

CHEMISCH WEEKBLAD

ORGAAN VAN DE NEDERLANDSCHE CHEMISCHE VEREENIGING EN VAN
DE VEREENIGING VAN DE NEDERLANDSCHE CHEMISCHE INDUSTRIE

Hoofdredacteur: Dr. W. P. JORISSEN, Leiden, Zoeterwoudsche Singel 18,
(part. adres: Hooze Rijnclijk 15, telefoon 1449, postrekening 3569).

Redactie-Commissie: Dr. G. de Bruin, Prof. Dr. H. G. Bungenberg de Jong, Dr. R. T. A. Mees,
Dr. J. W. Terwen en Ir. F. G. Waller.

N.V. D. B. CENTEN's Uitgevers-Maatschappij, Amsterdam C., O.Z. Voorburgwal 115, telefoon 48695,
postrekening 39514.

INHOUD: Mededeelingen van het Algemeen Bestuur der Nederlandsche Chemische Vereeniging. — Aanbieden betrekkingen. — Gevraagde betrekkingen. — Prof. Dr. O. Warburg, Sauerstoffübertragende Fermente in atmenden Zellen. — Dr. Ir. F. J. Nellensteyn, Onderzoekingen over asfalt, gevonden bij de opgravingen te Mohenjo-Daro (Indus-vallei). — Dr. P. A. Rowaan, Quantitatieve bepaling van arsenicum in zwavel. — Personalialia, enz. — Ter bespreking ontvangen boeken. — Correspondentie, enz. — Vraag en aanbod. — Analyst-examen 2de gedeelte, diploma B.

MEDEDEELINGEN VAN HET ALGEMEEN BESTUUR DER NEDERLANDSCHE CHEMISCHE VEREENIGING.

De Secretaris-Penningmeester zal van 8 tot 29 September a.s. afwezig zijn. In verband hiermede wordt den leden verzocht, gedurende dezen tijd niet aan den Secretaris te schrijven, of wel er rekening mede te houden, dat brieven in het algemeen eerst begin October beantwoord zullen worden. In spoedeischnende gevallen kan men zich wenden tot den Voorzitter Dr. Jan Smit, Haringvlietstraat 57, Amsterdam-Z.

Adresveranderingen, aangiften van nieuwe leden e.d. kunnen op de gewone wijze aan het Secretariaat, Burg. de Raadsingel 23f te Dordrecht worden toegezonden, waarna zij — zooals steeds — in het eerstvolgende nummer van het Chemisch Weekblad zullen worden opgenomen.

Nieuw lid.

Het in het Chemisch Weekblad van 14 Juli 1934 genoemde candidaat-lid is thans aangenomen als gewoon lid.

Veranderingen aan te brengen in de ledenlijst.

- Blz. 25: Baart (Mej. Dra A. M.), Utrecht, Biltstraat 107, p. a. Dr. A. W. Ausems.
 „ 29: Bosch (Mej. W. H. ten), De Bilt, Hessenweg 192, apotheker.
 „ 42: Haan (Drs. E. F. de), Dordrecht, Bagijnhof 1rd, leeraar H. B. S. en gymn.
 „ 44: Henrar (Dr. J. M. G.), Geldermalsen, Achterstraat B-207, chef lab. N. V. Ver. Nederl. Chamotte-fabrieken.
 „ : Herreilers (Drs. H. W.), Amsterdam-Z., Wouwermanstraat 40 huis.
 „ : Heymans (Ir. J. W.), Edegem (bij Antwerpen), 50 Bruynegheirweg.
 „ 57: Loon (Drs. M. van), Amsterdam-Z., Lassusstraat 5 boven.
 „ 68: Romeyn (W.), chem. cand., Leiden, Vliet 35.
 „ 70: Scherpenberg (Ir. Dr. A. L. van), Delft, Mijnbouwplein 1.
 „ 76: Teulings (Drs. H. A. J. M.), 's-Hertogenbosch, W. van Oranjelaan 39.
 „ 82: Weg (Mej. Ir. C. A. van de), Delft, Binnenwatersloot 36.
 „ 83: Weyss (D. A. A.), chem. cand., den Haag, van Blankenburgstraat 15.
 „ 84: Woude (Mej. Dra L. v. d.), Amersfoort, St. Radboudstr. 9.

