Über den isoelektrischen Punkt der tierischen Gewebe.

IX. Mitteilung.

Elektrische Umladung der dispersen Phase organischer, anorganischer Dispersoide und der Erythrozyten.

Von

Militärassistentenarzt Gonpachiro Yasuzumi.

Aus dem Pathologischen Institut des Kriegslazarets zu Kokura
(Vorstand: Oberst Y. Hamada).

Aus dem Anatomischen Institut der Medizinischen Fakultät der
Kaiserlichen Universität zu Osaka.
(Vorstand: Prof. T. Tomita).

Mit 3 Textfiguren.

Einleitung.

Betrachten wir das lebende Protoplasma einer Tierzelle unter dem Mikroskop, so kann man bekanntlich in demselben gewöhnlich verschiedenartige Einschlüsse finden, die bald fest, bald flüssig sein mögen und vom Standpunkt der Kolloidchemie aus als grobdisperse Phasen betrachtet werden können. Nur selten kommt es vor, dass das Protoplasma unter dem Mikroskop vollkommen homogen erscheint. Um dem lebenden Protoplasma diesen bestimmten Dispersitätsgrad zu erhalten und um es gegen Flockung durch die Einwirkung der fremden Substanzen, besonders der Salze zu schützen, spielt natürlich die Schutzwirkung der Eiweisskörper eine grosse Rolle; weiter ist es vom Standpunkt der Kolloidchemie aus vermutlich, dass die Umladung der fremden Substanzen in der Zelle sowie der Zellkomponenten vielleicht in dem Protoplasma häufig vorkommen wird.

Die Beziehung zwischen dem Dispersitätsgrad, besonders der Umladung sowie der Entladung und dem isoelektrischen Punkt der Zellkomponenten ist noch nicht eingehend untersucht worden. Deshalb möchte ich dieses Problem in erster Linie durch Versuche sowohl mit den grobdispersen organischen Mastix- als auch mit den feinstdispersen anorganischen Gold-

soldispersoiden und zweitens die mit den überlebenden Erythrozyten zu klären suchen.

I. Elektrische Umladung der dispersen Phase des Goldsols.

1. Kolloide Golddispersoide.

Zur Herstellung dieser Goldkolloide werden 2 ccm einer einprozentigen wässrigen Lösung von Goldchlorwasserstoffsäure in 200 ccm doppelt destilliertes Wasser gegeben und unter Erwärmung und Zusatz von K_2CO_3 mittels Traubenzucker reduziert. Ein richtig hergestelltes Goldsol ist hochrot bis purpurrot gefärbt, im diffus durchfallenden Lichte durchsichtig, im auffallenden Lichte geringgradiges Trübungsphänomen nach Tyndall zeigend. Die Grösse der kolloiden Goldteilchen beträgt nach Zsigmondy und Thiessen 2–40 $\mu\mu$. Überschreiten die dispersen Goldteilchen diesen Grenzwert fortschreitend nach oben, so erscheinen die Golddispersoide im diffus durchfallenden Lichte klar violett bis klar tiefblau und zeigen im auffallenden Lichte das Trübungsphänomen in zunehmender Stärke.

Die Goldsolreaktion mit Rückenmarksflüssigkeit nach Lange lässt förmlich skalenmässig mit zunehmender Teilchengrösse folgende Farbennuancen erkennen.

Unverändert hell- bis purpurrot (0),
rotviolett (1),
violett (2),
rotblau (3),
blau (4),
blauweiss (5),
weiss, komplette Ausflockung der blauen feinstpulverigen Goldphase mit Sonderung von wasserklarem und farblosem Dispersionsmittel (6).

Es folgt nun die Besprechung der Versuche und deren Ergebnisse.

2. Versuche mit Gelatinelösung.

Bei Mischung der 0.5 ccm Pufferlösung von McIlvaine (pH 3.9–5.5) und 3 ccm Goldsol bleiben alle Röhrchen 1–3 Stunde lang rot oder rotviolett gefärbt, jedoch nach 24 Stunden wird die Farbe des kolloiden Goldes über blau in weiss umgewandelt.

