

Proteinstudien.¹⁾

II. Mitteilung.

Über das Säure- und Basebindungsvermögen des Eieralbumins.

Von

S. P. L. Sørensen.

Unter Mitarbeit von Margrethe Höyrup, Jenny Hempel
und S. Palitzsch.

(Aus dem Carlsberg Laboratorium, Kopenhagen.)

(Der Redaktion zugegangen am 22. Juni 1918.)

Mit 14 Kurvenzeichnungen im Text.

Wie in der Einleitung dieser Studien²⁾ erwähnt ist, betrachten wir eine ammoniumsulfathaltige Eieralbuminlösung als ein zweiphasiges System, in welchem die Ammoniumsulfatlösung das Dispersionsmittel ausmacht, während die disperse Phase aus dem mit mehr oder weniger der Bestandteile des Dispersionsmittels mehr oder weniger locker verbundenen Eieralbumin besteht, welche letztere Phase wir gewöhnlich kurz Eihydrat nennen.

Wenn eine solche Eieralbuminlösung mit kleinen Mengen von Schwefelsäure oder Ammoniak versetzt wird, dann ändert sich nicht nur die Wasserstoffionenkonzentration, sondern auch andere der Eigenschaften der Lösung, z. B. ihre Viscosität und ihr osmotischer Druck. Diese Änderung der Eigenschaften hängt mit der Verteilung der zugefügten Menge Schwefelsäure oder Ammoniak unter den beiden Phasen der Lösung eng zusammen, und eine Untersuchung dieser Verteilung bietet deshalb nicht wenig von Interesse dar.

¹⁾ Wird gleichzeitig in englischer Sprache in den Comptes-Rendus des travaux du Laboratoire de Carlsberg Bd. 12, S. 68 (1917) veröffentlicht.

²⁾ Diese Zeitschrift.

Die gegenwärtige Abhandlung beschäftigt sich mit diesbezüglichen Untersuchungen und bezweckt ganz besonders die Beantwortung der folgenden Fragen:

Ist es möglich, durch Messung der Wasserstoffionenkonzentration einer ammoniumsulfathaltigen Eieralbuminlösung, deren Gehalt an Protein- und Ammoniakstickstoff bekannt ist, 1. die ganze gegenwärtige «überschüssige» Menge von Schwefelsäure oder Ammoniak zu bestimmen und 2. zu bestimmen, wie viel von der «überschüssigen» Menge von Schwefelsäure oder Ammoniak an das Eieralbumin gebunden ist? indem man überall in diesen Abhandlungen durch «überschüssige» Schwefelsäure oder «Überschuß» von Schwefelsäure diejenige Menge Schwefelsäure versteht, welche über die mit dem gegenwärtigen Ammoniak äquivalente Menge hinaus vorhanden ist.

Bei der Behandlung dieser Fragen haben wir das in den Eieralbuminlösungen vorliegende zweiphasige System ganz in derselben Weise wie die gewöhnlichen homogenen Systeme betrachtet, oder anders gesagt, wir haben in ihnen echte Lösungen sehr komplizierter amphoterer Körper gesehen, und wir haben durch vergleichende Untersuchungen von Eieralbuminlösungen einerseits und Lösungen einfacher amphoterer Körper andererseits darzulegen gesucht, daß diese Auffassung jedenfalls nicht ohne Berechtigung ist. Weiter haben wir bei unseren diesbezüglichen Betrachtungen vorausgesetzt, daß die Wasserstoffionenkonzentration einer Ampholytenlösung einzig und allein von der Menge und dem Dissoziationsgrad des mit dem Ampholyten nicht verbundenen Teils der überschüssigen Säure oder Base bestimmt wird. Was das Eieralbumin betrifft, sind wir also davon ausgegangen, daß die Wasserstoffionenkonzentration der Lösung nur von der Zusammensetzung des Dispersionsmittels und nicht von der Konzentration und Zusammensetzung der dispersen Phase abhängig ist. Diese Voraussetzung ist zwar nicht ganz richtig, sie birgt einen Fehler in sich, dessen Art und Bedeutung im folgenden ausführlich auseinandergesetzt sein wird, sie erlaubt uns aber nichtsdestoweniger in den meisten Fällen eine annähernd richtige Beant-

wortung der oben gestellten Fragen zu geben. Diese Beantwortung fußt auf einer Reihe Wasserstoffionenmessungen, die an ammoniumsulfathaltigen Eieralbuminlösungen mit bekannter Zusammensetzung und bekanntem Gehalt an Überschuß von Schwefelsäure oder Ammoniak¹⁾ ausgeführt sind.

Nehmen wir nämlich erstens an, daß von einer solchen Eieralbuminlösung mit bekannter Zusammensetzung 100 ccm z. B. t ccm $n/1000$ überschüssiger Schwefelsäure enthalten, und daß zweitens die Wasserstoffionenmessung der Lösung einen solchen Wert gegeben hat, daß sich auf die im folgenden (Abschnitt A) beschriebene Weise berechnen läßt, daß die Ammoniumsulfatlösung, das Dispersionsmittel, in 100 ccm Versuchsflüssigkeit t' ccm $n/1000$ -Schwefelsäure enthält. Es ist dann ohne weiteres einleuchtend, daß das Eieralbumin, die disperse Phase, in 100 ccm Versuchsflüssigkeit $t \div t'$ ccm $n/1000$ überschüssiger Schwefelsäure gebunden hat. Ist jetzt in 100 ccm Versuchsflüssigkeit e Milligrammäquivalenten Proteinstickstoff vorhanden, dann wird das Säurebindungsvermögen gleich $\frac{t \div t'}{e}$ sein, das ist gleich die pro Milligrammäquivalent Proteinstickstoff gebundene Anzahl ccm $n/1000$ -Schwefelsäure.²⁾

Durch zahlreiche Versuche dieser Art hat es sich jetzt gezeigt, daß das Bindungsvermögen für Schwefelsäure oder Ammoniak, wie es zu erwarten war, sich mit der Wasserstoffionenkonzentration ändert, während es, was man ebenfalls vermuten konnte, gewöhnlich als von der Proteinkonzentration unabhängig zu betrachten ist. Weiter zeigt sich das Bindungsvermögen als in geringerem Maß von der Ammoniumsulfatkonzentration abhängig, was auch gut damit im Einklang steht,

¹⁾ Die Darstellung solcher Lösungen von genau bekannter Zusammensetzung ist in der Abhandlung I (Diese Zeitschr., Bd. 103, S. 16 u. f.) ausführlich beschrieben.

²⁾ Ob das Eieralbumin außer der überschüssigen Schwefelsäure auch noch etwas Ammoniumsulfat gebunden hat, darüber geben die in dieser Abhandlung beschriebenen Versuche keinen Aufschluß; hier handelt es sich lediglich um die gebundene überschüssige Menge von Schwefelsäure oder Ammoniak.

was die Theorie verlangt (s. S. 148). Die Abhängigkeit des Bindungsvermögens von der Konzentration der Wasserstoffionen und von der des Ammoniumsulfats läßt sich in anschaulicher Weise graphisch wiedergeben.

Die solchermaßen erhaltenen Resultate und ganz besonders bequem die graphische Darstellung derselben kann nun bei der Beantwortung der oben gestellten Fragen, womit sich die vorliegende Arbeit beschäftigt, benutzt werden. Liegt nämlich eine ammoniumsulfathaltige Eieralbuminlösung zur Untersuchung vor, deren Gehalt an Protein- und Ammoniumstickstoff bekannt, deren Gehalt an überschüssiger Säure oder Base aber unbekannt ist, dann läßt sich, wenn die Wasserstoffionenkonzentration der Lösung gemessen wird, die an das Protein gebundene Menge überschüssiger Schwefelsäure oder überschüssigen Ammoniaks mittels der genannten graphischen Darstellung bestimmen. Da weiter der Gehalt der Ammoniumsulfatlösung an überschüssiger Säure oder Base sich, wie schon erwähnt (S. 106), wenn die Wasserstoffionenkonzentration bekannt ist, berechnen läßt, so ersieht man, daß alles vorhanden ist, was für die Beantwortung der zwei oben gestellten Fragen notwendig ist.

Im folgenden wird im Abschnitt A erstens die theoretische Grundlage, auf welcher die Berechnung des Gehaltes einer Salzlösung an überschüssiger Säure oder Base mittels der Wasserstoffionenkonzentration der Lösung fußt, auseinandergesetzt werden, und zweitens wird die entwickelte Theorie an denjenigen Salzlösungen, welche uns hier besonders interessieren, nämlich die Ammoniumsulfatlösungen, eine Anwendung finden.

Im Abschnitt B wird die Theorie des Säure- und Basebindungsvermögens der Ampholyten behandelt, und es wird versucht, durch Beispiele zu beweisen, daß es bei Untersuchungen über das Säurebindungsvermögen der Ampholyten innerhalb weiter Grenzen erlaubt ist, wie oben (S. 106) von der Voraussetzung auszugehen, daß die Wasserstoffionenkonzentration der Lösung nur durch die Zusammensetzung des Dispersionsmittels bedingt wird, oder anders gesagt, nur von der

Konzentration und dem Dissoziationsgrad des vom Ampholyten nicht gebundenen Teils der Säure abhängig ist.

Im Abschnitt C wird die Messung der Wasserstoffionen in Eieralbuminlösungen von bekannter Zusammensetzung und mit bekannten überschüssigen Mengen von Schwefelsäure oder Ammoniak behandelt, und die dadurch erhaltenen oben kurz skizzierten Resultate nebst ihrer Anwendung werden Erwähnung finden.

Weiter wird nachgewiesen, daß das Säure- oder Basebindungsvermögen des Eieralbumins sich leicht und ungezwungen erklären läßt, wenn man von denselben Gesichtspunkten ausgeht wie im Abschnitt B für einfach zusammengesetzte Ampholyten.

Schließlich enthält Abschnitt D die Bestimmung des isoelektrischen Punkts mittels des im vorigen Abschnitt gegebenen Versuchsmaterials.

Die Abhandlung schließt mit einer Tabelle (Tab. 32), welche für Ammoniumsulfatlösungen eines gegebenen Gehalts an Ammoniumsulfat, S , in 100 g Wasser, das spezifische Gewicht d_s , die Äquivalentkonzentration c und das Volumen V_s der 100 g Wasser enthaltenden Gewichtsmenge der Lösung wiedergibt. Diese Tabelle, die sowohl in der gegenwärtigen als auch in den folgenden Abhandlungen mehrmals benutzt worden ist, ist auf der Grundlage einiger von den Herren S. Palitzsch und H. Jessen-Hansen ausgeführten Bestimmungen des spezifischen Gewichts von Ammoniumsulfatlösungen, welche in einer späteren Abhandlung neben den Bestimmungen des spezifischen Gewichts von Eieralbuminlösungen Erwähnung finden werden, berechnet worden.

A. Der Zusammenhang zwischen der Wasserstoffionenkonzentration einer Salzlösung und ihrem Gehalt an überschüssiger Säure oder Base.

a) Die theoretische Grundlage der Berechnung.

Eine starke Säure, HAc , kann, wie bekannt, in hinlänglich verdünntem Zustand als vollständig dissoziiert betrachtet werden, sodaß die Konzentration der Wasserstoffionen gleich

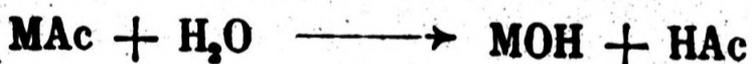
derjenigen der Säure wird. Gibt man dazu ein Salz der Säure mit einer starken Base, MOH, dann wird die Dissoziation der Säure zurückgedrängt werden, und die Wasserstoffionenkonzentration, h , demzufolge nur einen Bruchteil der Säurekonzentration, s , ausmachen:

$$h = \alpha \cdot s \quad (1)$$

Weil der Wert von α , der Dissoziationsgrad der Säure, durch die Konzentration des für Säure und Salz gemeinsamen Anions, $[Ac^-]$ bedingt wird, so wird α konstant sein, wenn die Konzentration des Salzes erstens konstant und zweitens im Vergleich der Säurekonzentration von einer solchen Größe ist, daß die durch die Dissoziation der Säure gebildete Menge Anionen mit Bezug auf die vom Salz herrührenden vernachlässigt werden können. Wird h als Abszisse und s als Ordinaten benutzt, dann repräsentiert die Gleichung (1) eine Gerade durch den O-Punkt.¹⁾

Es ist leicht zu ersehen, daß Salzlösungen mit überschüssiger Base sich in ganz analoger Weise wie die hier und später betrachteten mit überschüssiger Säure behandeln lassen.

Etwas komplizierter wird die Sache, wenn ein Salz der Säure mit einer schwachen Base ins Spiel tritt, dergestalt, daß eine hydrolytische Spaltung des Salzes:



für die Größe der Wasserstoffionenkonzentration von Bedeutung wird.

¹⁾ Für $s = 0$ gibt Formel (1) $h = 0$, was mit der wirklichen Sachlage nicht übereinstimmt, da die Konzentration der Wasserstoffionen in einer wässrigen Lösung niemals 0 werden kann. Diese Unstimmigkeit rührt davon her, daß die Formel (1) die von der Dissoziation des Wassers stammenden Wasserstoffionen unberücksichtigt läßt. Da aber die von dieser Quelle fließende Wasserstoffionenkonzentration höchstens der Hydroxylionenkonzentration der Lösung gleich sein kann, und diese selbst bei einer so niedrigen Wasserstoffionenkonzentration wie 10^{-6} , noch nicht

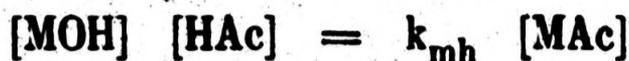
1% der gesamten Wasserstoffionenkonzentration ausmacht, $[OH^-] = \frac{kw}{[H^+]}$

$= \frac{0,72 \cdot 10^{-14}}{10^{-6}} = 0,72 \cdot 10^{-8}$, so wird die hier erwähnte Fehlerquelle für Wasserstoffionenkonzentrationen von der Größenordnung 10^{-6} und darüber ohne Belang sein.

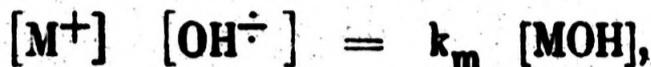
Nennt man die Dissoziationskonstante der schwachen Base k_m , die Hydrolysenkonstante des Salzes k_{mh} , dann hat man unter gewissen Voraussetzungen:

$$k_{mh} = \frac{k_w}{k_m}.$$

Kombiniert man nämlich die der Hydrolyse entsprechende Gleichung:



mit der Gleichung der elektrolytischen Dissoziation der schwachen Base:



dann hat man:

$$k_{mh} = \frac{[\text{M}^+] [\text{OH}^-] [\text{HAc}]}{k_m [\text{MAc}]} \quad (2)$$

Wenn man jetzt annimmt, daß HAc und MAc gleich stark dissoziiert sind, dermaßen, daß man $[\text{HAc}] = r [\text{H}^+]$ und $[\text{MAc}] = r [\text{M}^+]$ setzen kann, dann wird die Gleichung (2) in die folgende übergehen:

$$k_{mh} = \frac{[\text{M}^+] [\text{OH}^-] r [\text{H}^+]}{k_m r [\text{M}^+]} = \frac{k_w}{k_m}$$

Dieser Ausdruck für k_{mh} , welcher gewöhnlich benutzt wird, ist indessen nicht ganz richtig, weil die oben genannte Annahme nicht einmal dann korrekt ist, wenn es sich um eine der stärksten Säuren handelt, und bei mittelstarken oder schwachen Säuren darf man gar nicht mit demselben Dissoziationsgrad für Säure und Salz rechnen. Wir wollen hier den Dissoziationsgrad der Säure gleich α , den des Salzes gleich β , die Äquivalentkonzentration des letzteren gleich c , und die Konzentration der durch die Hydrolyse gebildeten Säure, sowohl der dissoziierten als auch der undissoziierten gleich x setzen. Die Gleichung (2) bekommt dann folgende Gestalt:

$$k_{mh} = \frac{[\text{M}^+] [\text{OH}^-] x (1 \div \alpha)}{k_m \cdot c (1 \div \beta)}$$

Da nun $[\text{H}^+] = x \cdot \alpha$ und $[\text{M}^+] = c \cdot \beta$, so wird

$$k_{mh} = \frac{c \cdot \beta \cdot [\text{OH}^-] [\text{H}^+] (1 \div \alpha)}{k_m \cdot c \cdot \alpha (1 \div \beta)} = \frac{k_w \cdot \beta (1 \div \alpha)}{k_m \cdot \alpha (1 \div \beta)} \quad (3)$$

Die Hydrolysenkonstante wird somit abhängig nicht nur von der Dissoziationskonstante der schwachen Base (k_m), sondern außerdem sowohl von dem Dissoziationsgrad der Säure als auch von dem des Salzes, oder mit anderen Worten von der Art der Säure und von der Salzkonzentration.

Wir werden jetzt berechnen, welche Konzentration, x , der durch Hydrolyse freigemachten Säure zukommt in einer Lösung

des Salzes MAc , wenn die Säure HAc wesentlich stärker als die Base MOH ist, und wenn so viel freie Säure an die Salzlösung gefügt ist, daß die Konzentration der überschüssigen Säure gleich s ist. Wir rechnen damit, daß die abhydrolysierte Base, deren Konzentration natürlich auch x ist, gar nicht dissoziiert ist, während der Dissoziationsgrad der Säure wie oben gleich α , der des Salzes gleich β und die Salzkonzentration gleich c sind.

Die Hydrolysegleichung:

$$[\text{MOH}] [\text{HAc}] = k_{\text{mh}} [\text{MAc}]$$

kann dann wie folgt geschrieben werden:

$$x (x + s) (1 \div \alpha) = k_{\text{mh}} \cdot c (1 \div \beta).$$

Hieraus bekommt man:

$$x = \div \frac{s}{2} \pm \sqrt{\frac{s^2}{4} + k_{\text{mh}} \cdot c \frac{(1 \div \beta)}{(1 \div \alpha)}}$$

Benutzt man den Wert des k_{mh} aus Gleichung (3), bekommt man:

$$x = \div \frac{s}{2} \pm \sqrt{\frac{s^2}{4} + c \frac{k_w \cdot \beta}{k_m \cdot \alpha}} \quad (4)$$

Ist die Salzlösung nicht mit Säure, dagegen aber mit etwas von der schwachen Base (z. B. mit der Konzentration m) versetzt worden, dann wird sich die Berechnung der Konzentration x der durch Hydrolyse freigemachten Säure ganz analog stellen, indem die Gleichgewichtsbedingung der Hydrolyse auch in diesem Falle durch die Gleichung

$$[\text{MOH}] [\text{HAc}] = k_{\text{mh}} [\text{MAc}]$$

$$o : (m + x) \cdot x (1 \div \alpha) = k_{\text{mh}} \cdot c (1 \div \beta),$$

ausgedrückt ist, und diese Gleichung wird einen Ausdruck für x geben, welcher ganz mit der Gleichung (4) übereinstimmt, indem nur s mit m vertauscht ist.

Aus (4) erhellt es (nur der positive Wert der Quadratwurzel ist zu gebrauchen, weil x nur dann einen positiven Wert bekommt), daß für $c = 0$ $x = 0$ wird, was sich übrigens von selbst ergibt. Für einen konstanten Wert von c ist auch die Größe $c \frac{k_w \cdot \beta}{k_m \cdot \alpha}$ konstant, und es ist unmittelbar einleucht-

tend, daß diese, im Verhältnis zu $\frac{s^2}{4}$, um so größere Bedeutung erhält, je kleiner $\frac{s^2}{4}$ ist. Für einen gegebenen c wird x deshalb desto größer werden, je kleiner s (oder m) ist, und seinen größten Wert (x_{\max}) erhalten für s (oder m) gleich 0:

$$x_{\max} = \sqrt{c \cdot \frac{k_w \cdot \beta}{k_m \cdot \alpha}} \quad (5)$$

Wenn k_m , k_w , c , β und α bekannt sind, kann man somit x für irgend welchen Wert von s oder m berechnen, und selbst wenn man die genannten Größen nur mit Annäherung kennt, was oft der Fall sein wird, besonders was β anbelangt, ist es möglich, einen brauchbaren Wert für x schätzungsweise zu erhalten.

Beispiele solcher Berechnungen finden sich im folgenden (S. 119).

Kehren wir jetzt zur Gleichung (1)

$$h = \alpha \cdot s$$

zurück, dann sehen wir, daß im hier behandelten Fall — Salz der Säure mit einer schwachen Base — diese Gleichung in die folgende umgeändert werden muß:

$$h = \alpha (s + x) \quad (6)$$

und nur wenn x verschwindend klein ist s gegenüber, wird Gleichung (6) mit (1) identisch.

Liegt jetzt die Aufgabe vor, α mittels Wasserstoffionenmessungen von Lösungen des Salzes mit bekannten Mengen überschüssiger Säure zu bestimmen, dann kann man erst einen annäherungsweise richtigen Wert erhalten, indem man bei der Berechnung nur diejenigen Versuche benutzt, in welchen die Säuremenge so groß ist, daß x im Vergleich mit s verschwindend ist, um hiernach diesen Näherungswert des α bei der Berechnung von x zu verwenden. Wird x in dieser Weise berechnet, lassen sich natürlich, rein theoretisch genommen, alle Messungen bei der endgültigen Berechnung von α verwerten, auch solche mit $s = 0$, oder solche, wo keine Säure, aber

wohl Base zur Salzlösung zugegeben ist, indem die Gleichung

$$h = \alpha (s + x)$$

in diesem Falle in

$$h = \alpha \cdot x$$

reduziert wird.

Es wird doch nicht zweckdienlich sein, Messungen von Versuchsmischungen, welche überschüssige Base enthalten, den gleichen Wert wie den übrigen Messungen beizulegen, weil die Wasserstoffionenkonzentration hier lediglich durch die abhydrolysierte, oft ganz kleine, Säuremenge bedingt wird. Vom theoretischen Gesichtspunkte aus müssen indessen, wie schon gesagt, sämtliche Messungen benutzt werden können bei der Berechnung von α mittels der Formel

$$h = \alpha (s + x),$$

und die oben (s. S. 109) erwähnte graphische Darstellung muß auch in diesem Fall eine Gerade durch den 0-Punkt geben, wenn h als Abszisse und $s + x$ als Ordinate dienen.

Statt α benutzen wir oft den reziproken Wert dieser Größe; wir bezeichnen $\frac{1}{\alpha}$ mit f_s , welcher der Säurefaktor genannt wird, indem f_s derjenige Faktor ist, mit welchem die Wasserstoffionenkonzentration zu multiplizieren ist, um $(s + x)$, die ganze in der Auflösung gegenwärtige Säuremenge, sowohl die zugesetzte als auch die durch Hydrolyse abgespaltete, zu bekommen.

Bisher ist die Rede davon gewesen, mittels Wasserstoffionenmessungen die den gegebenen Werten der Salzkonzentration, c , entsprechenden Werte von α oder f_s zu ermitteln. Ist aber α oder f_s bekannt, kann indessen die Aufgabe auch die entgegengesetzte sein: die gesamte Säurekonzentration $(s + x)$ einer Lösung durch Wasserstoffionenmessung zu bestimmen, um dadurch und durch Anwendung der Gleichung (4) die überschüssige Säurekonzentration s , d. h. diejenige Säurekonzentration, welche in der Lösung über die mit der Basekonzentration äquivalente Säurekonzentration vorhanden ist, zu ermitteln.

Die Berechnung ist dann die folgende: Aus

$$s + x = h \cdot f_s$$

nebst Gleichung (4)

$$x = \div \frac{s}{2} \pm \sqrt{\frac{s^2}{4} + c \frac{k_w \cdot \beta}{k_m \cdot \alpha}}$$

bekommt man, mittels Elimination von x :

$$s = h \cdot f_s \div \frac{c \cdot \frac{k_w \cdot \beta}{k_m \cdot \alpha}}{h \cdot f_s} = h \cdot f_s \div \frac{(x_{\max})^2}{h \cdot f_s} \quad (7)$$

Schreibt man (7) folgenderweise:

$$s = h \cdot f_s \left(1 \div \left(\frac{x_{\max}}{h \cdot f_s} \right)^2 \right),$$

erhellet es, daß $x_{\max} < h \cdot f_s$, ein positives s gibt. Ist $x_{\max} = h \cdot f_s$, wird $s = 0$, das heißt, in der Lösung sind Säure und Base in äquivalenten Mengen vorhanden, und ist schließlich $x_{\max} > h \cdot f_s$, wird s negativ, das ist: die Lösung enthält überschüssige Base. Dies letzte Resultat läßt sich natürlich auch herleiten aus den Gleichungen, welche für Lösungen mit überschüssiger Base gelten:

$$x = h \cdot f_s \text{ und } x = \div \frac{m}{2} + \sqrt{\frac{m^2}{4} + c \frac{k_w \cdot \beta}{k_m \cdot \alpha}}$$

Aus diesen beiden Gleichungen bekommt man wie oben:

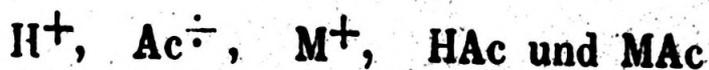
$$m = \div h \cdot f_s \pm \frac{(x_{\max})^2}{h \cdot f_s} = \div h \cdot f_s \left(1 \div \left(\frac{x_{\max}}{h \cdot f_s} \right)^2 \right)$$

Die oben angeführten theoretischen Betrachtungen gelten für eine einbasische Säure und wären z. B. auf Ammoniumchloridlösungen mit oder ohne Überschuß von Salzsäure oder Ammoniak ausgezeichnet anwendbar. Bei unseren Proteinstudien haben indessen Ammoniumsulfatlösungen eine weit hervorragendere Rolle gespielt, und wir werden jetzt versuchen die oben entwickelte Theorie solchen Lösungen gegenüber zu benutzen.

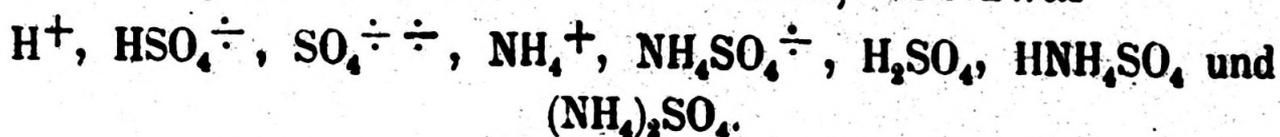
Wenn es sich um Mischungen handelt, in welchen die Menge der Schwefelsäure, der Menge des Ammoniumsulfats gegenüber, klein ist, kann man annehmen, daß

die Säure lediglich als saures Salz, $\text{H}\text{N}\text{H}_4\text{SO}_4$, vorhanden ist, und im großen und ganzen wird man dann dieselben Betrachtungen über diese Säure $\text{H}(\text{NH}_4\text{SO}_4)$ geltend machen können, wie oben über die Säure HAc .

Hierbei ist es doch zu erinnern, daß, während Gemische von der Säure HAc und deren Salz MAc , nur die folgenden Ionen und undissoziierten Verbindungen



geben können, so werden in Gemischen von Schwefelsäure und Ammoniumsulfat eine größere Anzahl Ionen und undissoziierter Körper vorhanden sein können, und zwar



Es macht indessen keine Schwierigkeit zu zeigen, daß die oben gegebene Regel, laut welcher die Säurekonzentration, s , das Produkt der Wasserstoffionenkonzentration, h , und einer von der Ammoniumsulfatkonzentration, c , abhängigen, übrigens aber konstanten Größe, f_s , ist, auch in diesem Falle seine Gültigkeit behält.

Vorläufig sehen wir von einer möglichen Hydrolyse des Ammoniumsulfats ab und setzen voraus, daß die Konzentration dieses letzteren s gegenüber so groß ist, daß die Konzentration der Ionen $\text{NH}_4\text{SO}_4^{\div}$ und $\text{SO}_4^{\div\div}$ lediglich von der Ammoniumsulfatkonzentration, c , abhängt und deshalb, wenn c konstant ist, nicht mit s variiert.

Rechnen wir jetzt mit Äquivalentkonzentrationen, dann haben wir:

$$s = [\text{H}^+] + [\text{HSO}_4^{\div}] + [\text{H}_2\text{SO}_4] + [\text{H}\text{N}\text{H}_4\text{SO}_4]$$

Nennen wir weiter die beiden Dissoziationskonstanten der Schwefelsäure k' und k'' , so ist

$$[\text{HSO}_4^{\div}] = \frac{[\text{H}^+] [\text{SO}_4^{\div\div}]}{k''}$$

$$[\text{H}_2\text{SO}_4] = \frac{[\text{H}^+] [\text{HSO}_4^{\div}]}{k'} = \frac{[\text{H}^+]^2 [\text{SO}_4^{\div\div}]}{k' \cdot k''}$$

und

$$[\text{H}\text{N}\text{H}_4\text{SO}_4] = \frac{[\text{H}^+] [\text{NH}_4\text{SO}_4^{\div}]}{k''}$$

Führen wir diese Werte in die obenstehende Gleichung ein und schreiben wir h für $[H^+]$, dann bekommen wir:

$$s = h + h \frac{[SO_4^{\div\div}]}{k''} + h^2 \frac{[SO_4^{\div\div}]}{k' k''} + h \frac{[NH_4SO_4^{\div}]}{k, '},$$

$$s = h \left(1 + \frac{[SO_4^{\div\div}]}{k''} \left(1 + \frac{h}{k'} \right) + \frac{[NH_4SO_4^{\div}]}{k, ''} \right).$$

Bei solchen Werten von s , wie die hier in Rede stehenden, wird h immer kleiner als 10^{-4} sein und da k' etwa $4 \cdot 5 \times 10^{-1}$ ist,¹⁾ so wird $\frac{h}{k'}$ im Vergleich mit 1 vernachlässigt werden können, dermaßen, daß die Gleichung in

$$s = h \left(1 + \frac{[SO_4^{\div\div}]}{k''} + \frac{[NH_4SO_4^{\div}]}{k, ''} \right)$$

reduziert wird.

Die Größe in der Parenthese ist indessen unter den gegebenen Voraussetzungen konstant, wenn c konstant gehalten wird, d. h. die Gleichung

$$s = h \cdot f_s$$

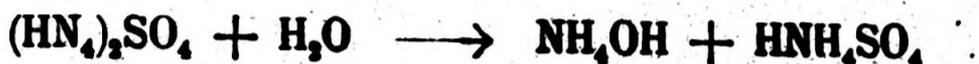
besteht auch in diesem Falle.

Übrigens ist zu bemerken, daß die Größe, welche bei der obigen Berechnung als zu vernachlässigen betrachtet wurde, der Konzentration der undissoziierten Schwefelsäure, H_2SO_4 , entspricht. Demgemäß kann man bei Lösungen wie der hier betrachteten von einem Gehalt an undissoziierter Schwefelsäure absehen, was wieder bedeutet, daß Gemische von Ammoniumsulfat und verhältnismäßig kleinen Mengen Schwefelsäure sich wie Gemische von Ammoniumsulfat und saurem Ammoniumsulfat verhalten; ein solches Gemisch kann direkt alle diejenigen Ionen und undissoziierten Körper geben, welche S. 115 aufgeführt sind, H_2SO_4 eben ausgenommen.

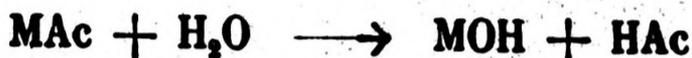
Betreffs der Frage nach der Bedeutung der Hydrolyse des Ammoniumsulfats muß man sich erinnern, daß dieselbe nur in dem Fall eine Rolle spielt, wo man es mit sehr säure-

¹⁾ Karl Jellinek, Zeitschr. f. physik. Chemie, Bd. 76, S. 331 (1911).

armen Lösungen zu tun hat, deren Wasserstoffionenkonzentration weit geringer als die obengenannte Größe 10^{-4} ist. Meßbare Mengen H_2SO_4 können deshalb nicht durch die Hydrolyse gebildet werden, dieselbe erreicht nur die erste Stufe:



welche ganz dem oben erwähnten allgemeinen Hydrolysenschema



entspricht, und in derselben Weise behandelt werden kann.

Macht man eine ganz ähnliche Berechnung wie die oben (S. 111) wiedergegebene durch, so wird man, wenn c die Äquivalentkonzentration des Ammoniumsulfats ist, und β_1 und β_2 die Dissoziationsgrade für die Abdissoziation bzw. der ersten und der zweiten Ammoniumgruppe des Ammoniumsulfats bezeichnen, den folgenden Ausdruck finden:

$$x = \frac{s}{2} + \sqrt{\frac{s^2}{4} + c \frac{k_w \frac{\beta_1}{2} (1 + \beta_2)}{k_m \cdot \alpha}}$$

setzen wir hier $\frac{\beta_1}{2} (1 + \beta_2) = \beta$, so wird der Ausdruck mit dem oben gefundenen (Gleichung 4) identisch.

Man kann somit, wenn c , k_w , k_m , α und β bekannt sind, die Gleichung (4) zur Berechnung von x für einen gegebenen Wert des s benutzen, ganz wie die Gleichung (7)

$$s = h \cdot f_s \div \frac{(x_{\text{max}})^2}{h \cdot f_s}$$

zur Berechnung von s dienen kann, wenn die übrigen Größen bekannt sind oder gemessen werden.

Die obengenannten «bekannt» Größen betreffend, so bedeutet c , wie schon gesagt, die Äquivalentkonzentration des Ammoniumsulfats, k_w wird gleich $0,72 \times 10^{-14}$ (18°)¹⁾ gesetzt und k_m gleich $1,75 \cdot 10^{-5}$ (18°);²⁾ f_s kann für einen will-

¹⁾ Comptes-Rendus du Laboratoire de Carlsberg, Bd. 8, S. 32 (1909).

²⁾ H. Lundén, Meddelanden från K. Vetensk.-Akad. Nobelinstitut Bd. 1, Nr. 8, S. 5 (1907). A. A. Noyes, Yogoro Kato und R. B. Sosman, Zeitschr. f. physik. Chemie, Bd. 73, S. 7 (1910).

kürlichen Wert von c an der im experimentellen Teil wiedergegebenen Kurve (Fig. 4, S. 128) abgelesen werden und α ist gleich $\frac{1}{f_s}$. Bevor diese Kurve aber konstruiert war, waren wir indessen in der Lage, wie früher beschrieben (S. 112) auf einem anderen Wege uns einen annäherungsweise richtigen Wert von α zu verschaffen.

Betreffs β , von dessen Variation mit der Ammoniumsulfatkonzentration nur wenig bekannt ist, ist die Angelegenheit verwickelter. erinnert man sich indessen, daß die Dissoziation des Ammoniumchlorids und die des Kaliumchlorids mit der Konzentration ganz analog variieren, so liegt die Annahme nahe, daß die Dissoziation des Ammoniumsulfats in einer eben solchen Abhängigkeit zur Konzentration stehen wird wie die des Kaliumsulfats. Wir haben dann die von Winston und Clover¹⁾ neben den von Kohlrausch und Klein²⁾ ausgeführten Leitfähigkeitsbestimmungen beziehungsweise von schwachen und starken Ammoniumsulfatlösungen mit den vorliegenden Leitfähigkeitsbestimmungen von Kaliumsulfat verglichen, uns dadurch eine Schätzung über die Variation der Leitfähigkeit der Ammoniumsulfatlösungen mit der Konzentration gebildet, und von da aus die Variationen von β eingeschätzt. Bei dieser Schätzung ist es Voraussetzung gewesen, daß die Dissoziation der zweiten Ammoniumgruppe erst nach vollständiger Abspaltung der ersten anfängt. Wir sind uns sehr wohl bewußt, daß die solcherweise erhaltenen Werte von β unsicher sind, sie erlauben aber doch, wie es die im experimentellen Teil aufgeführten Beispiele dartun, eine brauchbare Berechnung des x .

In der folgenden Tabelle 7 findet man eine Übersicht über die bei der Berechnung benutzten Werte von f_s , β und $\frac{\beta}{\alpha}$ für verschiedene Werte von c .

¹⁾ Harry C. Jones, The electrical conductivity, dissociation, and temperature coefficients of conductivity, Washington 1912, S. 33.

²⁾ Siehe Kohlrausch und Holborn, Das Leitvermögen der Electrolyte, Leipzig 1898, S. 151.

Tabelle 7.

c	f_s ¹⁾	β	$\frac{\beta}{\alpha} = \beta \cdot f_s$
0,01	1,40	ca. 0,70	ca. 0,98
0,02	1,65	› 0,61	› 1,01
0,05	2,30	› 0,49	› 1,13
0,1	2,72	› 0,46	› 1,25
0,2	3,50	› 0,42	› 1,47
0,5	5,02	› 0,37	› 1,86
1	6,70	› 0,33	› 2,21
2	9,44	› 0,29	› 2,74
3	11,87	› 0,27	› 3,20
4	13,87	› 0,25	› 3,47
5	15,40	› 0,23	› 3,54

Um die Bedeutung der Hydrolyse und ihre Abhängigkeit von der Ammoniumsulfatkonzentration c näher zu beleuchten, haben wir in der untenstehenden Tabelle 8 die berechneten Werte von x bei verschiedenen Werten von s und bei drei verschiedenen Ammoniumsulfatkonzentrationen zusammengestellt.