Adresveranderingen, enz. van (candidaat-)leden, wier namen nog niet in de ledenlijst zijn opgenomen.

Blz. 45: Hoekstra (Ir. T.), Heiloo.

Dr. G. J. VAN MEURS, *Secretaris-penningm.*,
Burgem. de Raadsingel 23f, Dordrecht,
giro 7680, telef. (huis) 3867, (lab.) 5231.

Het Register over de deelen 39 (1920)—50 (1931) van het Recueil des travaux chimiques des Pays-Bas (deel II van de „Tables générales des tomes 1—50”) is ter perse en zal binnen enkele maanden verschijnen.

De prijs bedraagt bij inteekening f 5.— voor een ingenaaid, f 6.50 voor een gebonden exemplaar. Na de verschijning worden deze prijzen verhoogd tot resp. f 6.50 en f 8.—.

Van deel I der „Tables générales”, loopende over de deelen 1 (1882)—38 (1919) is nog een klein aantal exemplaren beschikbaar. De prijs van dit deel bedraagt f 10.— voor een ingenaaid, f 12.50 voor een gebonden exemplaar.

Zij, die inteekeken op deel II en met dit deel tegelijk deel I wenschen te ontvangen, betalen voor beide deelen tezamen slechts f 12.50 (ingenaaid) of f 15.75 (gebonden).

Bestellingen uitsluitend te adresseeren aan den Secretaris van de Nederlandsche Chemische Vereeniging Dr. G. J. van Meurs te Dordrecht.

Aan hen, die deel II reeds vroeger bestelden, wordt verzocht, hun bestelling aan bovenstaand adres te herhalen onder duidelijke vermelding, of men een ingenaaid dan wel een gebonden exemplaar wenscht te ontvangen en of men al dan niet prijs stelt op gelijktijdige toezending van deel I.

Aangeboden betrekkingen.

Chemische verstoffenvabriek vraagt voor het laboratorium een leidende kracht, goed op de hoogte van het onderzoek van droge verstoffen en het maken van tegenmonsters. Zie verder de advertentie in No. 36.

* * *

Gevraagd door chemische fabriek een academisch gevormde chemicus als assistent op het laboratorium. Zie verder de advertentie in No. 36.

* * *

* Men zoekt voor tijdelijk (een paar maanden) een chemicus met academische opleiding voor een onderzoek op het gebied van niet-metaalaantastende zuren. Brieven met ingesloten porto voor doorzending te richten tot de Redactie, Zoeterwoudsche Singel 18, Leiden.

* * *

Men zoekt voor de fabricatie van koudlijm uit caseïne de hulp van een op dit gebied ervaren chemicus. Brieven met ingesloten porto voor doorzending te richten tot de Redactie, Zoeterwoudsche Singel 18, Leiden.

* * *

De N.V. Nederlandsche Research-Centrale, Laan Copes van Cattenburgh 71, den Haag, zoekt een ervaren chemicus, vluggen werker, hoofdzakelijk voor organisch laboratoriumwerk. Zie verder de advertentie in No. 35.

Gevraagde betrekkingen *) (plaatsing gratis voor leden).

Nieuwe opgaaf.

No. 243. Chem. drs. met goede talenkennis, bekend met geneesmiddelfabricage en bacteriologie, zoekt betrekking.

No. 244. Scheikundig ingenieur, in bezit van laboratorium, verricht analyses, ook elementairanalyses; tevens research-werk en literatuur-researches.

*) Brieven te richten tot de Redactie, Leiden, Zoeterwoudsche Singel 18 (met ingesloten porto voor doorzending).

577.158 : 576.341
SAUERSTOFFÜBERTRAGENDE FERMENTE
IN ATMENDEN ZELLEN *)

von
OTTO WARBURG.

Da die sauerstoffübertragenden Fermente Pigmente sind, die charakteristische Absorptionsbanden haben, so kann man den Vorgang der Sauerstoffübertragung in lebenden Zellen mit optischen Methoden untersuchen. Im wesentlichen diesem Umstand verdankt man die Fortschritte auf einem Gebiet, das fermentchemisch und physiologisch in gleichem Masse interessant ist.

