Pauli* und *O. Falek*, *Bioch. Z.* **47**, 269 (1912).

²⁾ *J. Frisch*, *Pauli*, *E. Valko*, *Bioch. Z.* **164**, 401 (1925); Literatur *Pauli-Valko*, *Kolloidchemie d. Eiweissk.*, Dresden-Leipzig 1933.

³⁾ *Pauli* und *J. Sajrin*, *Bioch. Z.* **233**, 86 (1931).

⁴⁾ *P. Rona* und *H. H. Weber*, *Bioch. Z.* **203**, 429 (1928).

⁵⁾ *Ed. Goigner* und *Pauli*, *Bioch. Z.* **235**, 271 (1931).

⁶⁾ *Pauli* und *E. Ripper*, *Koll. Z.* **62**, 162 (1933).

⁷⁾ *Pauli* und *L. Palmrich*, *Koll. Z.* **79**, 174 (1937).

Tabelle VI.
1,52% Seralb. E'.

| Anion | $n^{\text{III}} \times 10^3$ | f_a^{An} | η^{25° |
|-----------------------|------------------------------|-------------------|-------------------|
| Cl' | 10,498 | 0,334 | 1,361 |
| CCl ₃ COO' | 10,613 | 0,279 | 1,128 |
| SO ^{4''} | 11,59 | 0,063 | 1,111 |

Tabelle VII.

Innen: Seralb. E' 1,52% + 0,01-n. Säure, Aussen: 0,0025-n. Säure.

| | HCl | | CCl ₃ COOH | | H ₂ SO ₄ | |
|------------------|----------------------------|----------------------|----------------------------|----------------------|--------------------------------|----------------------|
| | $a_{\text{H}} \times 10^3$ | $\kappa \times 10^4$ | $a_{\text{H}} \times 10^3$ | $\kappa \times 10^4$ | $a_{\text{H}} \times 10^3$ | $\kappa \times 10^4$ |
| vor d. Dialyse: | | | | | | |
| innen | 0,388 | 8,14 | 0,462 | 3,70 | 0,255 | 3,68 |
| aussen | 2,07 | 10,3 | 2,15 | 9,46 | 2,00 | 9,57 |
| nach d. Dialyse: | | | | | | |
| innen | 0,36 | 7,67 | 0,34 | 3,80 | 0,176 | 4,89 |
| aussen | 1,18 | 5,75 | 1,06 | 4,91 | 0,400 | 2,38 |

Tabelle VI zeigt den parallelen Gang von η mit den Aktivitätskoeffizienten der Gegenionen des Proteins, wobei zu bemerken ist, dass η sofort in der Mischung bestimmt wurde und nicht nach der Dialyse, welche die η -Unterschiede noch erhöhen dürfte. Der Gang von n^{III} lässt erkennen, dass die stärkere Inaktivierung zumal des Sulfations auch die zeitliche Erhöhung der Protonaufnahme seitens des Proteins merklich begünstigt.

IV.

Um ein vergleichbares Mass der depressorischen Gegenionenwirkung auf die Viskosität des vielwertigen, positiven Albumions zu gewinnen, wurde von einem bestimmten, molekularen Eiweissgehalt ausgegangen, wozu sich 1,5% $\approx 2 \times 10^{-4}$ -m. Seralbumin als günstig erwies. Beim p_{H} des η -Optimums (mit 2×10^{-2} -n. HCl) besteht keinerlei Anhaltspunkt für eine Spaltung oder Aggregatbildung des monodispersen Proteins, so dass dessen gesamte und freie Ladung mit genügender Annäherung angegeben werden kann. Wählt man nun die gleiche Grundkonzentration (2×10^{-4} -n.) des mit dem Salz zugefügten Gegenions (oder ein niedriges Vielfaches derselben), so würde das, bei vollständiger Inaktivierung desselben, für jeden Grundwert durchschnittlich¹⁾ den Verlust einer freien Ladung je Eiweissteilchen bedeuten.

¹⁾ Die Frage, wieweit es dabei zu einer gewissen Streuung der Ladungsverteilung auf die Eiweissteilchen kommt, erscheint hier nicht von Belang.

In der folgenden Tabelle VIII wird eine Versuchsreihe mit KSCN-Zugabe im η -Optimum angeführt. Zum Vergleich dienen die korrespondierenden Werte mit NaCl. $\Delta\eta \times 10^3$ gibt den Reibungsabfall durch den Salzzusatz an und ist in einer Nebenreihe gleichzeitig auf den Grundwert 2×10^{-4} -n. bezogen.