Tabelle 8.

Überschüssige Säureäquivalentkonzentration, s $s \cdot 10^6$	Die bei der Hydrolyse gebildete Säureäquivalentkonzentration, x $x \cdot 10^6$	x in % von s	Die aus der Formel $h = \frac{s + x}{f_s}$ berechnete Wasserstoffionenkonzentration, h $h \cdot 10^6$
$c = 4,0; f_s = 13,87; c \frac{k_w \cdot \beta}{k_m \cdot \alpha} = 5705 \cdot 10^{-12}$			
1000	5,67	0,57	72,51
500	11,16	2,23	36,85
200	25,32	12,66	16,25
100	40,58	40,58	10,14
50	54,56	109,12	7,54
0	75,53	—	5,45

¹⁾ Die Werte des f_s sind mittels der Kurve Figur 4, S. 128, gefunden worden.

Tabelle 8 (Fortsetzung).

Überschüssige Säureäquivalent- konzentration, s $s \cdot 10^6$	Die bei der Hydrolyse gebil- dete Säureäqui- valentkonzent- ration, x $x \cdot 10^6$	x in % von s	Die aus der Formel $h = \frac{s + x}{f_s}$ berechnete Wasser- stoffionenkonzen- tration, h $h \cdot 10^6$
---	---	--------------------	--

$$c = 1,0; f_s = 6,70; c \frac{k_w \cdot \beta}{k_m \cdot \alpha} = 908 \cdot 10^{-12}$$

500	1,81	0,36	74,90
300	3,00	1,00	45,22
200	4,44	2,22	30,51
100	8,38	8,38	16,18
50	14,15	28,30	9,57
0	30,13	—	4,50

$$c = 0,1; f_s = 2,72; c \frac{k_w \cdot \beta}{k_m \cdot \alpha} = 51 \cdot 10^{-12}$$

200	0,26	0,13	73,62
100	0,51	0,51	36,95
50	1,00	2,00	18,75
20	2,29	11,45	8,19
0	7,14	—	2,62

b) Experimenteller Abschnitt: Bestimmung des Säurefaktors f_s .

Mißt man die Wasserstoffionenkonzentration, h , einer Reihe Ammoniumsulfatlösungen von derselben Konzentration, c , an welche aber verschiedene Mengen verdünnter Schwefelsäure gefügt worden sind, dann wird, wie oben (S. 115) näher entwickelt, die graphische Darstellung der Versuchsergebnisse eine Gerade durch den Anfangspunkt sein, wenn man die zugegebene Menge Schwefelsäure — z. B. in ccm $n/1000$ -Säure ausgedrückt — als Ordinaten, und die entsprechenden Werte von h als Abszissen benutzt, und wenn eine so große Säurekonzentration vorausgesetzt wird, daß die Hydrolyse des Salzes keine Rolle spielt.

Bei der Ausführung solcher Versuchsreihen hat es sich nun gezeigt, daß die Gerade, welche die Versuchsergebnisse

graphisch darstellt, gewöhnlich nicht durch den Anfangspunkt geht. Die Ursache dieser Erscheinung liegt in dem Ammoniumsulfat. Dasselbe enthält nämlich fast nie Ammoniak und Schwefelsäure in absolut äquivalenten Mengen, dagegen aber gewöhnlich einen kleinen Überschuß eines der Bestandteile, welcher zumeist doch nicht mehr als $1/50\,000$ der ganzen Menge ausmacht. Dieser kleine Überschuß, dessen Art und Menge von der Darstellungsweise des Ammoniumsulfats abhängt, ist jedoch hinlänglich, um die Lage der erwähnten Gerade zu verschieben, und es leuchtet unmittelbar ein, daß ein Gehalt von a ccm $n/1000$ überschüssigem Ammoniak in den beim Versuch angewandten Mengen Ammoniumsulfatlösung eine Parallelverschiebung der Gerade zur Folge haben muß, derart, daß der Schnittpunkt mit der Ordinatenachse bei $+a$ zu liegen kommt, während umgekehrt ein Gehalt von a ccm $n/1000$ -Schwefelsäure den Schnittpunkt $-a$ mit der Ordinatenachse gibt.

Der Schnittpunkt der Gerade mit der Ordinatenachse gibt somit die in der beim Versuch angewandten Menge Ammoniumsulfatlösung anwesende Menge überschüssiger Säure oder Base unmittelbar an. Selbstverständlich ist diese Menge mitzunehmen bei der Berechnung von f_s , welches ja — wie schon gesagt (S. 113) — denjenigen Faktor bedeutet, mit welchem man die Wasserstoffionenkonzentration h multiplizieren muß, um die Säurekonzentration, s , zu erhalten. Wie oben (S. 112) auseinandergesetzt, kann man bei dieser Berechnung schlechthin die Gleichung

$$f_s = \frac{s}{h}$$

benutzen, wenn man nur bei der Berechnung lediglich Versuche mit einer so großen Säurekonzentration, daß die Hydrolyse vernachlässigt werden kann, benutzt. Sollen auch Messungen von säureärmeren Lösungen bei der Berechnung mitgenommen werden, dann wird es notwendig sein, die bei der Hydrolyse gebildete Säurekonzentration x zu berücksichtigen, wo x aus der Gleichung

$$x = \frac{s}{2} + \sqrt{\frac{s^2}{4} + c \frac{k_w \cdot \beta}{k_m \cdot \alpha}}$$

gefunden werden kann und danach f_s aus

$$f_s = \frac{s + x}{h}$$

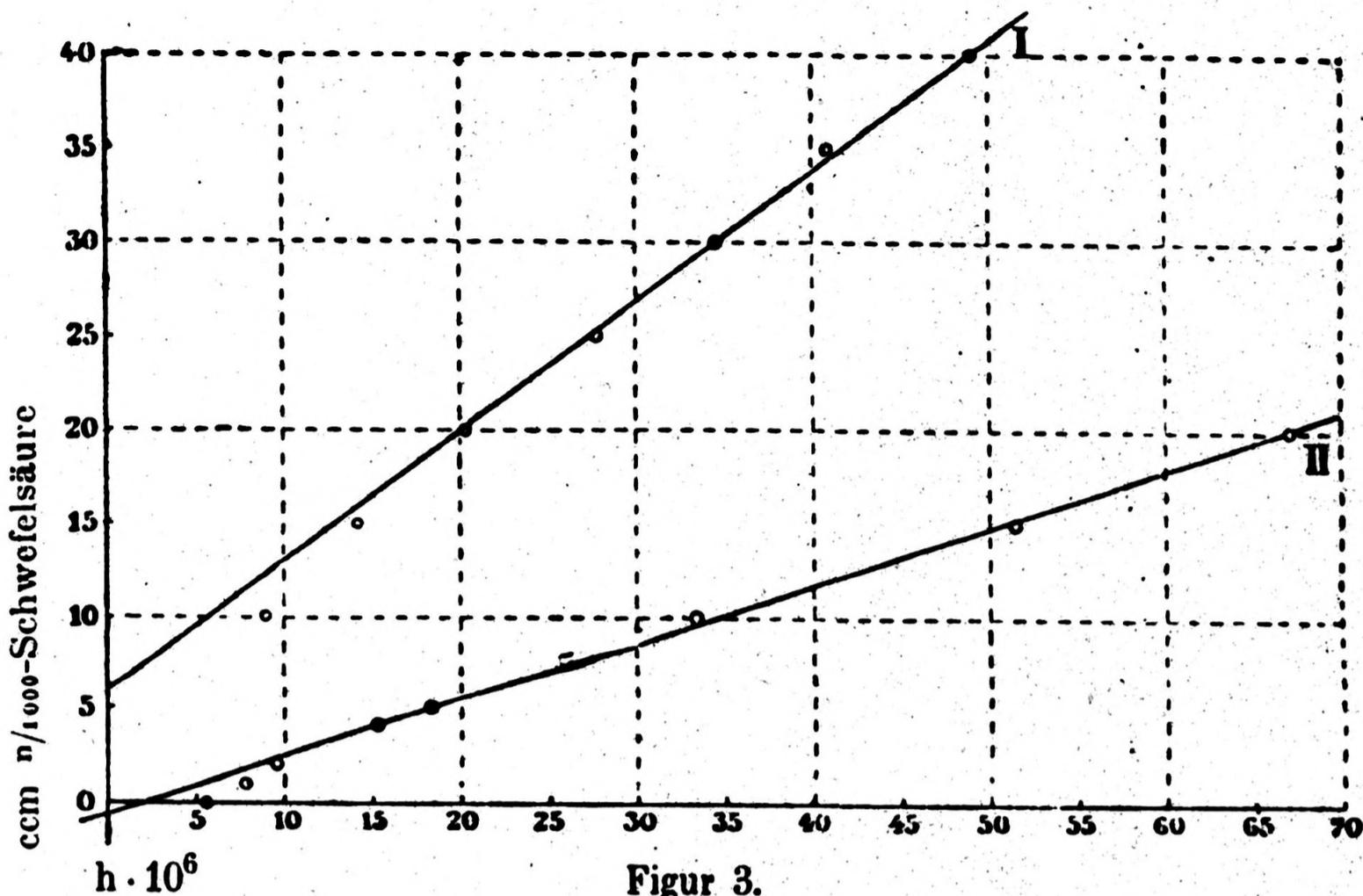
Wir haben immer bei unseren Versuchen zur Bestimmung von f_s die Hydrolyse in die Berechnung mit hineingezogen, indem wir, wie aus der weiter unten mitgeteilten eingehenden Beschreibung einiger Versuchsreihen hervorgeht, bei der graphischen Darstellung die Lage der Gerade und dadurch der ursprüngliche Gehalt der Ammoniumsulfatlösung an überschüssiger Säure oder Base selbstverständlich nur aus den Versuchen mit den säurereichsten Gemischen hergeleitet haben. Bei der späteren Berechnung von f_s haben wir indessen unter Rücksichtnahme der Hydrolyse auch die durch säureärmere Gemische erhaltenen Resultate mit in Betracht gezogen. Es folgt deshalb von selbst, daß wir bei anderen Messungen, wo wir, um s zu bestimmen, f_s als bekannt betrachtet und h gemessen haben, ebenfalls die Hydrolyse zu berücksichtigen genötigt gewesen sind.

Tabelle 9.

Jede Versuchslüssigkeit wurde aus 30 ccm 7,116 n-Ammoniumsulfatlösung (V) dargestellt, die mit Wasser und Schwefelsäure auf 50 ccm aufgefüllt wurde; Ammoniumsulfatkonzentration, $c = \frac{3}{5} \cdot 7,116 = 4,27$ n.

Graphisch (siehe Fig. 3) wurde gefunden, daß die benutzten 30 ccm Ammoniumsulfatlösung 6 ccm $n/1000$ überschüssiges Ammoniak enthielten.

Die zuge- setzte Menge Schwefel- säure ccm	Die ge- messene Wasser- stoffionen- konzent- ration, h $h \cdot 10^6$	Über- schüssige Schwefel- säure- äqui- valentkon- zentrat., s $s \cdot 10^6$	$\frac{s}{h}$	Die durch Hydrolyse gebildete Schwefel- säureäqui- valentkon- zentrat., x $x \cdot 10^6$	$f_s = \frac{s + x}{h}$
10 $n/1000$	9,04	80	8,85	47,3	14,08
15	14,18	180	12,69	28,8	14,72
20	20,28	280	13,81	20,1	14,80
2,5 $n/100$	27,73	380	13,70	15,2	14,25
3	34,56	480	13,89	12,2	14,24
3,5	40,98	580	14,15	10,2	14,40
4	49,04	680	13,87	8,7	14,04
Mittel:					14,36



Figur 3.

Bei der Versuchsreihe, deren Resultate in der Tabelle 9 zusammengestellt sind, wurden in jedem Versuch 30 ccm Ammoniumsulfatlösung mit den im ersten Stab der Tabelle aufgeführten Mengen Schwefelsäure und mit Wasser bis zu 50 ccm verdünnt. Die Wasserstoffionenkonzentration wurde mittels drei verschiedener Elektroden gemessen; das Mittel der gefundenen Werte von h findet sich im zweiten Stab der Tabelle. Benutzt man jetzt die Zahlen des ersten Stabes als Ordinaten, und die des zweiten als Abszissen, dann kann man, wie es in der Figur 3 gemacht ist, durch die den säurereichsten Mischungen entsprechenden Punkte eine Gerade ziehen (auf der Figur mit I bezeichnet), welche die Ordinatenachse im Punkte $+ 6,0$ schneidet, woraus zu schließen ist, daß die bei jedem Versuche angewandten 30 ccm Ammoniumsulfatlösung 6 ccm $n/1000$ überschüssiges Ammoniak enthalten. Weiter zeigt die Figur, daß die den säureärmsten Flüssigkeiten entsprechenden Punkte unterhalb der Geraden fallen, indem h wegen der bei den mit abnehmenden Säuremengen wachsenden Hydrolyse gebildeten Schwefelsäure einen zu hohen Wert annimmt.

Mit Berücksichtigung der in der Ammoniumsulfatlösung gegenwärtigen 6 ccm $n/1000$ überschüssigen Ammoniaks läßt sich

jetzt die wirkliche, überschüssige Säurekonzentration, s , der Versuchsflüssigkeiten ausrechnen, dieselbe ist im dritten Stabe der Tabelle mitgeteilt. Im vierten Stabe findet man diejenigen Werte von f_s , welche man durch Division von s durch h bekommt, und man sieht, daß diese die Hydrolyse vernachlässigende Rechnungsweise für die säurearmen Versuchsflüssigkeiten viel zu kleine, während sie auf den säurereichen Mischungen angewandt sehr nahe richtige Werte von f_s liefert.

Bei der Berechnung von x , der Konzentration der bei der Hydrolyse freigemachten Säure, wurde die Gleichung:

$$x = \frac{s}{2} + \sqrt{\frac{s^2}{4} + c \cdot \frac{k_w \cdot \beta}{k_m \cdot \alpha}}$$

angewandt, und $c \cdot \frac{k_w}{k_m} \cdot \frac{\beta}{\alpha}$ gleich $6023 \cdot 10^{-12}$ gesetzt, indem für $\frac{1}{\alpha} = f_s$ der Wert $14,3^1)$ und für β der Wert $0,24$ benutzt wurde.

Die Werte von x sind im vorletzten Stabe der Tabelle aufgeführt und zeigen deutlich, daß die Bedeutung der Hydrolyse mit der ansteigenden Säurekonzentration abnimmt. Im letzten Stab der Tabelle schließlich findet man die Werte von $f_s = \frac{s + x}{h}$.

Die Tabelle 10 ist in ganz derselben Weise zu verstehen; man findet hier die Resultate einer Versuchsreihe mit niedrigerer Ammoniumsulfatkonzentration, weshalb die Hydrolyse erst bei geringerer Säurekonzentration als in der vorigen Reihe eine wesentliche Rolle spielt. Daß auch hier bei hinlänglich kleiner Säurekonzentration die Hydrolyse nicht zu vernachlässigen ist,

¹⁾ Eine orientierende Berechnung von x mit $\frac{1}{\alpha} = f_s = 14,0$ (das Mittel der beiden letzten Werte von $\frac{s}{h}$ gab für $\frac{s + x}{h}$ den Wert $14,3$, welcher deshalb bei der schließlichen Berechnung als der Wert von $\frac{1}{\alpha}$ benutzt wurde.

Tabelle 10.

Jede Versuchsflüssigkeit wurde aus 25 ccm 1,938 n-Ammoniumsulfatlösung (II) dargestellt, indem sie mit Schwefelsäure und Wasser auf 50 ccm verdünnt wurde; Ammoniumsulfatkonzentration $c = 0,969$ n.

Graphisch (siehe Fig. 3) wurde gefunden, daß die benutzten 25 ccm Ammoniumsulfatlösung 0,7 ccm $n/1000$ überschüssige Schwefelsäure enthielten.

Die zuge- setzte Menge Schwefel- säure ccm	Die ge- messene Wasser- stoffionen- konzent- ration, h $h \cdot 10^6$	Über- schüssige Schwefel- säure- äqui- valentkon- zentrat., s $s \cdot 10^6$	$\frac{s}{h}$	Die durch Hydrolyse gebildete Schwefel- säureäqui- valentkon- zentrat., x $x \cdot 10^6$	$f_s = \frac{s+x}{h}$
0 $n/1000$	5,47	14	2,56	22,2	6,62
1	7,71	34	4,41	16,1	6,50
2	9,62	54	5,61	12,2	6,88
4	15,28	94	6,15	7,9	6,67
5	18,46	114	6,18	6,7	6,54
10	33,34	214	6,42	3,7	6,53
15	51,52	314	6,09	2,5	6,14
20	67,14	414	6,17	1,9	6,19
Mittel:					6,51
		$m \cdot 10^6$			$\frac{x}{h}$
2 $n/1000$ - Ammoniak	3,60	26	—	18,2	5,06
5 $n/1000$ - Ammoniak	1,70	86	—	8,5	5,00

erhellt indessen sowohl aus den Stäben 4 und 5 der Tabelle als auch aus der graphischen Darstellung, Figur 3, II, welche in derselben Weise wie Fig. 3, I zu verstehen ist, und woraus hervorgeht, daß die bei jedem Versuche angewandte 25 ccm Ammoniumsulfatlösung 0,7 ccm $n/1000$ überschüssiger Schwefelsäure enthalten.

Zu unterst auf der Tabelle 10 sind ein paar Messungen angeführt, bei welchen die Versuchsflüssigkeit mit Ammoniak versetzt worden war; hier ist die abhydrolysierte Schwefelsäure

nach der Formel

$$x = \frac{m}{2} + \sqrt{\frac{m^2}{4} + c \frac{k_w}{k_m} \cdot \frac{\beta}{\alpha}}$$

berechnet, indem m die Konzentration des überschüssigen Ammoniaks bedeutet; demnächst ist f_s gleich $\frac{x}{h}$ gesetzt (siehe S. 113). Aus der Tabelle ersieht man, daß, wenn zwar der Wert von f_s etwas klein ausfällt, so geben doch auch diese ziemlich unsicheren Messungen Werte des f_s , welche von der richtigen Größenordnung sind.

Von solchen Versuchsreihen sind in allem 25 ausgeführt worden, wobei Ammoniumsulfatlösungen verschiedener Konzentrationen und aus 7 verschiedenen Proben festen Salzes untersucht worden sind. Tabelle 11 enthält Auskünfte sowohl über die Beschaffenheit dieser Proben als auch, in den beiden letzten Stäben, über die damit erhaltenen Werte von f_s .

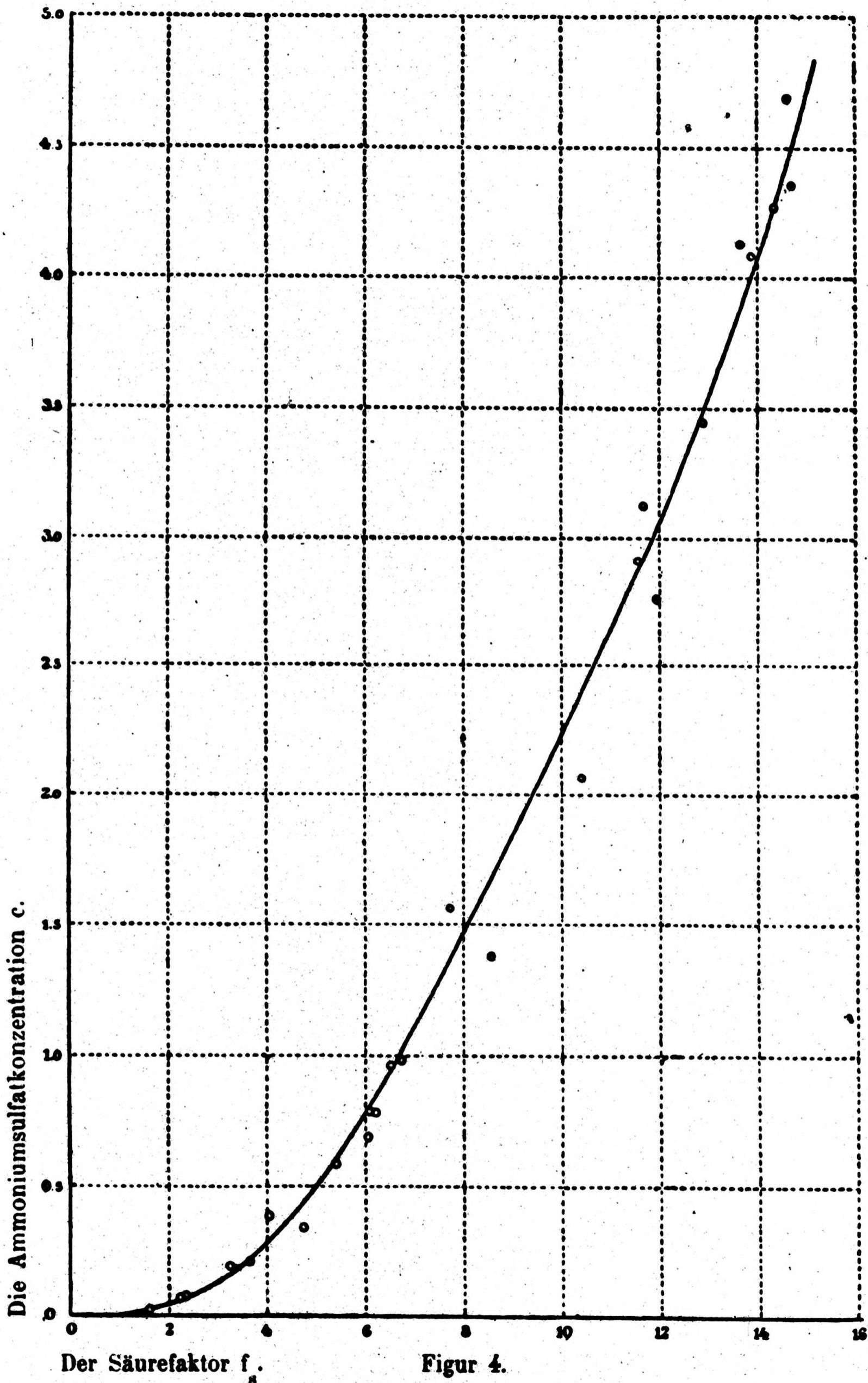
Tabelle 11.

Übersicht über die bei verschiedenen Ammoniumsulfatkonzentrationen gefundenen Werte von f_s .

Das Ammoniumsulfat		Gehalt an Überschuß von Schwefelsäure oder Ammoniak (graphisch gefunden, vgl. Fig. 3)	Verhältnis der überschüssigen Äquivalente von Schwefelsäure oder Ammoniak zu den Äquivalenten Ammoniumsulfat	Die gefundenen Werte von f_s bei der Ammoniumsulfatkonzentration, c	
Marke	Art			c	f_s
I	C. A. F. Kahlbaum «Zur Analyse» 1912	30 ccm von einer 7,819 n-Lösung enthielten 3,0 ccm $n/1000$ überschüssiges Ammoniak	1 : 78 000 (Ammoniak)	4,692	14,60
				3,128	11,67
				1,564	7,73
				0,782	6,19
II	C. A. F. Kahlbaum «Zur Analyse» 1912 eine andere Probe, 4 mal in Wasser gelöst und die Lösung mit Alkohol gefällt	25 ccm von einer 1,938 n-Lösung enthielten 0,7 ccm $n/1000$ überschüssiger Schwefelsäure	1 : 69 000 (Schwefelsäure)	0,969	6,51

Tabelle 11 (Fortsetzung).

Das Ammonium-sulfat		Gehalt an Über-schuß von Schwefel-säure oder Ammo-niak (graphisch gefunden, vgl. Fig. 3)	Verhältnis der überschüssigen Äquivalente von Schwefel-säure oder Ammoniak zu den Äquiva-lenten Ammo-niumsulfat	Die gefun-denen Werte von f_s bei der Ammonium-sulfatkonzen-tration, c	
Marke	Art			c	f_s
III	do. einer dritten Probe, 2 mal in Wasser ge-löst und die Lö-sung mit Alko-hol gefällt	25 ccm von einer 1,968 n-Lösung ent-hielten 0,8 ccm $n/1000$ überschüssiges Ammoniak	1 : 61 500 (Ammoniak)	0,984	6,77
				0,787	6,07
				0,590	5,40
				0,394	4,04
				0,197	3,22
				0,064	2,23
IV	C. A. F. Kahlbaum «Zur Analyse mit Garantie-schein» 1913	30 ccm von einer 6,889 n-Lösung ent-hielten 3,0 ccm $n/1000$ überschüssiges Ammoniak	1 : 69 000 (Ammoniak)	4,133	13,68
				3,445	12,88
				2,756	11,97
				2,067	10,41
				1,378	8,56
				0,689	6,05
				0,344	4,75
				0,207	3,62
V	do. 1914.	30 ccm von einer 7,116 n-Lösung ent-hielten 6 ccm $n/1000$ überschüssiges Ammoniak	1 : 35 500 (Ammoniak)	4,270	14,36
VI	C. A. F. Kahlbaum «Zur Analyse mit Garantie-schein» 1914	30 ccm von einer 6,80 n-Lösung ent-hielten 11,8 ccm $n/1000$ überschüssiges Ammoniak	1 : 17 300 (Ammoniak)	4,080	13,89
VII	C. A. F. Kahlbaum «Zur Analyse» 1914.	30 ccm von einer 7,268 n-Lösung ent-hielten 2,2 ccm $n/1000$ überschüssige Schwefelsäure	1 : 99 000 (Schwefelsäure)	4,361	14,70
				2,907	11,57



Figur 4.

Die Figur 4 enthält eine graphische Darstellung der Resultate, indem die Ammoniumsulfatkonzentration, c , als Ordinate, der Wert von f_s als Abszisse eingetragen sind.

Mittels der solchermaßen konstruierten Kurve ist es jetzt möglich, f_s für einen willkürlichen Wert von c abzulesen, und man kann also das s einer vorliegenden Ammoniumsulfatlösung berechnen, wenn h gemessen wird. Ist h einigermaßen hoch ($15 \cdot 10^{-6}$ oder noch höher), so bekommt man bei Anwendung der einfachen Formel

$$s = h \cdot f_s$$

einen annäherungsweise richtigen Wert für s , bei niedrigeren Wasserstoffionenkonzentrationen aber ist diese Formel unanwendbar, weil sie die Hydrolyse des Ammoniumsulfats außer Betracht läßt. Wir haben immer die Hydrolyse berücksichtigt und die verwickeltere Formel

$$s = h \cdot f_s \div \frac{(x_{\max})^2}{h \cdot f_s}$$

gebraucht, wo

$$x_{\max} = \sqrt{c \frac{k_w}{k_m} \cdot \frac{\beta}{\alpha}} \quad (\text{siehe S. 112}).$$

Um die bei einer solchen Messung von h mit nachfolgender Berechnung von s zu erwartende Genauigkeit zu beleuchten, werden die Resultate einiger Messungen von Lösungen des Ammoniumsulfats VII in der Tabelle 12 wiedergegeben werden.

Betreffs des leicht verständlichen Zahlenmaterials der Tabelle ist nur zu bemerken, daß der dritte Stab die gegebene Säurekonzentration, d. i. die Summe der Konzentrationen der in der Ammoniumsulfatlösung vorhandenen und der zugefügten Säure, während der fünfte Stab die aus der gemessenen Wasserstoffionenkonzentration, h , nach der obigen Formel berechnete Säurekonzentration enthält. Im letzten Stab der Tabelle sind die Abweichungen der gefundenen von den gegebenen Säurekonzentrationen verzeichnet.

Tabelle 12.

Jede Versuchsflüssigkeit wurde aus 30 ccm einer 7,268 n-Ammoniumsulfatlösung VII dargestellt, indem dieselbe mit Wasser und Schwefelsäure zu 50 ccm verdünnt wurde; $c = 4,361$ n; $f_s = 14,5$ (siehe die Kurve Fig. 4). Die 30 ccm Ammoniumsulfatlösung enthielten 2,2 ccm $n/1000$ überschüssige Schwefelsäure; $(x_{\max})^2 = 6140 \cdot 10^{-12}$.

Die zugesetzte Menge Schwefelsäure ccm	Die in den 30 ccm Ammoniumsulfatlösung anwesende Menge überschüssiger Schwefelsäure ccm	Äquivalentkonzentration der gesamten überschüssigen Schwefelsäure, s $s \cdot 10^6$ (gegeben)	Die gemessene Wasserstoffionkonzentration, h $h \cdot 10^6$	Die aus h berechnete überschüssige Schwefelsäure Äquivalentkonzentration, s $s \cdot 10^6$ (gefunden)	Differenz s (gegeben) \div s (gefunden)
0 $n/1000$	2,2 $n/1000$	44	6,94	39,6	$4,4 \cdot 10^{-6}$
5	2,2	144	12,04	139,5	4,5
10	2,2	244	17,96	236,7	7,3
15	2,2	344	24,52	338,1	5,9
20	2,2	444	31,52	443,8	0,2

Solange man es mit Ammoniumsulfatlösungen mit überschüssigen, selbst ganz kleinen Schwefelsäuremengen zu tun hat, werden die Abweichungen zwischen den gegebenen und den gefundenen Säurekonzentrationen gewöhnlich von ähnlicher Größe wie die in der Tabelle 12 verzeichneten sein. Die Abweichung hat bei sämtlichen unseren Kontrollversuchen selten die Größe $10 \cdot 10^{-6}$ erreicht und nur ein einziges Mal $20 \cdot 10^{-6}$ überschritten. Ausgedrückt in % der gesamten überschüssigen Säurekonzentrationen wird die Abweichung oft bedeutend erscheinen, das aber, was uns hier interessiert, ist die absolute Größe der Abweichung. Eine Abweichung von $20 \cdot 10^{-6}$ bedeutet ausgedrückt in dieser Weise einen Fehler von 1 ccm $n/1000$ in 50 ccm Versuchsflüssigkeit, und wir meinen, diese Abweichung bei Untersuchungen über Ammoniumsulfatlösungen mit überschüssiger Schwefelsäure als Maximalfehler bezeichnen zu dürfen.

Anders aber stellt sich die Sache, wenn von Auflösungen

ohne überschüssige Schwefelsäure oder gar mit überschüssigem Ammoniak die Rede wird, d. h. Lösungen, deren Wasserstoffionenkonzentration geringer als etwa 6×10^{-6} ist. Die Wasserstoffionenmessung wird hier, wie schon (S. 113) erwähnt, weniger genau, und bei der Berechnung von s , welches ja in den genannten Fällen 0 oder negativ sein soll, spielt die Größe x_{\max} eine dominierende Rolle. Da indessen x_{\max} besonders der Unsicherheit des Wertes von β wegen mit wesentlichen Fehlern behaftet ist, so kann der Maximalfehler bei der Bestimmung von s in solchen Lösungen bedeutend größer als 1 ccm $n/1000$ auf 50 ccm Versuchsflüssigkeit werden. Die mit derartigen Lösungen erhaltenen Resultate sind deshalb nur als ungefähr richtig zu betrachten. Um dieses näher zu beleuchten, haben wir in der Tabelle 13 einige Messungen zusammengestellt, welche mit einigen derjenigen Ammoniumsulfatlösungen, die zur Bestimmung von f_s gedient hatten, ausgeführt wurden, aber ohne Zusatz von Schwefelsäure (bezw. mit Zusatz von ein wenig Ammoniak). Der Inhalt dieser Lösungen an überschüssiger Säure oder Base war bekannt und konnte natürlich hier auch mittels der gemessenen Wasserstoffionenkonzentration berechnet werden, was einen Vergleich des gefundenen und des berechneten Inhalts ermöglichte. Auch hier wurde die Berechnung gemäß der Formel

$$s = h \cdot f_s \div \frac{(x_{\max})^2}{h \cdot f_s}$$

ausgeführt, wobei zu bemerken ist, daß ein negativer Wert von s die entsprechende Konzentration von Ammoniak bedeutet, welche Konzentration wir bisweilen oben mit m bezeichnet haben.

Aus der Tabelle 13 geht hervor, daß selbst in Fällen wie den hier erwähnten die Abweichung gewöhnlich kleiner als $20 \cdot 10^{-6}$ ist, was 1 ccm $n/1000$ auf 50 ccm Versuchsflüssigkeit entspricht; nur die Lösung des Ammoniumsulfats (VI), welche reichliche Mengen überschüssiges Ammoniak enthielt und demgemäß auch einen sehr niedrigen Wert für h gegeben hat, gibt eine bedeutend größere Abweichung.

Tabelle 13.

Die zugesetzte Menge Ammoniak ccm	Die in der angewandten Versuchsflüssigkeit anwesende überschüssige Schwefelsäure oder Ammoniak ccm	Die gesamte überschüssige Schwefelsäureäquivalentkonzentrat., s $s \cdot 10^6$ (gegeben)	Die gemessene Wasserstoffionkonzentration, h $h \cdot 10^6$	Die mittels berechnete überschüssige Schwefelsäureäquivalentkonzentrat., s $s \cdot 10^6$ (gefunden)	Differenz: s (gegeben) \div s (gefunden)
--------------------------------------	---	--	--	--	--

Jede Versuchsflüssigkeit wurde aus 25 ccm einer 1,938 n-Ammoniumsulfatlösung (II) dargestellt, welche mit Wasser und Ammoniak zu 50 ccm verdünnt wurden; $c = 0,969$; $f_s = 6,6$ (siehe die Kurve Fig. 4). Die 25 ccm Ammoniumsulfatlösung enthielten 0,7 ccm $n/1000$ überschüssiger Schwefelsäure. $(x_{\max})^2 = 849 \cdot 10^{-12}$.¹⁾

0 $n/1000$	0,7 $n/1000$ -H ₂ SO ₄	+ 14	5,47	+ 12,6	+ $1,4 \cdot 10^{-6}$
2	0,7	\div 26	3,60	\div 12,0	\div 14,0
5	0,7	\div 86	1,70	\div 64,4	\div 21,6

Die Versuchsflüssigkeit wurde aus 25 ccm einer 1,968 n-Ammoniumsulfatlösung (III) durch Verdünnung mit Wasser zu 50 ccm dargestellt, $c = 0,984$; $f_s = 6,65$ (siehe die Kurve Fig. 4). Die 25 ccm Ammoniumsulfatlösung enthielten 0,8 ccm $n/1000$ überschüssiges Ammoniak. $(x_{\max})^2 = 866 \cdot 10^{-12}$.

0 $n/1000$	0,8 $n/1000$ -NH ₃	\div 16	3,57	\div 12,7	\div $3,3 \cdot 10^{-6}$
------------	-------------------------------	-----------	------	-------------	----------------------------

Die Versuchsflüssigkeit wurde aus 30 ccm einer 6,80 n-Ammoniumsulfatlösung (VI) durch Verdünnung mit Wasser zu 50 ccm dargestellt, $c = 4,080$; $f_s = 14,0$ (siehe Kurve Fig. 4). Die 30 ccm Ammoniumsulfatlösung enthielten 11,8 ccm $n/1000$ überschüssiges Ammoniak. $(x_{\max})^2 = 5663 \cdot 10^{-12}$.

0 $n/1000$	11,8 $n/1000$ -NH ₃	\div 236	1,33	\div 285	+ $49 \cdot 10^{-6}$
------------	--------------------------------	------------	------	------------	----------------------

Die Versuchsflüssigkeit wurde aus 30 ccm einer 7,268 n-Ammoniumsulfatlösung (VII) durch Verdünnung mit Wasser zu 50 ccm dargestellt, $c = 4,361$; $f_s = 14,5$ (siehe die Kurve Fig. 4). Die 30 ccm Ammoniumsulfatlösung enthielten 2,2 ccm $n/1000$ überschüssiger Schwefelsäure. $(x_{\max})^2 = 6140 \cdot 10^{-12}$.²⁾

0 $n/1000$	2,2 $n/1000$ H ₂ SO ₄	+ 44	6,94	+ 39,6	+ $4,4 \cdot 10^{-6}$
------------	---	------	------	--------	-----------------------

¹⁾ Diese drei Versuche mit Ammoniumsulfatlösung (II) sind auch in der Tabelle 10, aber in anderer Weise berechnet, aufgeführt.

²⁾ Dieser Versuch gehört der in der Tabelle 12 wiedergegebenen Reihe.

Tabelle 13 (Fortsetzung).

Die zugesetzte Menge Ammoniak ccm	Die in der angewandten Versuchsfüssigkeit anwesende überschüssige Schwefelsäure oder Ammoniak ccm	Die gesamte überschüssige Schwefelsäureäquivalentkonzentrat., s $s \cdot 10^6$ (gegeben)	Die gemessene Wasserstoffionenkonzentration, h $h \cdot 10^6$	Die mittels h berechnete überschüssige Schwefelsäureäquivalentkonzentrat., s $s \cdot 10^6$ (gefunden)	Differenz: s (gegeben) \div s (gefunden)
--------------------------------------	--	--	--	--	--

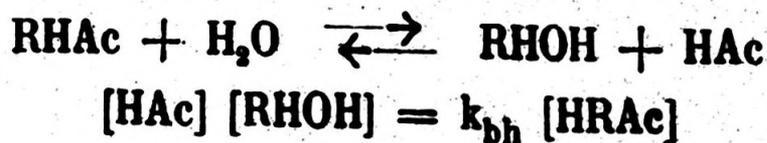
Die Versuchsfüssigkeit wurde aus 20 ccm einer 7,268 n-Ammoniumsulfatlösung (VII) durch Verdünnung mit Wasser zu 50 ccm dargestellt, $c = 2,907$; $f_s = 11,65$ (siehe die Kurve Fig. 4). Die 20 ccm Ammoniumsulfatlösung enthielten 1,47 ccm n_{1000} überschüssiger Schwefelsäure. $(x_{\max})^2 = 3686 \cdot 10^{-12}$.

