Über Wasserstoff- und Hydroxylionen- Gleichgewicht in Lösungen.

II. Mitteilung

von

W. Löffler und K. Spiro.

(19. VIII. 19.)

Unsere Anschauungen über die Reaktionsverhältnisse in Zellen und tierischen Flüssigkeiten haben in den letzten Jahren wesentlich nach zwei Richtungen Förderung erfahren: einerseits ist es mit Hilfe der elektrometrischen Methode und der sich anschliessenden Indikatoren-Methode möglich gewesen, die Konzentration an H-Ionen mit einer Genauigkeit zu messen, welche die der meisten Methoden der analytischen Chemie weitaus überragt. Um die Ausarbeitung und Verwendung dieser Methoden haben sich besonders einerseits *Sørensen* und anderseits *Michaelis* und *Rona* und deren Mitarbeiter verdient gemacht. Als zweiter wesentlicher Fortschritt ist zu bezeichnen, dass *L. J. Henderson*¹⁾ darauf aufmerksam gemacht hat, wie wichtig jene in allen tierischen Flüssigkeiten vorkommenden Stoffe sind, welche dafür sorgen, dass die Konzentration an H-Ionen meist dieselbe und einheitliche ist. Gerade *Henderson* war es, der das speziell für die Carbonate und Phosphate gezeigt und damit erklärt hat, wie die Umwelt gerade in ihren Reaktionsverhältnissen geeignet ist, das Leben der Pflanzen und Tiere aufrecht zu erhalten. Es hat sich dementsprechend auch ergeben, dass die Konzentration an H-Ionen (im Folgenden immer ausgedrückt durch ihren negativen Logarithmus p_H) für die meisten tierischen Flüssigkeiten eine ganz bestimmte ist; z. B. ergab sich für das Blut die Konzentration $p_H = 7,38$ bei 38^0 , die Reaktion der Organe ergab sich als ziemlich genau neutral und nicht so alkalisch wie die des Blutes. Die Reaktion der Verdauungssäfte ist: für den Speichel

¹⁾ Das Gleichgewicht zwischen Basen und Säuren, *Asher-Spiro's* Ergebnisse der Physiol., Bd. 8, 254 (1909) und Monographie über die Eignung der Umwelt. Wiesbaden *J. F. Bergmann*, 1914.

fast neutral, für den Magensaft deutlich sauer, für den Darmsaft ungefähr entsprechend einer verdünnten Bicarbonatlösung p_H 7,7, für die Milch ungefähr 7,0. Als spezifisch saure Flüssigkeit, die im Körper entsteht, kommt neben dem Magensaft noch der Harn in Betracht, dessen Reaktion nie die Alkaleszenz des Blutes erreicht, und der höchstens so sauer werden kann, dass sein $p_H = 5$ wird. *Während also der Harn Cl-ärmer werden kann als das Blut, wird er nie H-ärmer.*

Die Tatsache, dass der Organismus auf der einen Seite alkalischen Darmsaft, auf der andern Seite sauren Magensaft liefert, die Tatsache ferner, dass er einen Harn von in weiten Grenzen *wechselndem* Säuregehalt bereiten kann, zeigt, dass der Organismus imstande ist, die Konzentration an H-Ionen in ganz beliebiger Weise zu variieren. Es muss also dem Organismus ein doppeltes Vermögen gegeben sein, einerseits bestimmte Konzentrationen gleichmässig aufrecht zu erhalten, wofür ihm die Regulatoren (Moderatoren, Puffer oder Dämpfer) dienen, andererseits die Konzentration in sehr hohem Masse je nach dem Bedürfnis zu variieren.

Es ist eine allgemein feststehende Tatsache (und gerade hieraus erkennt man die Bedeutung der „Puffer“ oder Moderatoren), dass die tierischen Zellen jenseits einer gewissen Säuerung nicht existieren können, und dass im allgemeinen ein erheblicher Alkaliverlust dem Körper schädlich ist. Das ist von um so grösserer Bedeutung, als im tierischen Organismus schon unter physiologischen Verhältnissen durch Oxydation fortdauernd Säuren entstehen, deren Menge unter pathologischen Bedingungen noch eine exzessive Steigerung erfahren kann. Man hat daher besonders die Vorgänge betrachtet, die zu einer Entsäuerung des Organismus führen, das ist normaler Weise einerseits die Atmung, die direkt vom H-Ionengehalt des Blutes abhängig ist, wo eine ausgesprochene Selbstregulation vorliegt, und andererseits die Ausscheidung des Harns. *Unter dem Gesichtspunkt der Regulation gewinnen aber auch intermediäre chemische Prozesse im Organismus eine erhöhte Bedeutung, wie folgendes Beispiel zeigt:*

Beim Diabetes mellitus treten bekanntlich (*Minkowski*) grosse Quantitäten β -Oxybuttersäure auf. *Magnus-Levy* hat eine Ausscheidung von über 342 gr Säure in 3 Tagen bei einem Kranken nachgewiesen. Dass die Bildung so grosser Mengen von Säure für den Organismus eine grosse Gefahr bedeutet,