Tabelle VIII.

Seralb. D 1,47% + 0,02-n. HCl ($\eta = 1,619$) + n. Salz.

| n. KSCN | η | $\Delta\eta \times 10^3$ | n. NaCl | $\Delta\eta \times 10^3$ |
|---------|--------|--------------------------|----------|--------------------------|
| 0,0002 | 1,607 | 12 = 1×12 | 0,0002*) | 9,5 = $1 \times 9,5$ |
| 0,0004 | 1,595 | 24 = 2×12 | 0,001 | 42 = $5 \times 8,4$ |
| 0,0006 | 1,584 | 35 = $3 \times 11,6$ | 0,002 | 78 = $10 \times 7,8$ |
| 0,0008 | 1,572 | 47 = $4 \times 11,75$ | 0,003 | 113 = $15 \times 7,53$ |
| 0,001 | 1,560 | 59 = $5 \times 11,8$ | 0,004 | 139 = $20 \times 6,95$ |
| 0,002 | 1,508 | 111 = $10 \times 11,1$ | 0,005 | 164 = $25 \times 6,56$ |
| 0,003 | 1,467 | 152 = $15 \times 10,13$ | | |
| 0,005 | 1,398 | 221 = $25 \times 8,84$ | | |

*) Graphisch intrapoliert.

Die nächste Tabelle IX bringt analoge Daten für höherwertige Gegenionen, nämlich SO_4'' und das Sulfosalicylat des $\text{NaSO}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{OHCOONa}$, das mit dem Hydroxyl drei saure Gruppen sehr verschiedener Stärke besitzt. $\Delta\eta$ von SO_4'' bezogen auf $n=2$ m.

Tabelle IX.

Seralb. E 1,52% + $2 \cdot 10^{-2}$ -n. HCl + m. Salz.

| m. Salz | K_2SO_4 | | Sulfosalicylat | |
|---------|-------------------------|--------------------------|----------------|--|
| | η | $\Delta\eta \times 10^3$ | η | $10^3 \times \Delta\eta$ bezogen auf m. |
| 0,0 | 1,600 | — | 1,604 | — |
| 0,0002 | 1,562 | 38 = 2×19 | 1,584 | 20 = 1×20 |
| 0,0004 | 1,535 | 65 = $4 \times 16,2$ | 1,568 | 36 = $2 \times 18,5$ |
| 0,0006 | 1,506 | 94 = $6 \times 15,6$ | 1,552 | 52 = $3 \times 17,3$ |
| 0,0008 | 1,483 | 117 = $8 \times 14,625$ | 1,535 | 69 = $4 \times 17,2$ |
| 0,001 | 1,454 | 146 = $10 \times 14,6$ | 1,521 | 83 = $5 \times 16,6$ |
| 0,002 | 1,358 | 242 = $20 \times 12,1$ | 1,456 | 148 = $10 \times 14,8$ |

Für die Erörterung der Ergebnisse erscheint es zweckmässig, vom Sulfat als Gegenion auszugehen, das gemäss den früheren Angaben (s. o.) und nach der Ausgiebigkeit des depressorischen η -Effektes unter unseren Versuchsbedingungen als praktisch vollständig inaktiviert angesehen werden kann. Das würde eine η -Abnahme um 0,019 für den Grundwert $n. = 2 \times 10^{-4} \text{SO}_4''/2$ also bei durchschnittlicher Verminderung um eine freie Ladung je Eiweissteilchen ergeben. Nach den Bestimmungen der Protonaufnahme aus HCl sowie den Messungen der Gegenionenaktivität kann für das η -Optimum vor dem Salzzusatz eine Gesamtladung von ≈ 80 und nach dem Aktivitätskoeffizienten ($f_a^{\text{Cl}} = 0,46$) eine freie Ladung von etwa 35 je Eiweiss-