0 n_{1000}	1,47 $n_{1000} \cdot H_2SO_4$	+ 29,4	6,90	+ 34,5	$\div 5,1 \cdot 10^{-6}$
--------------	-------------------------------	--------	------	--------	--------------------------

B. Säure- und Basebindungsvermögen der Ampholyten.

a) Die Wasserstoffionenkonzentrationen in salzfreien Ampholytenlösungen.

Die Wasserstoffionenkonzentration einer säurehaltigen Lösung eines Ampholyten, RHOH, wird lediglich durch den vom Ampholyten nicht gebundenen Teil der Säure und den Dissoziationsgrad derselben bestimmt, wofern die Konzentration der Säure so groß ist, daß die Dissoziation des Ampholyten keine Rolle spielt. Die Äquivalentkonzentration des Ampholyten sei a, die der zugesetzten Säure s, die der vom Ampholyten nicht gebundenen Säure y, weiter, der Dissoziationsgrad der Säure sei α und der des Ampholytsalzes der Säure β' , dann hat man das gewöhnliche Gleichgewicht der Hydrolyse:



welches für $a > s$

$$y (1 \div \alpha) (a \div s + y) = k_{bh} (s \div y) (1 \div \beta')$$

gibt, wenn k_{bh} die Hydrolysenkonstante des Ampholytsalzes bedeutet.

Mittels einer ganz ähnlichen Berechnung wie die oben (S. 110) angewandte findet man

$$k_{bh} = \frac{k_w (1 \div \alpha) \beta'}{k_b (1 \div \beta') \alpha}$$

Wird dieser Wert für k_{bh} in die obige Gleichung eingesetzt, gibt eine einfache Rechnung:

$$y = \frac{a \div s + \frac{k_w \beta'}{k_b \alpha}}{2} \pm \sqrt{\frac{\left(a \div s + \frac{k_w \beta'}{k_b \alpha}\right)^2}{4} + s \frac{k_w \beta'}{k_b \alpha}} \quad (1)$$

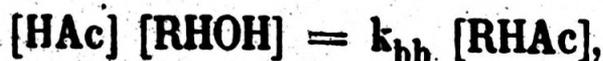
Mittels dieser Formel (1) kann y und damit die Wasserstoffionenkonzentration, h , und die gebundene Säurekonzentration, $s \div y$, berechnet werden, wenn die in die rechte Seite der Gleichung eingehenden Größen bekannt sind.

Diese Formel (1) entspricht beinahe ganz der Hydrolysegleichung, welche für eine Lösung eines Salzes einer starken Säure und einer schwachen Base mit Überschuß der letzteren Gültigkeit hat:

$$x = \frac{m}{2} + \sqrt{\frac{m^2}{4} + c \frac{k_w \beta}{k_m \alpha}} \quad (\text{siehe S. 111}).$$

indem s der Salzkonzentration, c , und $a \div s$ der Konzentration der überschüssigen Base, m , entsprechen (die Größe $\frac{k_w \beta'}{k_b \alpha}$ ist gewöhnlich $a \div s$ gegenüber zu vernachlässigen).

Wofern $s > a$, dann wird die Hydrolysegleichung



welche natürlich auch in diesem Fall Gültigkeit behält, die folgende Formel geben:

$$(s \div a + y) (1 \div \alpha) y = k_{bh} (a \div y) (1 \div \beta');$$

woraus man einen Ausdruck für y bekommt, der ganz der Formel (1) entspricht, nur mit a statt s und s statt a , eine Formel, die der früher (siehe S. 111) gefundenen Gleichung

$$x = \frac{s}{2} + \sqrt{\frac{s^2}{4} + c \cdot \frac{k_w \cdot \beta}{k_m \cdot \alpha}}$$

ganz entspricht.

Wie schon gesagt, ist die Formel (1) nur unter der Voraussetzung richtig, daß die Säurekonzentration so groß ist, daß die Dissoziation des Ampholyten in Wasserstoffionen und Ampholytanionen keine Rolle spielt. Da wir nun, wie in der Einleitung dieser Abhandlung (S. 105) erwähnt, bei der Berechnung von dem Säurebindungsvermögen des Albumins diese Voraussetzung als richtig betrachten, so wird es von Interesse sein, etwas näher zu untersuchen, welche Größe dann die Wasserstoffionenkonzentration oder die Konzentration der überschüssigen Säure haben muß, um diesen Schluß zu erlauben, oder anders gesagt, um Formel (1) ohne wesentlichen Fehler anwenden zu können. Wir werden deswegen eine genaue Berechnung der Wasserstoffionenkonzentration solcher säurehaltigen Ampholytenlösungen versuchen, indem wir sowohl die Dissoziation des Ampholyten in Wasserstoff- und Anionen als auch die in Hydroxyl- und Kationen berücksichtigen.

Wir nennen die Konzentration des nichtdissoziierten Ampholyten u , die Konzentration des in Kation und Hydroxylion gespaltenen Ampholyten δ , und die Konzentration des in Anion und Wasserstoffionen gespaltenen ϵ . Benutzen wir im übrigen die gleichen Bezeichnungen wie oben, werden die verschiedenen in der Lösung gegenwärtigen Verbindungen und Ionen die folgenden Konzentrationen besitzen:

	$[RHOH]$	$[RH^+]$	$[ROH^{\cdot-}]$	$[RHAc]$
Konz.	u	$(s \div y) \beta' + \delta$	ϵ	$(s \div y) (1 \div \beta')$
	$[Ac^{\cdot-}]$	$[HAc]$	$[H^+]$	$[OH^{\cdot-}]$
Konz.	$(s \div y) \beta' + \alpha y$	$y (1 \div \alpha)$	h	$\frac{k_w}{h}$

Diese Größen sind durch die folgenden 5 Gleichungen verknüpft:

1. Die Dissoziation des Ampholyten als Säure:

$$[H^+] [ROH^{\cdot-}] = k_a [RHOH]$$

$$h \cdot \epsilon = k_a \cdot u$$

2. Die Dissoziation des Ampholyten als Base:

$$[OH^{\cdot-}] [RH^+] = k_b [RHOH]$$

$$\frac{k_w}{h} \cdot ((s \div y) \beta' + \delta) = k_b \cdot u$$

3. Die Hydrolyse des Ampholytsalzes:

$$[\text{HAc}] [\text{RHOH}] = k_{bh} [\text{RHAc}]$$

$$y (1 \div \alpha) \cdot u = \frac{k_w (1 \div \alpha) \cdot \beta'}{k_b \cdot (1 \div \beta') \cdot \alpha} (s \div y) (1 \div \beta')$$

$$y \cdot u = \frac{k_w \cdot \beta' (s \div y)}{k_b \cdot \alpha}$$

4. Die gesamte Ampholytenkonzentration ist gleich a:

$$a = u + (s \div y) \beta' + \delta + \epsilon + (s \div y) (1 \div \beta')$$

$$a = u + \delta + \epsilon + s \div y$$

5. Die Summe der positiven Ionen ist der der negativen gleich:

$$(s \div y) \beta' + \delta + h = \epsilon + (s \div y) \beta' + \alpha \cdot y + \frac{k_w}{h}$$

$$h \div \frac{k_w}{h} = \alpha \cdot y + (\epsilon \div \delta).$$

Wenn k_a , k_b , k_w , α , β' , a und s bekannt sind, dann können die 5 unbekanntes, u , h , y , δ und ϵ aus den obenstehenden 5 Gleichungen gefunden werden. Dieselben lassen sich nämlich auf die folgenden zwei reduzieren:

$$s \div y = \frac{a \cdot \alpha \cdot y \cdot h \cdot k_b}{\alpha \cdot y \cdot h \cdot k_b (1 \div \beta') + \beta' (h^2 k_b + h k_w + k_a k_w)} \quad (2)$$

und

$$h \div \frac{k_w}{h} = \alpha \cdot y + \frac{a \cdot \beta' (k_a \cdot k_w - h^2 k_b + h \cdot k_b \cdot \alpha \cdot y)}{\alpha \cdot y \cdot h \cdot k_b (1 \div \beta') + \beta' (h^2 \cdot k_b + h \cdot k_w + k_a \cdot k_w)} \quad (3)$$

Gleichung (3) ist vierten Grades mit Rücksicht auf h , aber nur zweiten Grades mit Bezug auf $\alpha \cdot y$. Man kommt deshalb am leichtesten zum Ziel, wenn man h als gegeben und $\alpha \cdot y$ und s als unbekannt betrachtet, mit anderen Worten, wenn man berechnet, welchen Wert s haben muß, damit die Ampholytenlösung eine gegebene Wasserstoffionenkonzentration h bekomme. Bei dieser Berechnung werden α und β' vorläufig gleich 1 gesetzt, wonächst y für einen gegebenen Wert des h , mittels Gleichung (3) berechnet wird.¹⁾

¹⁾ Wenn α und β' gleich 1 gesetzt werden, dann können die beiden Gleichungen in eine zusammengezogen werden, welche die folgende Form bekommt:

Ist y gefunden, so kann s aus der Gleichung (2) berechnet werden. Aus dem gefundenen, angenäherten Wert von s können die wirklichen Werte von α und β' mit hinlänglich großer Genauigkeit geschätzt werden, wonächst die Berechnung mit diesen Werten von α und β' durchgeführt wird.

Um uns einen Begriff von der Größe des Fehlers zu machen, welchen die Anwendung der Formel (1) mit sich bringt, werden wir jetzt mittels dieser Formel berechnen, welche Wasserstoffionenkonzentrationen eine Glykokollösung durch Zugabe verschiedener, kleiner Mengen Salzsäure erhält, und demnächst mittels der vollständigen Formel (Gleichung 2 u. 3) die Salzsäuremenge berechnen, welche dieselbe Glykokollösung verlangt, um ähnliche Wasserstoffionenkonzentrationen anzunehmen. Bei diesen Berechnungen ist $k_w = 0,72 \cdot 10^{-14}$, $k_a = 1,12 \cdot 10^{-10}$ ¹⁾ und $k_b = 1,65 \cdot 10^{-12}$ ¹⁾ gesetzt. Der Dissoziationsgrad der Salzsäure, α , ist aus dem Leitvermögen stark verdünnter Salzsäure berechnet, indem $\mu_\infty = 383,0$. Der Dissoziationsgrad, β' , des salzsauren Salzes des Glykokolls ist gleich dem Dissoziationsgrad von Ammoniumchloridlösungen derselben Äquivalentkonzentration gesetzt, indem $\mu_\infty = 130,1$. Die Glykokollkonzentration, a , ist überall 0,4 normal.

Die Berechnungen nach der Formel (1) sind in der Tabelle 14 zusammengestellt, die nach der Formel (2, 3) in der Tabelle 15. Damit selbst kleine Unterschiede unter den Resultaten der beiden Rechnungsweisen deutlich hervortreten können, haben wir mit mehreren Dezimalstellen, als die Genauigkeit der betreffenden Konstanten es erlaubt, gerechnet.

$$h^4 + h^3 \left(a \div s + \frac{k_w}{k_b} \right) + h^2 \frac{k_w}{k_b} (k_a \div k_b \div s) \div h \frac{k_w}{k_b} (a k_a + s k_a + k_w) \div \frac{k_a \cdot k_w^2}{k_b} = 0.$$

Diese Gleichung ist mit einer in einer früheren Abhandlung veröffentlichten, auf einen etwas anderen Weg hergeleiteten Gleichung identisch (S. P. L. Sørensen, Ergebnisse der Physiologie, Bd. 12, S. 504 [1912]).

¹⁾ Nach Messungen von S. Palitzsch und K. G. Dernby (siehe Comptes-Rendus du Laboratoire de Carlsberg, Bd. 11, S. 268 (1916)).

Tabelle 14.

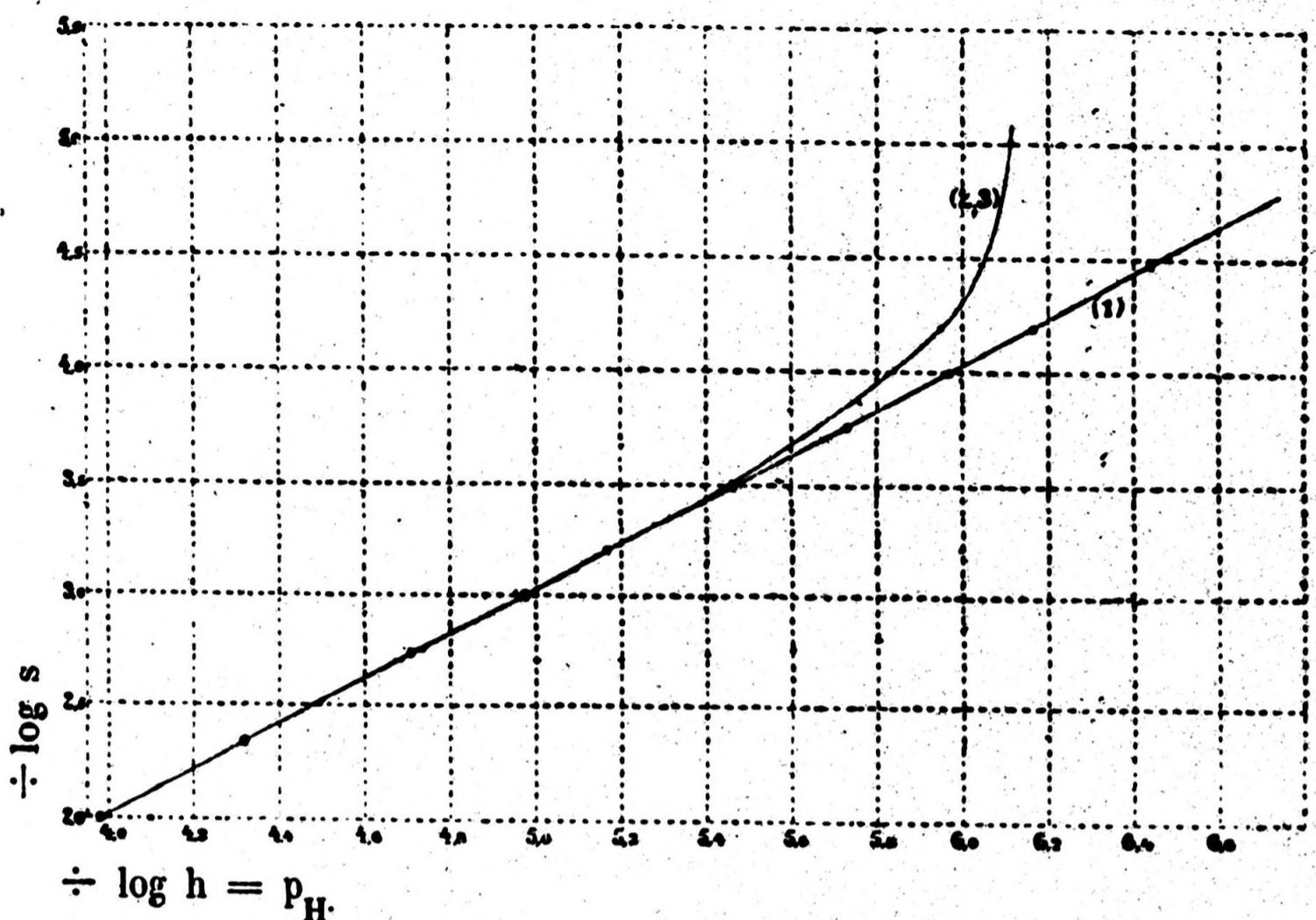
Nach Formel (1) berechnete Wasserstoffionenkonzentration, h , in Mischungen von Glykokoll und Salzsäure; $a = 0,4$.

Nr.	Konzentration der zugegebenen Salzsäure, s , $s \cdot 10^3$	α	β'	Die berechnete Wasserstoffionenkonzentration, h , $h \cdot 10^6$	$\div \log h$ (p_H)	$\div \log s$
1	0,0010	1,000	1,000	0,0108	7,967	6,000
2	0,0100	1,000	0,999	0,1078	6,967	5,000
3	0,0336	0,999	0,998	0,3619	6,441	4,474
4	0,0638	0,998	0,996	0,6850	6,164	4,195
5	0,1000	0,997	0,993	1,0704	5,970	4,000
6	0,1733	0,995	0,991	1,8516	5,732	3,761
7	0,3211	0,991	0,988	3,426	5,465	3,493
8	0,6418	0,987	0,983	6,810	5,167	3,193
9	1,0000	0,985	0,978	10,575	4,976	3,000
10	1,8442	0,982	0,971	19,394	4,712	2,734
11	4,5842	0,975	0,957	47,861	4,320	2,339
12	10,0000	0,966	0,939	103,89	3,983	2,000

Tabelle 15.

Nach Formel (2, 3) berechnete Salzsäurekonzentration in Mischungen von Glykokoll und Salzsäure mit gegebener Wasserstoffionenkonzentration, h ; $a = 0,4$.

Nr.	Wasserstoffionenkonzentration, h $h \cdot 10^6$	α	β'	Die berechnete Säurekonzentration, s $s \cdot 10^3$	$\div \log h$ (p_H)	$\div \log s$
13	0,696	1,000	1,000	0	6,157	∞
14	0,750	1,000	0,999	0,009822	6,125	5,008
15	0,900	0,999	0,998	0,03371	6,046	4,472
16	1,120	0,998	0,996	0,06405	5,951	4,193
17	3,447	0,991	0,988	0,3099	5,463	3,509
18	10,60	0,985	0,978	0,9975	4,975	3,001
19	47,92	0,975	0,957	4,586	4,319	2,339
20	103,80	0,966	0,939	9,990	3,984	2,000



Figur 5.

Die Tabelle und ganz besonders deutlich die graphische Darstellung der berechneten Resultate auf der Figur 5 zeigen, daß beide Formeln praktisch genommen dieselben Resultate geben, wenn der Säurezusatz so groß ist, daß die Wasserstoffionenkonzentration gleich oder größer als $4 \cdot 10^{-6}$ ist ($p_H = \text{ca. } 5,4$). Bei kleineren Wasserstoffionenkonzentrationen gibt die Benutzung der Formel (1) Anlaß zu Fehlern, welche um so größer sind, je kleiner der Säurezusatz und damit auch die Wasserstoffionenkonzentration ist.

Man kann die Größe des Fehlers bei verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen mit großer Annäherung schätzen, wenn man überlegt, daß der Hauptfehler der Formel (1) in der Vernachlässigung der Dissoziation des Ampholyten als Säure liegt, und daß für diese Dissoziation die folgende Gleichgewichtsbedingung (s. S. 135) existiert:

$$h \cdot \epsilon = k_a \cdot u$$

Ist die Konzentration der zugegebenen Säure o , so wird die Wasserstoffionenkonzentration, die wir mit h_0 bezeichnen können, so gut wie lediglich durch diese Dissoziationsgleichung bestimmt, und h_0 gleich ϵ_0 sein. Der Fehler, in Prozenten der

Wasserstoffionenkonzentration ausgedrückt, wird in diesem Falle selbstverständlich gleich 100 sein. Wird etwas Säure zugefügt, dann wird die Wasserstoffionenkonzentration wachsen und die Dissoziation des Ampholyten als Säure zurückgedrängt werden; während wir früher

$$h_0 \cdot \epsilon_0 = h_0 \cdot h_0 = k_a \cdot u_0$$

hatten, bekommen wir jetzt

$$h_1 \cdot \epsilon_1 = k_a \cdot u_1.$$

Wir können bei dieser Berechnung die von der Dissoziation des Ampholyten herrührende Wasserstoffionenkonzentration gleich ϵ_1 setzen, und die Frage wird dann die folgende, wie viele Prozent ϵ_1 von h_1 ausmacht?

Wir setzen $h_1 = qh_0$ und haben dann

$$\epsilon_1 = \frac{k_a u_1}{h_1} = \frac{k_a u_1}{qh_0}$$

Setzen wir hier $u_1 = u_0$, was erlaubt ist, solange die Menge des dissoziierten Ampholyten der des undissoziierten gegenüber ganz klein ist, so wird der Fehler in Prozenten der Wasserstoffionenkonzentration ausgedrückt:

$$\frac{100 \epsilon_1}{h_1} = \frac{100 k_a u_1}{qh_0 qh_0} = \frac{100 k_a u_0}{qh_0 qh_0} = \frac{100}{q^2}$$

indem $h_0 \cdot h_0 = k_a \cdot u_0$.

Man ersieht hieraus, daß während der bei der Benutzung der Formel (1) begangene Fehler für eine reine wässrige Ampholytenlösung 100% der Wasserstoffionenkonzentration der Lösung ausmacht, so wird er für eine saure Ampholytenlösung mit einer q mal größeren Wasserstoffionenkonzentration nur $\frac{100}{q^2}$ % der Wasserstoffionenkonzentration dieser Lösung ausmachen.

Zur näheren Beleuchtung hiervon haben wir in der Tabelle 16 die Resultate der Berechnungen nach Formel (2, 3) (Tabelle 15) mit den entsprechenden nach Formel (1) berechneten zusammengestellt.

Tabelle 16.

Die Größe des Fehlers, welcher bei der Berechnung der Wasserstoffionenkonzentration ganz schwach salzsaurer Glykokollösungen nach Formel (1) entsteht.

Säurekonzentration, s	Wasserstoffionenkonzentration der Lösung		Der bei Benutzung der Formel (1) begangene Fehler, ϵ ($\epsilon = h \div h'$) $\epsilon \cdot 10^6$	q $= \frac{h}{h_0}$ ($h_0 = 0,696$) $\cdot 10^{-6}$	ϵ in % von h	ϵ $= \frac{100}{q^2}$
	nach der Formel (2, 3) $h \cdot 10^6$	nach der Formel (1) $h' \cdot 10^6$				
0	0,696	0	0,696	1,000	100,00	100,00
0,009822	0,750	0,106	0,644	1,078	85,87	86,05
0,03371	0,900	0,363	0,537	1,293	59,67	59,81
0,06405	1,120	0,687	0,433	1,609	38,66	38,63
0,3099	3,447	3,311	0,136	4,953	3,95	4,08
0,9975	10,60	10,56	0,04	15,23	0,38	0,43
4,586	47,92	47,92	0	68,85	0	0,02
9,990	103,80	103,80	0	149,14	0	0,00

Die beiden ersten Stäbe der Tabelle sind direkt aus der Tabelle 15 ausgeschrieben. Die Zahlen des dritten Stabes, welche die nach Formel (1) für die im ersten Stabe angegebenen Säurekonzentrationen berechneten Wasserstoffionenkonzentrationen angeben, sind mittels der in hinlänglich großem Maßstab gezeichneten Figur 5 graphisch ermittelt worden; übrigens enthält die Tabelle 14 Berechnungen der Wasserstoffionenkonzentrationen in Lösungen mit sehr ähnlichen Säurekonzentrationen, weshalb die Interpolation sich mit großer Genauigkeit ausführen ließ. Die übrigen Stäbe der Tabellen haben keine weitere Erklärung nötig; nur soll auf die ausgezeichnete Übereinstimmung zwischen dem gefundenen Unterschied der beiden Berechnungsweisen und dem nach der Formel $\frac{100}{q^2}$ berechneten Fehler die Aufmerksamkeit gelenkt werden (siehe die beiden letzten Stäbe der Tabelle 16).

b) Die Wasserstoffionenkonzentration von salzhaltigen Ampholytenlösungen.

Wir werden erst den Fall betrachten, daß das in der Ampholytenlösung gegenwärtige Salz von einer starken Säure und einer starken Base gebildet ist, und wir sehen von der Dissoziation des Ampholyten in Wasser- und Anionen, bezw. Hydroxyl- und Kationen ab.

Wir gebrauchen dieselben Bezeichnungen wie oben und nennen die Konzentration des Salzes, MAc , mit c (Dissoziationsgrad β).

Wird jetzt die vom Ampholyten gebundene Basenkonzentration gleich x gesetzt, und bezeichnen s und y , wie oben, die Konzentrationen der zugesetzten und der freien Säure, dann wird die Konzentration der gebundenen Säure $s + x \div y$ und die Konzentration des Salzes $c' = c \div x$ sein. Wenn weiter β'' der Dissoziationsgrad der Verbindung des Ampholyten mit der Base, MOH , ist, so werden die verschiedenen in der Lösung anwesenden Verbindungen und Ionen die folgenden Konzentrationen haben:

$[RHOH]$	$[RH^+]$	$[ROH^-]$	$[RHAc]$	$[ROHM]$	$[HAc]$
Konz. u	$(s + x \div y) \beta'$	$\beta'' x$	$(s + x \div y) (1 \div \beta')$	$x (1 \div \beta'')$	$y (1 \div \alpha)$
	$[Ac^-]$		$[M^+]$	$[MAc]$	$[H^+]$ $[OH^-]$
	Konz. $y \alpha + (s + x \div y) \beta' + c' \beta$	$x \beta'' + c' \beta$	$c' (1 \div \beta)$	h	$\frac{k_w}{h}$

Diese Größen sind durch die folgenden Gleichungen untereinander verknüpft:

1. Die Dissoziation des Ampholyten als Säure:

$$[H^+] [ROH^-] = k_a [RHOH]$$

$$h \cdot x \cdot \beta'' = k_a \cdot u$$

2. Die Dissoziation des Ampholyten als Base:

$$[OH^-] [RH^+] = k_b [RHOH]$$

$$\frac{k_w}{h} (s + x \div y) \beta' = k_b \cdot u$$

3. Die Dissoziation der Säure:

$$h = y \alpha$$

4. $a = u + (s + x \div y) \beta' + x \beta'' + (s + x \div y) (1 \div \beta') + (1 \div \beta'') x$
 $a = u + s + 2 x \div y$

$$5. c = c' + x.$$

Wenn k_a , k_b , k_w , α , β' , β'' , a , c und s bekannt sind, dann können die 5 unbekanntes x , y , u , h und c' mittels der obigen 5 Gleichungen gefunden werden. Eliminiert man x , u und h aus den ersten 4 Gleichungen, dann bekommt man die folgende:

$$y^3 + y^2 \left(a \div s + \frac{k_w \beta'}{k_b \alpha} \right) \div \frac{k_w \beta'}{k_b \alpha} \left(ys + \frac{k_a}{\alpha \beta''} (a + s \div y) \right) = 0.$$

Wenn s und damit y nicht sehr klein sind, kann man die Größe $\frac{k_a}{\alpha \beta''} (a + s \div y)$ in der Parenthese des letzten Glieds der Gleichung vernachlässigen, weil sie mit der Größe ys verglichen verschwindend ist.

Die Gleichung reduziert sich dann auf

$$y^2 + y \left(a \div s + \frac{k_w \beta'}{k_b \alpha} \right) \div s \frac{k_w \beta'}{k_b \alpha} = 0;$$

$$y = \div \frac{a \div s + \frac{k_w \beta'}{k_b \alpha}}{2} \pm \sqrt{\frac{\left(a \div s + \frac{k_w \beta'}{k_b \alpha} \right)^2}{4} + s \frac{k_w \beta'}{k_b \alpha}}$$

welcher Ausdruck mit Formel (1) identisch ist (s. S. 133). Die freie Säuremenge und damit wieder die Wasserstoffionenkonzentration in Lösungen eines Ampholyten und nicht allzu wenig Säure kann demnach, auch wenn Salze starker Säuren mit starken Basen anwesend sind, ganz wie in salzfreien Lösungen berechnet werden. Der Einfluß des Salzes zeigt sich nur dadurch, daß natürlich die Werte von α und β' sich mit der Salzkonzentration ändern.

Ist das in der Lösung gegenwärtige Salz von einer schwachen Säure oder von einer schwachen Base oder von beiden abgeleitet, dann wird die Sachlage etwas verwickelter. Wir werden hier den Fall betrachten, daß das Salz sich aus einer starken Säure und einer schwachen Base ableitet, z. B. so wie wir es bei den uns besonders interessierenden ammoniumsulfathaltigen Lösungen antreffen. Wir können hier ganz ähnliche Betrachtungen wie oben anstellen, nur müssen wir uns erinnern, daß die Lösung neben freier Säure (Konzentration

tration y) auch, der Hydrolyse des Salzes wegen, freie Base, (MOH), enthält, deren Konzentration wir gleich z setzen. Mit denselben Bezeichnungen wie oben wird die Konzentration der gebundenen Base deshalb $x \div z$, und die der gebundenen Säure $s + x \div y$, die Konzentration der gebundenen «überschüssigen» Säure wird somit $s + x \div y \div (x \div z) = s \div y + z$.

Sehen wir jetzt, wie oben, von der Dissoziation des Ampholyten in Wasserstoff- und Anionen, bzw. in Hydroxyl- und Kationen ab, dann werden die verschiedenen in der Lösung gegenwärtigen Verbindungen und Ionen die folgenden Konzentrationen bekommen:

	$[\text{RHOH}]$	$[\text{RH}^+]$	$[\text{ROH}^-]$	$[\text{RHAc}]$
Konz.	u	$(s + x \div y) \beta'$	$(x \div z) \beta''$	$(s + x \div y) (1 \div \beta')$
		$[\text{ROHM}]$	$[\text{HAc}]$	
Konz.		$(x \div z) (1 \div \beta'')$	$y (1 \div \alpha)$	
		$[\text{Ac}^-]$	$[\text{MOH}]$	$[\text{M}^+]$
Konz.	$y \alpha + (s + x \div y) \beta' + c' \beta$	z	$(x \div z) \beta'' + c' \beta$	$c' (1 \div \beta)$
		$[\text{H}^+]$	$[\text{OH}^-]$	
Konz.		h	$\frac{k_w}{h}$	

Diese Größen sind mit einander durch 6 Gleichungen verknüpft, von welchen die 5 den oben angeführten (S. 142) ganz entsprechen und hier von folgender Form sind:

1. $h (x \div z) \beta'' = k_a \cdot u$
2. $\frac{k_w}{h} (s + x \div y) \beta' = k_b \cdot u$
3. $h = y \alpha$
4. $a = u + s + 2 x \div y \div z$
5. $c = c' + x$

Hierzu kommt in gegenwärtigem Fall:

6. Die Dissoziationsgleichung der schwachen Base:

$$[\text{OH}^-] [\text{M}^+] = k_m [\text{MOH}]$$

$$\frac{k_w}{h} \left((x \div z) \beta'' + c' \beta \right) = k_m \cdot z.$$

Wenn k_a , k_b , k_m , k_w , α , β , β' , β'' , c , a und s bekannt sind, dann bestimmen die obigen Gleichungen die 6 Unbekannten x , y , z , u , h und c' . Durch Elimination von x , y , z , u und c' bekommt man den folgenden Ausdruck:

$$s = \frac{a \left(\frac{k_b h}{k_w \beta'} \div \frac{k_a (k_m h + k_w \beta'')}{h \beta'' (k_m h + k_w \beta)} \right)}{1 + \frac{k_a}{h \beta''} + \frac{h k_b}{\beta' k_w}} + \frac{h}{\alpha} \div \frac{c \beta k_w}{k_m h + k_w \beta} \quad (4)$$

Diese Gleichung ist schwierig zu behandeln, wenn man h als unbekannt betrachtet; dagegen läßt sich für ein bekanntes h der Wert des s durch recht einfache Rechnungen ausfindig machen. Man berechnet deshalb nicht die einer zugesetzten Säurekonzentration entsprechende Wasserstoffionenkonzentration, sondern welche Säurekonzentration zugesetzt werden muß, damit die Lösung (unter den gegebenen Umständen) eine gegebene Wasserstoffionenkonzentration bekommen kann. Wenn s und h bekannt sind, lassen sich die übrigen Unbekannten leicht berechnen.

Im Abschnitt a führten wir die genaue Berechnung der Wasserstoffionenkonzentration einer salzfreien, säurehaltigen Ampholytenlösung durch, indem wir auch die beiden Dissoziationen des Ampholyten mit in Betracht zogen. Eine solche Berechnung auch für salzhaltige Ampholytenlösungen durchzuführen, würde jedoch zu weitläufig sein, wir begehen aber kaum einen großen Fehler, wenn wir die Verhältnisse in salzhaltigen und salzfreien Lösungen als analog betrachten, und die oben entwickelten Betrachtungen auch auf salzhaltige Ampholytenlösungen anwenden.

Nur in einem Punkt werden wir es versuchen, unsere Berechnungen auf der möglichst breiten Grundlage durchzuführen, und zwar werden wir den allgemeinen Ausdruck für die pr. Äquivalent Ampholyten gebundene Menge «überschüssiger» Säure oder Base suchen, indem wir auch auf die Dissoziation des Ampholyten in Wasserstoff- und Anionen, bzw. Hydroxyl- und Kationen Rücksicht nehmen. Demnächst werden wir untersuchen, welche Schlußsätze den Einfluß der Salzkonzentration auf das Säure- und Basebindungsvermögen des Ampholyten betreffend sich aus diesem Ausdruck ziehen lassen.

Wir benutzen dieselben Bezeichnungen wie oben, und zwar soll δ die Konzentration der bei der Dissoziation des Ampholyten als Base gebildeten Kationen, und ϵ die bei seiner

Dissoziation als Säure entstandene Anionenkonzentration bezeichnen. Wir haben dann in der Lösung die folgenden Konzentrationen:

$$\begin{array}{cccc} [\text{RHOH}] & [\text{RH}^+] & [\text{ROH}^-] & [\text{RHAc}] \\ \text{Konz.} & u & (s + x \div y) \beta' + \delta & (x \div z) \beta'' + \epsilon & (s + x \div y) (1 \div \beta') \\ & & [\text{ROHM}]^1) & & \\ \text{Konz.} & & (x \div z) (1 \div \beta'') & & \end{array}$$

Von den oben (S. 144) angeführten Gleichungen benutzen wir 1, 2 und 4, welche in diesem Falle folgender Form sind:

$$1. h (x \div z) \beta'' + \epsilon = k_a \cdot u$$

$$2. \frac{k_w}{h} ((s + x \div y) \beta' + \delta) = k_b \cdot u$$

$$4. a = u + s + x \div y + \delta + x \div z + \epsilon.$$

Die gebundene überschüssige Säurekonzentration kann, wie früher, durch $s \div y + z$ ausgedrückt werden; wenn dieser Ausdruck negativ wird, so bedeutet dies, daß der Ampholyt überschüssige Base gebunden hat. Für die Konzentration der pro Äquivalent des Ampholyten gebundenen überschüssigen Säure, $\frac{s \div y + z}{a}$ bekommt man mittels der drei obigen

Gleichungen den folgenden Ausdruck:

$$\frac{\frac{s \div y + z}{a}}{1 + \frac{k_b h}{k_w \beta'} + \frac{k_a}{h \beta''}} + \frac{1}{a} \left(\frac{\epsilon}{\beta'} + \frac{\delta}{\beta'} \right)$$

Dieser Ausdruck kann auch folgenderweise geschrieben werden:

$$\frac{\frac{s \div y + z}{a}}{\beta' + \frac{k_b}{[\text{OH}^-]} + \frac{k_a}{[\text{H}^+]} \cdot \frac{\beta'}{\beta''}} + \frac{1}{a} \left(\frac{\epsilon}{\beta''} \div \frac{\delta}{\beta'} \right) \quad (5)$$

¹⁾ Wir sehen von Ionen mit entgegengesetzten Ladungen $\text{R}^+ \div$ sowie von den Ionen RM^+ und RAc^- ab.

Betrachten wir jetzt einen Ampholyt, dessen reine wässrige Lösung sauer reagiert ($k_a > k_b$), wird ϵ größer als δ sein, diese beiden Größen aber werden immer sehr klein sein und meistens, im Vergleich mit den übrigen in der Gleichung (5) eingehenden Größen, verschwindend klein. Sieht man von denjenigen Gliedern, welche ϵ und δ enthalten, ab, dann bekommt Gleichung (5) die einfachere Form:

$$\frac{s + y + z}{a} = \frac{\frac{k_b}{[\text{OH}^\div]} + \frac{k_a}{[\text{H}^+]} \cdot \frac{\beta'}{\beta''}}{\beta' + \frac{k_b}{[\text{OH}^\div]} + \frac{k_a}{[\text{H}^+]} \cdot \frac{\beta'}{\beta''}} \quad (6)$$

Weil nun β' mit wachsender Salzkonzentration abnimmt, während $\frac{\beta'}{\beta''}$ nur wenig geändert wird, so wird der ganze Bruch mit wachsender Salzkonzentration wachsen.