Werden 0.1 ccm 0.1% ige Gelatinelösung und 0.5 ccm Pufferlösung von McIlvaine gemischt und dann 2.5 ccm Goldsollösung zugesetzt, so tritt unmittelbar ein Farbumschlag des Goldsols von hellrot (0) in violett (2)

bei pH 3.5–4.2, in rotviolett (1) bei pH 4.3–4.6 und weiter nach 24 Stunden eine weitere Veränderung der Färbung in weiss (6) bei pH 3.5–4.2 hervor. Bei der alkalischen Seite von pH 4.8 konnte man keine Veränderung der Farbennuance des Goldsols von hellrot (o) wahrnehmen. Durch deren Ablesung erhält man die Kurve (Fig. 1).

Fig. 1. Dispersitätsveränderung des Goldsols durch Gelatine.

3. Versuche mit Cerebrospinalflüssigkeit von Menschen.

Werden 0.1 ccm normale Cerebrospinalflüssigkeit (Zellzahl 3, Nonnische Reak. negativ und Pandysche Reak. spurweise positiv) und 0.5 ccm Pufferlösung von McIlvaine gemischt und dann 2.5 ccm Goldsollösung zugesetzt, so tritt die Veränderung der Dispersität des Goldsols bei der sauren Seite von pH 5.0 hervor. So zeigt Fig. 2, dass ein Farbenumschlag des Goldsols nach 24 Stunden von hellrot (o) in rotviolett (1) bei pH 4.9 in

Fig. 2. Dispersitätsveränderung des Goldsols durch Cerebrospinalflüssigkeit.

violett (2) bei pH 4.8 in blau bei pH 4.7 und in weiss (6) bei der sauren Seite von pH 4.6 stattfand.

4. Versuche mit Blutserum von Menschen.

Werden 0.1 ccm von Blutkörperchen völlig befreite und zwanzigfach verdünnte Menschen-Seren und 0.5 ccm Pufferlösung von McIlvaine gemischt und dann 2.5 ccm Goldsollösung zugesetzt, so kommt man zu den folgenden Resultaten.

Figur 3 lehrt, dass unmittelbar nach Vermischen ein Farbumschlag des Goldsols von hellrot (0) in rotviolett (1) bei pH 4.6 und 4.8 stattfand, dem nach einer Stunde eine weitere Veränderung der Färbung in violett (2) bei gleichem pH und weiter in rotviolett (1) bei pH 4.4 und 5.0 und dem nach 24 Stunden in weiss (6) bei von pH 4.4 bis 5.3 folgte. Die letzte Farbensnuance behält nun das Goldsol dauernd bei.

Fig. 3. Dispersitätsveränderung des Goldsols durch Blutserum.

II. Elektrische Umladung der dispersen Phase der kolloiden Mastixemulsoide.

Zur Herstellung dieser Mastixkolloide wird 1 ccm einer einprozentigen Alkohollösung von Mastix in 40 ccm destilliertem Wasser plötzlich eingegossen. Die Herstellung dieses Mastixkolloids erfolgt vor jedem Versuche.

Die Flockungsreaktion zwischen Mastixemulsoiden und anderen Kolloiden in bestimmtem pH-Bereich kann man in folgender Weise aufstellen, indem man in kleines Probeglas 0.5 ccm Pufferlösung von McIlvaine und 0.1 ccm Versuchskolloidlösung, und nach Durchmischung in jedes Glas 1 ccm Mastixemulsoide giesst. Nach dem 5-, 30-minutigen und 24-stündigen Stehenlassen bei Zimmertemperatur liest man mit Hilfe des Agglutinioskops ab, ob und wie die Flockung herstellt ist.

Tabelle 1. Flockungsreaktion zwischen 0,1 Proz. Gelatinelösung und Mastixemulsoide.