ging nicht nur aus dem von den Klinikern festgelegten Krankheitsbilde der Acidosis hervor, sondern auch aus der experimentell festgelegten Tatsache, dass der Organismus zur Abwehr dieser Säuerung grosse Quantitäten Ammoniak zur Verfügung stellt. Neben diesem Neutralisationsvorgang greift der Organismus, um die starke Säuerung zu hemmen, aber auch *synthetisch* ein, wie sich aus folgendem ergibt: Durch die Untersuchungen von *Neubauer*, *Dakin*, *Ernst Friedmann*, *Emden* u. a. ist in den letzten Jahren nachgewiesen, dass die β -Oxybuttersäure und zwar in der Leber zum überwiegenden Teil, wenn nicht ausschliesslich, durch Reduktion aus der Acetessigsäure entsteht, nicht wie man früher annahm, umgekehrt (ebenso Mandelsäure aus Phenylglyoxyssäure, Phenyl- β -oxypropionsäure aus Benzoylessigsäure). Der „Sinn“ dieser Reaktion (teleologisch gedacht) ergibt sich, wenn man aus den Dissoziationskonstanten beider Säuren (Acetessigsäure $1,5 \times 10^{-4}$ und β -Oxybuttersäure $3,86 \times 10^{-5}$), wie das zuerst *Henderson* und der eine von uns¹⁾ getan haben, berechnet, wieviel von den beiden Säuren im Harn als freie Säure und wieviel als Salz vorkommt. Dabei findet man unter der allerdings nur näherungsweise richtigen Voraussetzung, dass der Dissoziationsgrad der Na-Salze beider Säuren *ceteris paribus* ungefähr gleich ist, dass bei der in Betracht kommenden Reaktion des Harns ($p_H = 5$ bis 6) die Acetessigsäure 3,3 bis 3,8 mal so stark dissoziiert ist als die β -Oxybuttersäure, dass also durch die Reduktion der Ketosäure zur Oxysäure der Verlust an Alkali auf $\frac{1}{3}$ eingeschränkt wird. Es weist dies wiederum darauf hin, von welcher Bedeutung Änderungen der Konzentration an H- und OH-Ionen für den Organismus und seine Funktionen sind.

Solche Änderungen der Konzentration an H- oder OH-Ionen in wässriger Lösung können auch durch *Zusatz fremder Stoffe* zustande kommen, nicht nur dadurch, was selbstverständlich ist, dass der zugesetzte Stoff selbst H- oder OH-Ionen enthält, sondern auch dadurch, dass er die Dissoziationsverhältnisse des Wassers und damit der gelösten Stoffe ändert. Das wird namentlich dort zu erkennen sein, wo die Reaktion der Lösung auf einer Reaktion des Wassers mit dem gelösten Stoffe beruht. Im allgemeinen ist man zwar berechtigt, in den tierischen *Flüssigkeiten* mit einer und derselben Dissoziationskonstanten des Wassers $k_W = 10^{-14,14}$ bei 18° zu rechnen, da solche Konzentrationen an fremden Stoffen, die einen erheblichen Einfluss auf die k_W des Wassers ausüben könnten (das sind meist mehr als molare Konzentrationen), in tierischen Flüssigkeiten nur selten sich finden dürften. Hingegen wissen wir, dass in Zellen, d. h. in heterogenen Systemen, an einzelnen Stellen Anhäufungen und erhebliche Konzentrationen vorkommen. Hierauf weist auch die Differenz in der p_H zwischen Gewebe und Blut hin.

¹⁾ *Henderson* und *K. Spiro*, *Bio. Z.* **15**, 105 (1908).

Unsere im Reagensglas angestellten Versuche, über die im folgenden ganz kurz berichtet werden soll, können also infolge der hohen von uns angewandten Konzentration nicht ohne weiteres direkt auf die Verhältnisse im Organismus, speziell nicht auf dessen Flüssigkeiten, übertragen werden, aber einerseits wissen wir, wie schon hervorgehoben wurde, über die Konzentrationsverhältnisse, die Maxima der Speicherung, in einem mikroheterogenen System von der Art, wie es die Zelle ist, zu wenig, um darüber überhaupt etwas sagen zu können; andererseits häufen sich die Erfahrungen, die zeigen, dass in einem so konzentrierten System, wie es das Zellprotoplasma ist, nicht die einfachen Verhältnisse verdünnter Lösungen gelten, wie sie uns die Elektrochemie speziell verdünnter Lösungen gelehrt hat¹⁾. Dafür sprechen auch die komplizierten Hydratations- und Solvatisierungsverhältnisse, die durch ein eingehendes Studium der Kolloïde immer mehr offenbar werden. Für die Biologie handelt es sich also im Folgenden einstweilen um Analogieversuche, die aber später einmal vielleicht die Brücke schlagen können von der physikalisch-chemischen zur rein chemischen Betrachtungsweise, und zwar zu Anschauungen, die sich auf chemischem Gebiet als überaus fruchtbar erwiesen haben.

In der anorganischen Chemie ist eine grosse Reihe von Reaktionen bekannt, bei denen ein Übergang einer nicht ionogenen Bindung in eine ionogene (z. B. Säure-) Bindung statt hat. Das genaue Studium gerade dieser Reaktionen hat *A. Werner* zu seiner Theorie geführt, die für die gesamte Lehre von der Valenz und damit für alle chemischen Anschauungen grundlegend geworden ist. Durch Anwendung dieser Erfahrungen und der *Werner'schen* Auffassungen auf die Vorgänge im Organismus können, wie wir vermuten, diese viel von ihrem bis dahin Rätselhaften verlieren. Das bisher noch nicht gelöste Problem der Salzsäurebildung z. B. liegt darin, dass man nicht weiss: woher die H-Ionen und woher gleichzeitig die Cl-Ionen kommen (nicht andere negative, z. B. SO_4'' , sondern nur diese Cl-Ionen). Wir haben aber für das Auftreten der Cl-Ionen aus nicht-dissoziierten Verbindungen Analogien, und ebenso für das Auftreten von H-Ionen z. B. dort, *wo durch Einlagerung von Molekeln eine an*

¹⁾ Vgl. auch *Michaelis* und *Rona*, *Bio. Z.* **94**, 239 (1919).

sich schon vorhandene geringe Dissoziationsstendenz erheblich gesteigert wird (s. unten).

Zu dieser anorganischen Reaktion haben wir nach Analogien bei organischen Umschau gehalten und zunächst diejenigen Stoffe herangezogen, die im Organismus hierfür in Betracht kommen könnten, die mehrwertigen Alkohole, sei es in Form der Kohlehydrate, sei es in Form des Glycerins (Fett).