Könnte man weiter $\frac{\beta'}{\beta''} = 1$ setzen, dann würde der Zähler des Bruches bei isoelektrischer Reaktion 0 werden, indem man bei dieser Wasserstoffionenkonzentration $\frac{k_b}{[\text{OH}^\div]} = \frac{k_a}{[\text{H}^+]}$ ¹⁾ hat. Da nun $\frac{\beta'}{\beta''}$ gewöhnlich von 1 etwas verschieden sein wird, so wird diejenige Wasserstoffionenkonzentration, bei welcher der Zähler des Bruches 0 wird, auch nicht mit dem isoelektrischen Punkt des Ampholyten zusammenfallen, kurzweiliger aber werden wir sagen, daß der Zähler des Bruches bei isoelektrischer Reaktion 0 wird.

Gleichung (6) besagt dann, daß die Konzentration der pro Ampholytenäquivalent gebundenen überschüssigen Säure 1. von der Konzentration des Ampholyten unabhängig ist, weil die Größe a in die rechte Seite der Gleichung (6) nicht eingeht,

¹⁾ Daß diese Relation auch für salzhaltige Lösungen gilt, das geht aus den obigen Gleichungen hervor, indem 1 und 2, wenn $[\text{RH}^+] = [\text{ROH}^\div]$ ist, $\frac{k_b u h}{k_w} = \frac{k_a u}{h}$ geben.

2. mit steigender Salzkonzentration (abnehmenden β') wächst,

3. für Wasserstoffionenkonzentrationen größer als diejenige, welche isoelektrischer Reaktion entspricht, positiv ist und

4. für Wasserstoffionenkonzentrationen kleiner als die der isoelektrischen Reaktion entsprechenden negativ ist, d. h. es ist überschüssige Base gebunden worden.

Weiter besagt Gleichung (6), daß bei isoelektrischer Reaktion weder überschüssige Säure noch Base gebunden ist, aber eben bei dieser Reaktion und naheliegender Wasserstoffionenkonzentrationen besitzt die einfache Gleichung (6) keine Gültigkeit, da man in diesem Fall von ϵ und δ nicht absehen kann, und daher zu der komplizierteren Gleichung (5) zurückgreifen muß.

Aus Gleichung (5) ist zu ersehen, daß bei isoelektrischer Reaktion (d. h. hier wenn $\frac{k_b}{[\text{OH}^-]} = \frac{k_a}{[\text{H}^+]} \cdot \frac{\beta'}{\beta''}$ wird

$$\frac{s + y + z}{a} = \frac{1}{a} \left(\frac{\epsilon}{\beta''} + \frac{\delta}{\beta'} \right)$$

Da ϵ größer als δ und β' annäherungsweise gleich β'' ist, so wird also bei isoelektrischer Reaktion überschüssige Säure gebunden; weiter ist zu ersehen, daß die Konzentration der pro Ampholyten-Äquivalent gebundenen Säure — im Gegensatz zu dem, was die Gleichung (6) ergab — von der Ampholytenkonzentration nicht unabhängig, sondern desto größer je niedriger dieselbe ist, indem ϵ zwar mit a abnimmt, aber weniger stark als dieses.

Es ließ sich selbstverständlich aus der Gleichung (5) ein Ausdruck dafür ableiten, unter welchen Bedingungen der Ampholyt weder Säure noch Base bindet, die Verhältnisse sind aber zu kompliziert, um einfache Schlußsätze zu erlauben. Das einzige, was man durch ein genaueres Studium der Gleichung (5) lernt, ist dies, daß, je näher die Wasserstoffionenkonzentration der isoelektrischen Reaktion liegt, um so größer wird der Einfluß der Ampholytenkonzentration. Erst bei solchen Wasserstoffionenkonzentrationen, die etwas höher oder nied-

riger sind als die der isoelektrischen Reaktion entsprechende, wird die Konzentration der pro Ampholyten-Äquivalent gebundenen, überschüssigen Säure von der Konzentration des Ampholyten unabhängig.

Einen der Gleichung (5) ähnlichen, aber ein wenig einfacheren Ausdruck bekommt man, wenn man eine analoge Berechnung für säurehaltige, aber salzfreie Ampholytenlösungen durchführt, und es lassen sich aus diesem Ausdrucke ganz ähnliche Schlußsätze wie aus den Gleichungen (5) und (6) ziehen.

c) Experimenteller Abschnitt; Messungen der Wasserstoffionenkonzentrationen in säurehaltigen, sowohl salzfreien als auch salzhaltigen Lösungen einfach zusammengesetzter Ampholyten. (Glykokoll und Glycylglycin).

Um die Genauigkeit, mit welcher die Messung der Wasserstoffionenkonzentration saurer Ampholytenlösungen ausgeführt und das Säurebindungsvermögen des Ampholyten daraus berechnet werden können, zu beleuchten, werden wir in diesem Abschnitt eine Reihe durch Messung der Wasserstoffionenkonzentrationen gefundene Werte des Säurebindungsvermögens des Glykokolls und des Glycylglycins mit den entsprechenden — mittels der in den Abschnitten a und b gegebenen Formeln — berechneten Werten zusammenstellen.

Die Ergebnisse solcher Berechnungen nach der Formel (1) (siehe S. 133) findet man in der Tabelle 17 für salzfreie Mischungen von Glykokoll und Salzsäure, in der Tabelle 19 für ebensolche von Glycylglycin und Salzsäure und in der Tabelle 18 für natriumchloridhaltige Mischungen von Glykokoll und Salzsäure. Die bei diesen Berechnungen benutzen Dissoziationskonstanten waren für Glykokoll die oben (S. 137) angeführten; und für Glycylglycin $k_a = 3,2 \cdot 10^{-9}$ und $k_b = 9,3 \cdot 10^{-12}$.¹⁾ Der Dissoziationsgrad des salzsauren Salzes des Glycylglycins wurde ebenso wie der des Glykokolls gleich

¹⁾ Nach Messungen von K. G. Dernby, Comptes-Rendus des travaux du Laboratoire de Carlsberg, Bd. 11, S. 261 (1916).

dem des Ammoniumchlorids gesetzt (siehe S. 137). Jede der Tabellen 17, 18 und 19 enthält außerdem eine Reihe gemessener Werte der Wasserstoffionenkonzentration solcher Mischungen von Ampholyten und Salzsäure nebst denjenigen Werten des Bindungsvermögens Salzsäure gegenüber, welche sich für den Ampholyten daraus berechnen läßt, und welche durch die Zahl, b , der Milligramm-Äquivalente Salzsäure, die von einem Milligramm-Äquivalent Ampholytenstickstoff gebunden werden, seinen Ausdruck findet.

Man ersieht aus den Tabellen, deren Einzelheiten keiner näheren Erwähnung bedürfen, daß die Übereinstimmung der berechneten und der gemessenen Größen im großen und ganzen außerordentlich zufriedenstellend ist, nur bei den sehr hohen Wasserstoffionenkonzentrationen findet man eine geringfügige Abweichung der berechneten Werte von den gemessenen.

Die gute Übereinstimmung zwischen Berechnung und Versuch tritt sehr deutlich zutage in der graphischen Darstellung der Figuren 6, 7 und 8, in welchen die Kurven nach den berechneten Werten gezeichnet sind, während die gemessenen Werte erst nach der Zeichnung der Kurven auf dieselben eingelegt worden sind. Die nähere Besprechung dieser Kurven findet man später (S. 158).

Die Tabelle 20 enthält die Berechnung nach der Formel (4) (S. 145) von denjenigen Schwefelsäurekonzentrationen, welche gegebenen Gemischen von Glykokoll und Ammoniumsulfat eine gegebene Wasserstoffionenkonzentration erteilen, während die Tabelle 21 die Ergebnisse einiger von Frl. J. Hempel in solchen ammoniumsulfathaltigen Glykokollösungen mit bekanntem Gehalt, s , an überschüssiger Schwefelsäure ausgeführten Wasserstoffionenmessungen enthält. Bei der Berechnung der Tabelle 20 wurden die in der Tabelle 7 (s. S. 119) für die betreffende Ammoniumsulfatkonzentration, c , aufgeführten Werte von α und β benutzt. Betreffs aber β' (des Dissoziationsgrads des Glykokollsalzes der Säure) und β'' (des Dissoziationsgrads des Ammoniumsalzes des Glykokolls), dann liegen zur Berechnung derselben keine Messungen vor. Bei der Benutzung der Formel (4) zeigte es sich indessen, daß, wenn man h einiger-

Tabelle 17.

Die Wasserstoffionenkonzentration in Mischungen von Salzsäure und Glykokoll nebst dem daraus berechneten Bindungsvermögen des Glykokolls Salzsäure gegenüber.

Die Konzentration, a, des Glykokolls in allen Mischungen: $a = 400 \times 10^{-3}$.

Nr.	Konzen- tration der zuge- setzten Salzsäure, $\frac{\div}{\log s}$		Berechnet		Durch Wasserstoffionemessung gefunden				
	α	β'	Konzen- tration der freien Salzsäure, y	Wasser- stoffionen- konzentration, h = $\alpha \cdot y$	Wasser- stoffionen- konzentration, h	PH'	Konzen- tration der freien Salzsäure, $y = \frac{h}{\alpha}$	Anzahl Mgr.- Äquivalente Salzsäure, durch 1 Mgr.- Äquivalent Glykokoll-N gebunden, $b = \frac{s \div y}{a}$	$\frac{\div}{\log b}$
	$s \cdot 10^3$		$y \cdot 10^3$	$h \cdot 10^3$			$y \cdot 10^3$	$b \cdot 10^3$	
1	3,000	0,985	0,98	0,01057	4,976	2,47	—	—	—
2	2,000	0,966	0,94	0,1039	3,983	24,7	0,1052	24,7	1,607
3	1,699	0,958	0,92	0,2088	3,680	49,5	0,2201	49,5	1,305
4	1,523	0,950	0,91	0,3183	3,497	74,2	0,3383	74,2	1,130
5	1,398	0,945	0,90	0,4300	3,367	98,9	0,4640	98,8	1,005
6	1,301	0,940	0,89	0,5499	3,260	123,5	0,5887	123,5	0,908
7	1,222	0,935	0,88	0,6671	3,176	148,2	0,7342	148,2	0,829
8	1,097	0,926	0,86	0,9232	3,035	197,5	1,0626	197,3	0,705
9	1,000	0,917	0,85	1,215	2,915	246,7	1,424	246,4	0,608
10	0,699	0,893	0,82	3,438	2,464	490,4	4,428	488,9	0,311
11	0,523	0,877	0,80	9,151	2,039	723,9	12,44	718,9	0,143
12	0,398	0,863	0,79	32,80	1,484	905,0	45,39	886,5	0,052
13	0,301	0,854	0,78	96,97	1,013	966,1	124,61	938,5	0,028

Tabelle 18.

Die Wasserstoffionenkonzentration in Mischungen von Salzsäure, Glykokoll und Natriumchlorid
 nebst dem daraus berechneten Bindungsvermögen des Glykokolls Salzsäure gegenüber.
 Die gesamte Konzentration von Salzsäure und Natriumchlorid war immer $100 \cdot 10^{-3}$; $\alpha = 0,917$ und $\beta' = 0,85$ wurden
 deshalb bei allen Berechnungen benutzt.

Nr.	Kon- zen- tration des Glyko- kolls. a	Kon- zen- tration der zuge- setzten Salz- säure, s	Berechnet					Durch Wasserstoffionemessung gefunden ¹⁾				
			Konzen- tration der freien Salzsäure, y	Wasser- stoff- ionen- konzen- tration, h = $\alpha \cdot y$	P _H	Anzahl Mgr.- Äquiv. Salz- säure durch 1 Mgr. Äquiv. Glykokoll-N gebunden, $b = \frac{s \cdot y}{\alpha}$	$\frac{\div}{\log b}$	Wasser- stoffionen- konzen- tration, h	P _H	Konzen- tration der freien Salzsäure, h	Anzahl Mgr.- Äquivalente Salzsäure, durch 1 Mgr.- Äquiv. Gly- kokoll-N gebunden, $b = \frac{s \cdot y}{\alpha}$	$\frac{\div}{\log b}$
14	99	1	0,0397	0,0364	4,439	9,7	2,013	0,0388	4,411	0,0423	9,7	2,013
15	97,5	2,5	0,1018	0,0934	4,030	24,6	1,609	0,1021	3,991	0,1113	24,5	1,611
16	95	5	0,2143	0,1965	3,707	50,4	1,298	0,2094	3,679	0,2284	50,2	1,299
17	90	10	0,4780	0,4383	3,358	105,8	0,976	0,4560	3,341	0,4973	105,6	0,976
18	80	20	1,238	1,135	2,945	234,5	0,630	1,197	2,922	1,305	233,7	0,631
19	70	30	2,599	2,383	2,623	391,4	0,407	2,472	2,607	2,696	390,1	0,409
20	60	40	5,475	5,021	2,299	575,4	0,240	5,260	2,279	5,736	571,1	0,243
21	50	50	12,34	11,32	1,946	753,2	0,123	11,70	1,932	12,76	744,8	0,128
22	40	60	25,48	23,37	1,631	863,0	0,064	22,65	1,645	24,70	882,5	0,054
23	30	70	42,60	39,06	1,408	913,3	0,039	38,11	1,419	41,56	948,0	0,023
24	20	80	61,24	56,16	1,251	938,0	0,028	56,11	1,251	61,19	940,5	0,027
25	10	90	80,48	73,80	1,132	952,0	0,021	71,45	1,146	77,92	(1208)	($\frac{\div}{0,082}$)
26	0	100	100,00	91,70	1,038	—	—	91,62	1,038	99,91	—	—

¹⁾ Comptes-Rendus du Laboratoire de Carlsberg Bd. 8. S. 41 (1909).

Tabelle 19.

Die Wasserstoffionenkonzentration in Mischungen von Salzsäure und Glycylglycin nebst dem daraus berechneten Bindungsvermögen des Glycylglycins Salzsäure gegenüber.

In allen Mischungen ist die moläre Konzentration des Glycylglycins, $a = 200 \cdot 10^{-3}$; die Konzentration des Glycylglycinstickstoffs deshalb $2a = 400 \cdot 10^{-3}$.

Nr.	Kon- zen- tra- tion der zuge- setzten Salz- säure, s $s \cdot 10^3$	$\log s$ \div β	α	β	Berechnet				Durch Wasserstoffionemessung gefunden ¹⁾							
					Kon- zen- tra- tion der freien Salz- säure, y $y \cdot 10^3$	Wasser- stoff- ionen- konzen- tra- tion, $h = a \cdot y$ $h \cdot 10^3$	pH	Mgr. Äquiv. Salz- säure gebunden pr. Mgr.- Äqu. Gly- cylglycin, $B = \frac{s \cdot y}{a}$ $B \cdot 10^3$	Mgr. Äquiv. Salz- säure gebunden pr. Mgr.- Äqu. Glycyl- glycin-N, $b = \frac{B}{2}$ $b \cdot 10^3$	\div $\log b$	Was- ser- stoff- ionen- kon- zen- tra- tion, h $h \cdot 10^3$	pH	Kon- zen- tra- tion der freien Salz- säure $y = \frac{h}{a}$ $y \cdot 10^3$	Mgr. Äquiv. Salz- säure gebunden pr. Mgr.- Äqu. Glycyl- glycin, $B = \frac{s \cdot y}{a}$ $B \cdot 10^3$	Mgr. Äquiv. Salz- säure gebunden pr. Mgr.- Äqu. Glycyl- glycin-N $b = \frac{B}{2}$ $b \cdot 10^3$	\div $\log b$
					27	1	3,000	0,985	0,98	0,0039	5,420	4,98	2,49	2,604	—	—
28	10	2,000	0,966	0,94	0,0395	4,418	49,8	24,9	1,604	—	—	—	—	—	—	—
29	20	1,699	0,958	0,92	0,0822	4,104	99,6	49,8	1,303	0,0760	4,119	0,0793	99,6	49,8	1,303	—
30	40	1,398	0,945	0,90	0,1832	3,762	199,0	99,5	1,002	0,1726	3,763	0,1826	199,0	99,5	1,002	—
31	60	1,222	0,935	0,88	0,3097	3,538	298,4	149,2	0,826	0,2924	3,534	0,3127	298,4	149,2	0,826	—
32	80	1,097	0,926	0,86	0,4746	3,357	397,6	198,8	0,702	0,4645	3,333	0,5016	397,4	198,7	0,702	—
33	100	1,000	0,917	0,85	0,7069	3,188	496,4	248,2	0,605	0,7047	3,152	0,7685	496,2	248,1	0,605	—
34	130	0,886	0,909	0,84	1,291	2,930	643,6	321,8	0,492	—	—	—	—	—	—	—
35	160	0,796	0,901	0,83	2,632	2,625	786,8	393,4	0,405	—	—	—	—	—	—	—
36	200	0,699	0,893	0,82	11,575	1,986	942,1	471,1	0,327	—	—	—	—	—	—	—

¹⁾ K. G. Dernby. Comptes-Rendus du Laboratoire de Carlsberg Bd. 11, S. 269 (1916).

maßen groß (etwa $20 \cdot 10^{-6}$ oder größer) wählt, dann geht einer Reihe der Größen der Formel (4) alle, oder beinahe alle, Bedeutung ab, und die Formel wird auf den einfachen Ausdruck:

$$s = \frac{a \cdot \frac{k_b}{k_w} \cdot h}{\beta' + \frac{k_b}{k_w} h} + \frac{h}{a} \quad (7)$$

reduziert.

Die Formel (7) ermöglicht die Berechnung von β' , wenn s bekannt ist und h gemessen wird, und wir haben ein paar der in der Tabelle 21 mitgeteilten Versuche für die Berechnung β' verwertet.

Die Größe β'' (der Dissoziationsgrad des Ammoniumsalzes des Glykokolls) spielt nur eine ganz untergeordnete Rolle, wir haben sie gleich dem Dissoziationsgrad von Kaliumacetat in Lösungen von derselben Konzentration wie derjenigen des Ammoniumsulfats gesetzt.

Übrigens versteht man leicht die Zahlen der Tabelle 20, wenn man sich nur der Formel (4) und der Gleichungen, aus welchen dieselbe abgeleitet ist, erinnert (s. S. 145). Wie nach der am Ende des vorigen Abschnitts (S. 148) gegebenen Entwicklung zu erwarten war, zeigt sich das pro Milligramm-Äquivalent Glykokoll berechnete Säurebindungsvermögen, b , von der Glykokollkonzentration unabhängig, von der Ammoniumsulfatkonzentration, c , aber abhängig, indem b für dieselbe Wasserstoffionenkonzentration größer ist bei $c = 2,8$ als bei $c = 0,35$. Nur bei der niedrigsten Wasserstoffionenkonzentration ($1 \cdot 10^{-6}$) ist das Verhältnis ein anderes, das rührt aber gewiß davon her, daß die Wasserstoffionenkonzentration hier eine so niedrige ist, daß die oben mit δ und ϵ bezeichneten Größen hier berücksichtigt werden müssen. (Vgl. S. 148).¹⁾

¹⁾ Bei der Berechnung der in der Tabelle 20 aufgeführten Werte von s , x , y , z , u und b ist mit mehreren Dezimalstellen, als in der Tabelle angegeben, gerechnet; darin liegt die Ursache, weshalb die im vorletzten Stabe der Tabelle angeführten Werte von b bisweilen ein wenig von denjenigen abweichen, welche eine Berechnung von b mittels der Werte der Tabelle für s , y , z und u gibt.

Betreffs der Tabelle 21 ist nur noch zu bemerken, daß die Konzentration der freien überschüssigen Schwefelsäure, s' , aus der durch die Messung ermittelten Wasserstoffionenkonzentration, h , unter Rücksichtnahme auf die Hydrolyse des Ammoniumsulfats (s. Abschnitt A, S. 114), aber ohne Rücksichtnahme des Volumens des Glykokolls berechnet ist. Die Differenz der ganzen und der freien Säurekonzentration gibt die Konzentration der gebundenen Schwefelsäure, aus welcher das Säurebindungsvermögen des Glykokolls, b , unter den vorliegenden Umständen sich leicht berechnen läßt.

Bei den auf Figur 6 wiedergegebenen Kurven ist p_H als Abszisse und $-\log s$ als Ordinate benutzt worden, indem nur diejenigen Mischungen, in welchen die Konzentration des Ampholytenstickstoffs $400 \cdot 10^{-3}$ ist, mitgenommen sind. Die Kurven sind nach den berechneten Werten gezogen, und die experimentell gefundenen Werte erst nachher eingetragen.

Kurve I entspricht der Tabelle 17 (Exp. Punkt O).

- › II › › › 19 (› › O).
- › IIIa › › › 20 u. 21 ($c = 2,8$) (Exp. P. Δ).
- › IIIb › › › 20 u. 21 ($c = 0,35$) (› › \square).

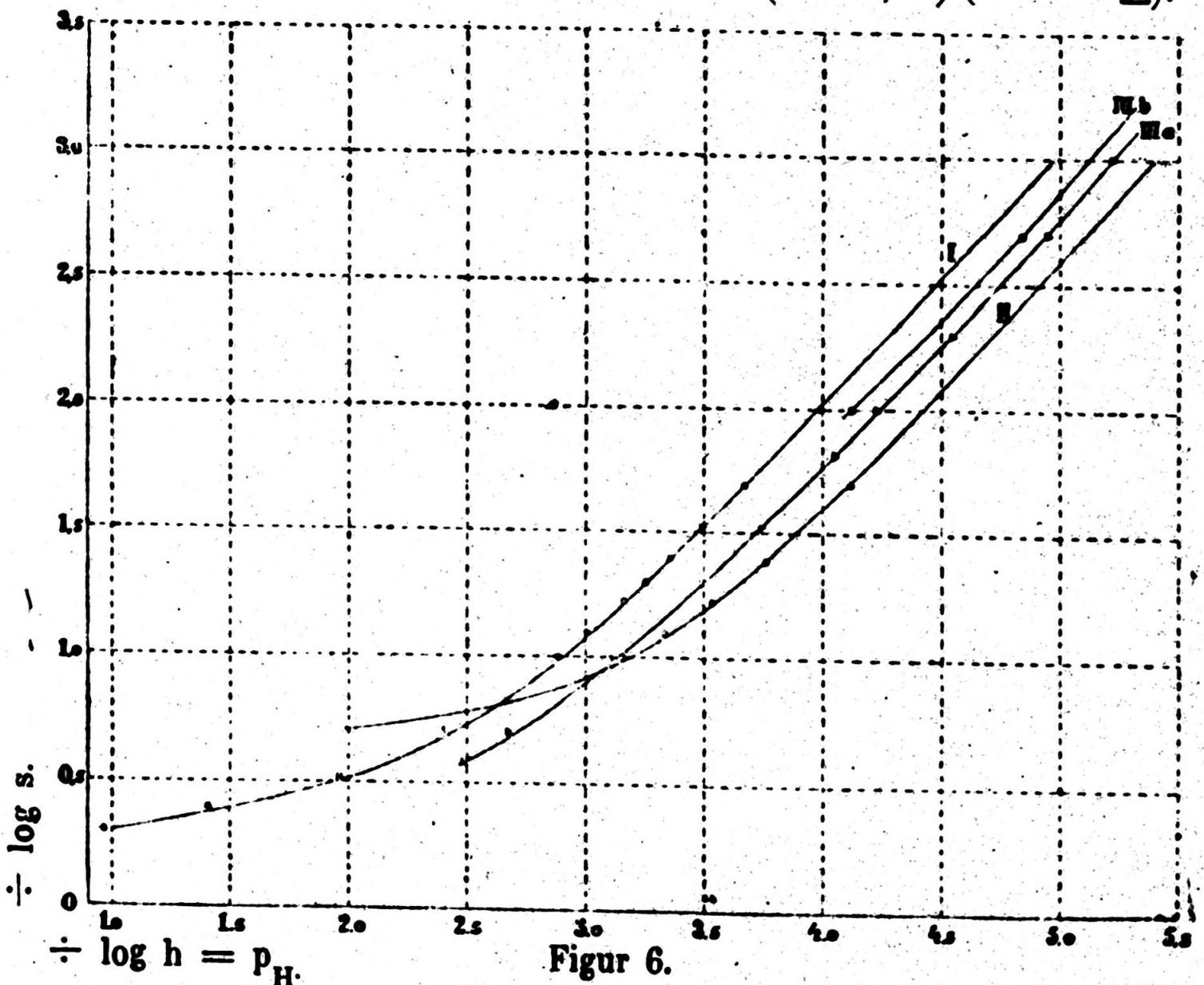


Tabelle 20.

Berechnung (nach Formel [4]) der Säurekonzentration, s, welche man an Mischungen von Glykokoll und Ammoniumsulfat zufügen muß, um eine gegebene Wasserstoffionenkonzentration, h, zu erhalten, nebst dem daraus berechneten Bindungsvermögen des Glykokolls Schwefelsäure gegenüber.

Nr.	Die Glykokollkonzentration, a · 10 ³	Die Wasserstoffionenkonzentration, h · 10 ⁶	Ph.	Die nach Formel (4) berechnete Konzentration der Schwefelsäure, s · 10 ³	$\frac{\div}{\log s}$	x · 10 ³	y · 10 ³	z · 10 ³	u · 10 ³	Anzahl Milligr.-Äquival. überschüssiger Schwefelsäure gebunden pro Mgr.-Äquival. Glykokoll, $b = \frac{s \div y + z}{2}$	$\frac{\div}{\log b}$
Ammoniumsulfatkonzentration: 2,8 · n/4; α = 0,088; β = 0,274; β' = 0,557; β'' = 0,425.											
37	400	1	6,000	÷ 0,245	—	0,421	0,011	0,316	399,730	0,148	3,830
38	400	5	5,301	0,793	3,101	0,084	0,057	0,063	399,159	1,999	2,699
39	400	10	5,000	1,709	2,767	0,042	0,114	0,032	398,353	4,068	2,391
40	400	30	4,523	5,200	2,284	0,014	0,341	0,011	395,124	12,175	1,915
41	400	50	4,301	8,617	2,065	0,008	0,568	0,006	391,941	20,137	1,696
42	400	100	4,000	16,928	1,771	0,004	1,136	0,003	384,203	39,50	1,403
43	400	1000	3,000	127,903	0,893	0,001	11,364	0,001	283,460	291,35	0,536
44	400	3000	2,523	254,991	0,593	0,001	34,091	0,001	179,099	552,25	0,258
45	10	1	6,000	÷ 0,303	—	0,318	0,011	0,316	9,994	0,148	3,830
46	10	5	5,301	0,0137	4,863	0,064	0,057	0,063	9,978	1,998	2,699
47	10	10	5,000	0,123	3,910	0,032	0,114	0,032	9,959	4,068	2,391
48	10	30	4,523	0,452	3,345	0,011	0,341	0,011	9,878	12,175	1,915
49	10	50	4,301	0,763	3,117	0,006	0,568	0,006	9,799	20,137	1,696
50	10	100	4,000	1,528	2,816	0,003	1,136	0,003	9,605	39,50	1,403
Ammoniumsulfatkonzentration: 0,35 · n/4; α = 0,230; β = 0,395; β' = 0,688; β'' = 0,749.											
51	400	1	6,000	0,0208	4,682	0,117	0,004	0,057	399,806	0,183	3,738
52	400	5	5,301	0,663	3,178	0,023	0,022	0,011	399,324	1,632	2,787
53	400	10	5,000	1,359	2,867	0,012	0,043	0,006	398,666	3,303	2,481
54	400	30	4,523	4,081	2,389	0,004	0,130	0,002	396,043	9,882	2,005
55	400	50	4,301	6,763	2,170	0,002	0,217	0,001	393,451	16,367	1,786
56	10	1	6,000	÷ 0,0507	—	0,058	0,004	0,057	9,996	0,184	3,735
57	10	5	5,301	0,0267	4,573	0,012	0,022	0,011	9,982	1,631	2,788
58	10	10	5,000	0,0708	4,150	0,006	0,043	0,006	9,966	3,302	2,481
59	10	30	4,523	0,227	3,644	0,002	0,130	0,002	9,901	9,881	2,005
60	10	50	4,301	0,380	3,420	0,001	0,217	0,001	9,836	16,367	1,780

Tabelle 21.

Messungen der Wasserstoffionenkonzentration in Gemischen von Glykoll, Schwefelsäure und Ammoniumsulfat nebst dem daraus berechneten Bindungsvermögen des Glykolls Schwefelsäure gegenüber.

Nr.	Konzentration der zugesetzten überschüssigen Schwefelsäure, $s \cdot 10^3$	$\frac{\log}{s}$	Die gemessene Konzentration der Wasserstoffionen		Die nach der Formel $s' = \frac{(x_{\max})^2}{h \cdot f_s}$ berechnete Konzentration der überschüssigen freien Schwefelsäure, $s' \cdot 10^3$	Konzentration der überschüssigen gebundenen Schwefelsäure, $s \div s'$ $(s \div s') \cdot 10^3$	Anzahl der per Mgr.-Äquivalent Glykoll gebundenen Mgr.-Äquivalent überschüssiger Schwefelsäure, $b = \frac{s \div s'}{a}$ $b \cdot 10^3$	$\frac{\log}{b}$
			PH	$h \cdot 10^6$				

Glykollkonzentration: $a = 400 \cdot 10^{-3}$; Ammoniumsulfatkonzentration: $c = 2,80 \cdot n/1$; $\alpha = 0,088$; $\beta = 0,274$;

$$(x \max.)^2 = c \frac{k_w \cdot \beta}{k_m \cdot \alpha} = 3587 \cdot 10^{-12}; f_s = 11,36.$$

61	0,1001	4,000	5,722	1,90	\div 0,1446	0,2447	0,612	3,213
62	0,2506	3,601	5,624	2,38	\div 0,1056	0,3562	0,891	3,050
63	1,001	3,000	5,222	6,00	0,0155	0,985	2,48	2,606
64	2,004	2,698	4,948	11,27	0,100	1,904	4,76	2,322
65	5,001	2,301	4,546	28,44	0,312	4,689	11,72	1,931
66	10,000	2,000	4,283	58,48	0,659	9,341	23,35	1,632
67	15,023	1,823	4,047	89,74	1,016	14,007	35,02	1,456
68	30,025	1,523	3,743	180,7	2,051	27,974	69,94	1,155
69	100,26	0,999	3,115	767,4	8,72	91,54	228,9	0,640
70	200,64	0,698	2,669	2143	24,34	176,30	440,8	0,356

Glykollkonzentration: $a = 400 \cdot 10^{-3}$; Ammoniumsulfatkonzentration: $0,35 \cdot n/1$; $\alpha = 0,230$; $\beta = 0,395$;

$$(x \max.)^2 = c \frac{k_w \cdot \beta}{k_m \cdot \alpha} = 247 \cdot 10^{-12}; f_s = 4,35.$$

71	2,003	2,698	4,839	14,49	0,059	1,944	4,86	2,313
72	10,000	2,000	4,123	75,34	0,327	9,673	24,18	1,617

Aus der Figur 6 ist erstens zu ersehen, daß die experimentell ermittelten Punkte auf den berechneten Kurven ausgezeichnet hineinpassen.

Zweitens ersieht man, daß für kleine Werte von s (somit hohe Werte des $\div \log s$) die Kurve II (Glycylglycinkurve) längst nach rechts liegt. Der Grund ist der, daß Glycylglycin eine stärkere Base als Glykokoll ist, ein größeres k_b als dieses besitzt. Die Säurebindung ist demzufolge vollständiger (und somit die freie Säurekonzentration und die Wasserstoffionenkonzentration niedriger, p_H höher) in den Glycylglycin- als in den Glykokollmischungen. Diese letztgenannten betreffend, so wird, laut des früher (S. 148) entwickelten, das Säurebindungsvermögen um so größer sein, je größer die Salzkonzentration ist, demgemäß sollen die Kurven in der folgenden Ordnung von rechts nach links liegen: IIIa ($c = 2,8$), IIIb ($c = 0,35$), I (ohne Salz). Alle Kurven verlaufen hier parallel, und das bedeutet, daß das Säurebindungsvermögen und mit ihm die freie Säurekonzentration sich für alle untersuchten Mischungen in analoger Weise mit anwachsendem s ändern. Bei größeren Werten von s (d. h. kleineren Werten von $\div \log s$) schneidet Kurve II (die Glycylglycinkurve) die übrigen Kurven, weil die Ampholytenkonzentration der Glycylglycinmischungen nur halb so groß wie die der übrigen ist, wenn auch die Konzentration des Stickstoffs überall dieselbe ist.

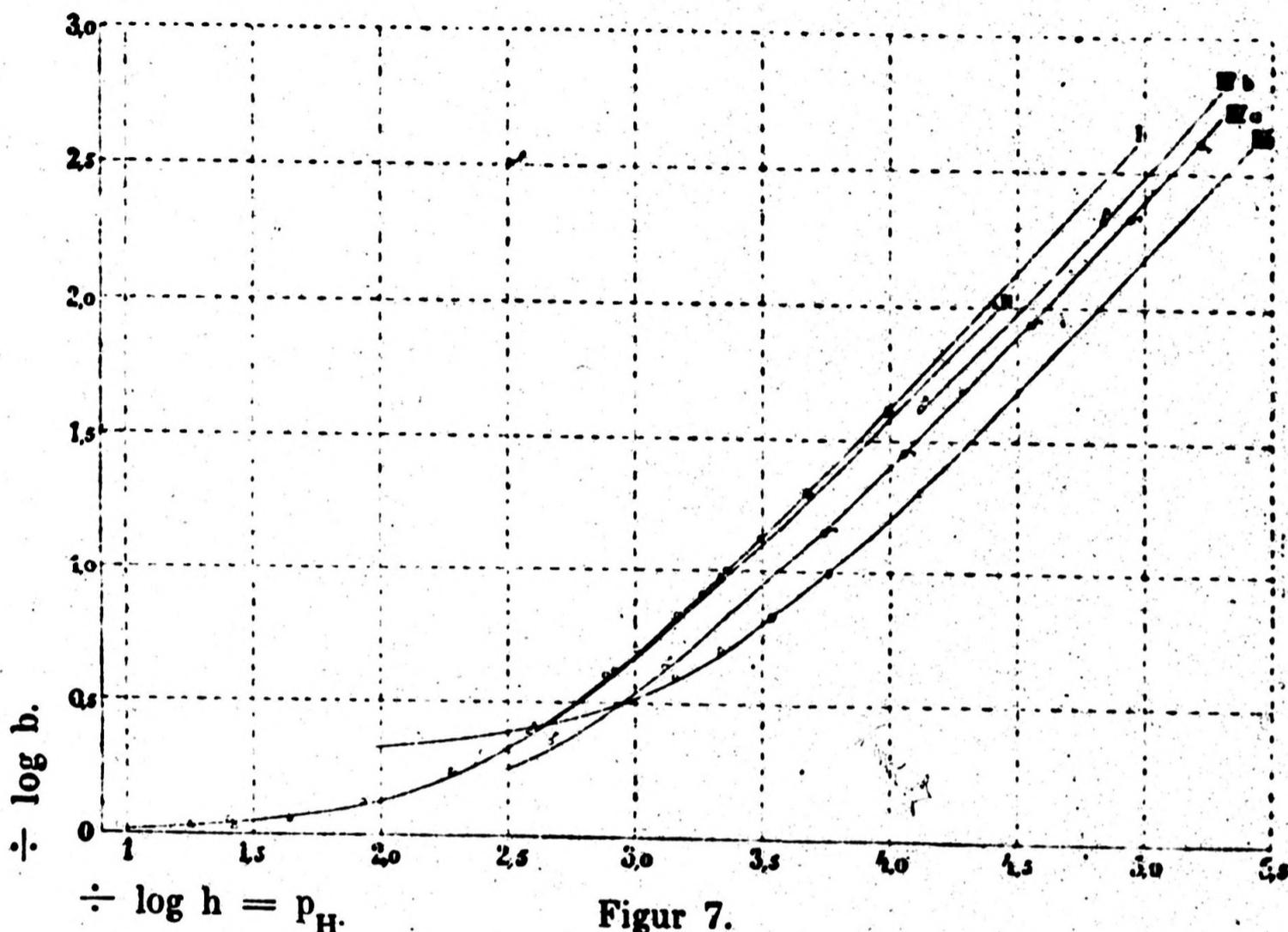
Ein ganz ähnliches Verhältnis wird man auf Figur 7, wo p_H Abszisse und $\div \log b$ Ordinate ist, wiederfinden. Da b das Säurebindungsvermögen pro Milligramm-Äquivalent Ampholytenstickstoff bedeutet, so können hier alle Messungen mitgenommen werden, auch solche, wo die Konzentration des Ampholytenstickstoffs eine andere als $400 \cdot 10^{-3}$ ist.

Kurve I entspricht der Tab. 17 (Exp. Punkt 0)

- II » » » 18 (» » Δ)
- III » » » 19 (» » \square)
- IVa » » » 20 u. 21 ($c = 2,8$, Exp. Punkt σ)
- IVb » » » 20 u. 21 ($c = 0,35$, » » σ')

Da das Säurebindungsvermögen, wie oben entwickelt, für Glycylglycinmischungen größer als für Glykokollmischungen und

für salzreiche Mischungen größer als für salzarme sein muß, so ordnen sich die Kurven, so lange die Wasserstoffionen-konzentration eine niedrige, p_H also groß, ist, folgenderweise:



Figur 7.