Flockung Zeit \ pH	4.3	4.5	4.6	4.7	4.9	5.1	5.2	5.4
5 Min.	++	++	+	+	±	—	—	—
30 Min.	###	###	++	++	+	—	—	—
24 St.	⊙	⊙	###	###	###	—	—	—

Tabelle 2. Flockungsreaktion zwischen normaler Cerebrospinalflüssigkeit und Mastixemulsoide.

Flockung Zeit \ pH	3.4	3.6	3.9	4.0	4.2	4.3	4.5	4.6	4.7	4.9	5.1	4.2	5.3	5.5	5.8
5 Min.	###	###	###	###	###	++	++	+	+	±	±	—	—	—	—
30 Min.	###	###	###	###	###	++	++	++	+	±	±	—	—	—	—
1 St.	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	##	##	##	+	±	—	—	—	—
24 St.	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	##	+	—	—	—	—

Unter den gegebenen Versuchsbedingungen lassen sich die negativ geladenen Mastix-Moleküle durch Kationen der Eiweisskörper entladen, und dadurch liegt wahrscheinlich die Flockungszone in der sauren Seite vom isoelektrischen Punkte der Eiweisskörper. Sie betragen bei Gelatine in der sauren Seite von pH 4.9 und bei der Cerebrospinalflüssigkeit in derselben von pH 5.1. Diese Resultate stimmen mit den des vorher angegebenen Goldsol fast überein.

Tabelle 3. Flockungsreaktion zwischen zwanzigfach verdünntem Menschenserum und Mastixemulsoide.

Flockung Zeit \ pH	3.8	3.9	4.1	4.3	4.4	4.6	4.7	4.9	5.1	5.3	5.5
5 Min.	—	—	—	—	—	±	++	++	++	++	++
30 Min.	—	—	—	—	—	+	++	###	###	###	###
24 St.	—	—	—	—	—	+	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙

± = spurweise Flockung.

+ = ganz zarte körnerige Flockung.

++ = deutliche Flockung.

= grobe Flockung.

⊙ = Flockungsniederschlag.

Die Mastix-Moleküle sind ursprünglich negativ geladen, indem sie im sauren Bereiche vom isoelektrischen Punkt des Ampholyts entladen und koagulieren. Bei dem Serum konnte man die ganz entgegengesetzte Tatsache annehmen, indem die Koagulation im alkalischen Bereiche vom isoelektrischen Punkt stattfindet.

Sowohl die Beobachtung mit den grobdispersen organischen Mastix-emulsoiden als auch die mit den feinstdispersen anorganischen Goldsol-dispersoiden, wonach bei der alkalischen Seite des isoelektrischen Punktes des Blutserums die Dispersitätsveränderung stattfindet, legt den Gedanken nahe, dass diese Veränderungen wahrscheinlich auf den Umladungen beruhen, die durch mehrwertige Salzwirkungen hervorgerufen wurden. In Verfolgung dieses Gedankens und zur Aufklärung des Mechanismus der Reaktion stellte ich die im folgenden näher beschriebenen Versuche an.

III. Die Umladung der Mastix-Emulsoide.

Die Entstehung eines Mastixsols durch Auflösen eines Stückes Mastix in Alkohol und Eingiessen der alkoholischen Lösung in reichlich Wasser erscheint als Dispergierung, wenn man nur den Anfangs- und den Endzustand betrachtet. Man muss jedoch auch bei dieser Umwandlung zwei Teilvorgänge, einen Dispergierungsvorgang (die Auflösung) und einen Kondensationsvorgang (die Ausscheidung des Mastix durch Löslichkeitserniedrung) unterscheiden. Sie sind durch Abdissoziierung der H-Ionen von derselben in Wasser negativ geladen. Mit diesen Mastix-Emulsoiden kommt man zu folgenden Versuchen.

Tabelle 4. Flockungsreaktion zwischen der Mastix- und FeCl_3 -Lösung.