Auf ein Verschwinden von OH-Ionen durch Zusatz von Glycerin hat der eine von uns schon immer im Unterricht hingewiesen, indem er zeigte, wie die *Moor'sche* Probe auf Zucker bei Gegenwart von Glycerin erheblich abgeschwächt wird. Eine ähnliche Erscheinung lässt sich auch anschaulich machen, wenn man zu einer ganz *verdünnten* Baryt- oder Alkalilösung, die mit Phenolphthalein eben eine Rotfärbung gibt, Glycerin zusetzt, wodurch die Rotfärbung verschwindet. Umgekehrt braucht man mehr 0,1-n. Lauge, um in reinem Glycerin dieselbe intensive Rotfärbung gegen Phenolphthalein zu erzielen, wie in einer wässrigen Kontrollprobe. Dies steht in völliger Übereinstimmung mit Versuchen von *Michaelis* und *Rona*¹⁾, die in exakter Weise das Verschwinden von OH-Ionen auf Zusatz von Glycerin, mehrwertigen Kohlehydraten usw. elektrometrisch gemessen und daraus die Dissoziationskonstanten dieser Körper neu berechnet haben. Während aber *Michaelis* und *Rona* entsprechend ihren auf physikalisch-chemische Verhältnisse gerichteten Forschungen mit relativ geringen Zusätzen arbeiteten, haben wir umgekehrt, da wir von chemischen Gesichtspunkten ausgingen, mit hohen Konzentrationen (s. o.) gearbeitet. Umgekehrt haben *Michaelis* und *Rona* mit reinen Alkalilösungen gearbeitet, deren p_H etwa zwischen 12,1 und 12,3 schwankte, also mit relativ starken Alkalilösungen, während wir in unsern Versuchen mit sehr viel verdünnteren, speziell mit sogenannten Pufferlösungen arbeiteten und uns mit Indikator-Messungen begnügten. Die auf diesem Weg erhaltenen Zahlen sind daher mit der dieser Methode eigenen Unsicherheit behaftet. Es kam uns aber zunächst nur darauf an (da es sich nur um Analogieversuche mit physiologisch-chemischen Verhältnissen handelt), das qualitative Verhalten festzustellen. Wir mussten einstweilen mit Rücksicht auf äussere Umstände auf die

¹⁾ Bio. Z. **94**, 232 (1919).

Festlegung absoluter Zahlen verzichten und uns mit den zur Orientierung ausreichenden Indikatorbestimmungen begnügen. Alle Indikatorenversuche unterliegen selbstverständlich dem Bedenken, dass sich bei ihnen etwas einschleicht, was dem von *Sørensen* studierten „Salzfehler“ entspricht¹⁾. Wenn der Salzfehler z. B. beim Phenolphthaleïn bei 3,5 % Salzgehalt – 0,21 und bei 2 % – 0,16 entspricht, so bedeutet das so viel, als dass unter dem Einfluss des Salzes das Phenolphthaleïn sich aus der lactoïden in die chinoïde Form umgewandelt hat. So sehr das die Feststellung absoluter Zahlen für die H-Konzentration durch Indikatoren erschwert, so ist doch die Salzwirkung als solche sehr interessant, denn sie zeigt uns, dass durch Salzzusatz manche Stoffe ihren Zustand ändern, d. h. sich so verhalten, als ob sie sich in einem Milieu befänden mit einer *andern* Wasserstoffionenkonzentration als die elektrometrische Bestimmung angibt (s. u. S. 549). Die als Indikatoren benutzten Farbstoffe zeigen diese Änderung dadurch, dass sie Farbstoffe sind, nur besonders deutlich; aber es kann das, was bei ihnen wahrnehmbar ist, genau ebenso bei *andern* Körpern sich zeigen, die ebenfalls wie die Indikatoren schwache Säuren oder schwache Basen sind.

Wir haben z. B. in Versuchen, die an anderer Stelle ausführlicher veröffentlicht werden sollen, gefunden, dass der überlebende Dünndarm sehr empfindlich ist gegen Herabsetzung der Salzkonzentration in der umgebenden Flüssigkeit, und dass diese Wirkung reversibel ist.

Von den zur Herstellung von Pufferlösungen von *Sørensen* verwendeten Körpern haben wir zunächst seiner physiologischen Bedeutung wegen das *Glykokoll* herangezogen, dessen Säurekonstante nach *Michaelis* und *Rona* $1,2 \times 10^{-10}$ und dessen Basenkonstante $1,93 \times 10^{-12}$ ist und dessen Lösung dementsprechend bei Gegenwart von Phenolphthaleïn auf Zusatz eines Tropfens 0,1-n. NaOH rot wird. Bei Gegenwart von Glycerin (wir verwendeten entweder nach der *Pharmac. Helv.* gereinigtes Glycerin, oder ein Präparat von *Kahlbaum*) erhielten wir folgende Zahlen:

¹⁾ Vgl. *Michaelis* und *Rona*, *Bio. Z.* **23**, 61 (1909). *Sørensen* und *Palitzsch*, *Bio. Z.* **24**, 387 (1910).

Glykokoll ca. 10%	H ₂ O	Glycerin	Titrationzahlen: 0,1 - n. NaOH
1,0 cm ³	4,0 cm ³	0 cm ³	1,0 cm ³
1,0 "	3,0 "	1,0 "	2,0 "
1,0 "	2,0 "	2,0 "	2,6 "
1,0 "	1,0 "	3,0 "	3,4 "
1,0 "	0 "	4,0 "	4,5 "

Glykokoll 13 %	H ₂ O	Glycerin	0,1 - n. NaOH	Dieselbe Reihe mit 0,1 - n. Glykokoll 0,1 - n. NaOH
0	4,0	8,0	0,25	0,03 cm ³
0,2	3,8	8,0	0,40	0,05 "
0,4	3,6	8,0	1,55	0,08 "
0,6	3,4	8,0	2,20	0,11 "
0,8	3,2	8,0	2,80	0,14 "
1,0	3,0	8,0	3,45	0,16 "
1,2	2,8	8,0	4,10	0,18 "
1,4	2,6	8,0	4,65	0,20 "
1,6	2,4	8,0	5,10	0,22 "
1,8	2,2	8,0	5,75	0,24 "
2,0	2,0	8,0	6,40	0,27 "