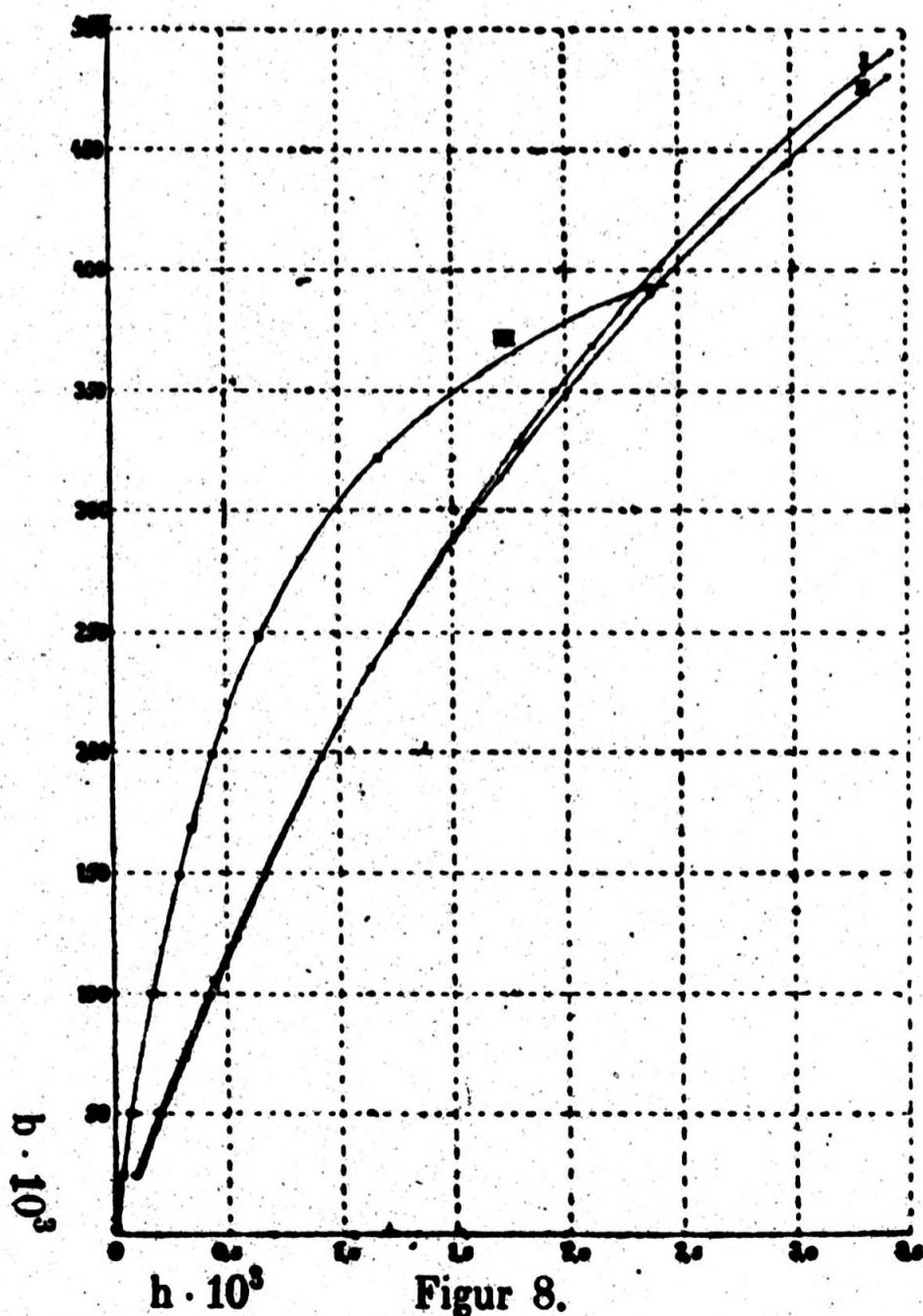
III (Glycylglycin), IVa ($c = 2,8$), IVb ($c = 0,35$), II ($c = 0,1$), I (ohne Salz).

Die Ursache, weshalb die Kurve III die übrigen Kurven bei niedrigeren Werten des p_H schneidet, ist oben erwähnt; hier soll nur darauf aufmerksam gemacht werden, daß auch die Kurven I und II einen Schnittpunkt haben, der Maßstab aber zu klein ist, um dies deutlich zu sehen; es tritt auf der Figur 8 deutlich hervor.

Auf Figur 8 ist h als Abszisse und b als Ordinate benutzt worden, und der Maßstab ist so groß gewählt, daß nur derjenige Teil des Gebietes, welcher den niedrigsten Wasserstoffionenkonzentrationen entspricht, auf der Figur Platz finden konnte. Die eingetragenen Punkte sind berechnet, und die Kurven nach denselben gezogen.

Die Kurve I entspricht der Tabelle 17 (berechneter Punkt ○)
 „ „ II „ „ „ 18 („ „ △)
 „ „ III „ „ „ 19 („ „ □)

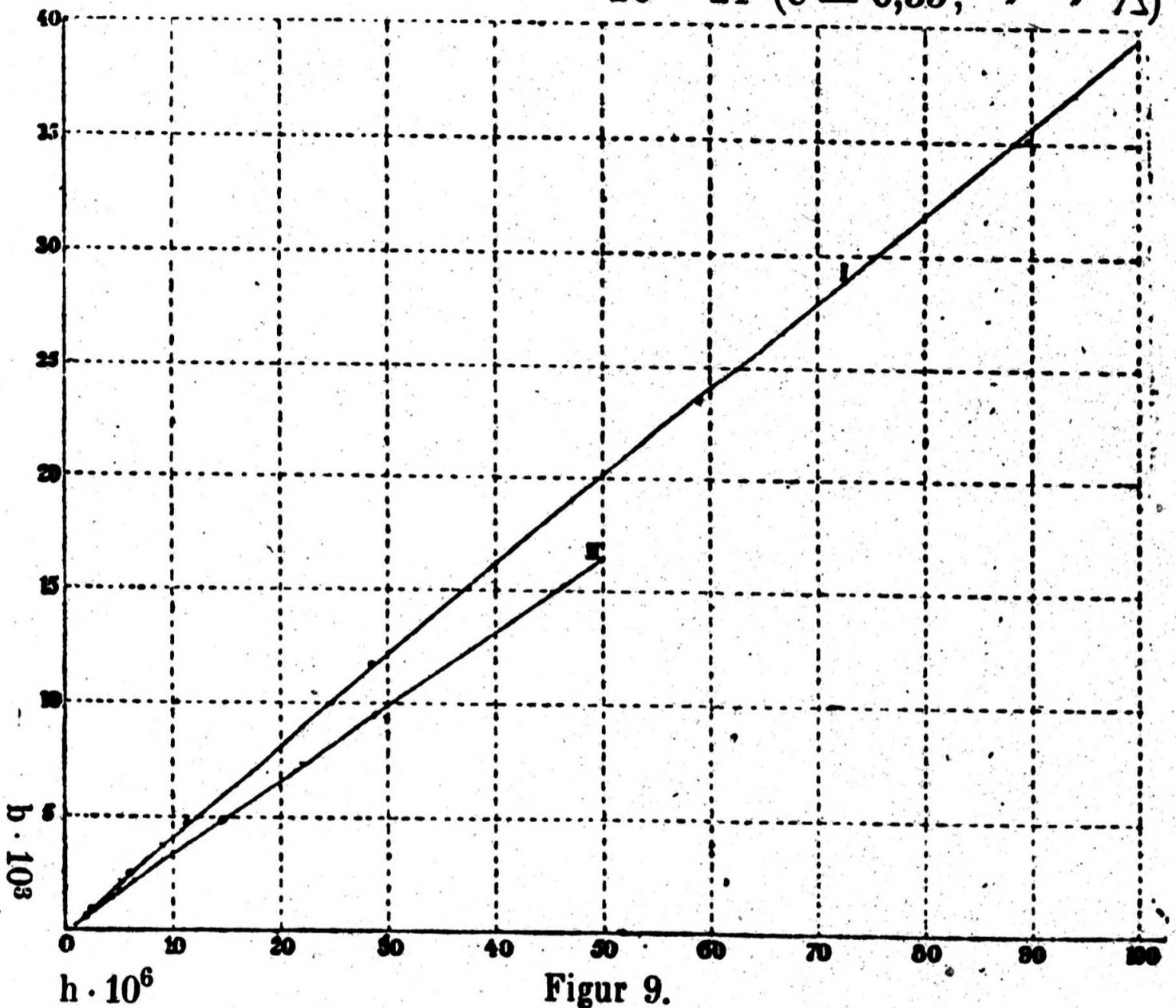
Daß Glycylglycin (Kurve III) bei niedrigen Werten von h ein größeres b als Glykokoll besitzt, ist schon erwähnt. Es ist ebenfalls erwähnt, daß Kurve I die Kurve II schneiden würde, und das ist auf Figur 8 deutlich zu ersehen. Der Grund dieser Schneidung ist der, daß die Glykokollmischungen der Tabelle 18 (Kurve II) alle dieselbe Gesamtchloridkonzentration haben, und zwar 0,1 n, während die Mischungen der Tab. 17 (Kurve I) kein Natriumchlorid enthalten, weshalb die Chloridkonzentration mit dem Säurezusatz ansteigt. Solange die Salzsäurekonzentration dieser letzten Gemische kleiner als 0,1 n ist, muß deshalb b kleiner, für die säurereicheren aber größer als bei den natriumchloridhaltigen sein. Die beiden Kurven schneiden sich demzufolge in demjenigen Punkt, in welchem die Lösungen dieselbe Chloridkonzentration besitzen, und das wird, wie aus der Tabelle 18 und aus der Tabelle 17, Versuch Nr. 9, ersichtlich ist, bei einer Wasserstoffionenkonzentration von etwa $1,2 \cdot 10^{-3}$ der Fall sein.



Betreffs endlich Figur 9, dann ist auch hier h als Abszisse und b als Ordinate benutzt. Die Kurven sind nach den berechneten Werten gezeichnet, und die durch die Experimente ermittelten Werte nachher eingetragen; des gewählten Maßstabs wegen hat indessen nur das Gebiet der niedrigsten Wasserstoffionenkonzentrationen auf der Figur Platz finden können.

Kurve I entspricht den Tabellen 20 u. 21 ($c = 2,8$; Exp. P. \circ)

» II » » » 20 » 21 ($c = 0,35$; » » \triangle)



Figur 9.

Es erhellt aus der Figur 9, daß diejenigen Kurven, welche bei den niedrigen Wasserstoffionenkonzentrationen, wovon hier die Rede ist, die gegenseitige Abhängigkeit des Säurebindungsvermögens des Glykokolls und der Wasserstoffionenkonzentration repräsentieren, sehr annäherungsweise Geraden sind, und daß Kurve I ($c = 2,8$) als es zu erwarten war, höher liegt als Kurve II ($c = 0,35$).

C. Das Säure- und Basebindungsvermögen des Albumins.

Wir werden jetzt versuchen, die im vorigen Abschnitt über einige einfach zusammengesetzten Ampholyten gemachten

Betrachtungen an Eieralbuminlösungen anzuwenden, indem ja das Eieralbumin — rein chemisch betrachtet — den Charakter eines sehr komplizierten amphoterer Körpers hat.

Von einer direkten Berechnung des Säurebindungsvermögens des Eieralbumins kann natürlich keine Rede sein, da keine der Dissoziationskonstanten des Eieralbumins, weder die saure noch die basische, bekannt sind. Dagegen werden wir versuchen, dieses Säurebindungsvermögen mittels Wasserstoffionmessungen in Eieralbuminlösungen bekannter Zusammensetzung in ähnlicher Weise zu ermitteln, wie es im vorigen Abschnitt einfache Ampholyten betreffend beschrieben ist, indem wir auch hier von der Dissoziation des Eieralbumins sowohl in Wasserstoff- und Anionen als auch in Hydroxyl- und Kationen absehen. Ein solches Verfahren gibt, wie es im vorhergehenden mit Bezug auf einfache Ampholyten auseinandergesetzt ist, nur dann richtige oder in großer Annäherung richtige Resultate, wenn die Wasserstoffionkonzentration der Lösung wesentlich größer oder kleiner ist als diejenige, welche dem isoelektrischen Punkt des Ampholyten entspricht. Ist das nicht der Fall, dann birgt die Methode eine Fehlerquelle in sich, welche nicht zu vernachlässigen ist.

Im folgenden werden zuerst das beim Ausführen der Versuche angewandte Verfahren und die dadurch erhaltenen Ergebnisse beschrieben werden, wonächst es diskutiert sein wird, inwiefern und wie die graphische Darstellung der Versuchsergebnisse zur Beantwortung der in der Einleitung dieser Abhandlung (s. S. 104) gestellten Fragen benutzt werden können.

a) Die Bestimmung des Säurebindungsvermögens des Albumins mittels Messung der Wasserstoffionkonzentration in ammoniumsulfathaltigen Eieralbuminlösungen mit gekanntem Gehalt an überschüssiger Schwefelsäure.¹⁾

Bei den Versuchen wurden immer Lösungen von gereinigtem Eieralbumin benutzt. Diese Reinigung geschah, wie in

¹⁾ Die Säuremenge ist hier wie überall, wo nicht das entgegengesetzte ausdrücklich angegeben wird, mit Vorzeichen gerechnet, derart daß eine negative Säuremenge die äquivalente Menge Base bedeutet.

Abhandlung I (S. 16 u. f.) beschrieben, durch 6 Krystallisationen und nachfolgende Dialyse mit wiederholtem Zusatz kleiner Mengen Ammoniak, bis alle Schwefelsäure weg dialysiert war. Aus der solchermaßen dialysierten Lösung wurde «die Ur-lösung» durch eine genaue Analyse mit nachfolgendem Zusatz einer mit der gefundenen kleinen Ammoniakmenge äquivalenten Menge Schwefelsäure dargestellt. Neben der Ur-lösung, deren Gehalt an Proteinstickstoff sich aus der Analyse berechnen ließ, und die außer dem Eieralbumin nur eine geringfügige und bekannte Menge Ammoniumsulfat, aber weder überschüssige Schwefelsäure noch überschüssiges Ammoniak enthielt, benutzten wir eine Ammoniumsulfatlösung von bekannter Zusammensetzung und mit bekanntem Überschuß an Schwefelsäure oder Ammoniak, und schließlich noch titrierte, passend verdünnte Lösungen von Schwefelsäure oder Ammoniak. Gewogene Mengen dieser Lösungen wurden gemischt und mit Wasser auf 25 ccm verdünnt, wonach die Wasserstoffionenkonzentration mittels der «Schaukelmethode» Hasselbalchs und bisweilen auch noch mittels fortgesetzter Wasserstoffdurchleitung gemessen wurde; gewöhnlich wurden drei Messungen mit verschiedenen Wasserstoff-Platin-Elektroden ausgeführt, welche letztere jede für sich gegen zwei oder drei Kalomel-Elektroden gemessen wurde.

Zur näheren Erleuchtung des Verfahrens, nach welchem das Säurebindungsvermögen mittels der Messungsergebnisse berechnet wird, haben wir in der Tabelle 22 die wichtigsten Zahlengrößen einer einzelnen Versuchsreihe wiedergegeben.

Die Konzentration, c , des Ammoniumsulfats war in allen Versuchsmischungen in großer Annäherung dieselbe und ließ sich aus den zur Mischung abgewogenen Mengen leicht berechnen, wenn das Salz über dem ganzen Volumen der Versuchsflüssigkeit gleichmäßig verteilt gedacht wurde; in dieser Weise wurde c gleich ca. 0,358 n, gefunden. Eine solche gleichmäßige Verteilung des Ammoniumsulfats findet indessen unseren Anschauungen gemäß nicht statt; die disperse Phase, das Ei-hydrat, hat ein klein wenig Ammoniumsulfat gebunden, aber weitaus der größte Teil desselben ist in dem das Ei-

hydrat umgebenden Dispersionsmittel gleichmäßig verteilt. Mittels der in Abhandlung V mitgeteilten Untersuchungen läßt es sich jetzt berechnen, daß bei den Versuchen der Tabelle 22 das Volumen der in 100 ccm Versuchsflüssigkeit enthaltenen dispersen Phase 3,77 ccm ausmachen wird. Das Volumen des in 100 ccm vorhandenen Dispersionsmittels, V_a , wird deshalb 96,23 ccm, und rechnet man das Ammoniumsulfat als über dieses Volumen gleichmäßig verteilt, so wird die Ammoniumsulfatkonzentration, c , — wenn auf die geringe vom Eihydrat gebundene Menge Rücksicht genommen wird — sehr nahe gleich 0,370 n werden.

Die Einzelheiten dieser Berechnung sind die folgenden: 100 ccm Versuchsflüssigkeit enthalten durchschnittlich 42,24 Milligramm-Äquivalenten Proteinstickstoff (Tabelle 22, Stab 2), und die Ammoniumsulfatkonzentration ist, wie gesagt, etwa 0,358 n, welches $S = 2,4$ entspricht (S ist die auf 100 g Wasser kommende Menge Ammoniumsulfat, siehe Tabelle 32 S. 205).

Aus den in Abhandlung V gegebenen graphischen Darstellungen der Abhängigkeit zwischen S einerseits und z bzw. y andererseits erhellt es, daß z (der Faktor, mit welchem das Gewicht des Proteinstickstoffs zu multiplizieren ist, um das Gesamtgewicht der dispersen Phase zu geben) und y (der Faktor, mit welchem man das Gewicht des Proteinstickstoffs multiplizieren muß, um das Gewicht des in der dispersen Phase eingegangenen Ammoniumsulfats zu bekommen) für $S = 2,4$ die Werte $z = 8,08$ und $y = 0,0257$ besitzen.

Das Gewicht der in 100 ccm Versuchsflüssigkeit gegenwärtigen dispersen Phase wird demgemäß (in Grammen):

$$\frac{42,24 \times 14,01 \times 8,08}{1000}$$

und wird das spezifische Gewicht der dispersen Phase gleich 1,27 gesetzt (die Ermittlung dieses spezifischen Gewichts wird in einer späteren Abhandlung Erwähnung finden), so wird das Volumen der dispersen Phase (in ccm)

$$\frac{42,24 \times 14,01 \times 8,08}{1000 \times 1,27} = 3,77$$

Das Gewicht der in der dispersen Phase enthaltenen Menge Ammoniumsulfat wird (in Grammen):

$$\frac{42,24 \times 14,01 \times 0,0257}{1000};$$

in 100 ccm verteilt wird dieses Gewicht von Ammoniumsulfat der Konzentration

$$\frac{42,24 \times 14,01 \times 0,0257}{1000 \times 66,08} \times \frac{1000}{100} = 0,002 \cdot n.$$

entsprechen.

Daraus ergibt sich das Volumen, V_a , des in 100 ccm Versuchsflüssigkeit vorhandenen Dispersionsmittels zu

$$V_a = 100 \div 3,77 = 96,23 \text{ ccm,}$$

und diejenige Konzentration, c , des Ammoniumsulfats, welche in dem die disperse Phase umgebenden Dispersionsmittel wirklich vorhanden ist, wird:

$$c = \frac{(0,358 \div 0,002) \times 100}{96,23} = 0,370 \cdot n,$$

Da die wirkliche Ammoniumsulfatkonzentration demnach ein wenig stärker ist als diejenige, $0,358 n$, von welcher wir in unseren Berechnungen ausgingen, so ist eigentlich die Berechnung mit der wirklichen Konzentration als Ausgangspunkt zu wiederholen. Nun wird die Konzentration $0,370 n$ dem $S = 2,47$ entsprechen, was seinerseits wieder $z = 8,10$ und $y = 0,0262$ entspricht. Wiederholt man die Berechnung mit diesen Werten von z und y , ergibt sich, daß V_a und c praktisch genommen dieselben Werte wie oben erhalten; diese Werte sind deshalb bei der Berechnung von Tabelle 22 benutzt worden.

Die in der Tabelle 22, zweiten und dritten Stab, angeführten Größen lassen sich aus den für die Versuchsflüssigkeit abgewogenen Mengen leicht berechnen. Vierter Stab enthält die Mittel der durch die Wasserstoffionenkonzentrationsmessung gefundenen Werte für h und fünfter Stab die fürs Dispersionsmittel hieraus mittels der Formel

$$s = h \cdot f_s \div \frac{(x_{\max})^2}{h \cdot f_s} \quad (\text{siehe Abschnitt A. S. 114})$$

berechnete überschüssige Säurekonzentration.

Aus der Konzentration des Dispersionsmittels an überschüssiger Säure läßt sich die in dem gesamten Volumen, V_a , des Dispersionsmittels gegenwärtige überschüssige Säuremenge t' leicht berechnen; diese Größe findet man im sechsten Stab, in ccm $n/1000$ Säure ausgedrückt. Die Differenz, $t \div t'$, zwischen der gesamten in 100 ccm Versuchsflüssigkeit gegenwärtigen und der in V_a ccm Dispersionsmittel enthaltenen Menge überschüssiger Säure oder Base gibt dann die durch die disperse Phase gebundene Menge an. $t \div t'$, ausgedrückt in ccm $n/1000$, findet man im vorletzten Stab, während der letzte Stab die mittels jener Differenz berechnete Anzahl

Tabelle 22.

Das Säurebindungsvermögen des Eieralbumins.

Versuchsreihe E: $c = 0,370 \text{ n}$; $f_g = 4,41$; $(x_{\text{max}})^2 = 258,5 \cdot 10^{-12}$; $V_a = 96,23$.

Versuchsnummer.	100 ccm Versuchsflüssigkeit enthielten:		Die gemessene Wasserstoffionenkonzentration, h	Die das Eihydrat umspülende Ammoniumsulfatlösung:		Die durch das Eieralbumin gebundene Menge Schwefelsäure (+) oder Ammoniak (÷) in ccm $\frac{n}{1000}$ ausgedrückt	
	Proteinstickstoff in Mgr.-Äquivalenten	Überschuß von Schwefelsäure (+) oder Ammoniak (÷) in ccm $\frac{n}{1000}$		besaß die Konzentration s von Überschuß an Schwefelsäure (+) oder Ammoniak (÷)	enthielt in 100 ccm t' ccm $\frac{n}{1000}$ Schwefelsäure (+) oder Ammoniak (÷) in Überschuß.		Die gesamte Proteinmenge in 100 ccm Versuchsflüssigkeit entsprechend
1	42,30	+ 1125,8	80,91	+ 356,1	+ 34,3	+ 1091,5	+ 25,8
2	42,20	+ 1009,9	70,17	+ 308,6	+ 29,7	+ 980,2	+ 23,2
3	42,26	+ 893,4	60,91	+ 267,7	+ 25,8	+ 867,6	+ 20,5
4	42,23	+ 768,2	51,76	+ 227,1	+ 21,9	+ 746,3	+ 17,7
5	42,24	+ 606,3	41,09	+ 179,8	+ 17,3	+ 589,0	+ 13,9
6	42,23	+ 408,7	30,74	+ 133,7	+ 12,9	+ 395,8	+ 9,4
7	42,23	+ 157,4	19,95	+ 85,0	+ 8,2	+ 149,2	+ 3,5
8	42,26	+ 7,0	15,74	+ 65,7	+ 6,3	+ 0,7	+ 0,0
9	42,23	÷ 140,6	12,14	+ 48,7	+ 4,7	÷ 145,3	÷ 3,4
10	42,22	÷ 328,8	8,02	+ 28,1	+ 2,7	÷ 331,5	÷ 7,9

ccm $n/1000$ überschüssiger Säure oder Base enthält, welche ein Milligramm-Äquivalent Proteinstickstoff gebunden hält.

Die in der Tabelle 22 wiedergegebene Versuchsreihe, welche mit E vermerkt ist, macht einen Teil des Hauptversuches aus; derselbe besteht aus 9 solcher Reihen; die Wasserstoffionenmessungen sämtlicher Reihen hat Fräulein J. Hempel gemacht. Für diese sämtliche Versuche diente eine und dieselbe Eieralbumin-Urlösung, bezeichnet D.Æ.6 (dargestellt 1915),¹⁾ von welcher abgewogene Mengen in angemessenen Proportionen mit gewogenen Mengen Ammoniumsulfatlösung, titrierter verdünnter Schwefelsäure oder titrierten verdünnten Ammoniaks, nebst Wasser derart gemischt wurden, daß die Konzentration des Eieralbumins und des Ammoniumsulfats innerhalb jeder einzelnen Reihe konstant gehalten wurden, von Reihe zu Reihe aber variierten. Das Säurebindungsvermögen wurde überall in derselben Weise berechnet, wie es oben die Reihe E betreffend beschrieben ist. Die Ergebnisse dieser Berechnungen sind in der Tabelle 23 zusammengestellt und auf der Hauptkurventafel, in Figur 10 stark verkleinert, niedergelegt. Die Wasserstoffionenkonzentration, h , ist als Abszisse benützt, während b , die pr. Milligramm-Äquivalent Proteinstickstoff gebundene Menge Schwefelsäure (+) oder Ammoniak (\div) in ccm $n/1000$ ausgedrückt, als Ordinate dient. Versuche, welche derselben Reihe gehören, sind auf der Kurventafel mit derselben Marke versehen und diese Marke ist auf der Tabelle 23 oben angegeben.

Es erhellt aus der Tabelle 23 und ganz besonders deutlich aus Figur 10, daß die Reihen I und H, welche ungefähr dieselbe Ammoniumsulfatkonzentration ($c = \text{ca. } 0,062 n$) besitzen, sich durch eine und dieselbe Kurve (I) darstellen lassen,

1) Die mit Toluol versetzte Urlösung wurde in Eis im Eisschrank aufbewahrt. Für jede Versuchsreihe wurde eine angemessene Menge herausgenommen und mittels Filtrierens von dem Überschuß an Toluol befreit, wonach der letzte Rest des Toluols durch Wasserstoffdurchleitung beseitigt wurde. Nach erneuertem Filtrieren wog man für die Bestimmung des Proteinstickstoffs Proben ab und das Übriggebliebene diente zur Darstellung der Versuchsflüssigkeiten.

Tabelle
Das Säurebindungsvermögen

Versuchsreihe											
A		B		C		D		E			
Marke:											
♂		♂		△		♂		○			
Ammoniumsulfatkonzentration, c:											
2,817 n		1,443 n		1,409 n		1,399 n		0,370 n			
Anzahl, e, von Milligramm-Äquivalenten Proteinstickstoff in 100 ccm Versuchsflüssigkeit.											
ca. 10,5		ca. 31,7		ca. 10,5		ca. 4,2		ca. 42,2			
Die ge- messene Wasser- stoff- ionen- konzent- rat., h	Die pr. Milligr.- Äquival- Protein-N ge- bundene Menge Schwefel- säure (+) od. Ammo- niak (÷) in ccm n/1000 $b = \frac{t \div t'}{e}$	Die ge- messene Wasser- stoff- ionen- konzent- rat., h	Die pr. Milligr.- Äquival- Protein-N ge- bundene Menge Schwefel- säure (+) od. Ammo- niak (÷) in ccm n/1000 $b = \frac{t \div t'}{e}$	Die ge- messene Wasser- stoff- ionen- konzent- rat., h	Die pr. Milligr.- Äquival- Protein-N ge- bundene Menge Schwefel- säure (+) od. Ammo- niak (÷) in ccm n/1000 $b = \frac{t \div t'}{e}$	Die ge- messene Wasser- stoff- ionen- konzent- rat., h	Die pr. Milligr.- Äquival- Protein-N ge- bundene Menge Schwefel- säure (+) od. Ammo- niak (÷) in ccm n/1000 $b = \frac{t \div t'}{e}$	Die ge- messene Wasser- stoff- ionen- konzent- rat., h	Die pr. Milligr.- Äquival- Protein-N ge- bundene Menge Schwefel- säure (+) od. Ammo- niak (÷) in ccm n/1000 $b = \frac{t \div t'}{e}$	Die ge- messene Wasser- stoff- ionen- konzent- rat., h	Die pr. Milligr.- Äquival- Protein-N ge- bundene Menge Schwefel- säure (+) od. Ammo- niak (÷) in ccm n/1000 $b = \frac{t \div t'}{e}$
74,19	+ 26,4	75,47	+ 25,7	78,40	+ 25,9	76,39	+ 26,1	80,91	+ 25,8		
65,67	24,1	66,27	23,7	70,15	23,5	68,86	23,4	70,17	23,2		
56,10	21,4	58,80	20,6	59,62	21,0	59,66	20,9	60,91	20,5		
48,31	18,1	49,97	17,7	49,44	17,9	—	—	51,76	17,7		
36,82	14,5	38,64	14,1	39,63	14,1	39,33	14,3	41,09	13,9		
29,32	10,5	29,39	9,4	30,60	9,5	29,91	9,7	30,74	9,4		
20,14	3,8	21,50	3,5	21,18	3,5	20,98	3,6	19,95	3,5		
16,06	0,4	16,85	0,0	16,76	0,1	17,13	0,0	15,74	0,0		
12,37	÷ 3,2	12,75	÷ 3,4	13,08	÷ 3,4	12,59	÷ 3,3	12,14	÷ 3,4		
8,91	÷ 7,6	8,81	÷ 7,8	8,97	÷ 7,7	9,01	÷ 7,5	8,02	÷ 7,9		

Das Säurebindungsvermögen des Eialbumins.

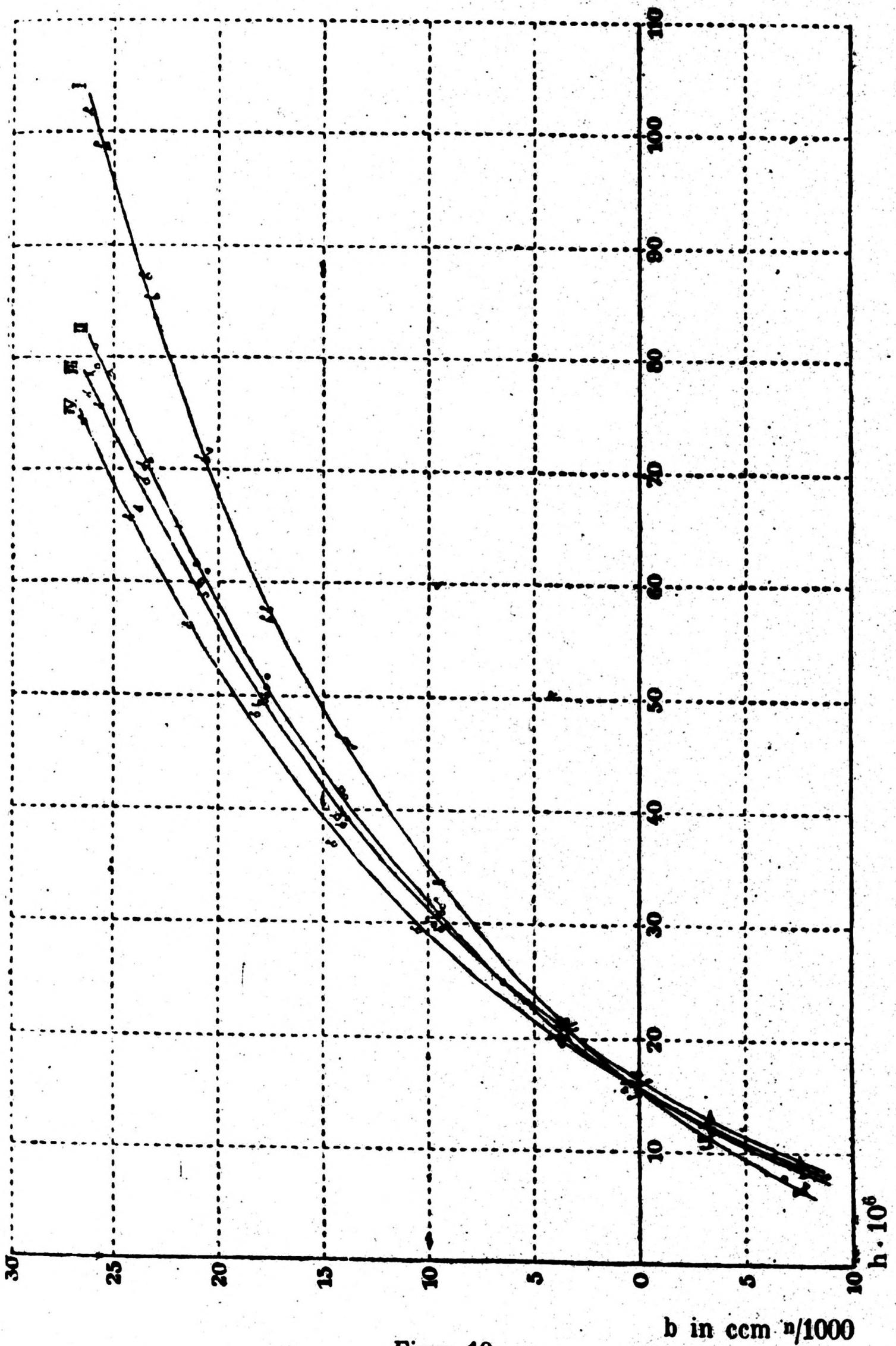
Versuchsreihe							
F		G		H		I	
Marke:							
△		□		♂		△	
Ammoniumsulfatkonzentration, c:							
0,365 n		0,354 n		0,065 n		0,059 n	
Anzahl, e, von Milligramm-Äquivalenten Proteinstickstoff in 100 ccm Versuchsflüssigkeit.							
ca. 32,0		ca. 10,5		ca. 31,7		ca. 10,5	
Die ge- messene Wasser- stoff- ionen- konzent- rat., h	Die pr. Milligr.- Äquival- Protein-N ge- bundene Menge Schwefel- säure (+) od. Ammo- niak (÷) in ccm n/1000 $b = \frac{t \div t'}{e}$	Die ge- messene Wasser- stoff- ionen- konzent- rat., h	Die pr. Milligr.- Äquival- Protein-N ge- bundene Menge Schwefel- säure (+) od. Ammo- niak (÷) in ccm n/1000 $b = \frac{t \div t'}{e}$	Die ge- messene Wasser- stoff- ionen- konzent- rat., h	Die pr. Milligr.- Äquival- Protein-N ge- bundene Menge Schwefel- säure (+) od. Ammo- niak (÷) in ccm n/1000 $b = \frac{t \div t'}{e}$	Die ge- messene Wasser- stoff- ionen- konzent- rat., h	Die pr. Milligr.- Äquival- Protein-N ge- bundene Menge Schwefel- säure (+) od. Ammo- niak (÷) in ccm n/1000 $b = \frac{t \div t'}{e}$
78,46	+ 25,2	79,13	+ 25,8	101,7	+ 26,0	98,70	+ 25,3
70,69	23,3	70,48	23,4	87,24	23,4	85,44	22,9
61,58	21,1	59,99	20,8	70,86	20,6	70,85	20,5
50,83	17,7	49,51	17,8	57,50	17,5	56,71	17,5
39,22	13,8	41,74	14,1	45,08	13,9	45,93	13,8
29,69	9,2	30,68	9,5	31,49	9,3	33,57	9,4
20,06	3,5	19,70	3,6	20,83	3,5	21,43	3,5
15,51	0,0	15,48	0,1	15,23	0,0	16,06	0,0
12,09	÷ 3,3	11,85	÷ 3,4	11,19	÷ 3,2	10,55	÷ 3,4
8,10	÷ 7,7	7,92	÷ 7,7	6,82	÷ 7,7	7,15	÷ 7,8

und dasselbe gilt für die Reihen G, F und E ($c = \text{ca. } 0,363 \text{ n}$ Kurve II) und D, C und B ($c = \text{ca. } 1,417 \text{ n}$ Kurve III) während die Reihe A ($c = 2,817 \text{ n}$) ihre eigene Kurve IV verlangt. Anders ausgedrückt wird dieses sagen, daß wenn die Ammoniumsulfatkonzentration unverändert ist, dann ist b unabhängig von der Eieralbuminkonzentration, welche ja, wie es aus Tabelle 23 ersichtlich ist, innerhalb der durch die nämliche Kurve repräsentierten Reihen bedeutend variiert.

Figur 10 zeigt des weiteren, daß, eine Wasserstoffionenkonzentration größer als $\text{ca. } 15\text{--}16 \cdot 10^{-6}$ ein positives b gibt, d. h. das Eieralbumin bindet überschüssige Schwefelsäure, und daß kleinere Werte der Wasserstoffionenkonzentration negative Werte von b ergeben, oder das Eieralbumin bindet überschüssiges Ammoniak. Die drei Kurven schneiden einander bei der Wasserstoffionenkonzentration $16 \cdot 10^{-6}$, die vierte Kurve, mit $c = 1,417 \text{ n}$, hat bei Wasserstoffionenkonzentrationen niedriger als $25 \cdot 10^{-6}$ einen von den drei anderen etwas verschiedenen Verlauf, die Abweichung ist aber nicht größer, als daß sie sich durch Versuchsfehler leicht erklären läßt. Sieht man von dieser Abweichung ab, so erhellt es aus der Kurventafel, daß die bei einer gegebenen Wasserstoffionenkonzentration pr. Milligramm-Äquivalent Proteinstickstoff gebundene Menge Schwefelsäure (b positiv) oder Ammoniak (b negativ) mit der Ammoniumsulfatkonzentration wächst.