Glas-No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Verdünnungsgrad d. 10% iger FeCl_3 - Lösung. (fach)	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	4096	8192	16384	32768
Nach 5 Minuten.	◎	◎	≡	—	—	—	≡	≡	≡	—	—	—	—	±	+
Nach 24 Stunden.	◎	◎	◎	—	—	—	≡	◎	≡	±	—	—	±	±	+

In 1-15 Gläser werden je 0.1 ccm destilliertes Wasser, dann in Glas 1 0.1 ccm 10%ige FeCl_3 -Lösung gegeben. Nach dem Durchmischen überträgt man 0.1 ccm in Glas 2 und sofort bis ins Glas 15. Aus letzterem entnimmt man 0.1 ccm mit der Pipette. Danach gibt man in jedes Glas 1.0 ccm

Mastix-Lösung, und durchschüttelt es genügend, ohne mit dem Finger abzuschliessen. Die Ablesung erfolgt nach 5 Minuten und 24 Stunden.

Wie das obige Resultat zeigt, kann man im Glas 1, 2, 3, 7, 8, 9, 10, 13, 14 und 15 die Flockung der Mastixemulsoide wahrnehmen, aber nicht im Glas 4, 5, 6, 11 und 12. Diese Erscheinung beruht wahrscheinlich darauf, dass sich in der ersteren Glas-Reihe die Entladung der Mastix-Emulsoide und in letzterer die Umladung hervorbringen lässt und zwar nimmt die Flockung im Glas 7, 8, 9 und 10 ihren Ursprung von der Wirkung der Anionen des Salzes aus.

Mit den umgeladenen Mastix-Emulsoiden* und der Cerebrospinalflüssigkeit kommt man zu folgendem Versuch.

In kleines Probeglas wird 0.5 ccm Pufferlösung von Walpole und 0.1 ccm Cerebrospinalflüssigkeit von Menschen (Pandy'sche Reak.: ($\pm$) Nonne'sche Reaktion: (—)) gegossen. Nach dem Durchmischen werden 1 ccm umgeladene Mastix- oder Mastix-Emulsoide in jedes Glas gegeben. Nach 24-stündigem Stehenlassen bei Zimmertemperatur erfolgt die Ablesung (eventuell mit Hilfe des Agglutinokops).

Tabelle 5. Flockungsreaktion zwischen Cerebrospinalflüssigkeit und Mastix- sowie umgeladener Mastix-Emulsoide.

Flockung \ pH	3.5	3.7	4.0	4.2	4.5	4.7	4.8	5.0	5.2	5.3	5.5	5.7	6.1	6.4
Mastix	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⦶	⦶	⦶	—	—	—	—	—	—
Mastix	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⦶	⦶	⦶	—	—	—	—	—	—
Umgeladener Mastix	—	—	—	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙

Wie das obige Resultat zeigt, tritt die Flockung der umgeladenen Mastix-Emulsoide in alkalischer Seite in saurem Bereiche von dem bestimmten pH, d. h. entgegengesetzt zu dem nicht umgeladenen Mastix hervor. Sowohl bei dem Versuche mit Lipoiden, z.B. Cholesterin und Lecithin als auch die mit basischem Farbstoff, Toluidinblau lässt sich der Flockungs-Bereich der Mastixemulsoide nach der sauren Seite verschieben, jedoch findet keine Umladung derselben statt.

Diskussion dieser Versuchsergebnisse.

Sowohl die Versuche mit den grobdispersen organischen Mastix-, als auch die mit den feinstdispersen anorganischen Goldsöldispersoiden zeigen, dass es unter dem Einfluss des pH, und zwar bei Mischung anderer Stoffe

* Umgeladene Mastix-Lösung: Mischung von 1.0 ccm Mastix-Lösung und 0.1 ccm 0.625% iger FeCl_3 -Lösung.

(Gelatine, Cerebrospinalflüssigkeit und Blutserum von Menschen), zur elektrischen Ladungsverminderung bzw. Entladung der kolloiden Komplexe und einer damit verbundenen Grössenzunahme der Massenteilchen beider Kolloide in der sauren Seite von jedem isoelektrischen Punkt bei Gelatine und Cerebrospinalflüssigkeit kommt, dagegen bei Blutserum in der alkalischen Seite dieses Punktes.