Sauerstoffübertragung in aeroben Zellen. In der Atmung der aeroben Zellen wird der Sauerstoff durch eine Kette von 4 hintereinandergeschalteten Eisenverbindungen übertragen:

$O_2 \rightarrow \text{Ferro} \rightarrow \text{Ferri} \rightarrow \text{Ferro} \rightarrow \text{Ferri}$
 $\rightarrow \text{Ferro} \rightarrow \text{Ferri} \rightarrow \text{Ferro} \rightarrow \text{Ferri} \dots$ Substrat. Alle 4 Eisenverbindungen sind Haeminverbindungen. Die erste Eisenverbindung ist das sauerstoffübertragende Ferment, die drei folgenden Eisenverbindungen sind die drei Komponenten des Keilin'schen Cytochroms.

Nur das erste Glied der Kette reagiert mit dem molekularen Sauerstoff, nur die erste Eisenverbindung ist autoxydabel. Wahrscheinlich über ein Sauerstoffadditionsprodukt von der Art des Oxyhaemoglobins wird die Ferroform der ersten Eisenverbindung zur Ferriform oxydiert. Der Übergang $\text{Ferro} \rightarrow \text{Ferri}$ wiederholt sich dann noch 3 mal, bis die Ferriform der letzten Eisenverbindung auf noch unbekannte Weise von dem Substrat reduziert wird.

Wie nur die erste Eisenverbindung autoxydabel ist, so reagiert in lebenden Zellen auch nur die erste Eisenverbindung mit den spezifischen Hemmungsgiften der Atmung, dem Kohlenoxyd und der Blausäure. Indem Kohlenoxyd die Ferroform, Blausäure die Ferriform der ersten Eisenverbindung blockiert, wird die erste Eisenverbindung katalytisch inaktiviert und damit der Umsatz in der ganzen Kette zum Stillstand gebracht.

In allen Zellen, die in Berührung mit Sauerstoff leben und wachsen, ist der Weg über die vier Eisenverbindungen der Hauptweg der Oxydation, nicht nur in obligat aeroben, sondern auch in fakultativ aeroben Zellen, wie Hefe. Ein gegen den gesamten Sauerstoffverbrauch zu vernachlässigender Bruchteil des Sauerstoffs reagiert auf einem Nebenweg, über einen vor kurzem entdeckten rein organischen Farbstoff. Beide Arten von Sauerstoffübertragung sollen hier besprochen werden, zuerst die Sauerstoffübertragung durch die vier Eisenverbindungen, dann die Sauerstoffübertragung durch den reversiblen Farbstoff.

Sauerstoffübertragendes Ferment. Die Eisenverbindung 1, das sauerstoffübertragende Ferment, ist entdeckt und seine Eigenschaften sind bestimmt worden durch die photochemische Spaltung seiner Kohlenoxydverbindung.

Die photochemische Spaltung einer Haeminkohlen-

oxydverbindung kann man demonstrieren. Während Kohlenoxydhaemoglobin nur wenig lichtempfindlich ist, ist die Kohlenoxydverbindung des Ferro-Pyridinhaemins, wie H. A. Krebs gefunden hat, so lichtempfindlich, dass sie, wenn man ihre Lösung mit einer Metallfadenlampe bestrahlt, fast vollständig gespalten wird.

Zur Demonstration gibt man in einen Trog eine Lösung von Bluthaemin in wässrigem Pyridin, reduziert mit Hydrosulfit zur Ferrostufe und leitet Kohlenoxyd ein. Ist die Lampe des Projektionsapparates nicht zu stark, so sieht man auf dem Schirm das Spektrum der ungespaltenen Kohlenoxydverbindung, das etwas verwaschen ist und dessen langwelligste Bande bei 572 mμ liegt. Belichtet man den Trog von der Seite mit intensivem Licht, so wird das Kohlenoxyd von dem Eisen abgespalten und es erscheint auf dem Schirm das Spektrum der freien Haeminverbindung, das schärfer ist und dessen langwelligste Bande bei 557 mμ liegt.