teilchen eingesetzt werden. Mit steigendem Gehalt an SO_4'' , dem ein fortschreitendes Absinken der freien Eiweissladungen um $m \times 10^{-4}$ entspricht, sinkt die relative η -Depression je Einzelladung stetig ab, wie dies auch im Kurvencharakter zum Ausdruck kommt. Dieser η -Abfall ($\Delta\eta$) je Einheit (2×10^{-4} -n.) ist geringer bei SCN' und noch kleiner bei Cl' als Gegenion. Da der ganze Effekt mit steigendem Eiweissgehalt ausgiebiger wird, wurden die geringen Konzentrationsunterschiede der verwendeten Albumine (für 1-wertige Gegenionen 1,47 % für 2-wertige 1,52 %) durch eine Korrektur (6 %) berücksichtigt, abgeleitet aus besonderen Messungen an 1,58 % Serumalbumin unter Intrapolation auf 1,52 %. So ergab sich im Anfangsteil für 2×10^{-4} -n. bei SCN' ein $\Delta\eta = 0,0127$ und bei Cl' gleich 0,01007. Die Kurven der beistehenden Fig. 5 geben die auf den einheitlichen Gehalt 1,52 % Serumalbumin reduzierten Werte.

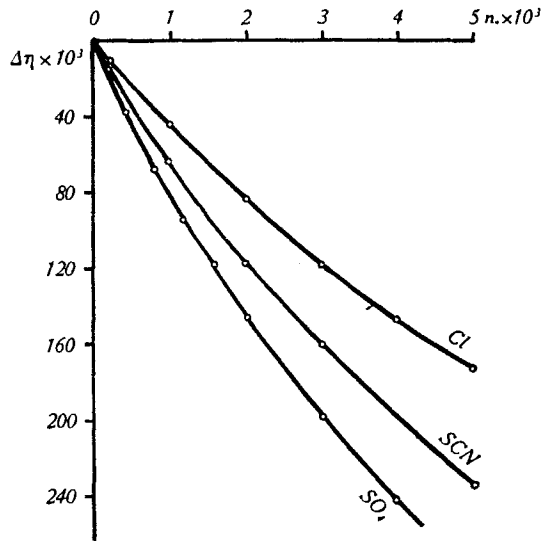


Fig. 5.

η -Abfall von 1,52% Serumalbumin + 0,02-n. HCl durch niedrige Normalität ($n \times 10^{-3}$) von 1- und 2-wertigem Gegenion.

Bei dem nahe linearen Gang der anfänglichen η -Depression liesse sich unter der Voraussetzung, dass die Inaktivierung von SO_4'' im η -Optimum praktisch vollständig ist, erstmalig der Relation korrespondierender $\Delta\eta$ -Werte von $\Delta\eta^{\text{SCN}}/\Delta\eta^{\text{SO}_4}$ und $\Delta\eta^{\text{Cl}}/\Delta\eta^{\text{SO}_4}$ der inaktivierte und daraus der freibleibende aktive Anteil der einwertigen Gegenionen entnehmen. Das führt zu den durchaus plausiblen Aktivitätskoeffizienten $f_a^{\text{SCN}} = 0,33$ und $f_a^{\text{Cl}} = 0,47$ aus den inaktiven Bruchteilen $^{12,72}/_{19} = 0,6695$ und $^{10,07}/_{19} = 0,530$. Der für Cl' abgeleitete Wert liegt tatsächlich recht nahe dem seinerzeit aus

potentiometrischen Messungen¹⁾ der Gegenionen für das η -Optimum sich ergebenden $f_n^{\text{Cl}} = 0,46$.

Besondere Umstände liegen beim Sulfosalicylation vor, bei dem durch die starke Sulfosäure die Dissoziation der anderen sauren Gruppen so weit zurückgedrängt wird, dass es bis zur Hälfte schwächer η -depressorisch wirkt als SO_4'' gleicher Molarität. Würde man das η auf $n = 2$ m. beziehen, dann liegen die Werte zwischen denen von Cl' und SCN' , ein Hinweis darauf, dass die im Gleichgewicht mit der 2-wertigen stehende 1-wertige Form des Sulfosalicylations erheblich weniger als Gegenion inaktiviert wird, wie das Rhodanion.

Dass aber daneben besondere Beziehungen zum Protein mitwirken, geht aus dem Auftreten von Trübungen in Konzentrationen von Sulfosalicylat hervor, in welchen das stärker η -depressorische, also inaktivierende Sulfation keine Andeutung einer Niederschlagsbildung erkennen lässt. Eine ähnliche Sonderstellung wurde früher²⁾ gelegentlich der konduktometrischen Titration des Ovalbumins mit Trichloressigsäure in der Gegend des η -Optimums als Bildung starker Trübung bis Flockung beobachtet, die in diesem Bereich weder bei anderen Säuren (auch mit 2-wertigem Anion wie H_2SO_4 , $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$) noch überhaupt bei Serumalbumin auftrat. Es handelt sich um jenen noch ungeklärten, an eine sekundäre, intramolekulare Änderung geknüpften Denaturierungsvorgang, der sich an die Inaktivierung der Proteinladung in verschiedenem Ausmasse anschließen kann.