Als Erklärung für dieses Phänomen bei Gelatine und Cerebrospinalflüssigkeit ist die Entladung der elektronegativen Massenteilchen der dispersen Phase beider kolloiden Dispersoide durch die Kationen der Eiweisskörper heranzuziehen. Mit anderen Worten: Mit der zeitlich und mengenmässig fortschreitenden Adsorption der positiv geladenen Ionen an der Oberfläche der elektro-negativ geladenen Kolloidkomplexe der organischen und anorganischen Dispersoide kommt es zu einer Herabsetzung der elektrischen Potentialdifferenz zwischen dispersen Teilchen und Dispersionsmittel. Hand in Hand damit geht unter Zunahme der Oberflächenspannung eine Verschmelzung der Kolloid-Komplexe einher, die zu ihrer Vergrösserung führt und bei den Mastixemulsoiden die Ausflockung, bei den feindispersen stabileren Goldhydrosolen die Änderung der Farbnuancen von hellrot bis tiefblau bzw. weiss zur Folge hat.

Bei dem Blutserum kommen zwei Erscheinungen in Betracht: die Umladung der elektronegativen Massenteilchen der dispersen Phase beider Dispersoide durch die Wirkung des Schwermetallsalzes ohne Einfluss auf die Lipoide, dann die Entladung der umgeladenen Teilchen mit den Anionen des Eiweisskörpers.

Die Umladung kann man wie folgt erklären: Wenn ein System in welchem die dispersen Teilchen bereits von einer elektrischen Doppelschicht umgeben sind, mit einem fremden Elektrolyten in zunehmende Konzentration versetzt wird, dann erfolgt ein Ionenaustausch, wodurch die Doppelschicht eine tiefgreifende Veränderung erleidet, die je nach Art und Menge der in der Doppelschicht ursprünglich vorhandenen und zugesetzten Ionen verschiedenartig verlaufen kann. Ist der Elektrolyt mehrwertig, so bleibt die Veränderung der Doppelschicht beim isoelektrischen Punkt nicht stehen, sondern bei weiterer Zunahme der Elektrolytkonzentration bildet sich eine neue diffuse Schicht aus, wodurch mithin die Umladung erfolgt.

IV. Die Agglutinationsreaktion zwischen den Farbstoffen und Erythrozyten.

In Bezug auf das Dispersitätsproblem des Protoplasmas, besonders um nur die Beziehung zwischen den lebenden tierischen Zellen und den Farb-

stoffen, deren Ladungen bekannt sind, zu beobachten, kommt man zur folgenden Beobachtung.

Die aus den Ohrvenen eines Kaninchen entnommenen und ohne Kochsalzlösung ausgewaschenen Blutzellen werden auf den Träger getropft und dann mit einem Deckglas bedeckt; man bekommt so die Erythrozyten leicht in Form von Geldrollen zur Agglutination. Um die Wirkung der Farbstoffe auf die Blutzellen zu kennen, wurde sehr kleine Menge von Farbstoffpulver an den Rand des Deckglases gesetzt, wobei man die Diffusion der Farbstoffmoleküle in das Blut beobachten konnte.

Durch eine Gruppe der Farbstoffe werden die Blutzellen aus dem gruppierten Zustande getrennt, und die Erythrozyten-Agglutination wird dadurch gehemmt. Durch eine andere Gruppe der Farbstoffe kommt es spontan zur Erythrozyten-Agglutination, d. h. die Agglutination wird durch

Tabelle 6. Die die Erythrozyten-Agglutination beschleunigenden, sauren Farbstoffe.