Wir haben uns überzeugt, dass dieselbe Verschiebung beim Glykokoll auch nachweisbar ist mit anderen Indikatoren. Man kann sich davon sehr einfach überzeugen, indem man eine gesättigte Glykokollösung, ca. 3-n., mit Nitrophenol und Methylrot versetzt. Man sieht bei beiden Indikatoren, dass die glycerin-haltige Probe sauer ist, im Gegensatz zur alkalischen wässrigen;

1 cm³ 3-n. Glykokoll + 3 cm³ Glycerin + 5 Tr. Indikator; Kontrollversuch mit 3 cm³ H₂O:

	H ₂ O	Glycerin
Methylrot	alkalisch gelb	sauer rot
Nitrophenol	alkalisch gelb	sauer farblos
Neutralrot	sauer 1 Tr. 0,1 - n. NaOH	sauer 2 Tr. 0,1 - n. NaOH

und bei Gegenwart von Neutralrot braucht man zum Umschlag nach der alkalischen Seite mehr Lauge in Gegenwart von Glycerin als in wässriger Lösung.

Wir haben dann weiter gesehen, dass auch beim Versetzen von Glykokoll mit Alkali sich mit Hilfe von Phenolphthalein zeigen liess, dass die Mischung von Glykokoll und Glycerin eine andere H-Reaktion hatte als eine solche in entsprechender wässriger Lösung. Dies geht aus folgendem Versuchsprotokoll hervor:

0,1 - n. Glykokollösung mit Phenolphthalein versetzt und Alkali $p_H = 8,575$. Um dieselbe Färbung zu erzielen, waren bei steigenden Mengen Glycerin Alkalimengen nötig, die folgendem p_H entsprachen:

Glykokoll	H ₂ O	Glycerin	p_H
1,0	3,0	1,0	9,016
1,0	2,0	2,0	9,14
1,0	1,0	3,0	9,36
1,0	0	4,0	9,50

Wir bereiteten uns eine Glykokoll-Natriumlösung, deren $p_H = 8,57$ war, und setzten zu der oben genannten Mischung Glykokoll + H₂O + Glycerin so viel Alkali zu, um eine Färbung zu erhalten, die der $p_H = 8,57$ entsprach. Da wir den Gehalt an Glykokoll und 0,1 - n. NaOH kannten, ergab sich ohne weiteres aus den *Sörensen'schen* Tabellen, welchem p_H die Flüssigkeit ohne Gegenwart von Glycerin entsprochen hätte (letzte Spalte).

Auf diesem Wege liess sich zeigen, wie stark durch das Glycerin der H-Gehalt verschoben wird, d. h. dadurch, dass man Glycerin zusetzte, konnte man eine Verschiebung bis um eine Zehner-Potenz erreichen. Kurz ausgedrückt: Zu einer Glykokoll-Glycerinlösung muss man, um eine bestimmte p_H zu erzielen, mehr NaOH zusetzen als zu einer rein wässrigen Lösung.

Es lag nahe, zu versuchen, ob man auf diesem Wege zu einer quantitativen Titration des Glykokolls käme. Das gelingt aber nicht, auch wenn man grosse Quantitäten Glycerin anwendet; wohl aber gelingt es sehr leicht mit einem andern Alkohol, nämlich dem gewöhnlichen Aethylalkohol. *Vorländer*¹⁾ hat schon vor Jahren auf die Möglichkeit, Glykokoll in alkoholischer Lösung zu titrieren, hingewiesen. Er hat diese Erscheinung durch Bildung

¹⁾ A. 341, 78 (1905).

„innerer Addukte“ erklärt, welche zum Teil den Charakter der quartären Ammoniumsalze haben, und im Gegensatz zu den gewöhnlichen Addukten aus Aminen und Säuren nicht leicht durch wässrige Alkalilauge zerlegt werden können¹⁾.

„Das innere Addukt des Glykokolls verhält sich also ähnlich wie die Halogen-Alkylate der tertiären Amine und nicht wie die einfachen Säureverbindungen der Amine, ein Unterschied, der namentlich bei den aromatischen Aminen sehr deutlich ist. Die Verbindung von Atom- und Molekül-Ion wird also nicht durch wässriges Alkali, wohl aber durch alkoholisches leicht gesprengt“.

Mit diesen Erfahrungen *Vorländer's*, dem verschiedenen Verhalten des Glykokolls in wässriger resp. alkoholischer Lösung, stimmen auch solche *Emil Fischers*²⁾ überein, der bei der Darstellung des Säurechlorids $\text{CH}_2(\text{NH}_2 \cdot \text{HCl})\text{-COCl}$ einen Unterschied zwischen dem aus Wasser krystallisierten und dem mit Alkohol gefällten Glykokoll fand, und der schon mit aller Vorsicht die Möglichkeit zweier verschiedener Formen des Glykokolls erörterte. Durch Wirkung von Alkohol wird also der Säurecharakter und damit auch die chemische Reaktionsfähigkeit des Glykokolls geändert.

Man könnte zunächst geneigt sein, für das Glykokoll dieselben zwei Modifikationen in Betracht zu ziehen, die *Hantzsch*³⁾ unter Annahme einer Betätigung der *Werner'schen* Nebenvalenzbindungen für die organischen Säuren vorgeschlagen hat: $\text{RC} \cdot \text{O}_2 \cdot \text{H}$ als echte Säure und $\text{R} \cdot \text{CO} \cdot \text{OH}$ als Pseudosäure. Dem widerspricht aber, dass in diesem Fall die stärkere echte Säure aus der schwächeren durch Alkohol entsteht, während *Hantzsch* gezeigt hat, dass die echten Carbonsäuren durch Alkohol in die Pseudosäuren übergehen.