Das Eieralbumin verhält sich demnach ganz analog mit dem, was wir für die einfachen Ampholyten als gültig befunden haben (siehe S. 155), und ganz wie die oben entwickelte Theorie über das Säurebindungsvermögen der Ampholyten es verlangt (siehe S. 148).

Auf noch einen Punkt müssen wir die Aufmerksamkeit lenken. Bei den obigen Berechnungen haben wir die Dissoziation des Eieralbumins in Wasserstoff- und Anionen beziehungsweise in Hydroxyl- und Kationen nicht berücksichtigt. Hieraus folgt nun, daß die in der Figur 10 wiedergegebenen Kurven mit einem systematischen Fehler behaftet sind, welcher um so größere Bedeutung erlangt, je näher die Wasserstoffionen-



Figur 10.

konzentration der Lösung dem isoelektrischen Punkt des Eieralbumins rückt. Weiter kann man, wie es im theoretischen Teil näher begründet ist (siehe S. 148), aus Figur 10 schätzen,

daß die isoelektrische Reaktion des Eieralbumins, wie sie oben (S. 147) definiert ist, bei $15 - 16 \cdot 10^{-6}$ liegen muß, weil bei dieser Wasserstoffionenkonzentration — unter den genannten unrichtigen Voraussetzungen — weder Schwefelsäure noch Ammoniak im Überschuß gebunden wird. Daß der wirkliche, isoelektrische Punkt des Eieralbumins eben bei dieser Wasserstoffionenkonzentration liegt, soll im letzten Teil (Abschnitt D) dieser Abhandlung auf anderem Weg dargetan werden.

b) Ist das Säurebindungsvermögen unter sonst gleichen Verhältnissen für alle Eieralbuminlösungen dasselbe?

Die nächste zu beantwortende Frage war diese: Behalten die mittels der beim Hauptversuch benutzten Eieralbuminlösung gewonnenen Resultate ihre Gültigkeit auch anderen Eieralbuminlösungen gegenüber? Ist, anders gesagt, der gefundene zahlenmäßige Ausdruck des Säurebindungsvermögens und die graphische Darstellung desselben für Eieralbuminlösungen überhaupt gültig, dermaßen daß das Säurebindungsvermögen zur Charakterisierung dieses Proteinstoffes herangezogen werden kann?

Zur Beantwortung dieser Frage haben wir in den Tabellen 24, 25 und 26 einige Versuchsreihen zusammengestellt, welche mit zu verschiedenen Zeiten dargestellten Eieralbuminlösungen gemacht sind. Die Versuche, bei welchen Herr S. Palitzsch die Wasserstoffionenmessung ausführte, wurden übrigens ganz wie beim Hauptversuch beschrieben durchgeführt, gleichwie die Berechnung des Säurebindungsvermögens, b , mittels der gemessenen Wasserstoffionenkonzentration, h , wie oben angegeben ausgeführt wurde. In den Tabellen 24, 25 und 26 findet sich jetzt, außer dem solchermaßen berechneten Werte von b , auch der entsprechende mittels der Kurventafel erhaltene Wert. In solchen Fällen, wo die Ammoniumsulfatkonzentration mit keiner der gezeichneten Kurven übereinstimmte, konnte man den gesuchten Wert von b durch Interpolation zwischen zwei Kurven oder, wenn nötig, durch eine weniger sichere Extrapolation finden.

Tabelle 24.

Das Säurebindungsvermögen des Eialbumins.

Sämtliche Versuche wurden mit einer in 1913 dargestellten, dialysierten Eialbuminlösung (P_{IV}) ausgeführt. e, die Anzahl der Milligramm-Äquivalente Proteinstickstoff in 100 ccm war in den Versuchen Nr. 1—6: ca. 8,2; in Nr. 7—22: ca. 16,3; in Nr. 23—33: ca. 24,5.

Die Ammoniumsulfatkonzentration, c, war überall ca. 0,35 n.

Ver- suchs- num- mer	Die ge- messe- ne Wasser- stoff- ionen konzen- tration, h h · 10 ⁶	Die pro Milligramm- Äquivalent Proteinstickstoff gebundene Menge Schwefel- säure (+) oder Am- moniak (÷) in ccm n/1000, $b = \frac{t \div t'}{e}$		Ver- suchs- num- mer	Die ge- messe- ne Wasser- stoff- ionen- konzen- tration, h h · 10 ⁶	Die pro Milligramm- Äquivalent Proteinstickstoff gebundene Menge Schwefel- säure (+) oder Am- moniak (÷) in ccm n/1000, $b = \frac{t \div t'}{e}$	
		aus der Messung berechnet	aus der Kurven- tafel (Fig. 10) abgeleitet			aus der Messung berechnet	aus der Kurven- tafel (Fig. 10) abgeleitet
1	77,93	+ 25,2	+ 25,2	18	12,81	÷ 2,9	÷ 2,6
2	46,82	+ 17,1	+ 16,3	19	12,32	÷ 2,9	÷ 3,1
3	27,73	+ 8,3	+ 7,9	20	10,07	÷ 5,3	÷ 5,4
4	20,38	+ 3,8	+ 3,7	21	9,89	÷ 5,3	÷ 5,7
5	14,84	÷ 0,8	÷ 0,6	22	8,08	÷ 7,7	÷ 8,0
6	9,64	÷ 5,4	÷ 6,0	23	68,79	+ 23,1	+ 23,0
7	68,24	+ 22,6	+ 22,8	24	54,79	+ 18,5	+ 19,0
8	59,05	+ 20,4	+ 20,3	25	39,85	+ 13,9	+ 13,6
9	44,71	+ 15,9	+ 15,5	26	30,63	+ 9,1	+ 9,4
10	33,55	+ 11,2	+ 10,6	27	25,92	+ 6,8	+ 7,0
11	29,02	+ 8,9	+ 8,6	28	22,61	+ 4,4	+ 5,1
12	24,76	+ 6,6	+ 6,4	29	18,09	+ 2,0	+ 1,9
13	20,96	+ 4,2	+ 4,1	30	15,04	÷ 0,4	÷ 0,5
14	17,84	+ 1,9	+ 1,8	31	12,51	÷ 2,8	÷ 2,9
15	15,55	÷ 0,5	÷ 0,1	32	10,06	÷ 5,2	÷ 5,4
16	15,05	÷ 0,5	÷ 0,5	33	8,20	÷ 7,6	÷ 7,8
17	14,78	÷ 0,5	÷ 0,7				

Tabelle 25.

Das Säurebindungsvermögen des Eieralbumins.

Sämtliche Versuche wurden mit einer in 1913 dargestellten dialysierten Eieralbuminlösung (P_{III}) ausgeführt.

Versuchsnummer	Die Ammoniumsulfatkonzentration, $c \times n/1$ c	Die Anzahl, e, von Milligr.-Äquivalenten Proteinstickstoff in 100 ccm Versuchsfüssigkeit	Die gemessene Wasserstoffionenkonzentration, h $h \cdot 10^6$	Die pro Milligr.-Äquivalent Proteinstickstoff gebundene Menge Schwefelsäure (+) oder Ammoniak (\div), $b = \frac{t \div t'}{e}$	
				aus der Messung berechnet	aus der Kurventafel (Fig. 10) abgeleitet
1	2,004	9,98	18,66	+ 1,9	+ 2,3
2	2,004	9,98	15,80	+ 0,1	\div 0,2
3	2,004	9,98	13,89	\div 1,7	\div 1,7
4	2,004	9,98	10,45	\div 5,3	\div 5,1
5	1,003	9,98	18,63	+ 2,5	+ 2,1
6	1,003	9,98	16,94	+ 0,6	+ 0,8
7	1,003	9,98	14,61	\div 1,3	\div 1,4
8	0,501	9,98	19,04	+ 2,8	+ 2,6
9	0,501	9,98	17,15	+ 0,9	+ 1,3
10	0,501	9,98	14,43	\div 1,0	\div 1,2
11	0,351	15,57	60,90	+ 20,5	+ 20,8
12	0,376	9,98	19,16	+ 2,9	+ 2,9
13	0,379	14,97	17,88	+ 1,9	+ 1,8
14	0,376	9,98	17,23	+ 1,0	+ 1,4
15	0,379	14,97	16,78	+ 0,6	+ 1,1
16	0,382	19,96	15,10	\div 0,6	\div 0,5
17	0,376	9,98	14,98	\div 0,9	\div 0,6
18	0,379	14,97	14,76	\div 0,7	\div 0,8
19	0,376	9,98	14,69	\div 0,9	\div 0,8
20	0,379	14,97	13,76	\div 2,0	\div 1,8
21	0,379	14,97	11,76	\div 3,3	\div 2,9
22	0,252	9,98	19,94	+ 3,0	+ 3,3
23	0,252	9,98	17,04	+ 1,1	+ 1,1
24	0,252	9,98	14,35	\div 0,8	\div 1,0
25	0,252	9,98	10,38	\div 4,6	\div 4,9
26	0,016	9,98	22,56	+ 3,4	(< + 4,5) ¹⁾
27	0,016	9,98	9,62	\div 4,4	(> \div 4,7) ¹⁾

¹⁾ Die angeführte Zahl entspricht der Kurve der kleinsten Ammoniumsulfatkonzentration, $c = 0,062$ (Fig. 10).

Das Säurebindungsvermögen des Eieralbumins.

Sämtliche Versuche wurden mit einer in 1914 dargestellten dialysierten Eieralbuminlösung (Pv) ausgeführt. Die Anzahl, e, der Milligramm-Äquivalente Proteinstickstoff war in den Versuchen Nr. 1—13: 20,460; Nr. 14—24: 2,046; Nr. 25—26: 1,023.

Ver- suchs- num- mer	Die Ammonium- sulfatkonzen- tration, $c \times \frac{n}{1}$ c	Die gemessene Wasserstoff- ionenkonzen- tration, h $h \cdot 10^6$	Die pro Milligr.-Äquivalent Proteinstickstoff gebundene Menge Schwefelsäure (+) oder Ammoniak (-), $b = \frac{t \div t'}{e}$		Ver- suchs- num- mer	Die Ammonium- sulfatkonzen- tration, $c \times \frac{n}{1}$ c	Die gemessene Wasserstoff- ionenkonzen- tration, h $h \cdot 10^6$	Die pro Milligr.-Äquivalent Proteinstickstoff gebundene Menge Schwefelsäure (+) oder Ammoniak (-), $b = \frac{t \div t'}{e}$	
			aus der Mes- sung berechnet	aus der Kur- ventafel (Fig. 10) abgeleitet				aus der Mes- sung berechnet	aus der Kur- ventafel (Fig. 10) abgeleitet
1	2,803	25,98	+ 8,8	+ 8,1	14	2,750	17,61 ¹⁾	+ 4,4	+ 1,8
2	2,803	14,76	÷ 0,4	÷ 0,8	15	2,750	12,44	÷ 2,2	÷ 3,4
3	2,803	8,35	÷ 7,8	÷ 8,2	16	1,375	19,35	+ 4,6	+ 2,3
4	1,053	14,96	÷ 0,3	÷ 1,0	17	1,375	12,52	÷ 2,3	÷ 3,8
5	0,702	28,75	+ 9,1	+ 8,6	18	0,344	22,21 ¹⁾	+ 5,7	+ 4,9
6	0,702	15,10	÷ 0,3	÷ 0,7	19	0,344	19,66	+ 6,2	+ 3,2
7	0,353	29,31	+ 9,2	+ 8,7	20	0,344	12,09	÷ 1,9	÷ 3,3
8	0,353	28,42	+ 9,2	+ 8,3	21	0,344	11,98	÷ 1,9	÷ 3,4
9	0,353	15,01	÷ 0,3	÷ 0,6	22	0,344	11,65	÷ 1,8	÷ 3,7
10	0,353	14,85	÷ 0,3	÷ 0,6	23	0,069	22,23	+ 7,3	+ 4,1
11	0,353	14,81	÷ 0,3	÷ 0,7	24	0,069	11,05	÷ 1,2	÷ 3,5
12	0,143	32,70	+ 9,3	+ 9,4	25	0,343	16,77	+ 3,9	+ 0,9
13	0,143	14,14	÷ 0,2	÷ 1,0	26	0,343	10,42	÷ 3,0	÷ 5,1

¹⁾ Die Messung ist im Versuchsjournal als etwas unsicher bezeichnet.

Bei all' den in der Tabelle 24 aufgeführten Versuchen wurde eine im Jahre 1913 dargestellte und auf gewöhnliche Weise dialysierte Eieralbuminlösung (P_{IV} gemerkt) benutzt. Die Ammoniumsulfatkonzentration war in allen Versuchen dieselbe und zwar 0,35 n, einer der Kurven der Figur 10 entsprechend, die Eieralbuminkonzentration dagegen war eine verschiedene, indem die Versuche in drei Reihen einzuordnen sind mit Proteinkonzentrationen, die sich zu einander wie 1 : 2 : 3 verhalten. Es erhellt aus der Tabelle, daß die Übereinstimmung des aus der Messung berechneten mit dem aus der Hauptkurventafel (Fig. 10) abgeleiteten Wert für b eine vorzügliche ist, indem die Abweichung niemals 1 ccm $n/1000$ erreicht.

Die in der Tabelle 25 angeführten Versuche beziehen sich auf eine im Jahre 1913 dargestellte Eieralbuminlösung (P_{III} gemerkt). In diesen Versuchen variierte teils die Proteinkonzentration (innerhalb recht enger Grenzen), teils die Ammoniumsulfatkonzentration. Auch hier ist die Übereinstimmung des aus der Messung berechneten und des aus der Kurventafel (Fig. 10) abgeleiteten Wertes für b zufriedenstellend.

Bei den Versuchen der Tabelle 26 benutzen wir eine im Jahre 1914 dargestellte Eieralbuminlösung (P_V gemerkt). In diesen Versuchen wurden sowohl die Ammoniumsulfat- als auch die Proteinkonzentration in weitem Maß variiert. Es erhellt aus der Tabelle, daß, während die Übereinstimmung zwischen dem berechneten und dem abgeleiteten Wert des b zufriedenstellend ist bei denjenigen Versuchen, in welchen die Proteinkonzentration eine beträchtliche ($e = 20,460$) ist, so ist dies bei den Versuchen mit ganz niedriger Proteinkonzentration ($e = 2,046$ oder $e = 1,023$) nicht mehr der Fall. Bei sämtlichen solchen Versuchen ist der aus der Messung berechnete Wert für b ausgesprochen größer (der numerische Wert also kleiner, wenn das Vorzeichen negativ ist) als der aus der Kurventafel abgeleitete Wert. Da es sich bei diesen Versuchen um Wasserstoffionenkonzentrationen in der Nähe der isoelektrischen Reaktion des Eieralbumins handelt, so muß die Ursache dieses abnormen Verhaltens gewiß in dem Um-

stand zu suchen sein, daß die Kurventafel (Figur 10) auf der Grundlage von Versuchen mit höheren Proteinkonzentrationen und ohne Rücksichtnahme auf die Dissoziation des Proteins in beziehungsweise Wasserstoff- und Anionen und Hydroxyl- und Kationen ausgearbeitet ist. Diese Frage ist schon im vorigen Abschnitt (siehe S. 148) ausführlich behandelt worden, woselbst es gezeigt worden ist, daß es bei dem isoelektrischen Punkt eines Ampholyten und in der Nähe desselben nicht erlaubt ist von dieser Dissoziation abzusehen, und daß die Größe des dadurch bedingten Korrektionsgliedes von der Ampholytenkonzentration in solcher Weise abhängt, daß b (mit Vorzeichen gerechnet) einen um so größeren Wert bekommen muß, je niedriger die Ampholytenkonzentration ist. Die wahrgenommene Abweichung läßt sich demnach in bester Übereinstimmung mit unseren theoretischen Voraussetzungen erklären (siehe übrigens S. 178—180).

Eine genauere Durchsicht der Tabelle 26 zeigt uns indessen, daß auch in den Fällen, wo die Proteinkonzentration hoch ist, die aus den Messungen berechneten Werte von b durchgehend höher sind als die aus der Kurventafel abgeleiteten, wenn auch die Abweichungen hier niemals $1 \text{ ccm}^{\text{n}}/1000$ erreichen. Diese Probe von Eieralbumin besitzt also nicht in so hohem Maß wie die beiden vorhergehenden dasselbe Säurebindungsvermögen wie die beim Hauptversuche angewandte, die Abweichung aber ist so geringfügig, daß sie sehr wohl von Versuchsfehlern herrühren kann, von welchen wir besonders hier einer weniger genauen Bestimmung des Ammoniakgehaltes der dialysierten Eiweißlösung gedenken werden. Wird die Grenze des Versuchsfehlers zu $1 \text{ ccm}^{\text{n}}/1000$ im Werte von b gesetzt, so haben die von uns untersuchten, normalen Eieralbuminlösungen dasselbe Säurebindungsvermögen gezeigt, und wir betrachten diese Tatsache als einen Beweis dafür, daß Eieralbuminlösungen, welche auf die in der vorhergehenden Abhandlung angegebene Weise dargestellt sind, immer denselben Stoff mit den für ihn charakteristischen Eigenschaften enthalten.

Anders muß selbstverständlich die Sache liegen, wenn die Eieralbuminlösung einer anfangenden Fäulnis anheimgefallen ist, oder in anderer Weise, z. B. durch zu lange Aufbewahrung mit Überschuß von starken Säuren oder Basen, ein Abbau angefangen hat. In solchen Fällen muß man ein größeres Vermögen Säuren oder Basen zu binden erwarten, weil der Abbau sowohl säure- als basebindende Gruppen freimacht. Wir haben dieses Verhältnis nur bei einer einzelnen Eieralbuminprobe experimentell nachgewiesen, indem wir einige Wasserstoffionenmessungen vorgenommen und daraus b berechnet haben für einige Mischungen, die wir aus der in Abhandlung I (siehe S. 29 u. f.) erwähnten dialysierten Eieralbuminlösung darstellten, welche Lösung nach der Beseitigung des Toluols einen deutlichen, wenn auch ganz schwachen faulen Geruch besaß. In allen Versuchen war die Ammoniumsulfatkonzentration, c , gleich 0,354 n, und die Anzahl, e , der Milligramm-Äquivalente Proteinstickstoff in 100 ccm Flüssigkeit gleich 14,2. Das Resultat der Messungen, welches unten angeführt ist, zeigt, daß das Säurebindungsvermögen hier, wie es zu erwarten war, größer als das normale war.

$h \cdot 10^6$	b aus den Messungen berechnet.	b aus der Kurventafel abgeleitet.
61,95	+ 26,23	+ 21,70
54,77	23,64	19,00
47,76	21,00	16,65

c) Bestimmung des Gehalts und der Verteilung überschüssiger Schwefelsäure in ammoniumsulfathaltigen Eieralbuminlösungen mittels der Hauptkurventafel.

Wir kehren jetzt zu der in der Einleitung dieser Abhandlung gestellten Frage zurück, ob es möglich ist, sowohl die ganze gegenwärtige «überschüssige» Menge Schwefelsäure oder Ammoniak als auch die Verteilung derselben zwischen dem Eieralbumin und dem umgebenden Dispersionsmittel mittels einer Wasserstoffionenmessung zu bestimmen. Wir haben in dem Vorausgegangenen gesehen, daß diese Frage bejahend beantwortet werden muß, indem die Hauptkurventafel (Figur 10), wenn h gemessen wird, eine Ablesung von b erlaubt, selbstverständlich unter der Voraussetzung, daß auch die sonstige Zusammensetzung der Lösung bekannt ist. Da weiter, wie es oben (S. 165) erwähnt ist, das Gehalt des Dispersionsmittels an überschüssigen Mengen Schwefelsäure oder Ammoniak sich, wenn h gemessen wird,

berechnen läßt, so sind alle zur Beantwortung der gestellten Frage notwendigen Daten vorhanden. Die Grundlage, auf welcher die Hauptkurventafel ruht, ist indessen, wie es im Vorhergehenden mehrmals erwähnt ist, nicht ganz zuverlässig, indem die Dissoziation des Eieralbumins in Wasserstoff- und Anionen beziehungsweise Hydroxyl- und Kationen bei der Berechnung unberücksichtigt geblieben ist; es wird deshalb von Interesse sein zu untersuchen, wie groß wohl der Einfluß dieser Vereinfachung auf die Genauigkeit der mittels der Tafel gewonnenen Resultate sein kann. Wir wollen uns in diesem Abschnitt etwas näher hierüber orientieren.

Eine quantitative Behandlung der genannten Frage ist kaum durchzuführen, die qualitative Bedeutung der oben genannten Fehlerquelle erkennt man aber leicht, wenn man bedenkt, daß das Eieralbumin ein ausgeprägt sauer reagierender Ampholyt ist, und daß man demgemäß praktisch genommen von der Dissoziation in Hydroxyl- und Kationen absehen kann. Und zwar ist der Fehler dann derjenige, daß man die überschüssige Säurekonzentration, s , des Dispersionsmittels aus der Gleichung

$$s = h \cdot f_s \div \frac{(x_{\max})^2}{h \cdot f_s}$$

mittels des gemessenen Wertes von h berechnet, ohne zu berücksichtigen, daß ein Teil der Wasserstoffionen, welche die Wasserstoffionenkonzentration h geben, aus der Dissoziation des Eieralbumins in Wasserstoff- und Anionen stammt und deshalb nicht in der Berechnung von s mitgenommen sein sollte. Der Fehler zeigt sich somit in einer zu hohen Bewertung des s (mit Vorzeichen gerechnet), und das aus demselben berechnete t' , welches die in dem Dispersionsmittel von 100 ccm Versuchsflüssigkeit anwesende Menge überschüssige Schwefelsäure anzeigt, wird ebenfalls zu hoch berechnet. Die durch das Eieralbumin gebundene Säuremenge wird deshalb zu niedrig gefunden, und es ist unmittelbar einleuchtend; daß in dem mittels der Gleichung

$$b = \frac{t - t'}{e},$$

(wo t die ganze in 100 ccm Versuchsflüssigkeit gegenwärtige Menge überschüssiger Säure und e die Anzahl von Milligramm-Äquivalenten Proteinstickstoff in demselben Volumen Versuchsflüssigkeit bezeichnen) gefundenen Wert von b ein Fehler in t' um so mehr bedeutet, je mehr $t \div t'$ sich 0 nähert, und je kleiner e wird.

Das Resultat wird also das folgende sein: die mittels der Kurventafel abgeleiteten Werte für b (Säurebindungsvermögen mit Vorzeichen gerechnet) sind immer zu niedrig, und der Fehler ist verhältnismäßig um so größer, je mehr b sich 0 nähert und je geringer die Proteinkonzentration der betreffenden Lösung ist. Andererseits gibt die oben benutzte Berechnungsweise einen zu hohen Wert für t' (der Gehalt des Dispersionsmittel an überschüssiger Säure), so daß der Gesamthalt der Lösung an überschüssiger Säure, welcher ja durch Addition der durch das Albumin gebundenen und der im Dispersionsmittel gegenwärtigen erhalten wird, richtig ist. Dieses behält jedoch nur so lange Gültigkeit, als es sich um Lösungen handelt, deren Proteinkonzentrationen einigermaßen denjenigen entsprechen, auf welchen die Kurventafel (Fig. 10) basiert ist. Wie oben auseinandergesetzt, kann man bei ganz schwacher Proteinkonzentration b als von derselben unabhängig nicht betrachten, so wie es bei der Konstruktion der Kurventafel gemacht ist. Die Tafel gibt in diesen Fällen ein etwas zu kleines b , und auch die gesamte Menge überschüssige Säure der Lösung wird demzufolge zu klein gefunden.

d) Bestimmung des gesamten Inhalts von überschüssiger Schwefelsäure in ammoniumsulfathaltigen Eieralbuminlösungen ohne Benutzung der Hauptkurventafel.

Die gesamte überschüssige Menge Säure der Lösung kann auf einem direkteren Weg als dem im Abschnitt c beschriebenen ermittelt werden. Dieses zweite Verfahren gibt immer

ein richtiges Resultat, es gibt aber über die Verteilung der überschüssigen Säure unter den beiden Phasen der Lösung keine Aufschlüsse, und ist im großen und ganzen genommen umständlicher als das oben erwähnte.

Um dieses etwas näher zu beleuchten, haben wir in der Tabelle 27 sämtliche Versuche zusammengestellt, welche wir mit der Ammoniumsulfatkonzentration ca. 0,36 n gemacht haben, und von welchen die meisten bei den im Vorhergehenden angestellten Berechnungen benutzt worden sind. In der Tabelle finden sich Versuche von 11 Versuchsreihen mit verschiedenen Eieralbuminproben gesammelt, die Konzentration des Proteins, die durch e ausgedrückt wird, ist, wie es aus den Bemerkungen oben, über die eigentliche Tabelle, ersichtlich ist, in den verschiedenen Reihen eine weit verschiedene, die Konzentration des Ammoniumsulfats aber ist in allen Reihen sehr angenähert dieselbe. In der Tabelle findet man die für jede einzelne Versuchsmischung ermittelte Konzentration, h , der Wasserstoffionen, die in 100 ccm dieser Mischung gegenwärtige Menge, t , von Schwefelsäure (+) oder Ammoniak (÷) in ccm $\frac{n}{1000}$ ausgedrückt, nebst der daraus berechneten Größe, q , welche Größe die pr. Milligramm-Äquivalent Proteinstickstoff gegenwärtige überschüssige Anzahl von ccm $\frac{n}{1000}$ Schwefelsäure (+) oder Ammoniak (÷) anzeigt.

Werden bei einer graphischen Darstellung der in Tabelle 27 gesammelten Versuchsergebnisse h als Abszisse und q als Ordinate gebraucht, dann bekommt man für jede einzelne der 11 Versuchsreihen eine Kurve, von welcher wir in Figur 11 die 5 wiedergegeben haben, die den Werten 1,023, 2,046, 10,52, 16,33 und 42,24 von e entsprechen¹⁾. Aus jeder einzelnen Kurve kann man jetzt gerade heraus ableiten, welche Wasserstoffionenkonzentration, h , die entsprechende Eieralbuminlösung haben wird, wenn die überschüssige Schwefelsäuremenge, q , pr. Milligramm-Äquivalent Proteinstickstoff einen gegebenen Wert hat. In Tabelle 28 haben wir die solcherweise für ver-

¹⁾ Da die den nur einigermaßen starken Eieralbuminlösungen entsprechenden Kurven so dicht aneinander liegen, haben wir Übersichtlichkeitshalber auf die Figur 11 nur die 5 obengenannten gezeichnet.

Die Abhängigkeit zwischen der Wasserstoffionenkonzentration
Die Ammoniumsulfatkonzentration,

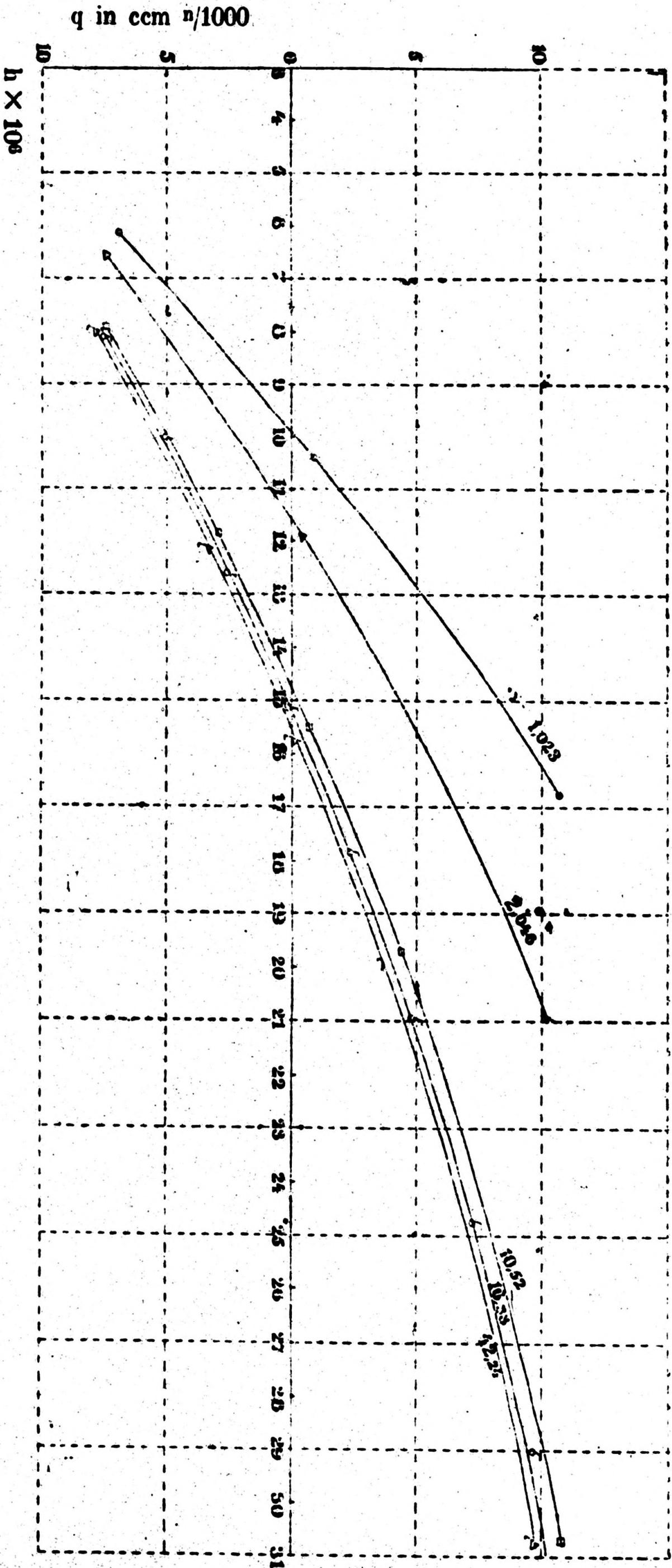
Albuminlösung und ihrem Gesamtgehalt an Schwefelsäure.
In allen Versuchsgemischen ca. 0,36 n.

Versuch Nr. 1-10: Eialbuminlösung: Hauptversuch E; c = 0,370
 „ „ 11-20: „ „ F; c = 0,365
 „ „ 21-30: „ „ G; c = 0,354
 „ „ 31-35: „ „ P_{III}; c = 0,375
 „ „ 36-38: „ „ P_{III}; c = 0,375
 „ „ 39-50: „ „ P_{IV}; c = 0,355
 „ „ 51-63: „ „ P_{IV}; c = 0,351
 „ „ 64-70: „ „ P_{IV}; c = 0,347
 „ „ 71-73: „ „ P_V; c = 0,333
 „ „ 74-76: „ „ P_V; c = 0,344
 „ „ 77-79: „ „ P_V; c = 0,348

Zahl Milligr.-Äquival.-Proteinstickstoff in 100 ccm Versuchsflüssigkeit, e = 42,24
 „ „ „ 100 „ „ e = 31,96
 „ „ „ 100 „ „ e = 10,52
 „ „ „ 100 „ „ e = 14,97
 „ „ „ 100 „ „ e = 9,98
 „ „ „ 100 „ „ e = 24,50
 „ „ „ 100 „ „ e = 16,33
 „ „ „ 100 „ „ e = 8,17
 „ „ „ 100 „ „ e = 20,46
 „ „ „ 100 „ „ e = 2,046
 „ „ „ 100 „ „ e = 1,023

Ver- suchs- num- mer	Die gemessene Wasserstoff- ionenkon- zentration h h · 10 ⁶	100 ccm Ver- suchsflüssig- keit enthalten einen Gesamt- überschuß an Schwefel- säure (+) oder Ammoniak (-) von t ccm n/1000 t	Der Überschuß an Schwefel- säure (+) od. Ammoniak (-), q, in ccm n/1000 pr. Milligr.- Äquival.-Pro- teinstickstoff q = $\frac{t}{e}$	Ver- suchs- num- mer	Die gemessene Wasserstoff- ionenkon- zentration h h · 10 ⁶	100 ccm Ver- suchsflüssig- keit enthalten einen Gesamt- überschuß an Schwefel- säure (+) oder Ammoniak (-) von t ccm n/1000 t	Der Über- schuß an Schwefel- säure (+) od. Ammoniak (-), q, in ccm pr. Milligr.- Äquival.- Proteinstick- stoff q =
1	80,91	+ 1125,8	+ 26,61	21	79,13	+ 305,5	+ 7,21
2	70,17	1009,9	23,93	22	70,48	276,3	3,92
3	60,91	893,4	21,14	23	59,99	244,6	4,06
4	51,76	768,2	18,19	24	49,51	208,2	4,20
5	41,09	606,3	14,35	25	41,74	166,2	3,98
6	30,74	408,7	9,68	26	30,68	113,1	3,66
7	19,95	157,4	3,73	27	19,70	46,3	2,35
8	15,74	7,0	0,17	28	15,48	7,06	0,45
9	12,14	÷ 140,6	÷ 3,33	29	11,85	÷ 31,1	÷ 2,63
10	8,02	÷ 328,8	÷ 7,79	30	7,92	÷ 78,0	÷ 9,72
11	78,46	+ 843,3	+ 26,26	31	17,88	+ 35,84	+ 2,00
12	70,69	766,4	24,28	32	16,78	15,84	0,94
13	61,58	679,0	21,52	33	14,76	÷ 4,16	÷ 0,28
14	50,83	580,6	18,39	34	13,76	÷ 24,16	÷ 1,75
15	39,22	461,5	14,35	35	11,76	÷ 44,16	÷ 3,76
16	29,69	308,8	9,60	36	19,16	+ 37,04	+ 2,45
17	20,06	121,0	3,76	37	17,23	17,04	0,99
18	15,51	7,0	0,22	38	14,83	÷ 2,96	÷ 0,20
19	12,09	÷ 102,2	÷ 3,18	39	68,79	+ 596,2	+ 8,65
20	8,10	÷ 242,3	÷ 7,55	40	54,79	476,19	8,71

Ver- suchs- num- mer	Die gemessene Wasserstoff- ionenkon- zentration, h h · 10 ⁶	100 ccm Ver- suchsflüssig- keit enthalten einen Gesamt- überschuß an Schwefel- säure (+) oder Ammoniak (-) von t ccm n/1000 t	Der Überschuß an Schwefel- säure (+) od. Ammoniak (-), q, in ccm n/1000 pr. Milligr.- Äquival.-Pro- teinstickstoff q = $\frac{t}{e}$	Ver- suchs- num- mer	Die gemessene Wasserstoff- ionenkon- zentration, h h · 10 ⁶	100 ccm Ver- suchsflüssig- keit enthalten einen Gesamt- überschuß an Schwefel- säure (+) oder Ammoniak (-) von t ccm n/1000 t	Der Überschuß an Schwefel- säure (+) od. Ammoniak (-), q, in ccm n/1000 pr. Milligr.- Äquival.-Pro- teinstickstoff q = $\frac{t}{e}$
41	39,85	+ 356,19	+ 14,54	61	9,98	÷ 82,24	÷ 8,24
42	30,63	236,19	9,64	62	8,08	÷ 122,24	÷ 15,13
43	25,92	176,19	7,19	63	4,89	÷ 202,24	÷ 25,92
44	22,61	116,19	4,74	64	77,93	+ 239,33	+ 3,07
45	18,09	56,19	2,29	65	46,82	159,33	3,39
46	15,04	÷ 3,81	÷ 0,16	66	27,73	79,33	2,86
47	12,51	÷ 63,81	÷ 2,60	67	20,38	39,33	1,93
48	10,06	÷ 123,81	÷ 5,05	68	14,84	÷ 0,67	÷ 0,04
49	8,20	÷ 183,81	÷ 7,50	69	9,64	÷ 40,67	÷ 4,22
50	6,04	÷ 243,81	÷ 9,95	70	5,84	÷ 80,67	÷ 13,82
51	68,24	+ 397,76	+ 24,36	71	28,87	+ 200,78	+ 6,96
52	59,05	357,76	21,91	72	14,88	+ 0,78	+ 0,05
53	44,71	277,76	17,01	73	7,33	÷ 159,22	÷ 21,72
54	33,55	197,76	12,11	74	20,93	+ 20,89	+ 1,95
55	29,02	157,76	9,66	75	11,87	0,89	0,07
56	24,76	117,76	7,21	76	6,55	÷ 15,11	÷ 2,31
57	20,96	77,76	4,76	77	16,77	+ 10,89	+ 0,65
58	17,84	37,76	2,31	78	10,42	0,89	0,08
59	15,13	÷ 2,24	÷ 0,14	79	6,16	÷ 7,11	÷ 1,15
60	12,57	÷ 42,24	÷ 2,59				



Figur 11.

schiedene Werte von q (von $+ 10$ zu $\div 6$) graphisch abgeleiteten Werte von h für die 11 hier behandelten Versuchsreihen mit verschiedener Proteinkonzentration (verschiedene Werte von e) zusammengestellt. In der zweiten wagerechten Reihe ist die Wasserstoffionenkonzentration einer reinen wässrigen Ammoniumsulfatlösung von der Konzentration $0,36$ n aufgeführt. Die Wasserstoffionenkonzentration dieser Lösung, welche mit dem Werte $e = 0$ den natürlichen Ausgangspunkt der übrigen Lösungen bildet, wurde mittels der im Abschnitt A (S. 114) gegebenen Formel (7) berechnet. Für $s = 0$ bekommt die Formel (7) die Gestalt:

$$h \cdot f_s = x_{\max}$$

oder
$$h = \sqrt{c \cdot \frac{k_w \cdot \beta}{k_m \cdot f_s}}$$

Tabelle 28.