Farbstoffe	Chemische Gruppe	Löslichkeit in Wasser
Methylrot	Monoazogruppe	(—)
Benzopurpurin	Disazogruppe	(—)
Kongorot	„	(±)
Eosin	Xanthengruppe	(+)
Acridinrot (±)	„	(+)
Indigocarmin	Bis-indolindigogruppe	(+)
Wasserblau	Triarylmethangruppe	(±)
Carmin	Natürlicher Farbstoff	(+)
Berlinerblau (±)	Anorganischer Farbstoff	(—)

Tabelle 7. Die die Erythrozyten-Agglutination beschleunigenden, basischen Farbstoffe.

Farbstoffe	Chemische Gruppe	Löslichkeit in Wasser
Pyronin	Xanthengruppe	(+)
Thionin	Thiazingruppe	(+)
Methylenblau	„	(+)
Azur	„	(+)
Neutralrot	Azingruppe	(+)
Fuchsin	Triarylmethangruppe	(+)
Anilingrün	„	(—)
Nilblau-chlorid	Oxazingruppe	(+)
Janusgrün	Monoazogruppe	(+)
Janusblau	„	(+)

Tabelle 8. Die die Erythrozyten-Agglutination hemmenden, sauren Farbstoffe.

Farbstoffe	Chemische Gruppe	Löslichkeit in Wasser
Aurantia (++)	Nitrogruppe	(-)
Orange G (++)	Monoazogruppe	(-)
Kresolrot (##)	"	(+)
Bordeau R (##)	"	(+)
Tropaeolin (##)	"	(+)
Methylorange (##)	"	(+)
Ponceau R (##)	"	(+)
Janusgelb R (+)	Disazogruppe	(+)
Scharlachrot (++)	"	(±)
Trypanblau (++)	"	(+)
Nigrosin (++)	Azingruppe	(±)
Rubin S (++)	Triarylmethangruppe	(+)
Anilinrot (##)	"	(+)
Erythrosin (##)	Xanthengruppe	(±)
Alizarin gelb (##)	Oxylactongruppe	(-)

Tabelle 9. Die die Erythrozyten-Agglutination hemmenden, basischen Farbstoffe.

Farbstoffe	Chemische Gruppe	Löslichkeit in Wasser
Bismarkbraun (++)→(±)	Disazogruppe	(+)
Safranin (-)→(±)	Azingruppe	(+)
Brilliantcresylblau (++)	Oxazingruppe	(+)
Nilblau sulfate (++)	"	(+)
Toluidinblau (++)	Thiazingruppe	(+)
Anilinblau (++)	Triarylmethangruppe	(-)
Gentianaviolett (±)	"	(-)
Methylgrün (-)→(+)	"	(+)
Jodgrün (±)	"	(+)
Anilinbraun (±)	"	(+)
Victoriablau 4 R (±)	"	(+)
Dahlia B (-)→(+)	"	(+)
Kristallviolett (±)→(+)	"	(+)
Malachitgrün (+)	"	(+)
Neutralviolett G (++)	"	(+)
Methylviolett 5 B (++)	"	(+)

Löslichkeit im Wasser: (-)=unlöslich, (±)=spurweise oder schwer löslich, (+)=leicht löslich.

Farbstoffe: (±)=Reaktion undeutlich, (+)<(++)<(##) Reaktion deutlich, (-)→()=erste und nach bestimmter Zeit auftretende Reaktion.

die Farbstoffe beschleunigt. Auf Grund dieser zwei Erscheinungen können die Farbstoffe in prinzipiell voneinander verschiedene zwei Gruppen eingeteilt werden.

Fasst man das Resultat zusammen, so erhält man die folgende Tabelle.

Diskussion dieser Versuchsergebnisse.

Können diese Phänomen mit dem Vitalfärbungsmechanismus verantwortlich gemacht werden? Wenn wir diese Resultate mit den Ladungsverhältnissen zwischen den Blutzellen und Farbstoffen klarmachen wollen, deren Ladungen nur mit Hilfe der Kataphorese bestimmt werden, werden wir auf grosse Schwierigkeiten stossen, weil die Erythrozyten-Agglutination sich sowohl mit den Arten der Farbstoffe, wie basische, saure und neutrale Farbstoffe, als auch mit der chemischen Gruppe derselben nicht immer in Zusammenhang bringen lassen.