V.

Durch die angeführten Versuche wird sichergestellt, dass die durchschnittliche Reduktion der freien Ladung des vielwertigen Proteinions um einen Bruchteil einer Einfachladung sich als entsprechender, depressorischer Effekt im η -Optimum bemerkbar macht. Die Elementareffekte je Ladungseinheit nehmen mit sinkender freier Teilchenladung stetig ab. Nach den Erfahrungen³⁾ über den Verlauf des η -Anstieges mit wachsender Protonaufnahme durch das Protein handelt es sich in der Gegend des η -Optimums vor allem um eine Zunahme des Teilchenvolumens durch die Lockerung und Aufspreizung der im Eiweissteilchen vorliegenden Assoziate seitens der intraionischen Abstossungskräfte mit Bildung eines unter Wasserblockierung zusammengehaltenen Aggregates. Dieses Lockeraggregat wird mit Abnahme der freien Teilchenladung, als Folge der Inaktivierung und Anlagerung der Gegenionen, unter entsprechendem η -Abfall zu einem dichteren Assoziat mehr oder minder rückgebildet. Da hierbei intramolekular ein Rest einsinniger, ionischer Kräfte wirksam bleibt, ist dieser Entladungseffekt nicht identisch mit einem Entzug der einsinnigen Aufladung durch Abgabe der vom Protein aufgenommenen Protonen und die Viskosität sinkt, wie schon ausgeführt, nicht bis auf den Ausgangswert des streng zwitterionischen Proteins herab.

Wesentlich ist für den Vergleich mit verwandten Erfahrungen, dass sich im untersuchten η -Bereich die stufenweise Verminderung der freien Ladung der Proteinionen und nicht ein Koagulationsvorgang widerspiegelt. Bei positiven, hochgereinigten anorganischen Kolloiden stehen unserem Falle am nächsten Beobachtungen

¹⁾ *J. Frisch, Pauli, E. Valko*, Bioch. Z. **164**, 401 (1925).

²⁾ *Pauli und J. Safrin*, Bioch. Z. **233**, 86 (1931).

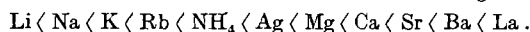
³⁾ *Pauli und W. Schwarzacher*, Helv. **28**, 645 (1945).

über Gegenionensubstitution nach dem Verfahren von *Pauli-Valko*¹⁾ bei konduktometrischer Titration gewisser Metalloxydsol mittels geeigneter, löslicher Silbersalze. Dabei zeigte sich mit Substitution der ursprünglichen Cl'-Gegenionen durch NO₃' oder ClO₃' und noch mehr durch SO₄' ein Absinken der Solleitfähigkeit entsprechend einer Abnahme der Leitfähigkeitskoeffizienten als Folge der in dieser Reihe gesteigerten, interionischen Wechselwirkung, wie sie in völlig analoger Weise an wasserlöslichen Proteinen mittels konduktometrischer Säuretitation zu beobachten²⁾ war.

Die in unseren Versuchen festgestellte Reihenfolge der komplexen einwertigen Gegenionen nach zunehmender η -Depression bzw. Inaktivierung am positiven Proteinion war schon vor längerer Zeit³⁾ als Ergebnis einer exzentrischen Ladungsverteilung im Gegenion aufgefasst worden, die — ähnlich wie bei einem Dipol — im elektrischen Felde des Kolloidions gesteigert wird. Betrachtet man etwa das SCN' im Sinne von *W. Kossel's* Theorie des heteropolaren Aufbaues, so wären alle drei Fälle möglich, nämlich 5-wertig positiver N oder 6-wertig positiver S oder 4-wertig positiver C als Zentralion des Komplexes. Sie würden mit den ergänzenden anderen negativen Ionen stets ein Anion SCN' ergeben, so dass hier eine Art Elektromerie vorstellbar und zu prüfen wäre. Bei den anderen angeführten Komplexionen liegen in dieser Hinsicht viel begrenztere Möglichkeiten vor.