Die Wasserstoffionenkonzentration, h , einer ammoniumsulfathaltigen Eieralbuminlösung, deren Ammoniumsulfatkonzentration, $c = 0,36$ n beträgt, und die in 100 ccm Versuchsflüssigkeit e Milligramm-Äquivalente Proteinstickstoff nebst einer überschüssigen Menge Schwefelsäure ($+$), oder Ammoniak (\div) enthält, welche letztere Menge q ccm $n/1000$ pr. Milligramm-Äquivalente Proteinstickstoff ausmacht. Die in der Tabelle aufgeführten Zahlen bedeuten $h \cdot 10^6$.

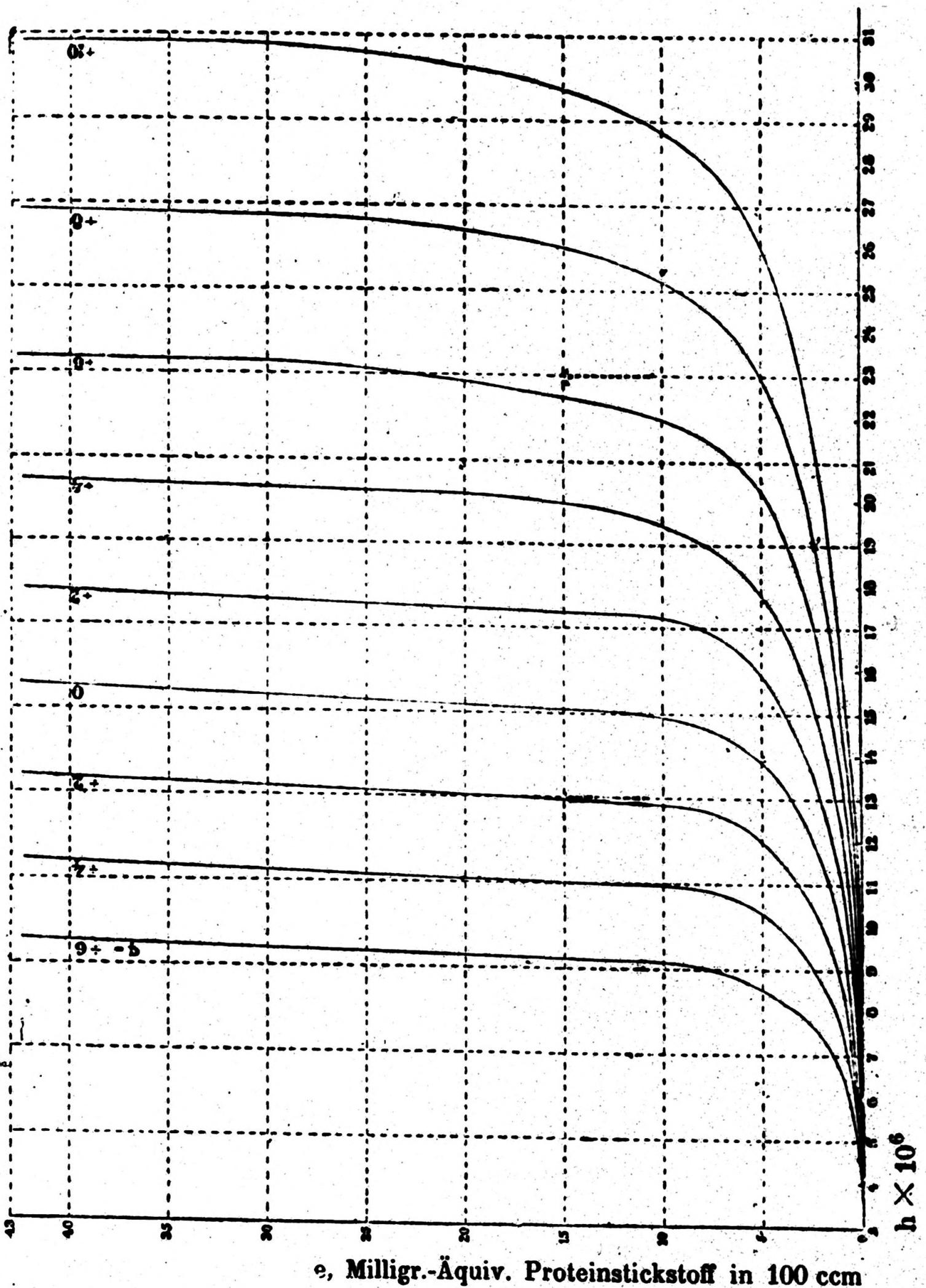
e	$q = + 10$	$+ 8$	$+ 6$	$+ 4$	$+ 2$	0	$\div 2$	$\div 4$	$\div 6$
0	3,64	3,64	3,64	3,64	3,64	3,64	3,64	3,64	3,64
1,023	16,22	14,80	13,48	12,25	11,06	9,90	8,78	7,67	6,62
2,046	20,67	18,40	16,48	14,72	13,10	11,57	10,15	8,77	7,46
8,17	28,30	24,90	22,05	19,50	17,18	14,95	12,86	10,90	9,07
9,98	—	—	—	19,60	17,30	15,25	—	—	—
10,52	28,75	25,00	21,85	19,20	16,87	14,78	12,77	10,85	9,09
14,97	—	—	—	—	17,48	15,25	13,12	—	—
16,33	30,35	26,10	22,70	19,90	17,45	15,22	13,10	11,14	9,32
20,46	29,42	25,53	22,42	19,65	17,08	14,85	12,82	10,91	9,00
24,50	31,40	27,50	23,90	20,65	17,75	15,22	13,13	11,17	9,38
31,96	30,65	26,75	23,32	20,38	17,70	15,28	13,25	11,30	9,47
42,24	—	26,65	23,20	20,32	17,84	15,54	13,40	11,43	9,56

Aus der Tabelle 28 ersieht man, daß bei konstanter Konzentration des Ammoniumsulfats die Wasserstoffionenkon-

zentration mit wachsender Konzentration des Proteins ansteigen wird. Dieses gilt sowohl für reines Albumin ($q = 0$) als auch für solches, das Schwefelsäure (q positiv) oder Ammoniak (q negativ) in Überschuß enthält, es erhellt aber ohne weiteres aus der Tabelle, daß die Steigerung der Wasserstoffionenkonzentration — wie es auch zu erwarten war — um so stärker ist, je größer q ist. Für negative Werte von q , das heißt für Eieralbumin mit überschüssigem Ammoniak, wird die Steigerung der Wasserstoffionenkonzentration in Übereinstimmung damit um so geringer sein, je größer der numerische Wert von q wird, und bei einem angemessenen negativen Wert von q wird die Wasserstoffionenkonzentration der Proteinlösung von der Proteinkonzentration unabhängig und gleich der Wasserstoffionenkonzentration der reinen Ammoniumsulfatlösung werden. Bei noch größeren negativen Werten von q wird die Wasserstoffionenkonzentration mit steigender Proteinkonzentration abnehmen.

Wenn man die senkrechten Stäbe der Tabelle 28 durchmustert, dann findet man zwar nicht, wie oben vorausgesetzt, ein stetes Steigen der Werte von q , die Abweichungen sind aber niemals größer, als daß sie sich leicht durch Versuchsfehler erklären lassen, indem jeder einzelne Wert von h aus der demselben entsprechenden Kurve und unabhängig von allen übrigen abgeleitet ist. Die Abweichungen innerhalb jedes einzelnen senkrechten Stabes geben deshalb eine gute Idee über die relative Genauigkeit, mit welcher diese zu verschiedenen Zeiten, mit verschiedenen Eieralbuminlösungen und von zwei verschiedenen Experimentatoren ausgeführten Messungen durchgeführt sind. Eine Ausgleichung dieser Abweichungen haben wir auf der Figur 12 vorgenommen, welche die Ergebnisse der Tabelle 28 graphisch wiedergibt, indem die Wasserstoffionenkonzentration, h , als Abszisse benutzt ist, während e , das ja ein Maß der Eieralbuminkonzentration ist, als Ordinate aufgeführt ist.

Jede einzelne Kurve der Figur 12 entspricht einem bestimmten Werte von q , und es versteht sich leicht, wie man mittels dieser Kurventafel in einer Lösung, deren Ammonium-

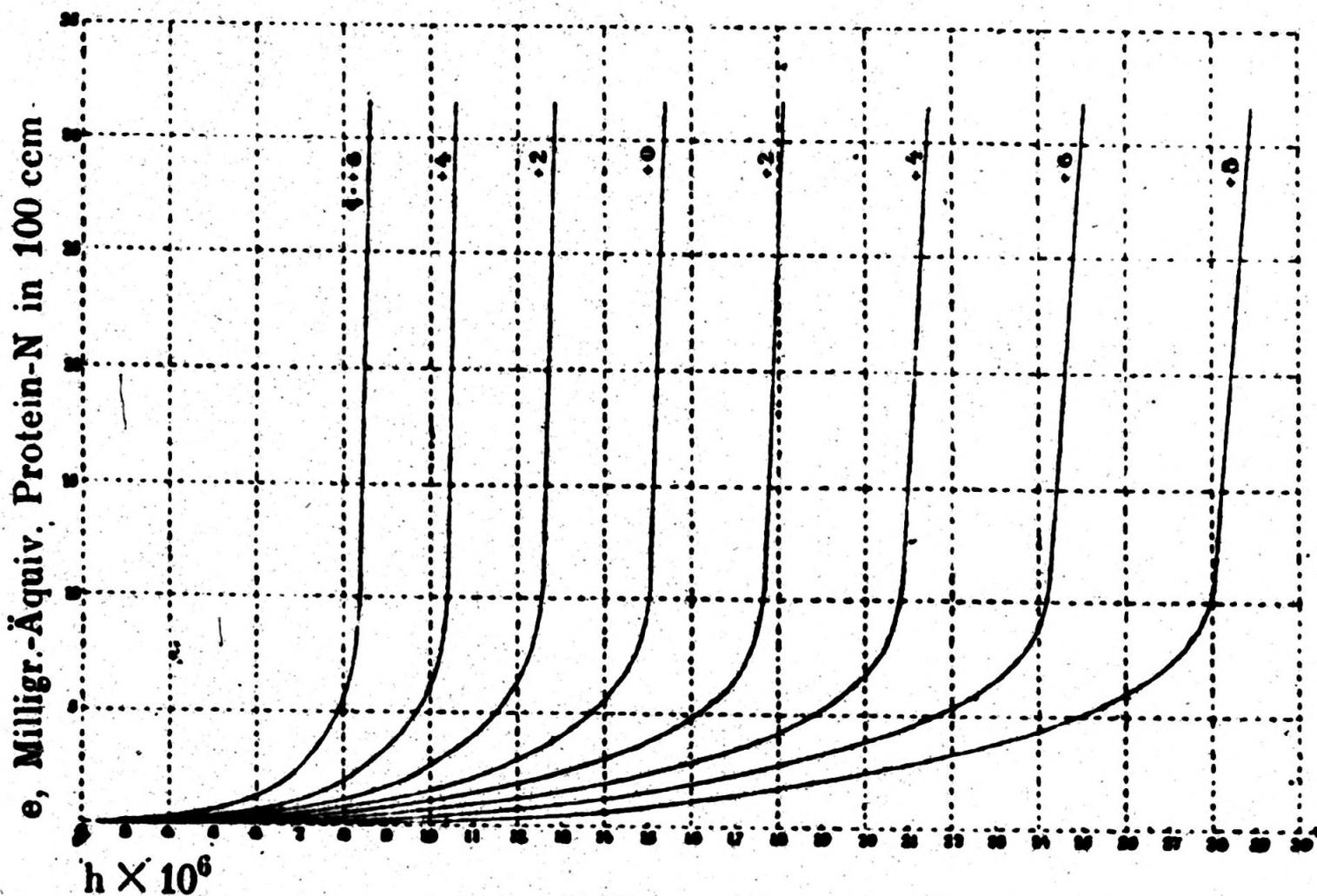


Figur 12.

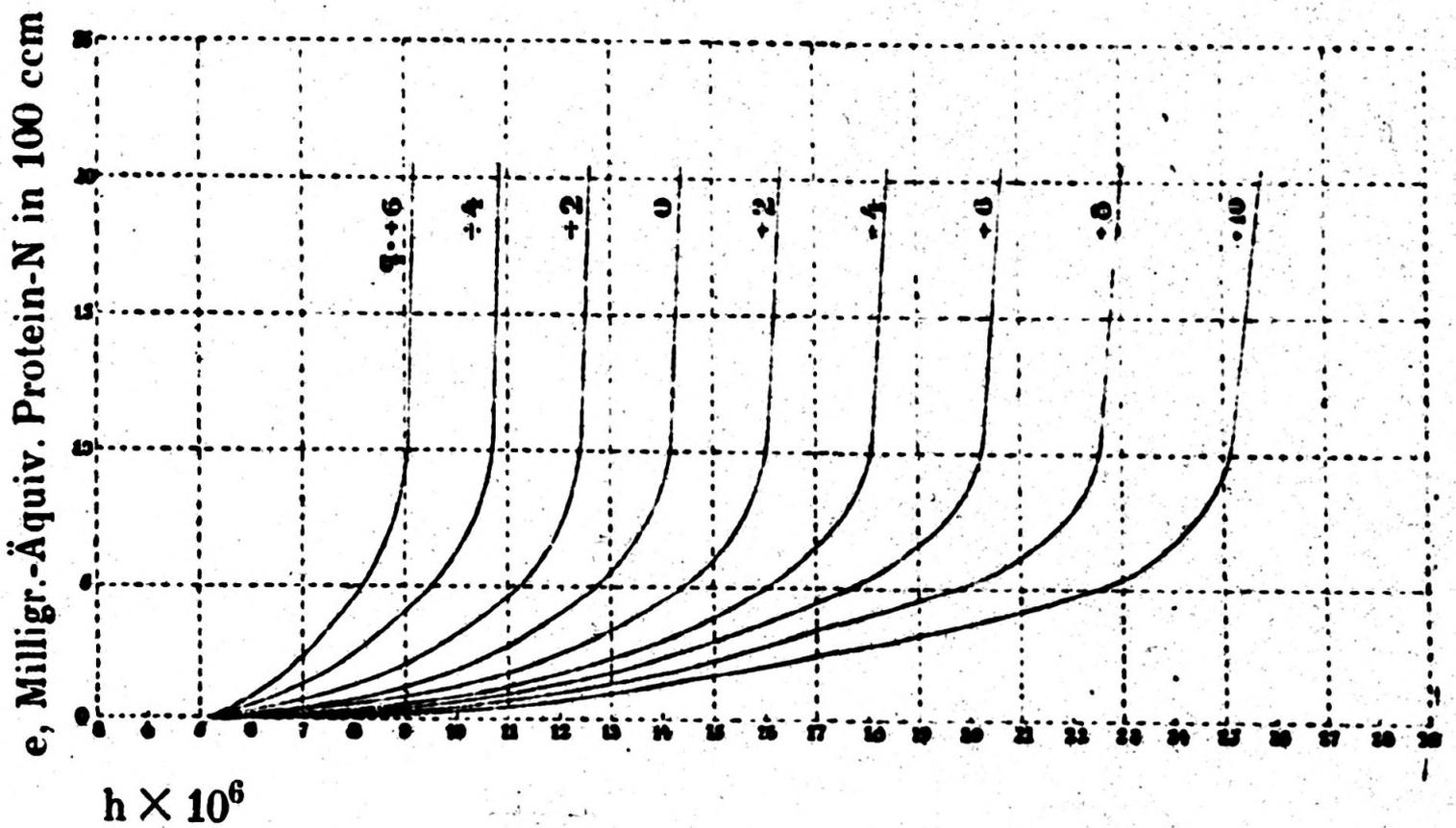
sulfatkonzentration ca. 0,36 n ist, deren Proteinkonzentration bekannt ist und deren Wasserstoffionenkonzentration gemessen wird, die gesamte überschüssige Menge von Schwefelsäure oder Ammoniak bestimmen kann. Hat man z. B. eine Lösung mit der Eieralbuminkonzentration $e = 20$, und findet

man die Wasserstoffionenkonzentration $= 19 \times 10^{-6}$, dann zeigt die Kurventafel, daß q zwischen $+2$ und $+4$ liegen muß. Die dem $q = 2$ entsprechende Kurve gibt (für $e = 20$) $h = 17,45 \times 10^{-6}$, während die Kurve, welche $q = 4$ entspricht, $h = 20,16 \times 10^{-6}$ gibt. Durch Interpolation bekommt man dann (für $h = 19,00 \times 10^{-6}$) $q = +3,14$, was somit bedeutet, daß eine ammoniumsulfathaltige Eieralbuminlösung, die auf Ammoniumsulfat bezogen $0,36$ n ist, deren Proteinkonzentration $e = 20$ entspricht, und deren Wasserstoffionenkonzentration $19,00 \times 10^{-6}$ ist, $3,14$ ccm $n/1000$ überschüssige Schwefelsäure pr. Milligramm-Äquivalent Proteinstickstoff enthält oder in 100 ccm Lösung in allem $20 \times 3,14 = 62,8$ ccm $n/1000$ überschüssige Schwefelsäure.

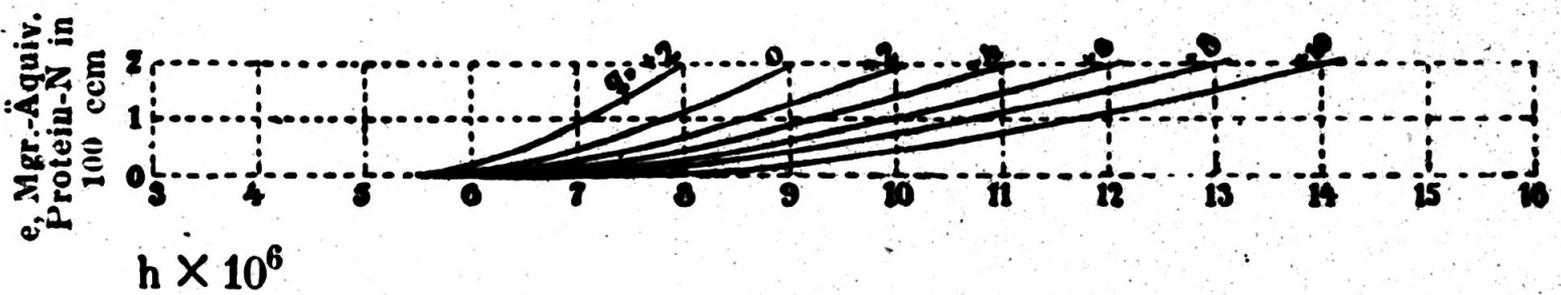
Das in Figur 12 gezeichnete Kurvenbündel hat nur für die Ammoniumsulfatkonzentration $c = \text{ca. } 0,36$ n Gültigkeit, das ganze Bündel repräsentiert demnach nur diejenige einzelne Kurve, welche auf der Hauptkurventafel, Figur 10, diese Ammoniumsulfatkonzentration darstellt. Wird man das obige Verfahren zur Bestimmung der gesamten überschüssigen Menge von Schwefelsäure oder Ammoniak auch bei anderen Konzentrationen des Salzes benutzen können, dann muß man mehrere Kurvenbündel



Figur 13.



Figur 14.



Figur 15.

wie das in Figur 12 wiedergegebene haben, die anderen Konzentrationen des Ammoniumsulfats entsprechen. Es hat sich aber herausgestellt, daß diese Konzentration nur eine geringfügige Rolle spielt, wenn es sich um kleine Werte von q handelt, und es ist ja eben in solchen Fällen, daß die Anwendung der Hauptkurventafel (Figur 10) zu den größten Fehlern Anlaß gibt. Wir halten es deshalb nicht für notwendig, alle die Kurvenbündel wiederzugeben, welche wir für die verschiedenen Ammoniumsulfatkonzentrationen in ganz derselben Weise wie oben konstruiert haben; wir geben nur die Kurvenbündel, welche $c = 0,064$ n (Fig. 13), $c = 2,79$ n (Fig. 14) und $c = 4,12$ n (Fig. 15) entsprechen. Man sieht, daß alle vier Kurvenbündel ganz denselben Charakter besitzen, obgleich die letztgenannten 3 mittels eines bedeutend kleineren Versuchsmaterials als das erste konstruiert worden sind.

Um den Einfluß der Ammoniumsulfatkonzentration etwas näher zu beleuchten, wollen wir nur anführen, daß von den

Figuren 13 und 14 in derselben Weise wie oben zu ersehen ist, daß, für $e = 20$ und $h = 19,00 \times 10^{-6}$, q gleich $+ 2,69$ sein wird, wenn $c = 0,064$ n und q gleich $+ 4,50$, wenn $c = 2,79$ n. Aus der folgenden Zusammenstellung:

$c = 0,064$ n	$q = + 2,69$
$c = 0,36$ n	$q = + 3,14$
$c = 2,79$ n	$q = + 4,50$

ersieht man, daß auch sehr bedeutende Änderungen des Wertes von c nur ganz kleine Änderungen in der Größe von q hervorrufen. Wir haben deshalb gemeint, uns mit diesen drei Kurvenbündeln begnügen zu können, indem wir, wenn wir bei den in den folgenden Abhandlungen beschriebenen Untersuchungen die überschüssige Menge Schwefelsäure oder Ammoniak nach diesem Verfahren ermitteln, für zwischenliegende Konzentrationen des Ammoniumsulfats interpoliert und für höher oder niedriger liegende extrapoliert haben. Es ist außer Zweifel, daß dieses Verfahren nicht ganz korrekt ist, der dadurch eingeführte Fehler ist aber gewiß kleiner als der Fehler der elektrometrischen Wasserstoffionenmessung.

e) Vergleich der beiden Methoden, durch welche die überschüssige Schwefelsäure einer ammoniumsulfathaltigen Eieralbuminlösung bestimmt werden kann.

Die Bestimmung des Gesamtgehalts einer ammoniumsulfathaltigen Eieralbuminlösung an überschüssiger Schwefelsäure kann demnach, wie wir gesehen haben, auf zweierlei Weise geschehen. In beiden Fällen wird eine Messung der Wasserstoffionen vorgenommen, und auf dieser Messung fußend, kann man dann entweder b mittels der Hauptkurventafel (Figur 10) bestimmen, und dadurch die von dem Eieralbumin in 100 ccm Versuchsflüssigkeit gebundene überschüssige Menge Schwefelsäure ($b \cdot e$) ermitteln, während die im Dispersionsmittel gegenwärtige Menge (t') berechnet werden kann, die Summe ($b \cdot e + t'$) ist dann gleich die gesamte überschüssige Menge Schwefelsäure — oder man kann q mittels der Kurven Figur 12, Figur 13, Figur 14 und Figur 15 finden, und daraus

den Gesamtgehalt an überschüssiger Schwefelsäure ($q \cdot e$) unmittelbar berechnen.

Es wird jetzt von Interesse sein nachzusehen, ob und in welchem Maß die beiden Bestimmungsmethoden übereinstimmende Resultate geben, und ganz besonders interessant wird ein solcher Vergleich bei Lösungen, deren Wasserstoffionenkonzentration dem isoelektrischen Punkt des Eieralbumins sehr nahe oder gleich ist, weil die bei der Berechnung der Hauptkurventafel gemachten Voraussetzungen hier nicht ganz stichhaltig sind. Wir haben deshalb in der Tabelle 29 eine Reihe von solchen nach beiden Methoden vorgenommenen Berechnungen des Gesamtgehalts an überschüssiger Schwefelsäure oder an überschüssigem Ammoniak zusammengestellt. Diese Zusammenstellung umfaßt Lösungen mit zwei verschiedenen Konzentrationen des Ammoniumsulfats ($c = 2,0 \text{ n}$ und $c = 0,2 \text{ n}$), mit verschiedenen Proteinkonzentrationen ($e = 1, 2, 5, 10, 15$ oder 20) und mit den Wasserstoffionenkonzentrationen $10, 15, 20$ und $25 \cdot 10^{-6}$.

Die Tabelle 29 verlangt keine weitere Erklärung, nur muß man sich erinnern, was die Größen b , t' , q und t bedeuten, welches letztere hier, um die Resultate der beiden Berechnungsweisen zu unterscheiden, teils t_b und teils t_q bezeichnet ist. Hier mag deshalb nur bemerkt werden, daß b (für $c = 2,00 \text{ n}$) aus der Hauptkurventafel (Figur 10) durch Interpolation zwischen den Kurven für $c = 2,817 \text{ n}$ und $c = 0,363 \text{ n}$ abgeleitet ist, während die Kurven für $c = 0,363 \text{ n}$ und $c = 0,062 \text{ n}$ in entsprechender Weise das für $c = 0,20 \text{ n}$ geltende b geliefert haben, indem die $c = 1,417 \text{ n}$ entsprechende Kurve bei dieser Gelegenheit außer Betracht gelassen ist, weil sie, wie schon oben (siehe S. 170) bemerkt, eben in dem hier behandelten Gebiet der Wasserstoffionenkonzentration einen von den übrigen Kurven etwas abweichenden Verlauf besitzt. Ganz ebenso ist (für $c = 2,00 \text{ n}$) q durch Interpolation mittels der Kurvenbündel für $c = 2,79 \text{ n}$ (Figur 14) und $c = 0,36 \text{ n}$ (Figur 12), und (für $c = 0,20 \text{ n}$), q mittels der Kurvenbündel für $c = 0,36 \text{ n}$ (Figur 12) und $c = 0,064 \text{ n}$ (Figur 13) gefunden. t' ist berechnet ganz

wie unter der Erwähnung der Tabelle 22 beschrieben (siehe S. 165)¹⁾.

Es erhellt aus der Tabelle 29, daß die Abweichung zwischen den auf beiden Wegen erhaltenen Resultaten im großen und ganzen nur klein ist. Die größten absoluten Abweichungen findet man natürlich bei den proteinreichen Lösungen, allein berechnet man die Abweichung pr. Milligramm-Äquivalent Proteinstickstoff, so findet man dieselbe am größten bei den niedrigen Proteinkonzentrationen, und die in der Tabelle aufgeführte Größe $\frac{t_q - t_b}{e}$ ist in diesen Fällen immer positiv. Dieses ist in voller Übereinstimmung mit dem, was man zu erwarten hatte, indem das aus der Hauptkurventafel (Fig. 10) abgeleitete b bei den hier erwähnten Wasserstoffionenkonzentrationen nur für einigermaßen große Proteinkonzentrationen richtig, bei niedrigeren Konzentrationen des Proteins aber zu klein ist (siehe S. 180). In solchen Fällen wird demzufolge auch t_b zu niedrig und $\frac{t_q \div t_b}{e}$ positiv sein. Die Tabelle zeigt, daß für $e = 1$ oder $e = 2$ die Abweichung pr. Milligramm-Äquivalent Proteinstickstoff 2—3 ccm $n/1000$ ausmachen kann, der Fehler ist also hier merkbar, bei der Bestimmung der Gesamtmenge überschüssiger Säure aber bedeutet er nur wenig, weil die Proteinkonzentration schwach ist. Schon bei $e = 5$ sind die Abweichungen kleiner, indem sie hier 1 ccm $n/1000$ nicht übersteigen, und bei größeren Proteinkonzentrationen erreichen die Abweichungen niemals eine Größe von $1/2$ ccm $n/1000$ pr. Milligramm-Äquivalent Proteinstickstoff.

D. Der isoelektrische Punkt des Eieralbumins.

In einer vor ein paar Jahren veröffentlichten Abhandlung²⁾ stellt L. Michaelis den folgenden Satz auf:

¹⁾ Wir haben immer, in der Tabelle 29 wie in der vorhergehenden, sämtliche Größen mit zwei Dezimalstellen aufgeführt, und zwar obschon wir wohl wissen, daß schon die erste Stelle gewöhnlich nicht als zuverlässig betrachtet werden darf.

²⁾ Biochem. Zeitschrift Bd. 47, S. 251 (1912).

Löst man einen leichtlöslichen Ampholyten in einer Flüssigkeit, welche irgend eine Wasserstoffionenkonzentration besitzt, dann verhält er sich wie eine Säure, wenn die Wasserstoffionenkonzentration kleiner, und wie eine Base, wenn die Wasserstoffionenkonzentration größer als die isoelektrische Reaktion des Ampholyten ist. Im ersten Falle wird der Ampholyt, wie jede Säure, die Wasserstoffionenkonzentration vergrößern, im letzteren dagegen, wie jede Base, sie verkleinern. Ist die ursprüngliche Wasserstoffionenkonzentration der Flüssigkeit eben gleich derjenigen, welche dem isoelektrischen Punkt des Ampholyten entspricht, dann wird der Zusatz des Ampholyten die Wasserstoffionenkonzentration der Flüssigkeit nicht ändern. Die Richtigkeit dieser «Behauptung» — um die eigene Ausdrucksweise Michaelis zu benutzen — stützt der Verfasser durch eine Reihe von Versuchen mit den Ampholyten Phenylalanin und Glykokoll, deren Ergebnisse einigermaßen mit der entwickelten Theorie übereinstimmen.

Ganz dasselbe Prinzip hat K. A. Hasselbalch¹⁾ in einer jüngst veröffentlichten Abhandlung benutzt, in welcher er die wohlbekanntere Tatsache, daß das Blut unter normalen Umständen eine höhere Wasserstoffionenkonzentration als das gegenwärtige Serum besitzt, einer näheren Untersuchung unterzieht. Hasselbalch findet, daß dieser Unterschied zwischen der Wasserstoffionenkonzentration des Blutes und der des Serums mit wachsender Kohlensäuretension und damit ansteigender Wasserstoffionenkonzentration nach und nach verschwindet, und daß Blut und Serum bei einer Kohlensäuretension von etwa 150 mm (bei 38°) dieselbe Wasserstoffionenkonzentration, dem $p_{\text{H}} = \text{ca. } 6,8$ entsprechend, haben werden. Die Ursache hierzu findet Hasselbalch in dem Inhalt des Blutes an Oxyhämoglobin, dessen isoelektrischer Punkt nach Untersuchungen von L. Michaelis und D. Takahashi²⁾ eben bei $p_{\text{H}} = 6,8$ liegt, und Hasselbalch meint auf diesem Wege den isoelektrischen Punkt bestimmen zu können, sowohl für Oxyhämoglobin als auch für andere Ampholyte mit isoelek-

¹⁾ Biochem. Zeitschrift Bd. 78, S. 129 (1916).

²⁾ Biochem. Zeitschrift Bd. 29, S. 439 (1910).

Tabelle 29.

Bestimmung des gesamten Überschusses an Schwefelsäure od. Ammoniak der Hauptkurventafel (Figur 10) als auch

Die gemessene Wasserstoffionenkonzentration, $h \times 10^6$	Die Anzahl Milligramm-Äquival. Proteinstickstoff in 100 ccm Versuchsflüssigkeit	Die Ammoniumsulfatkonzentration, $c = 2,00 n$						
		Der Gesamtüberschuß in 100 ccm Versuchsflüssigkeit an Schwefelsäure (+) oder Ammoniak (÷) in ccm $n/1000$, t					Die Differenz $t_q \div t_b$ in ccm $n/1000$	Die Differenz pr. Millig.-Äquival. Proteinstickstoff in ccm $n/1000$
		mittels der Hauptkurventafel (Fig. 10) bestimmt		mittels der Figuren 12 u. 14 bestimmt				
e	b	t'	$t_b = b \cdot e + t'$	q	$t_q = q \cdot e$	$t_q \div t_b$	$\frac{t_q \div t_b}{e}$	
10	1	÷ 5,88	+ 7,04	+ 1,16	+ 2,19	+ 2,19	+ 1,03	+ 1,03
15	1	÷ 0,63	12,56	+ 11,93	—	—	—	—
10	2	÷ 5,88	7,04	÷ 4,72	÷ 0,92	÷ 1,84	2,88	1,44
15	2	÷ 0,63	12,54	+ 11,28	+ 7,40	+ 14,80	3,52	1,76
10	5	÷ 5,88	7,01	÷ 22,39	÷ 3,64	÷ 18,20	4,19	0,84
15	5	÷ 0,63	12,51	+ 9,36	+ 2,33	+ 11,65	2,29	0,46
20	5	+ 3,70	17,60	+ 36,10	+ 7,44	+ 37,20	1,10	0,22
25	5	+ 7,12	22,53	+ 58,13	—	—	—	—
10	10	÷ 5,88	6,98	÷ 51,82	÷ 4,92	÷ 49,20	2,62	0,26
15	10	÷ 0,63	12,45	+ 6,15	+ 0,63	+ 6,30	0,15	0,02
20	10	+ 3,70	17,51	+ 54,51	+ 5,34	+ 53,40	÷ 1,11	÷ 0,11
25	10	+ 7,12	22,42	+ 93,62	+ 9,25	+ 92,50	÷ 1,12	÷ 0,11
10	15	÷ 5,88	6,94	÷ 81,26	÷ 5,00	÷ 75,00	+ 6,26	+ 0,42
15	15	÷ 0,63	12,38	+ 2,93	+ 0,48	+ 7,20	4,27	0,28
20	15	+ 3,70	17,43	+ 72,93	+ 5,06	+ 75,90	2,97	0,20
25	15	+ 7,12	22,30	+ 129,10	+ 8,93	+ 133,95	4,85	0,32
10	20	÷ 5,88	6,91	÷ 110,69	÷ 5,07	÷ 101,40	9,29	0,46
15	20	÷ 0,63	12,32	÷ 0,28	+ 0,37	+ 7,40	7,68	0,38
20	20	+ 3,70	17,34	+ 91,34	+ 4,91	+ 98,20	6,86	0,34
25	20	+ 7,12	22,19	+ 164,59	+ 8,71	+ 174,20	9,61	0,48

in einer ammoniumsulfathaltigen Eieralbuminlösung sowohl mittels mittels der Kurven der Figuren 12, 13 und 14.

Die Ammoniumsulfatkonzentration, $c = 0,20 n$						
Der Gesamtüberschuß an Schwefelsäure (+) oder Ammoniak (÷) in 100 cm Versuchsflüssigkeit in ccm $n/1000$, t					Die Differenz $t_q \div t_b$ in ccm $n/1000$	Die Differenz pr. Millig.-Äquival. Proteinstickstoff in ccm $n/1000$
mittels der Hauptkurventafel (Fig. 10) bestimmt		mittels der Figuren 12 und 13 bestimmt				
b	t'	$t_b = b \cdot e + t'$	q	$t_q = q \cdot e$	$t_q \div t_b$	$\frac{t_q \div t_b}{e}$
÷ 4,95	+ 3,15	÷ 1,80	+ 1,58	+ 1,58	+ 3,38	+ 3,38
÷ 0,42	5,02	+ 4,60	+ 7,78	+ 7,78	3,18	3,18
÷ 4,95	3,14	÷ 6,76	÷ 1,35	÷ 2,70	4,06	2,03
÷ 0,42	5,01	+ 4,17	+ 4,70	+ 9,40	5,23	2,62
÷ 4,95	3,14	÷ 21,61	÷ 3,94	÷ 19,70	1,91	0,38
÷ 0,42	5,00	+ 2,90	+ 1,30	+ 6,50	3,60	0,72
+ 3,13	6,80	+ 22,45	+ 5,44	+ 27,20	4,75	0,95
+ 5,96	8,57	+ 38,37	+ 8,69	+ 43,45	5,08	1,02
÷ 4,95	3,12	÷ 46,38	÷ 4,70	÷ 47,00	÷ 0,62	÷ 0,06
÷ 0,42	4,98	+ 0,78	+ 0,03	+ 0,30	÷ 0,48	÷ 0,05
+ 3,13	6,77	+ 38,07	+ 3,93	+ 39,30	+ 1,23	+ 0,12
+ 5,96	8,54	+ 68,14	+ 7,13	+ 71,30	3,16	0,32
÷ 4,95	3,11	÷ 71,14	÷ 4,76	÷ 71,40	÷ 0,26	÷ 0,02
÷ 0,42	4,96	÷ 1,34	÷ 0,09	÷ 1,35	÷ 0,01	0,00
+ 3,13	6,74	+ 53,69	+ 3,68	+ 55,20	+ 1,51	+ 0,10
+ 5,96	8,50	+ 97,90	+ 6,81	+ 102,15	4,25	0,28
÷ 4,95	3,10	÷ 95,90	÷ 4,81	÷ 96,20	÷ 0,30	÷ 0,02
÷ 0,42	4,93	÷ 3,47	÷ 0,16	÷ 3,20	+ 0,27	+ 0,01
+ 3,13	6,71	+ 69,31	+ 3,57	+ 71,40	2,09	0,10
+ 5,96	8,46	+ 127,66	+ 6,66	+ 133,20	5,54	0,28

trischer Reaktion innerhalb eines durch die Versuchsanordnung begrenzten Gebietes der Wasserstoffionenkonzentrationen.