Bei den Aminosäuren haben wir gerade wegen der Aminogruppe besondere Verhältnisse: Früher nahm man schon oft innere Salzbildung an, an die aber z. B. *Winkelblech*⁴⁾ „nicht glaubt“. *G. Bruni* und *Fornara*⁵⁾, besonders aber *H. Ley*⁶⁾ haben für die Kupfersalze der Aminosäuren, speziell des Glykokolls, nachgewiesen, dass es sich um innere Metallkomplexsalze handelt, bei

¹⁾ B. 52, 311 (1919).

²⁾ B. 38, 2917 (1905).

³⁾ B. 50, 1422 (1917).

⁴⁾ Z. El. Ch. 10, 293 (1904).

⁵⁾ R. A. L. [5] 13, II, 26 (1904).

⁶⁾ Z. El. Ch. 10, 954 (1904).

denen das Metall durch Nebenvalenz mit der Aminogruppe verbunden ist:

Neuerdings ist für die innern Komplexsalze die Bindung des Metalls an zwei verschiedene Atomgruppen bewiesen durch *P. Karrer, C. Nägeli* und *H. Weidmann*¹⁾. Da nun die elektrolytische Dissoziation des Glykokolls sehr gering und sein Säure-Charakter eben nachweisbar ist, so ist wohl auch das Glykokoll in konzentrierter wässriger Lösung den inneren Komplexsalzen vergleichbar, d. h. eine Nebenvalenzbindung des H an die NH₂-Gruppe anzunehmen, wodurch sich die Nichtdissoziationsfähigkeit ohne weiteres erklären würde. Bei Gegenwart von viel Wasser aber, ebenso durch Glycerin, am besten aber durch Alkohol wird die Nebenvalenz der Aminogruppen durch diese gebunden, sodass der saure Charakter des Glykokolls offenbar wird; das bisher durch Nebenvalenz in der ersten Sphäre festgehaltene H-Atom wird nunmehr ionogen in der zweiten Sphäre gebunden. Diese Annahme steht auch mit der *Werner*'schen Auffassung der Konstitution aller Säuren, z. B. der Salzsäure, in vollkommener Harmonie: $\text{HCl} + \text{H} \cdot + \text{OH}' = \text{ClH} \cdot \text{OH}' + \text{H} \cdot$

Man kann für diese Auffassung vielleicht noch folgende Erfahrung geltend machen: Wenn es sich bei der Einwirkung des Alkohols um die Auflösung eines inneren Komplexsalzes, d. h. das Ver-

¹⁾ Helv. 2, 242 (1919).

schwinden der Nebenvaleanzbindung an der Aminogruppe handelt, dann wäre zu vermuten, dass durch Alkohol nicht nur der saure, sondern auch der alkalische Charakter des Glykokolls mehr hervortreten müsste. Das ist in der Tat der Fall: wie gegen Phenolphthaleïn eben alkalische Alkohol- (resp. Glycerin-) Lösungen, mit ebensolchen Glykokollösungen zusammengebracht, nunmehr gegen Phenolphthaleïn sauer erscheinen, so werden gegen *Methylorange* eben saure Alkohol- (bezw. Glycerin-) Lösungen mit ebensolchen Glykokollösungen nunmehr wieder *alkalisch*. Auch bei der Titration gegen *Methylorange* liess sich das zeigen. Ähnlich dem Alkohol, nur mit geringerer Intensität, wirkt auch das Glycerin, die Wirkung wird aber durch vorhandenes Wasser gehemmt, wie uns besondere Versuche gezeigt haben.

Nachdem wir uns nun so überzeugt hatten, dass die alkalische Pufferlösung, die man aus Glykokoll herstellen kann, durch Zusatz erheblicher Glycerinmengen nach der sauren Seite hin verschoben werden kann, haben wir auch die *ändern alkalischen Pufferlösungen* herangezogen. Ganz übereinstimmend ergab sich für sie alle, wie aus den folgenden Versuchsprotokollen hervorgeht, dass sie durch Glycerinzusatz ebenfalls nach der sauren Seite hin verschoben werden.

1 cm³ Boratlösung titriert gegen Phenolphthaleïn auf Entfärbung.

p _H	Dazu sind nötig:	
	a) Glukose 20% oder b) Glycerin	
9,36	0,21 cm ³	< 0,05 cm ³
9,50	0,25 "	0,05 "
9,68	0,30 "	> 0,05 "
9,97	0,50 "	0,10 "
11,08	1,35 "	0,25 "

p _H	Gegen Neutralrot = 6,8		Gegen Nitrophenol = 5,0	
	a) Glukose	b) Glycerin	Glycerin	Glukose
9,24	0,75 cm ³	0,10 cm ³	0,60 cm ³	feste Substanz
9,09	0,52 "	0,075 "	0,51 "	
8,91	0,37 "	0,05 "	0,46 "	
8,68	0,29 "	0,03 "	0,40 "	
8,29	0,25 "	1 Tropfen	0,38 "	