Ausserordentlich beachtenswert erscheinen die Besonderheiten der Nebenionewirkung beim positiven Albuminon, dass nämlich in einem weiten Bereich des Ladungs- und η -Abfalles infolge Salzzusatz der entladende Gegenioneneffekt nicht nur in der Reihe der als Nebenionen dienenden Alkalimetallionen praktisch ungeändert bleibt, sondern auch beim Übergang zu den 2-wertigen Erdalkalitionen keine erhebliche Änderung erfährt.

Diese Beobachtung steht anscheinend im Gegensatz zu den bisherigen Erfahrungen mit anorganischen Kolloiden. Am positiven Eisenhydroxyd⁴⁾ und Thoriumhydroxydsol⁶⁾ konnte festgestellt werden, dass die Schwellenwerte mit zunehmender Wertigkeit der Nebenionen anwachsen, entsprechend einer stärkeren Hemmung der Koagulation. Gleiches lässt sich an Hand früherer und späterer Beobachtungen an negativen As₂S₃-⁷⁾ und Schwefelsolen⁸⁾ für Anionen steigender Wertigkeit als Nebenionen feststellen. Man kann zum Zwecke besseren Vergleiches den zeitlichen Gang der langsamen Koagulation, ihre Geschwindigkeit, durch fortlaufende photometrische Trübungsmessung⁹⁾ oder durch den η -Anstieg⁴⁾ bestimmen. Letzteres wurde sehr eingehend⁵⁾ für die Nebenionewirkung am Eisenhydroxydsol durchgeführt. Dabei ergab sich nach abnehmender Koagulation (gleiches Gegenion Cl' bzw. NO₃') also wachsender Hemmung der Flockung durch verschiedene Nebenionen die Reihenfolge



Sie stimmt weitgehend mit der von *Desai* (l. c.) am Thoriumoxydsol gefundenen Reihung überein. Es handelt sich um ausgiebige und eindeutige Effekte, wie die umstehenden Fig. 6 und Fig. 7 demonstrieren.

¹⁾ *Pauli* und *E. Valko*, Z. physik. Ch. **121**, 161 (1926); *Pauli* und *E. Schmidt*, ebenda **129**, 199 (1927); *Pauli* und *A. Peters*, ebenda **135**, 1 (1928).

²⁾ *Pauli* und *J. Safrin*, Bioch. Z. **233**, 86 (1931).

³⁾ *Pauli*, Eiweisskörper und Kolloide, J. Springer, Wien 1926.

⁴⁾ *Pauli* und *J. Matula*, Koll. Z. **21**, 49 (1917).

⁵⁾ *Pauli* und *M. Wittenberger*, Koll. Z. **50**, 228 (1930).

⁶⁾ *B. N. Desai*, Koll. Beih. **26**, 357 (1928).

⁷⁾ Literatur bei *Pauli-Valko*, Elektrochemie der Kolloide, J. Springer, Wien 1929, S. 192 u. ff.

⁸⁾ *S. Odén*, Der kolloide Schwefel, Nova Acta Ups. [IV] **3**, 66 (1912).

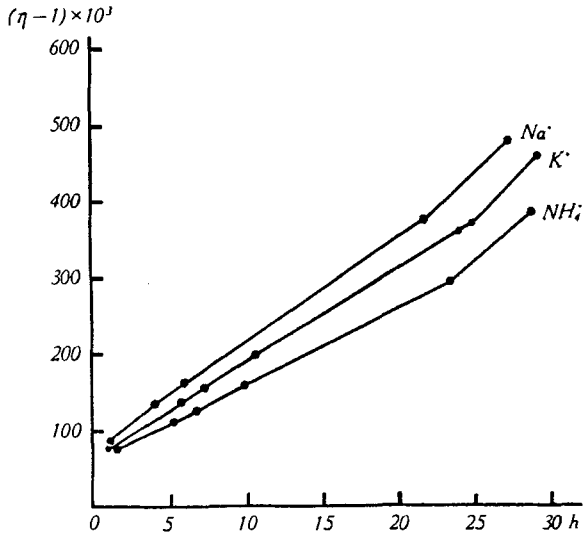


Fig. 6.

Nebenionenwirkung von Na⁺, K⁺ und NH₄⁺ auf Koagulation von Eisenoxydsol, η -Anstieg (0,02-n. Chloride).