Dass die Ladung und Färbbarkeit bisweilen keine übereinstimmende Angaben geben, folgt auch aus den Resultaten von Seki. Er führte an, dass im Gegensatz zu den lebenden Erythrozyten, die sich besser mit basischen als mit sauren Farbstoffen färben lassen, fixierte Erythrozyten saure Farbstoffe vornehmlich aufnehmen, während bei der Kataphorese beide zur Anode wandern.

Die den Färbungsprozess bedingenden Eigenschaften der Farbstoffe sind nach W. v. Möllendorff folgende: 1. Lösungszustand, der die Diffusion der Farbstoffe bestimmt, 2. Elektrolytempfindlichkeit, die sich in der Ausflockungsfähigkeit kenntlich macht, 3. Lipoidlöslichkeit, 4. Ausflockbarkeit durch saure Kolloide, die in der Mikrodifferenzierung im Plasma eine Rolle spielt, 5. Elektrophorese, welche bei der Untersuchung von anodisch und kathodisch wandernden Kolloidteilchen in Erscheinung tritt, 6. Reduktionsempfindlichkeit, welche unabhängig von dem sich färbenden Substrat Stellen der verstärkten Reduktion und Oxydation hervortreten lässt, und 7. chemische Struktur, deren Rolle noch lange nicht klar ist. Auf Grund der Ansicht von M. v. Möllendorff und auch von Keller können wir wahrscheinlich dieses Phänomen noch nicht genügend klarmachen.

Hinsichtlich der Agglutination der Erythrozyten ist noch die Salzwirkung neben den Farbstoffmolekülen von grosser Bedeutung, z. B. Nilblausäure zeigt negative Agglutinationshemmung, dagegen Nilblausulfate positive.

Werden die negativ geladenen Erythrozyten, welche von elektrischer Doppelschicht umgeben sind, mit basischen oder sauren Farbstoffen in Berührung gebracht, so erleidet die Doppelschicht eine tiefgreifende Veränderung. Folglich kommt man zur folgenden Annahme:

Mit basischen Farbstoffen :

1. Infolge der Adsorption der negativen Farbstoffmoleküle kommt es zur Entladung und Verringerung der Schichtdicke, dadurch nimmt das ξ -Potential ab und nähert sich dem isoelektrischen Punkt, der endlich den Punkt erreicht. So erfolgt eine Erythrozyten-Aggultination wie Tabelle 7.

2. Die Veränderung der Doppelschicht bleibt beim isoelektrischen Punkt nicht stehen, sondern bildet eine neue diffuse Schicht aus, in welcher die äussere Belegung durch die positiven Farbstoffmoleküle gebildet wird. Es erfolgt mithin Umladung, wodurch die Erythrozyten-Agglutination gehemmt wird, wie es die Tabelle 9 zeigt.

Mit sauren Farbstoffen :

1. Mit den mehrwertigen Farbstoffsalzen werden in erster Linie die Erythrozyten umgeladen ; es kommt dann mit den negativen sauren Farbstoffen nur zur Entladung bzw. zur Agglutination, wie es die Tabelle 6 zeigt.

2. Wie bei den basischen Farbstoffen ist noch weiter die Umladung der Erythrozyten bei den sauren Farbstoffen zu berücksichtigen. Es erfolgt eine Adsorption der negativen Farbstoffmoleküle und Vermehrung der negativen Ladung, wodurch plötzlich eine Trennung einzelner Erythrozyten hervorkommt (Tabelle 8).

Zusammenfassung.

1. Versetzt man eine kolloide Goldsollösung mit 0.1% iger Gelatine unter Berücksichtigung des pH der Medien, so tritt die Veränderung der Farbennuance infolge einer gegenseitigen Koagulation in der sauren Seite vom isoelektrischen Punkt derselben ein. Mit Mastix-Emulsoiden lässt sich eine Flockung in ganz gleichem Mechanismus hervorrufen.