Es wurden dazu verwandt Boratlösungen, alkal. Citratlösungen, alkal. Phosphat-, alkal. Bicarbonat-Lösungen. Bei allen zeigte sich, das sie bei Glycerinzusatz weniger alkalisch resp. relativ sauer wurden. Da die Boratlösungen sehr empfindlich sind und sich mit ihnen die Verschiebung durch Glycerin viel leichter demonstrieren liess, haben wir diese für das Borat schon bekannte und viel verwandte Reaktion nach zwei Richtungen hin noch erweitert. Einerseits, indem wir statt Glycerin Glukose verwandten und zwar um zu zeigen, dass prinzipiell die gleiche Verschiebung wie durch Glycerin auch durch Zucker möglich ist. Wir haben dann ferner probiert, ob statt Glycerin auch andere Alkohole gebraucht werden können und haben dabei die umgekehrte Reihenfolge gefunden wie beim Glykokoll, indem nämlich das Glycerin wirksamer ist als das Glykol und dieses wieder wirksamer als Aethylalkohol. Aus den Versuchen geht weiter hervor — namentlich zeigen das die Versuche mit Glykol sehr deutlich —, dass es sich um eine Massenwirkungsreaktion handelt, bei der man umso weniger von dem Alkohol braucht, je weniger Wasser vorhanden ist, dass es sich also gewissermassen um eine Verdrängungsreaktion des Wassers durch den Alkohol handelt. Wenn auch der Aethylalkohol nicht imstande ist, quantitativ in wässriger Lösung das eine H-Atom der Borsäure zu dissoziieren, so vermag er doch aus dem Hydrat der Säure Wasser zu verdrängen und damit die zur Erzielung des Endeffektes nötige Menge Glycerin herabzusetzen. Man kommt also bei der Titration von Borsäure mit weniger Glycerin aus, wenn man in alkoholischer, statt in rein wässriger Lösung die Bestimmung ausführt.

Dank den Feststellungen *A. Werners* über Koordinationsverbindungen kann man sich aber viel präzisere Vorstellungen darüber machen. Es ist durch die Forschung der letzten Jahre nachgewiesen, zunächst durch *Miolati*¹⁾ und durch *Rosenheim*²⁾, dass aus Phosphorsäure, Kieselsäure und Borsäure leicht Heteropolysäuren entstehen (entsprechend ihrer Leitfähigkeit, Neutralisierungszahl usw.) Die Erfahrungen, die an den Molybdän-Phosphorsäuren (-Arsensäuren) usw. gemacht worden sind, lassen

¹⁾ J. pr. [2] 77, 439 (1908).

²⁾ Z. an. Ch. 69, 247, 261 (1910).

sich ohne weiteres auf Mannit-Borsäure, Glycerin-Borsäure usw. übertragen, sodass nach der *Werner'schen* Anschauung die Glycerinborsäure sich ableitet von dem Grenztypus $H_9(BO_6)$, wobei dann entsprechend der Borwolframsäure $H_9(B(OW_2O_6)_6)$ eine ebenso gebaute Glycerinborsäure¹⁾ bzw. Glykolborsäure bezw. Glukoseborsäure entsteht. Ob man dabei nach der ursprünglichen *Werner'schen* Auffassung von der Koordinationszahl 6 ausgeht, oder wie *P. Pfeiffer*²⁾ neuerdings wahrscheinlich gemacht hat, auf Grund der Krystallstruktur, von der Koordinationszahl 12, ist für die vorliegende Frage nur von sekundärer Bedeutung, sondern das wesentliche ist, dass durch *Werners* Theorie der komplexen Säuren wir nicht nur eine grosse Reihe von Analogien, sondern auch direkt eine Vorstellung dafür bekommen, wie ohne Aenderung der valenzmässigen Beziehungen doch durch das Einschieben von durch Nebenvalenzen gebundenen Molekelgruppen die Dissoziationskonstante sich erheblich ändert. Gerade für die mehrwertigen Alkohole ist die Fähigkeit, solche Koordinationsverbindungen zu bilden, in weitem Umfange schon nachgewiesen. Es sei nur erinnert an die grosse Anzahl von meistens im Züricher Institut speziell von *A. Grün*³⁾ und seinen Schülern dargestellten Verbindungen des Glykols und besonders des Glycerins mit Erdalkalimetallsalzen, an die vielen seit langer Zeit bekannten Doppelsalze der Hexite usw. Das für die vorliegende Frage wesentliche ist, dass derartige Komplexe sich offenbar auch schon in wässriger Lösung bilden, wie das aus unsern *Indikatorversuchen* hervorgeht.

In dieser Hinsicht sei noch besonders auf folgende von *Grün* gefundene Tatsache verwiesen: Die Mannitverbindungen mit Baryumhydroxyd und Strontiumhydroxyd zeigen in wässriger Lösung ein viel höheres Drehungsvermögen als reine Mannit-

¹⁾ In dieser Weise sind wohl auch die ähnlichen und physiologisch besonders interessanten Untersuchungen von *M. Siegfried* und *S. Howwjanz* (H. 59, 376 (1909)) über die Bindung von Kohlensäure durch Alkohole, Zucker, Oxsäuren und ebenso durch Aminosäuren zu erklären. Erhöhung der Löslichkeit der Borsäure ist vielfach beobachtet, z. B. durch Harnstoff, Aceton, Salze u. s. w. Wir fanden bei Gegenwart von 20 % Glukose eine Löslichkeitsverminderung um 15 % bei Zimmertemperatur.

²⁾ Z. an. Ch. 105, 26 (1918).

³⁾ M. 37, 409 (1916); B. 41, 3465 (1908); B. 45, 3359 (1912).

lösungen gleicher Konzentration. Bei der Lösung der Komplexe findet demnach kein vollständiger Zerfall derselben statt. Wie Baryumhydroxyd und Strontiumhydroxyd, so verstärkt auch Calciumhydroxyd die Drehung von Mannitlösungen. Bei optisch-aktiven Verbindungen können die Drehungserscheinungen als willkommene, weil einwandfreie Kontrolle der durch Indikatoren gefundenen Resultate dienen.

Werner hat auf der einen Seite gezeigt, dass elektronegative Atome wie z. B. das Chlor im Chromchlorid, durch Einschlebung von Wasser mobilisiert werden können: $[\text{Cr}(\text{OH}_2)_6] \text{Cl}_3 \rightarrow [\text{Cr}(\text{OH}_2)_5 \text{Cl}] \text{Cl}_2 + 1 \text{H}_2\text{O} \rightarrow [\text{Cr}(\text{OH}_2)_4 \text{Cl}_2] \text{Cl} + 2 \text{H}_2\text{O}$.