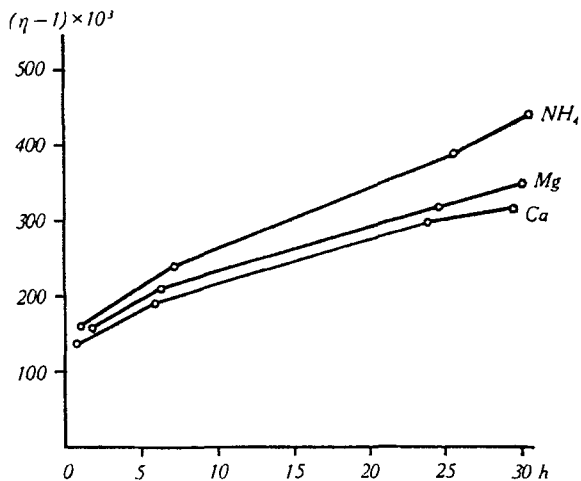


Fig. 7.

Nebenionenwirkung von NH₄⁺, Mg²⁺, Ca²⁺ auf Koagulation von Eisenoxydsol, η -Anstieg (0,015-n. Chloride).

Neben der erhöhten Flockungshemmung mit steigender Wertigkeit der Nebenionen findet sich innerhalb der Reihe sowohl der einwertigen wie auch der zweiwertigen Nebenionen zunehmender Rückgang der Koagulation in der Ordnung abnehmender Hydratationswärme der betreffenden Ionen. —

Diese gesetzmässigen Beziehungen in der Nebenionenwirkung verdienen hier eine kurze Erörterung, da sie bei näherer Betrachtung auch für das Verständnis der abweichenden

den Verhältnisse bei unseren Proteinionen von Bedeutung sind. Die angeführte Reihenbildung gleichgeladener Nebenionen erfährt eine gewisse Beleuchtung durch die Tatsache, dass die gleiche Folge innerhalb der Metallionen als flockender Gegenionen bei einer grossen Zahl¹⁾ von negativen hydrophoben Solen zu finden ist. Eine ähnliche Reihung wurde von *G. Wiegner*²⁾ und seinem Mitarbeiter *H. Jenny*³⁾ für das Verdrängungsvermögen von Alkali- und Erdalkalitionen gegenüber den am (elektronegativen) Permutit haftenden Metallionen der gleichen Art wiedergefunden. Ebenso wie für negative Sole die Schwellenwerte der Flockung durch weniger hydratisierte Gegenionen kleiner werden, die Anlagerung derselben an die ionogenen aufladenden Komplexe der Kolloidoberfläche somit ausgiebiger erfolgt, werden auch die weniger hydratisierten Metallionen vom Permutit stärker festgehalten. Andererseits verdrängen die letzteren in entsprechend höherem Masse anhaftende stärker hydratisierte Gegenionen aus demselben. Die grössere Hydratationsenergie steht also — durch Begünstigung der Ionenreaktion mit dem Lösungsmittel — der interionischen Wechselwirkung entgegen, welche unter Inaktivierung bis zur Assoziation führt. Die oben beschriebene Ordnung der Kationen bei der Koagulation von Eisenoxysol erscheint nun ganz analog, nur handelt es sich um die interionische Wechselwirkung der verschiedenen positiven Nebenionen mit dem negativen Gegenion des elektropositiven Kolloidions. Sie erfolgt umso energischer, je weniger hydratisiert das positive Nebenion ist. In diesem Sinne kann von einer unterschiedlichen Aktivitätsbeeinflussung der Gegenionen nahe der Kolloidoberfläche gesprochen werden.

In der Tat findet sich auch in einfachen Lösungen von Chloriden, z. B. in 0,1-n.-Konzentration beim Übergang vom Li⁺ zum K⁺ parallel dem Abfall der Hydratationswärme von 112 auf 82 Kcal/g-Ion — als Ausdruck der stärkeren, interionischen Wechselwirkung — eine Abnahme des Aktivitätskoeffizienten γ von 0,776 auf 0,715. Ebenso entspricht dem Übergang von Mg⁺⁺ zu Ba⁺⁺ ein Abfall der Hydratationswärme von 437 auf 297 und des γ von 0,577 auf 0,509.

Die hier gegebene Darstellung verwandter Beziehungen in scheinbar diametral verschiedenen Fällen fusst letztlich auf den seinerzeit⁴⁾ entwickelten allgemeinen Prinzipien der elektrostatischen Gegen- und Nebenionenwirkung, die wir auch im weiteren zu Grundelegen.