Weder Michaelis noch Hasselbalch gibt einen eigentlichen Beweis der von ihnen benutzten Regel, deren Hauptinhalt sich am kürzesten folgenderweise ausdrücken läßt: Wenn die Wasserstoffionenkonzentration einer Lösung durch Zugabe eines Ampholyten nicht verändert wird, dann muß diese Konzentration der Wasserstoffionen gleich dem isoelektrischen Punkt des Ampholyten sein. Da diese Frage von nicht geringem Belang ist und außerdem unsere Untersuchungen direkt berührt, so muß es uns erlaubt sein, der Sache, über die wir sowohl mit Herrn Dr. K. A. Hasselbalch als auch mit Herrn Prof. Dr. Bjerrum verhandelt haben, etwas näher zu treten.

In einer größeren der Hauptsache nach referierenden Arbeit in «Ergebnisse der Physiologie»¹⁾ hat S. P. L. Sørensen eine Reihe Gesetzmäßigkeiten, wässrige Ampholytenlösungen betreffend, bewiesen; aus denselben werden wir hier eine einzelne nennen. «Die Menge Säure oder Base, welche an eine wässrige Ampholytenlösung gegeben werden muß, um derselben isoelektrische Reaktion beizubringen, ist von der Ampholytenkonzentration unabhängig und gleich derjenigen Menge Säure oder Base, welche an reines Wasser gegeben werden muß, um diesem eine dem isoelektrischen Punkt des Ampholyten entsprechende Wasserstoffionenkonzentration zu erteilen». Es ist leicht zu sehen, daß in diesem Satz die Michaelis-Hasselbalch'sche Regel einbegriffen ist, und letztere muß deshalb richtig sein überall, wo der Satz Sørensens gültig ist. Da dieser indessen mittels Gleichungen, welche für salzfreie Ampholytenlösungen Gültigkeit haben, abgeleitet ist, wird ein gemeingültiger Beweis für die Richtigkeit der Michaelis-Hasselbalch'schen Regel erwünscht sein. Am einfachsten kann dieser Beweis, wie Bjerrum uns gezeigt hat, indirekt geführt werden.

Es sei irgend eine Lösung, salzhaltig oder salzfrei, mit einer Wasserstoffionenkonzentration genau gleich dem iso-

¹⁾ Jahrgang 12, S. 503 (1912).

elektrischen Punkt des betreffenden Ampholyten gegeben, dann können wir zeigen, daß eine Zugabe willkürlicher Mengen des Ampholyten, $RHOH$, die Wasserstoffionenkonzentration der Lösung nicht ändern kann. Gesetzt nämlich zum Beispiel, daß die Wasserstoffionenkonzentration der Lösung durch den Zusatz des Ampholyten vergrößert sei, dann würde dieses bedeuten, daß der Ampholyt der Lösung mehr Wasserstoffionen als Hydroxylionen zugeführt hätte, gleichzeitig mußten aber dann auch mehr Ampholytanionen ROH^- als Ampholytkationen RH^+ gebildet werden, was aber unserer Voraussetzung widerspricht. Ist nämlich, wie wir voraussetzen, die Wasserstoffionenkonzentration nach der Lösung des Ampholyten größer als diejenige, welche der isoelektrischen Reaktion entspricht, dann muß — laut der Definition des Begriffs «isoelektrische Reaktion» — die Menge der Ampholytenanionen kleiner als die Menge der Ampholytenkationen sein. In ganz analoger Weise kann man nachweisen, daß auch nicht eine Verkleinerung der Wasserstoffionenkonzentration durch die Lösung des Ampholyten herbeizuführen ist, und wir können somit annehmen, daß die Michaelis-Hasselbalch'sche Regel allgemeine Gültigkeit besitzt.

Wir werden diese Regel in diesem Abschnitte zur Bestimmung der isoelektrischen Reaktion des Eieralbumins benutzen, indem wir mittels der in den vorausgegangenen Abschnitten besprochenen Messungen bestimmen, welche Konzentration der überschüssigen Schwefelsäure und daraus folgende Wasserstoffionenkonzentration eine gegebene Ammoniumsulfatlösung besitzen muß, um durch Zugabe von willkürlichen Mengen Eieralbumin ihre Wasserstoffionenkonzentration nicht zu ändern. Aus jeder einzelnen der oben erwähnten Versuchsreihen (mit konstanter Konzentration des Ammoniumsulfats und des Eieralbumins, aber mit verschiedener Wasserstoffionenkonzentration der einzelnen Versuche) läßt sich eine solche Bestimmung des isoelektrischen Punkts ableiten, wenn es nur möglich ist, eine graphische Darstellung der Abhängigkeit zwischen h (Wasserstoffionenkonzentration) und q (die pr. Milligramm-Äquivalent Proteinstickstoff gegenwärtige

überschüssige Menge Schwefelsäure oder Ammoniak in $\text{ccm}^{\text{n}/1000}$ ausgedrückt) mittels derselben zu geben.

Zur näheren Beleuchtung des Verfahrens seien die Einzelheiten von 5 der 11 in der Tabelle 27 (S. 182) zusammengestellten Versuchsreihen mitgeteilt. Die Ammoniumsulfatkonzentration war in all diesen Reihen dieselbe und zwar ca. 0,36 n, während die Konzentration des Eieralbumins von Reihe zu Reihe variierte. In den fünf Reihen, wovon hier die Rede ist, besaß e die Werte 1,023, 2,046, 10,52, 16,33 und 42,24, und Figur 11 (S. 184) enthält die Kurven, welche die Abhängigkeit zwischen h und q für diese 5 Reihen darstellen. Mittels dieser Kurven, die sowohl die Versuchsergebnisse zusammenfassen als auch die Versuchsfehler ausgleichen, kann man jetzt graphisch finden, welcher Wert q zukommt, wenn h Werte annimmt, die in der Nähe des elektrischen Punkts liegen; letzterer wird leicht als zwischen $10 \cdot 10^{-6}$ und $20 \cdot 10^{-6}$ liegend erkannt (siehe S. 172). Tabelle 30 enthält nun für sämtliche 5 Reihen die auf Figur 11 graphisch abgelesenen Werte von q , den Wasserstoffionenkonzentrationen von $10 \cdot 10^{-6}$ bis zu $20 \cdot 10^{-6}$ entsprechend. Da nun e die Anzahl von Milligramm-Äquivalenten Proteinstickstoff in 100 ccm Versuchsflüssigkeit bedeutet, so wird $q \cdot e$ die gesamte in diesem Volumen gegenwärtige überschüssige Menge von Schwefelsäure (+) oder Ammoniak (\div) in $\text{ccm}^{\text{n}/1000}$ angeben. Berechnet man jetzt in der früher (S. 164) angegebenen Weise den Rauminhalt der dispersen Phase in 100 ccm Versuchsflüssigkeit, dann erhält man zu gleicher Zeit den Rauminhalt des Dispersionsmittels. Nennen wir letzteren Rauminhalt V_a , und denken wir uns die ganze gegenwärtige, überschüssige Menge Schwefelsäure oder Ammoniak lediglich in demselben verteilt, dann wird der in 100 ccm einer solchen Ammoniumsulfatlösung gegenwärtige Überschuß an Schwefelsäure oder Ammoniak gleich $\frac{q \cdot e \cdot 100}{V_a}$ sein. Diese Größe, die wir t genannt haben, findet sich ebenfalls für alle 5 Versuchsreihen in der Tabelle 30 angegeben. Schließlich findet man in der Tabelle 30, zweitem senkrechten Stab, diejenigen Mengen Schwefelsäure t_0 in $\text{ccm}^{\text{n}/1000}$ angeführt, welche 100 ccm

der proteinfreien Ammoniumsulfatlösung enthalten müssen, damit die Wasserstoffionenkonzentration die im ersten Stabe angegebene sein soll. t_0 ist durch Berechnung der überschüssigen Säurekonzentration s mittels der Formel (7) (S. 114)

$$s = h \cdot f_s \div \frac{(x_{\max})^2}{h \cdot f_s}$$

gefunden, indem man (für $c = 0,36 \text{ n}$) $f_s = 4,40$ und $(x_{\max})^2 = 248,6 \cdot 10^{-12}$ setzt.

Eine graphische Darstellung des Zahlenmaterials der Tabelle 30 mit h als Abszisse und t beziehungsweise t_0 als Ordinate findet man in den Kurven der Figur 16, welche die Abhängigkeit zwischen der Wasserstoffionenkonzentration und der anwesenden überschüssigen Menge Schwefelsäure oder Ammoniak sowohl in einer proteinfreien Ammoniumsulfatlösung (die Kurve $e = 0$) als auch in proteinhaltigen Lösungen (die übrigen Kurven) derselben Ammoniumsulfatkonzentration ($c = 0,36 \text{ n}$) darstellen. Alle diese Kurven sollten sich jetzt der Theorie gemäß in einem Punkte schneiden, und dieser Schnittpunkt sollte der isoelektrischen Reaktion des Eialbumins entsprechen. Betrachten wir zum Beispiel die Kurven $e = 0$ und $e = 42,24$, dann schneiden sie sich in einem Punkt mit den Koordinaten $h = 15,73$ und $t = 6,56$. Da dieser Punkt beiden Kurven gehört, so müssen sowohl die reine Ammoniumsulfatlösung, welche in 100 ccm 6,56 ccm $\text{n}/1000$ -Schwefelsäure enthält, als auch die proteinhaltige Lösung mit sonst gleicher Zusammensetzung die nämliche Wasserstoffionenkonzentration, $15,73 \cdot 10^{-6}$ besitzen. Diese bestimmte Ammoniumsulfatlösung mit diesem bestimmten Gehalt an überschüssiger Schwefelsäure hat somit seine Wasserstoffionenkonzentration durch die Zugabe des Eialbumins nicht geändert; folglich muß die Wasserstoffionenkonzentration $15,73 \cdot 10^{-6}$ der isoelektrischen Reaktion des Eialbumins entsprechen.

In ganz derselben Weise gibt jeder der Schnittpunkte der Kurve $e = 0$ mit einer der anderen Kurven einen Wert der isoelektrischen Reaktion des Eialbumins, und theoretisch genommen sollen selbstverständlich, wie schon genannt, alle

Tabelle 30.

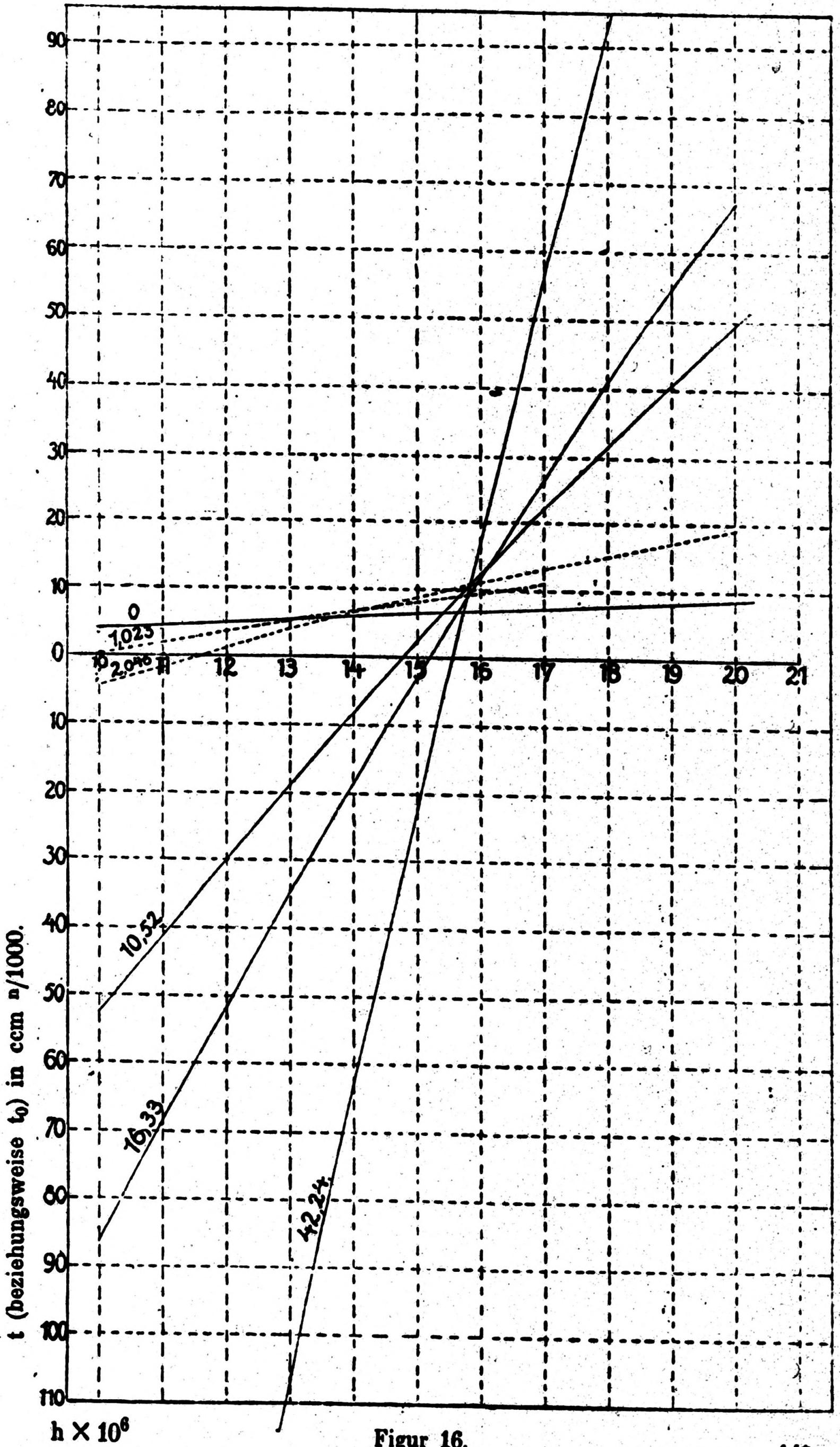
Die Abhängigkeit zwischen Wasserstoffionenkonzentration und überschüssiger Schwefelsäure (+) oder überschüssigem Ammoniak (÷) bei konstanter Konzentration des Ammoniumsulfats ($e = 0,36 n$) und variierender Konzentration des Eialbumins ($e =$ die Anzahl Milligramm-Äquivalente Proteinstickstoff in 100 ccm Versuchsflüssigkeit).

q bedeutet die pro Milligramm-Äquivalent Proteinstickstoff gegenwärtige, überschüssige Menge von Schwefelsäure (+) oder Ammoniak (÷) in ccm $n/1000$.

V_a bedeutet das Volumen der in 100 ccm Versuchsflüssigkeit gegenwärtigen Menge Ammoniumsulfatlösung.

$t = \frac{q \cdot e \cdot 100}{V_a}$ wird deshalb die gesamte überschüssige Menge Schwefelsäure (+) oder Ammoniak (÷) in 100 ccm proteinfreier Ammoniumsulfatlösung.

Wasserstoffionen-konzentration, $h \cdot 10^6$	$e = 0$ (Protein-freie Ammonium-sulfatlösung) t_0	$e = 1,023$ $V_a = 99,91$		$e = 2,046$ $V_a = 99,82$		$e = 10,52$ $V_a = 99,06$		$e = 16,33$ $V_a = 98,54$		$e = 42,24$ $V_a = 96,23$	
		q	t	q	t	q	t	q	t	q	t
10	3,84	0,18	0,18	÷ 2,20	÷ 4,51	÷ 4,95	÷ 52,57	÷ 5,22	÷ 86,50	÷ 5,53	÷ 242,71
11	4,33	1,90	1,95	÷ 0,86	÷ 1,76	÷ 3,86	÷ 40,99	÷ 4,15	÷ 68,77	÷ 4,45	÷ 195,31
12	4,81	3,60	3,69	0,55	1,13	÷ 2,80	÷ 29,74	÷ 3,10	÷ 51,37	÷ 3,42	÷ 150,10
13	5,29	5,20	5,32	1,88	3,85	÷ 1,78	÷ 18,90	÷ 2,10	÷ 34,80	÷ 2,40	÷ 105,34
14	5,76	6,82	6,98	3,10	6,36	÷ 0,78	÷ 8,28	÷ 1,10	÷ 18,23	÷ 1,42	÷ 62,32
15	6,22	8,30	8,50	4,32	8,86	0,22	2,34	÷ 0,18	÷ 2,98	÷ 0,50	÷ 21,95
16	6,69	9,70	9,93	5,50	11,28	1,18	12,53	0,72	11,93	0,40	17,56
17	7,15	11,00	11,26	6,55	13,43	2,10	22,30	1,62	26,84	1,30	57,06
18	7,61	—	—	7,60	15,58	3,00	31,86	2,48	41,09	2,12	93,05
19	8,06	—	—	8,55	17,53	3,85	40,89	3,30	54,68	2,98	130,79
20	8,52	—	—	9,45	19,37	4,65	49,38	4,08	67,61	3,75	164,59



Figur 16.

diese Punkte zusammenfallen. Wenn das, wie ein Blick auf die Figur zeigt, nicht der Fall ist, dann ist die Ursache lediglich Versuchsfehler, die überdies bei dem auf Figur 16 benutzten großen Maßstab besonders stark hervortreten. Sucht man auf der Figur die den Schnittpunkt der Ammoniumsulfatkurve mit den anderen 5 Kurven entsprechenden Wasserstoffionenkonzentrationen, dann bekommt man die folgenden Werte des isoelektrischen Punktes h_i :

$$e = 1,023; h_i = 13,10 \cdot 10^{-6}$$

$$e = 2,046; h_i = 13,70 \quad —$$

$$e = 10,52; h_i = 15,42 \quad —$$

$$e = 16,33; h_i = 15,64 \quad —$$

$$e = 42,24; h_i = 15,73 \quad —$$

Die für die letzten 3 Versuchsreihen gefundenen Werte von h_i müssen als praktisch genommen identisch betrachtet werden, indem die Abweichungen weit kleiner als die Versuchsfehler sind. Bezüglich der 2 ersten Versuchsreihen handelt es sich um Versuche mit Lösungen der Eieralbuminprobe P_v , welche, wie schon oben (S. 177) bemerkt, ein von den übrigen, untersuchten Eieralbuminproben etwas abweichendes Verhalten zeigt. Da es sich außerdem um Versuchsreihen mit verhältnismäßig wenigen Versuchen (3 Versuche in jeder Reihe) handelt, und die Versuchsfehler des kleinen Proteininhalts wegen noch dazu eine verhältnismäßig große Bedeutung erlangen, so dürfen wir den aus diesen beiden Versuchsreihen erhaltenen Resultaten nicht dasselbe Gewicht beimessen wie den Resultaten der drei letzten Reihen. Wir haben die beiden ersten Reihen nur vollständigshalber mitgenommen und um die Grenzwerte zu zeigen, innerhalb welcher sich die gefundenen Werte von h bewegen; bei der Berechnung des Mittelwertes für h aber haben wir diese beiden Werte außer acht gelassen, wie wir auch aus demselben Grund auf Figur 16 die beiden diesbezüglichen Kurven gestrichelt haben.

Auf ganz dieselbe Weise wie oben beschrieben haben wir alle diejenigen unserer Versuchsreihen, welche sich einer

Tabelle 31.

Der isoelektrische Punkt des Eialbumins.

Art und Bezeichnung des Eialbumins	Anzahl Ver- suche in der Ver- suchs- reihe	Die Ammo- niumsul- fatkon- zen- tration	Anzahl Milligramm- Äquival. Pro- teinstickstoff in 100 ccm Versuchs- flüssigkeit	Die über- schüssige Menge Schwefelsäure in 100 ccm Ammoniumsul- fatlösung beim isoelektrischen Punkt des Eier- albumins.	Iso- elektri- scher Punkt, h_i
		c	e	t (in ccm $n/1000$)	$h_i \times 10^6$
P_V	2	0,064	2,046	(2,65)	(11,95)
Hauptversuch I	10	0,064	10,55	3,50	15,50
› H	10	0,064	31,72	3,50	15,50
P_{III}	4	0,252	9,98	5,58	15,40
P_V	3	0,360	1,023	(5,33)	(13,10)
›	3	0,360	2,046	(5,62)	(13,70)
P_{IV}	6	0,360	8,17	6,59	15,80
P_{III}	3	0,360	9,98	6,62	15,86
Hauptversuch G	10	0,360	10,52	6,42	15,42
P_{III}	5	0,360	14,97	6,51	15,62
P_{IV}	16	0,360	16,33	6,52	15,64
P_V	3	0,360	20,46	6,34	15,25
P_{IV}	11	0,360	24,50	6,45	15,48
Hauptversuch F	10	0,360	31,96	6,45	15,48
› E	10	0,360	42,24	6,56	15,73
P_{III}	3	0,501	9,98	7,43	15,77
›	3	1,003	9,98	9,93	16,08
P_V	2	1,41	2,046	(10,36)	(14,65)
Hauptversuch D	9	1,41	4,19	11,96	16,50
› C	10	1,41	10,53	12,24	16,83
› B	10	1,41	31,68	12,10	16,67
P_{III}	4	2,004	9,98	13,23	15,63
P_V	2	2,79	2,046	(13,98)	(14,25)
Hauptversuch A	10	2,79	10,53	15,70	15,60
P_V	3	2,79	20,46	15,07	15,10
›	3	4,12	2,046	(14,87)	(12,85)

Mittel: 15,74

solchen Behandlung eigneten, behandelt, und das Ergebnis haben wir in der Tabelle 31 zusammengestellt.

Das Zahlenmaterial in der Tabelle 31 hat keine weitere Erklärung nötig; nur ist zu bemerken, daß wir aus den oben erwähnten Gründen die Zahlen, welche von Versuchsreihen mit der Eieralbuminprobe P_V und mit kleinem Proteingehalt stammen, eingeklammert haben. Sieht man von diesen Reihen ab, dann geht es aus dem letzten senkrechten Stab der Tabelle 31 hervor, daß der isoelektrische Punkt des Eieralbumins bei $15-16 \cdot 10^{-6}$ liegt (als Mittel von 20 Versuchsreihen ist $15,74 \cdot 10^{-6}$ gefunden). Man sieht zunächst, daß die Lage des isoelektrischen Punkts von der Ammoniumsulfatkonzentration völlig unabhängig ist, während die anwesende, überschüssige Menge Schwefelsäure natürlich mit der Ammoniumsulfatkonzentration wächst. Man sieht des weiteren, besonders deutlich aus den vielen Versuchsreihen mit der Ammoniumsulfatkonzentration 0,360 n und mit verschiedenen Konzentrationen des Eieralbumins, daß die Lage des isoelektrischen Punkts von dieser letzteren Konzentration unabhängig ist.

Schließlich sieht man, daß sämtliche untersuchte Eieralbuminproben denselben isoelektrischen Punkt haben, indem die Abweichungen der Versuchsergebnisse — jedenfalls von den eingeklammerten Versuchen abgesehen — völlig innerhalb der Versuchsfehler fallen (betreffs der Reihen mit $c = 1,41$ siehe S. 170). Da es sich hier um vier verschiedene Eieralbuminproben handelt (P_{III} , P_{IV} und P_V von S. Palitzsch bei den von ihm in den Jahren 1913 und 1914 ausgeführten Messungen benutzt, und «D. Ä. 6», von Jenny Hempel im Jahre 1915 bei der Messung der Reihen des Hauptversuches benutzt), so glauben wir es als festgestellt betrachten zu dürfen, daß der isoelektrische Punkt des Eieralbumins bei einer Wasserstoffionenkonzentration gleich $15-16 \cdot 10^{-6}$ liegt.

Tabelle 32.

Ammoniumsulfatlösungen,

die in 100 g Wasser S g Ammoniumsulfat enthalten, haben bei 18° ein spezifisches Gewicht, d_s , auf Wasser von 4° bezogen, ein Volumen, V_s , von demjenigen Gewicht der Lösung, das 100 g

$$\text{Wasser enthält; } V_s = \frac{100 + S}{d_s}$$

$$\text{eine Äquivalentkonzentration, } c; c = \frac{1000 S}{V_s \times 66,08}$$

S	d_s	V_s	c	S	d_s	V_s	c
0	0,99864	100,136	0,00000	22	1,10341	110,566	3,01111
0,2	0,99985	100,215	0,03020	23	1,10724	111,087	3,13321
0,6	1,00221	100,378	0,09046	24	1,11100	111,611	3,25409
1,0	1,00458	100,540	0,15052	25	1,11471	112,137	3,37377
1,5	1,00748	100,746	0,22531	26	1,11836	112,665	3,49228
2	1,01034	100,956	0,29979	27	1,12194	113,196	3,60959
3	1,01595	101,383	0,44780	28	1,12548	113,729	3,72573
4	1,02141	101,820	0,59450	29	1,12895	114,264	3,84073
5	1,02674	102,265	0,73989	30	1,13238	114,802	3,95455
6	1,03197	102,716	0,88397	31	1,13574	115,342	4,06723
7	1,03709	103,173	1,02673	32	1,13907	115,884	4,17880
8	1,04212	103,635	1,16818	33	1,14233	116,428	4,28925
9	1,04704	104,103	1,30829	34	1,14555	116,974	4,39860
10	1,05187	104,576	1,44710	35	1,14872	117,522	4,50686
11	1,05660	105,054	1,58455	36	1,15184	118,072	4,61403
12	1,06125	105,536	1,72070	37	1,15492	118,624	4,72013
13	1,06582	106,022	1,85555	38	1,15794	119,177	4,82521
14	1,07030	106,512	1,98909	39	1,16093	119,732	4,92923
15	1,07470	107,007	2,12131	40	1,16386	120,289	5,03221
16	1,07901	107,506	2,25223	41	1,16675	120,848	5,15978
17	1,08325	108,008	2,38187	42	1,16960	121,409	5,23508
18	1,08743	108,513	2,51024	43	1,17242	121,971	5,33503
19	1,09153	109,021	2,63735	44	1,17518	122,535	5,43397
20	1,09556	109,533	2,76319	45	1,17790	123,100	5,53197
21	1,09952	110,048	2,88777	46	1,18058	123,667	5,62897

Tabelle 32 (Fortsetzung).

S	d_s	V_s	c	S	d_s	V_s	c
47	1,18323	124,236	5,72500	56	1,20543	129,414	6,54835
48	1,18585	124,806	5,82010	57	1,20773	129,996	6,63544
49	1,18841	125,377	5,91430	58	1,20999	130,580	6,72166
50	1,19095	125,950	6,00754	59	1,21221	131,165	6,80705
51	1,19345	126,524	6,09989	60	1,21441	131,751	6,89164
52	1,19591	127,100	6,19131	61	1,21658	132,338	6,97542
53	1,19835	127,677	6,28186	62	1,21872	132,926	7,05841
54	1,20073	128,255	6,37154	63	1,22084	133,515	7,14061
55	1,20310	128,834	6,46037	64	1,22292	134,105	7,22204

Übersicht.

Abschnitt A.

1. Die Berechnung der Wasserstoffionenkonzentration einer wässrigen Salzlösung, welche einen Überschuß an der dem Salz entsprechenden Säure oder Base enthält, ist ausführlich beschrieben sowohl für ein Salz einer starken Base und einer starken Säure als auch für ein Salz einer starken Säure und einer schwachen Base. Im letzteren Fall ist es bei Lösungen, die nur ganz wenig oder gar keine überschüssige Säure enthalten, notwendig, bei dieser Berechnung die Hydrolyse des Salzes mit in Betracht zu ziehen.

2. Die für ein Salz der einfachen Zusammensetzung MAc für die Berechnung der Wasserstoffionenkonzentration gefundenen Formeln lassen sich auch an einer Ammoniumsulfatlösung anwenden, wenn die überschüssige Säuremenge mit der Ammoniumsulfatmenge verglichen nur klein ist, indem eine solche, schwefelsäurehaltige Ammoniumsulfatlösung als eine Lösung der Säure, $H(NH_4SO_4)$, und eines Überschusses des Ammoniumsalzes, $NH_4(NH_4SO_4)$, dieser Säure zu betrachten ist.

3. Auch die reinsten Ammoniumsulfatpräparate des Handels enthalten gewöhnlich nicht Ammoniak und Schwefelsäure in äquivalenten Mengen, dagegen aber einen kleinen Überschuß eines der Bestandteile, welcher jedoch selten mehr als $\frac{1}{50000}$ der ganzen Menge beträgt. Mittels Wasserstoffionenmessungen

in Lösungen des betreffenden Präparats, wozu kleine, bekannte Mengen Schwefelsäure gegeben worden sind, kann der Gehalt des Präparats an überschüssiger Schwefelsäure oder überschüssigem Ammoniak bestimmt werden.

4. Mittels solcher Wasserstoffionenmessungen kann man auch, indem die unter 1. und 2. erwähnten Formeln in angemessener Weise benutzt werden, den Säurefaktor, f_s , bestimmen. Der Säurefaktor ist diejenige Größe, mit welcher die Wasserstoffionenkonzentration der Ammoniumsulfatlösung zu multiplizieren ist, um die Konzentration der in der Lösung anwesenden ganzen Menge freier Schwefelsäure oder vielmehr sauren Ammoniumsulfats zu geben, das durch Hydrolyse des Ammoniumsulfats gebildete saure Ammoniumsulfat mit einbezogen. f_s ist um so größer, je größer die Konzentration, c , des Ammoniumsulfats ist; die Abhängigkeit zwischen f_s und c ist graphisch auf Figur 4 wiedergegeben.

5. Wenn man die Wasserstoffionenkonzentration, h , einer Ammoniumsulfatlösung bekannter Konzentration, c , mißt, dann kann man aus dem gefundenen Wert des h berechnen, welche Konzentration, s , von überschüssiger Schwefelsäure in der Lösung vorhanden ist. Diese Berechnung von s geschieht mittels der unter 1. und 2. erwähnten Formeln, indem man auf die Hydrolyse des Ammoniumsalzes die notwendige Rücksicht nimmt, und indem man den in die Berechnung eingehenden Wert von f_s auf Figur 4 graphisch abliest. Durch zahlreiche Versuche ist dargetan worden, daß der Fehler des Wertes von s nur selten eine Größe von 1 ccm $n/1000$ Schwefelsäure auf 50 ccm Versuchsflüssigkeit beträgt und gewöhnlich um ein bedeutendes kleiner ist.

Abschnitt B.

1. Die Berechnung der Wasserstoffionenkonzentration säurehaltiger, salzfreier Ampholytenlösungen hat ausführliche Erwähnung gefunden. Es sind Formeln gegeben, welche eine solche Berechnung sowohl ohne als auch mit Rücksichtnahme auf die Dissoziation des Ampholyten in Wasserstoff- und Ampho-

lytenanionen beziehungsweise Hydroxyl- und Ampholytenkationen erlauben, und die Art und Größe des Fehlers, welcher eine Vernachlässigung dieser Dissoziation herbeiführt, ist ausführlich diskutiert worden.

2. Die Berechnung der Wasserstoffionenkonzentration säurehaltiger Ampholytenlösungen, welche außerdem noch ein Salz der Säure und einer starken Base enthalten, läßt sich, sofern die Säuremenge nicht ganz unbedeutend ist, ganz wie die Berechnung salzfreier Lösungen ausführen.

3. Die Berechnung der Wasserstoffionenkonzentration säurehaltiger Ampholytenlösungen, welche ein Salz der Säure mit einer schwachen Base enthält, ist umständlich, wogegen es sich aber einigermaßen leicht berechnen läßt, welche Säurekonzentration eine solche Ampholytenlösung haben muß, um eine gegebene Wasserstoffionenkonzentration zu besitzen.

4. Bei der Berechnung der salzhaltigen Ampholytenlösungen ist es gewöhnlich zu umständlich gefunden, die Dissoziation des Ampholyten in Wasserstoff- und Ampholytenanionen beziehungsweise in Hydroxyl- und Ampholytenkationen zu berücksichtigen. Nur in einer Beziehung haben wir die vollständige Berechnung durchgeführt, und zwar haben wir für das Säurebindungsvermögen, d. h. die pr. Milligramm-Äquivalent Ampholytenstickstoff gebundene Menge überschüssiger Säure einen gemeingültigen Ausdruck hergeleitet. Die Gleichung (5), die sich gewöhnlich ohne wesentlichen Fehler in eine einfachere Gestalt (Gleichung (6) S. 147) reduzieren läßt, zeigt, daß das Säurebindungsvermögen bei Wasserstoffionenkonzentrationen, die nicht bei oder in der Nähe des isoelektrischen Punkts liegen

a) von der Ampholytenkonzentration unabhängig ist,

b) mit steigender Salzkonzentration wächst,

c) positiv ist, wenn die Wasserstoffionenkonzentration größer als die dem isoelektrischen Punkt entsprechende ist, und

d) negativ ist, d. h. es wird überschüssige Base gebunden, bei Wasserstoffionenkonzentrationen, die kleiner sind als diejenige, welche der isoelektrischen Reaktion entspricht.

Bei Wasserstoffionenkonzentrationen, die dem isoelektrischen Punkt entsprechen oder nahekommen, ist die Sachlage weniger übersichtlich, das Säurebindungsvermögen ist in diesem Fall von der Ampholytenkonzentration nicht unabhängig, sondern um so größer je kleiner diese ist.

5. Eine Reihe Wasserstoffionmessungen in säurehaltigen sowohl salzfreien als auch salzhaltigen Glykokoll- oder Glycylglycinlösungen haben eine vorzügliche Übereinstimmung zwischen Theorie und Versuchen gegeben. Ebenso hat eine Berechnung des Säurebindungsvermögens Resultate gegeben, welche ganz dem entsprechen, was der unter 4 erwähnte allgemeine Ausdruck des Säurebindungsvermögens verlangt.

Abschnitt C.

1. Die bei der Untersuchung des Säurebindungsvermögens einfacher Ampholyten angewandten Betrachtungsweisen lassen sich Eieralbuminlösungen gegenüber auch verwerten.

2. Damit in Einklang steht es, daß das Säure- oder Basebindungsvermögen des Eieralbumins bei Wasserstoffionenkonzentrationen, die dem isoelektrischen Punkt des Eieralbumins einigermaßen entfernt sind, einerseits bei gegebener Ammoniumsulfatkonzentration, von der Konzentration des Albumins unabhängig ist, und andererseits, bei gegebener Wasserstoffionenkonzentration, mit der Konzentration des Ammoniumsulfats wächst.

3. Bei Wasserstoffionenkonzentrationen, welche die dem isoelektrischen Punkt des Albumins entsprechenden gleich oder nahekommen, ist das Säurebindungsvermögen des Eieralbumins einigermaßen von der Konzentration desselben abhängig und ist, mit Vorzeichen gerechnet, um so größer, je kleiner diese Konzentration ist.

Auch diese Sachlage läßt sich mittels der im Abschnitt B über das Säurebindungsvermögen einfacher Ampholyten entwickelten Gesetzmäßigkeiten erklären.

4. Lösungen von Eieralbumin, welche nach dem im Abschnitt I beschriebenen Verfahren dargestellt sind, zeigen unter gleichen Umständen immer dasselbe Säurebindungsvermögen, welche Eigenschaft deshalb zur Charakterisierung des betreffenden Albumins dienen kann.

5. Mit Hilfe der S. 171 wiedergegebenen Hauptkurventafel (Fig. 10) kann man durch eine Wasserstoffionenmessung ermitteln, wieviel überschüssige Schwefelsäure eine ammoniumsulfathaltige Eieralbuminlösung von übrigens bekannter Zusammensetzung enthält, und noch dazu die Verteilung dieser Schwefelsäure zwischen den beiden Phasen der Lösung näherungsweise richtig angeben. Die Berechnung dieser Verteilung ist mit um so größerem Fehler behaftet, je näher die Wasserstoffionenkonzentration der Lösung dem isoelektrischen Punkt des Eieralbumins kommt.

6. Auch nach einem anderen, in einigen Fällen ein wenig genaueren Verfahren, nämlich mittels der durch die Figuren 12, 13, 14 und 15 dargestellten Kurvenbündel, ist es möglich, den Gehalt einer Eieralbuminlösung an überschüssiger Schwefelsäure durch eine Wasserstoffionenmessung zu ermitteln. Dies Verfahren ist indessen umständlicher als das unter 5 erwähnte, und es gibt über die Verteilung der Säure zwischen den beiden Phasen der Albuminlösung keine Auskunft.

Abschnitt D.

1. Es wird ein Beweis geführt für die folgende von L. Michaelis und K. A. Hasselbalch zuerst aufgestellte Regel: Wird die Wasserstoffionenkonzentration einer Lösung durch Zugabe eines Ampholyten nicht geändert, dann muß diese Wasserstoffionenkonzentration die dem isoelektrischen Punkt des Ampholyten entsprechende gleich sein.

2. Mittels des unter 1 genannten Satzes und der in den vorhergehenden Abschnitten beschriebenen Messungen findet man, daß der isoelektrische Punkt des Eieralbumins bei $C_H = 15 - 16 \cdot 10^{-6}$ liegt ($15,74 \cdot 10^{-6}$ ist das Mittel von 20 Versuchsreihen).

Februar 1917.