Auf der andern Seite können, wie an der Phosphorsäure, Kieselsäure und Borsäure gezeigt worden ist, ebenso Wasserstoffatome mobilisiert werden, d. h. auf Grund der Werner'schen Lehre ist es ohne weiteres verständlich, dass in wässrigen Lösungen auch durch Einwirkung neutraler Molekeln Verschiebungen des H- und OH-Ionen-Gleichgewichtes stattfinden. Dass dies auch für die im tierischen Körper vorkommenden Stoffe eine Rolle spielt, ist eben gezeigt worden.

Wir haben nun versucht, ob wir nicht auch eine Änderung im umgekehrten Sinne erzielen können, d. h. ob nicht auch Pufferlösungen mit saurer Reaktion unter dem Einfluss des Glycerins *alkalisch* werden. Wir sind dabei davon ausgegangen, dass alle Alkohole Ampholyte sind, was ja gerade für das Glycerin bei der Fettspaltung mit alkoholischem Natrium nach Kossel besonders klar hervortritt.

Wir haben unsere Untersuchungen zunächst an der Citronensäure gemacht und sodann an der Milchsäure. Wir haben diese beiden Säuren herangezogen, weil der Säurecharakter in beiden wohl zum Teil durch die OH-Gruppe bedingt ist; ist doch die Dissoziationskonstante der Milchsäure $1,35 \times 10^{-4}$, dagegen diejenige der Propionsäure $1,3 \times 10^{-5}$. Es war also zu vermuten, dass, wenn gewisse Affinitäten zwischen Glycerin und OH-Verbindungen bestehen und dieselben sich bei der Milchsäure geltend machen würden, unter dem Einfluss des Glycerins eine Verschiebung nach der alkalischen Seite hin stattfinden würde. Die Versuche haben das in der Tat bestätigt; es erübrigt sich wohl, hierüber ausführliche Protokolle mitzuteilen.

Auch in den nach *Michaelis* und *Rona* hergestellten Regulatorenlösungen von Essigsäure und Natriumacetat konnten wir innerhalb der Breite p_H 3—4 durch Zusatz von Glycerin eine Verschiebung nach dem Neutralitätspunkt wahrnehmen mittels Methylorange, doch sind diese Versuche vielleicht nicht so eindeutig wie diejenigen mit Citronensäure. Auch bei der Titration von Glykokoll gegen Methylorange wird in glyceriniger Lösung mehr Säure gebraucht als in wässriger (s. o.).

Von der Erwägung ausgehend, dass die Anlagerung chemischer Körper und die physikalisch-chemische Adsorption zwei in ihrem Wesen ähnliche Vorgänge sind, und dass die *Werner*'sche Koordinationstheorie gewissermassen die Brücke zwischen beiden schlägt und auch bei der Aufklärung der Kolloide mitzuwirken berufen ist, haben wir, wie wir schon in unserer ersten Mitteilung¹⁾ angegeben haben, auch die *Adsorption der Pufferlösungen durch Tierkohle* studiert. Es ergab sich hier ebenfalls, dass nach dem Schütteln mit Tierkohle die Reaktion dem Neutralitätspunkt zugeführt wurde, d. h. z. B. also ein Abnehmen der sauren Reaktion. Wir konnten das weiterhin bei Lösungen von Milchsäure und milchsaurem Natrium (Indikatoren: Methylrot und Methylorange) und von Ammoniak und Ammoniumchlorid (Phenolphthaleïn) bestätigen; das Phänomen ist besonders deutlich, wenn sich die Reaktion in der Nähe des Umschlagepunktes hält.

Diese Beobachtung, dass durch Schütteln mit Tierkohle die Reaktion bestimmter Lösungen mehr dem Neutralitätspunkt zugeführt wird, steht in bester Übereinstimmung mit den neuesten Beobachtungen von *Michaelis* und *Rona* ²⁾, die im Maiheft der biochemischen Zeitschrift dieses Jahres in sehr exakten Versuchen gezeigt haben, dass von allen Ionen die H- und OH-Ionen weitaus am besten adsorbiert werden. Unter diese allgemeine Regelmässigkeit fällt also auch unsere Beobachtung, dass aus einem Gemisch von einer schwachen Säure und ihrem Salz resp. schwachen Base und ihrem Salz die Säure resp. Base stärker

¹⁾ Helv. 2, 417 (1919).

²⁾ Handb. der Biochemie, Artikel Adsorption.

adsorbiert wird als das Salz. Das ist für die Reaktionsverhältnisse im Tierkörper von Bedeutung, was hervorzuheben wir für wichtig halten, weil ja gerade durch die Kombination von schwacher Säure (Base) und Salz die Reaktionsverhältnisse im Tierkörper innegehalten resp. gedämpft werden (Puffer, Moderatoren).

Wenn man, wozu man theoretisch berechtigt ist (s. o.), den adsorbierenden Körper als ein Lösungsmittel ansieht, so sind alle diese Erfahrungen ohne weiteres in Analogie zu setzen mit den Beobachtungen über die Spaltung saurer Salze durch ein zugefügtes Lösungsmittel, worüber gerade aus jüngster Zeit Erfahrungen vorliegen¹⁾.

Wir brauchen die Theorie dieser Vorgänge hier nicht zu geben, da sie ja in aller Ausführlichkeit erst kürzlich von *Dieckmann* und *Hardt*²⁾ mitgeteilt ist. Wir haben, gerade um die Analogie von Adsorption und Lösung besonders deutlich zu demonstrieren, die Adsorption durch Tierkohle an einem besonders charakteristischen Fall studiert: an den sauren Natriumsalzen der Fumar- und Maleinsäure. Bei diesen beiden Säuren, die sich ja nur durch ihre sterische Konfiguration unterscheiden, liegen die beiden Dissoziationskonstanten K_1 und K_2 nach *Ländolt-Börnstein* bei $9,4 \times 10^{-4}$ und $3,2 \times 10^{-5}$, bzw. bei $1,4 \times 10^{-2}$ und $2,6 \times 10^{-7}$, $\frac{K_1}{K_2}$ ist also für Fumarsäure = 29, für Maleinsäure aber = 5385.