Das auffällige Zurücktretten der individuellen Unterschiede in der Nebenionenwirkung auf den Ladungsabfall des Proteinions dürfte eine Erörterung auf Grund der folgenden, in den Erfahrungen wohlbegründeten Sätze zulassen: 1. Die Inaktivierung und Anlagerung der Gegenionen seitens des Kolloidions wird durch deren Aktivität bestimmt. 2. Die wechselnde hemmende Wirkung der Nebenionen erfolgt — entgegen der häufigen Annahme einer allgemeinen Adsorption derselben — indirekt⁵⁾ auf dem Wege der Beeinflussung der Gegenionenaktivität („Entlastungseffekt“). 3. Die Konzentration und die Aktivität der Ionenwolke der nächsten Umgebung der Kolloidteilchen können nicht in der mittleren Konzentration und Aktivität der Lösung einen genügenden Ausdruck finden.

Das Ausmass der Aktivitätsbeeinflussung der Gegenionen durch die anwesenden Nebenionen wird nämlich stark davon abhängen, ob

1) Vgl. Zusammenstellung *Pauli-Valko*, Elektroch. d. Koll. 1929, S. 179.

2) *G. Wiegner*, Koll. Z. **36**, Erg. Bd., 341 (1925).

3) *H. Jenny*, Koll. Beih. **23**, 428 (1927).

4) *Pauli-Valko*, Elektrochemie der Kolloide 1929.

5) Von gelegentlichen spezifisch chemischen Beziehungen wird hier abgesehen.

dieselbe in der dichten Gegenionenwolke nächst der Kolloidoberfläche oder entfernter in einer weniger dichten Ionenatmosphäre stattfindet. Mehrwertige Nebenionen werden bei hoher Feldstärke des Kolloidions durch elektrostatische Abstossung weiter abgedrängt als einwertige. Das würde die Herabsetzung des Aktivitätskoeffizienten, also ihren Entlastungseffekt auf die Gegenionen und damit auf das Kolloidion entsprechend vermindern. Unsere Versuche am positiven Albumin zeigen die η -Wirkung schon kleiner Ladungsabnahme, also bei sehr wenig reduzierter Feldstärke des Kolloidions an, und da die 2-wertigen Nebenionen dabei mehr in dessen weitere Umgebung gedrängt werden, wäre es verständlich, dass unter diesen Umständen ein erheblich stärkerer Entlastungseffekt durch die zweiwertigen, verglichen mit den einwertigen Nebenionen nicht eintritt. Hingegen wäre zu erwarten, dass mit stärkerer Abnahme der freien Ladung und damit der Feldwirkung der Proteinionen infolge steigenden Salzzusatzes zugleich die Nebenionen in die dichteren, im Assoziationsgleichgewicht stehenden Anteile der Gegenionenwolke näher zur Kolloidoberfläche gelangen unter Steigerung ihres Entlastungseffektes. Damit würde der beobachtete Verlauf der Viskosität unseres elektropositiven Albumins bei $MgCl_2$ -Zusatz übereinstimmen, indem in der höchsten untersuchten Salzkonzentration die Viskositätsabnahme für den gleichen Cl' -Gehalt geringer, die Gegenionenaktivität und Anlagerung an das Eiweission also schwächer wird, als bei $NaCl$ (Fig. 3).

Für diesen Fall hätte also eine gewisse Angleichung an die Erfahrungen bei der langsamen Koagulation von anorganischen Kolloiden stattgefunden. Bei derselben wird von vorneherein zwecks Erreichung der Flockung ein genügend hoher Elektrolytgehalt für eine ausgiebige Inaktivierung von Gegenionen durch das Kolloidion zugefügt, welche sich noch zeitlich vervollständigt. Dieser Vorgang sowie die anschliessende von der Diffusionsgeschwindigkeit und Stosszahl abhängige Teilchenaggregation bestimmen die als η -Vermehrung messbare Koagulationsgeschwindigkeit. Der zugehörigen stark herabgesetzten Feldstärke des Kolloidions würde der ausgiebige, mit dem Nebenion so deutlich variable Entlastungseffekt durchaus entsprechen.

Eine gewisse Sonderstellung nehmen jedoch die Erdalkalichloride gegenüber unserem Eiweission ein, die zum Unterschiede von $MgCl_2$ in den erreichten höheren Konzentrationen das einwertige Nebenion (Na') im Entlastungseffekt keinesfalls übertreffen, sondern sogar eine merklich stärkere η -Depression, also Ladungsabnahme des Proteinions hervorrufen (Fig. 3). Als Erklärung dieser gegensinnigen in der Reihe $Ca < Sr < Ba$ erkennbar zunehmenden Abweichung trotz abnehmender, freier Kolloidladung käme vor allem eine merkliche Anlagerung assoziierter Ionenpaare (im Sinne von *N. Bjerrum*¹⁾) der Salze in Frage, die auch in der gleichen Folge begünstigt wird. Das würde eine Art

¹⁾ *N. Bjerrum*, *Ergebn. exakt. Naturw.* 5, 125 (1926).