2. Mischt man die normale Cerebrospinalflüssigkeit mit negativ geladenen organischen Mastix-Emulsoiden oder anorganischer Goldsollösung unter dem Einfluss von pH, so kann man bei Goldhydrosolen den Farbumschlag von hellrot bis tiefblau bzw. weiss und bei den Mastixemulsoiden die Flockung in der sauren Seite von pH 4.9-5.1 wahrnehmen.

3. Sowohl die Versuche mit den organischen Mastix- als auch die mit den anorganischen Goldsollösungen zeigen, dass es unter dem Einfluss von pH und Blutserum in erster Linie zur Umladung beider Kolloide kommt ; danach lässt sich die elektrische Ladungsverminderung beider Kolloide durch die Anionen des Blutserums hervorrufen. Die Umladung der Dispersoide mit Blutserum besteht darin, dass die neuen Ionen in der

starren Schicht auftreten, und zwar entweder durch einfache Anlagerung oder auch auf dem Wege des Ionenaustausches.

4. Werden die Erythrozyten mit einer Reihe der Farbstoffe in Berührung gebracht, so vermindern die Erythrozyten ihre Ladung infolge der Adsorption und es kommt endlich zur Agglutination. Dagegen wird die Erythrozyten-Agglutination mit anderer Reihe von Farbstoffen gehemmt.

Auf Grund dieser zwei Tatsachen können die Farbstoffe in prinzipiell voneinander verschiedene zwei Gruppen eingeteilt werden.

5. Die obigen zwei Erscheinungen bestehen auf einer Entladung und Umladung der Erythrozyten.

6. Es ist interessant, dass sowohl die Erythrozyten-Agglutination von der Ladung der Farbstoffe im Wasser als auch die von den chemischen Eigenschaften unabhängig ist; demnach ist die Ladung des Farbstoffes im Wasser für die Erklärung der Färbungsmechanismus von keiner Bedeutung.

7. Selbstverständlich ist es nicht geeignet, aus der Lebendfärbung mit einzelnen oder mit nur wenigen Farbstoffen Schlüsse auf das elektrische Verhalten der Zellen zu ziehen.

Zum Schlusse spreche der "Nippon Gakuzyutu-Sinkokwai"-Stiftung für ihre liebenswürdige finanzielle Unterstützung zur Durchführung vorliegender Untersuchungen meinen herzlichsten Dank aus.

Literaturverzeichnis.

- 1) Buzàgh, A. V.: Kolloidik. Dresden u. Leipzig. 1936.
- 2) Epstein, E.: Kolloidzeitschr. 81. 1937.
- 3) Keller, R.: Die Elektrizität in d. Zelle. 3. Aufl. Mährisch-Ostau.
- 4) Kiesel, A.: Chemie des Protoplasmas. Berlin. 1930.
- 5) Lange, C.: Berl. Klin. Wschr. Nr. 19. 1912.
- 6) Lepeschkin, W. W.: Kolloidch. d. Protoplasmas. 2. Aufl. Dresden u. Leipzig. 1933.
- 7) Möllendorff, W. v.: Handbuch d. Biochemie von C. Oppenheimer. 2. 1924.
- 8) Pauli, Wo. u. Valkó, E.: Kolloidch. d. Eiweisskörper. 2. Aufl. Dresden u. Leipzig. 1933.
- 9) Schultz, G.: Farbstoff-Tabellen. 1. 11. 7. Aufl. Leipzig. 1931.
- 10) Seki, M.: Zeitschr. f. Zellforsch. u. Mikroskop. Anat. 17. 1933.
- 11) Yasuzumi, G.: Folia Anat. Jap. 11. 1933.
- 12) Yasuzumi, G., Kasamatsu, I. u. Tajima, A.: Folia Anat. Jap. 12. 1934.
- 13) Zsigmondy, R. u. Thiessen, P. A.: Das kolloide Gold. Leipzig. 1925.