Die Adsorbierbarkeit beider Säuren [0,29 gr gelöst in 250 cm³] durch Tierkohle erwies sich als gleich, nämlich 84 % bei Zimmertemperatur. Es ist dies wichtig festzustellen, weil sie sich bei der Chemotaxis, wie *W. Pfeffer* zeigte, verschieden verhalten.

10 cm³ der ursprünglichen Natriumhydrofumaratlösung entsprachen
20 cm³ 0,1 - n. NaOH gegen Phenolphthaleïn
und gaben 0,141 gr Na₂SO₄

10 cm³ der ursprünglichen Natriumhydromaleïnatlösung entsprachen
20 cm³ 0,1 - n. NaOH gegen Penolphthaleïn
und gaben 0,142 gr Na₂SO₄

Je 25 cm³ beider Lösungen wurden mit je 1,5 gr Tierkohle geschüttelt.
Vom Filtrat entsprachen je 10 cm³

¹⁾ *H. Thomas* und *Sabalitschki*, B. **50**, 1227 (1917); **52**, 567 (1919).

²⁾ *W. Dieckmann* und *A. Hardt*, B. **52**, 1134; *Mc. Coy*, Am. Soc. **30**, 688 (1908).

bei der Fumarsäure 7 cm³ 0,1 - n. NaOH (Phenolphthalein) und 0,124 gr Na₂SO₄
 „ „ Maleinsäure 14 „ 0,1 - n. NaOH „ „ 0,114 gr Na₂SO₄
 d. h. das Verhältnis von einem Aequivalent H zu einem Aequivalent Na ist
 in der ursprünglichen Fumaratlösung = 2 : 1,99 = 1 : 1
 „ „ „ „ Maleinatlösung = 2 : 2,0 = 1 : 1
 im Filtrat der geschüttelten Fumaratlösung = 0,7 : 1,75 = 1 : 2,5
 „ „ „ „ Maleinatlösung = 1,4 : 1,60 = 1 : 1,14
 d. h. beide Flüssigkeiten waren, was auch die Indikatorenprüfung bestätigte,
 nach dem Schütteln weniger sauer, der Säureverlust war aber bei der Fumar-
 säure mehr als doppelt so gross (2,2) als bei der Maleinsäure. Auch in zwei
 andern Versuchen ergab sich dasselbe Resultat: 2,2 resp. 2,1 mal so viel H
 verschwanden aus der Fumarsäurelösung.

Diese Beobachtungen zeigen, da die adsorbierte Menge eines
 Stoffes der vorhandenen Menge proportional ist, dass die wässrigen
 Lösungen der sauren Salze bei der Fumarsäure mehr freie Säure
 enthalten, als bei der stereoisomeren Maleinsäure.

Es ist wahrscheinlich, dass die Aenderung der H-Ionen-
 Konzentration, die, wie oben gezeigt wurde, durch Glycerin,
 mehrwertige Alkohole, Glukose u. s. w. erzielt wird, auch sonst
 durch Zusatz anderer Stoffe erreicht werden kann. Hierfür
 sprechen schon Erfahrungen, die z. B. an Chromchloridlösung
 bei Zusatz von *neutralen Chloriden* gemacht worden sind¹⁾. Da
 die H-Ionen-Konzentration bei Salzzusatz umso mehr steigt, je
 grösser die Zahl der Wassermolekeln ist, die nach der Hydrations-
 Theorie sich mit dem Salz vereinigen, so liegt auch hierfür die
 Anwendung der *Werner'schen* Anschauung nahe.

Aus diesen Beobachtungen ergibt sich deutlich auch ein
 Einfluss der *Salze* auf die Reaktion neutraler Körper, ein Ein-
 fluss, der freilich bisher bez. der im Tierkörper vorkommenden
 Stoffe trotz vielfacher Versuche nicht einwandfrei festgestellt
 werden konnte (s. aber oben „Salzfehler“).

Wir möchten also das wesentliche Resultat unserer Ver-
 suche wie folgt zusammenfassen:

¹⁾ Baldwin, C. 1919, I. 805; Wilson und Kern, ebenda.

1. Die einfachen neutral reagierenden Bausteine der tierischen Zelle: Glycerin, Kohlehydrate u. s. w. sind im Sinn der *A. Werner'schen* Koordinationstheorie durch Bildung von Komplexsalzen imstande, Reaktionsverschiebungen hervorzurufen, speziell auch innerhalb der Breite, wie sie im tierischen Organismus vorkommen. Das lässt sich z. B. zeigen an dem einfachsten Baustein der Eiweisstoffe, dem Glykokoll.

2. Auch solche Lösungen, die gegen eine Änderung ihrer Alkaleszenz sehr unempfindlich sind (Puffer), ändern beim Schütteln mit Tierkohle ihren Gehalt an H- und OH-Ionen in der Art, dass sie dem Neutralitätspunkt näher gebracht werden.

3. In Konsequenz der vorgetragenen Anschauung, dass die Adsorption mit Tierkohle einem Lösungsvorgang gleichzusetzen ist, wird eine verschiedene Spaltung saurer Salze in wässriger Lösung auch durch Schütteln mit Tierkohle gezeigt.

Frä. Marie Becker danken wir bestens für ihre freundliche Hilfe.

Basel, Laboratorium der medizinischen Universitätsklinik.

Sur une nouvelle séparation de l'aluminium et du vanadium

par

P. Wenger et H. Vogelsson.

(31. VIII. 19.)

Au cours d'une étude complète du vanadium au point de vue analytique, nous avons eu l'occasion d'étudier les principaux dosages de cet élément ainsi que plusieurs de ses séparations, notamment d'avec le fer et l'aluminium.

Nous avons pu nous rendre compte qu'un grand nombre de ces méthodes ne donnent pas des résultats satisfaisants ou présentent des difficultés techniques qui nécessitent une longue expérience pour arriver au but poursuivi.