Doppelsalzbildung von Proteinchlorid und Erdalkalichloriden darstellen, welche eine gewisse Reduktion der angenäherten Nebenionen aber auch eine dichtere Assoziation innerhalb des einzelnen Albuminteilchens bewirken könnte. Diese Doppelsalzbildung wäre am ehesten verwandt mit jener bei Fällung und Auskrystallisation von elektro-positivierten Albuminen mittels Ammoniumsulfat, hingegen schon stärker verschieden von den Pfeiffer'schen Neutralsalzverbindungen¹⁾ der reinen zwitterionischen Aminosäuren. Für eine strengere Begründung unseres Erklärungsversuches der besprochenen Anomalie durch eine Art Doppelhalogenidbildung reicht das zurzeit verfügbare Versuchungsmaterial nicht aus.

Die hier mitgeteilten Beobachtungen lassen durch ihren Ausbau einen näheren Einblick in die elektrische Feldwirkung von Kolloidionen erwarten.

Zusammenfassung,

1. Das mit steigendem HCl-Zusatz zu hochgereinigtem Serumalbumin unter starkem Anstieg der Viskosität gebildete positive Proteinion besitzt im Optimum von η eine Ladungszahl $Lz \sim 80$ je Teilchen und diente den Versuchen zum Studium seiner Feldwirkung.

2. Durch entsprechenden Salzzusatz kommt es mit Abfall der freien Ladung des Albuminions zu einem scheinbaren Absinken der optimalen Viskosität. Dieser η -Abstieg wird zum Unterschied von Erfahrungen über die langsame Koagulation positiver Metall-oxydsole durch Variation der (mit dem Kolloidion gleichsinnigen) Nebenionen, Alkali- und Erdalkalimetallionen, in weitem Konzentrationsbereich nicht erheblich verschieden beeinflusst.

3. Hingegen findet in der Reihe der einwertigen Gegenionen Cl' , CCl_3COO' , SCN' und noch mehr durch das zweiwertige SO_4'' ein stark zunehmender η -Abfall statt. Diesem η -Abfall entspricht ein Absinken der Aktivitätskoeffizienten, die sich aus potentiometrischen Messungen im *Donnan*-Gleichgewicht ableiten liessen.

4. Durch Verwendung einer geeigneten Grundkonzentration $\sim 2 \times 10^{-4}$ -m.-Serumalbumin und einfacher oder niedriger Vielfacher des Grundgehaltes 2×10^{-4} -n.-Salz im η -Optimum liess sich zeigen, dass die durchschnittliche Abnahme der freien Teilchenladung um einen Bruchteil der einfachen Ladung als ausgiebige η -Abnahme des positiven Eiweissions bemerkbar wird. Aus dem relativen Abfall von η mit den verschiedenen Gegenionen konnte, auf diesem Wege erstmalig, eine plausible Schätzung der Aktivitätskoeffizienten der Gegenionen (Cl' und SCN') des Albuminions abgeleitet werden.

5. Die scheinbar abnormale Gleichartigkeit der Nebenionenwirkung liess sich durch die mit der Wertigkeit der Nebenionen zunehmenden Verdrängung derselben aus der nächsten Umgebung des, bei dem gewählten Verfahren, in hoher Feldstärke geprüften Albuminions verstehen.

6. Der η -Abfall im Gegenionen-Überschuss beruht auf mehr oder minder weitgehender Rückbildung von durch den innerionischen Abstossungseffekt aus dem Eiweiss-teilchen gebildetem Lockeraggregat zum ursprünglichen dichteren Assoziat.

7. Die Möglichkeit der Anlagerung von assoziierten Ionenpaaren der Erdalkalichloride an das Proteinchlorid unter Bildung dichter Eiweiss-teilchen erscheint durch den (im Gegensatz zu $MgCl_2$) spezifisch verstärkten η -Abfall in den höheren Salzkonzentrationen nahegelegt.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

¹⁾ P. Pfeiffer, Organische Molekülverbindungen, 2. Aufl. 1927, S. 143.