Der Versuch veranschaulicht, worauf die photochemische Bestimmung des Fermentspektrums beruht. Anders als bei dem Modellversuch war bei den Versuchen mit Zellen das Mass der Lichtwirkung nicht die Verschiebung des Spektrums — da man ja die Fermentbanden nicht sah — sondern das Mass der Lichtwirkung war die Zunahme der Atmung, die man findet, wenn man kohlenoxydgehemmte Zellen belichtet. Indem man mit Licht verschiedener Wellenlänge von gemessener Intensität bestrahlt erhält man das Wirkungsspektrum des Ferments, das gleich dem Absorptionsspektrum des Ferments ist, da für die photochemische Spaltung der Haemin-Kohlenoxydverbindungen das Einstein'sche Gesetz gilt. Dieses Spektrum, das mit Erwin Negelein bestimmt wurde, ist das Spektrum einer Haeminverbindung, jedoch nicht des gewöhnlichen Bluthaemins, weil die Fermentbanden zu langwellig sind. Nach seinen Banden gehört das Fermenthaemin der Hefe, der Essigbakterien und tierischer Zellen in die Klasse des Spirographishaemins, das sich von dem gewöhnlichen Bluthaemin wesentlich dadurch unterscheidet, dass es ausser den 4 Carboxylsauerstoffen des Bluthaemins ein fünftes Sauerstoffatom enthält, das ein Ketonsauerstoffatom ist. Projiziert man die Spektren des gewöhnlichen Ferro-Bluthaemins und des Ferro-Spirographishaemins übereinander, so ist die Verschiebung gut zu sehen. Die langwelligste Bande des Ferro-Bluthaemins liegt im grün, die langwelligste Bande des Ferro-Spirographishaemins liegt im gelb.

Dass diejenige Eisenverbindung, deren Spektrum man mit der photochemischen Methode bestimmt, in der Kette der Eisenverbindungen an die erste Stelle gehört, folgt aus der Wirkung des Sauerstoffs auf die Kohlenoxydhemmung der Atmung. Je höher der Sauerstoffdruck ist, um so kleiner ist, bei konstant gehaltenem Kohlenoxyddruck, die Hemmung der Atmung durch Kohlenoxyd. Von der Eisenverbindung, die mit Kohlenoxyd reagiert, kann man also das Kohlenoxyd durch Sauerstoff verdrängen, das heisst: der Sauerstoff, der in der Atmung reagiert, und das Kohlenoxyd, das die Atmung hemmt, greifen an derselben Eisenverbindung an.

Direkter spektroskopischer Nachweis des sauerstoffübertragenden Ferments. Wenn auch gegen die Methode, nach der wir die Eigenschaften des sauerstoffübertragenden Ferments bestimmt haben, nichts

*) Voordracht, gehouden voor de Nederlandsche Vereeniging voor Biochemie, op 12 Mei 1934.

eingewendet werden kann, so haben wir uns doch gefreut, als wir fanden, dass man das sauerstoffübertragende Ferment — mit seinen vorher bestimmten Eigenschaften — in atmenden Zellen mit dem Spektroskop sehen kann.

Nach den photochemischen Messungen von Kubowitz und Haas liegt die langwelligste Bande der Ferro-Kohlenoxydverbindung des Ferments der Essigbakterien um 592 m μ . Die Cytochrombanden der Essigbakterien, die schon lange bekannt sind, liegen im grün bei 550 bis 560 m μ . Untersucht man nun eine sauerstofffreie sehr konzentrierte Suspension von Essigbakterien — unter Anwendung starker Beleuchtungsrichtungen — mit dem Spektroskop, so sieht man neben den dunklen Cytochrombanden im grün eine schwache Bande im gelb. Diese Bande wird — im Gegensatz zu den Cytochrombanden — durch Kohlenoxyd verschoben und liegt in Kohlenoxyd bei 593 m μ , also fast genau da, wo sie nach den photochemischen Messungen von Kubowitz und Haas liegen muss.

Auch im übrigen verhält sich die Substanz, von der die Bande im gelb herrührt, wie das sauerstoffübertragende Ferment. Insbesondere hemmt Kohlenoxyd die Oxydation und Blausäure die Reduktion der Substanz, wie es nach den Hemmungsmessungen der Atmung sein muss.

Auch in Bäckerhefe — in der die langwelligste Fermentbande nach den photochemischen Messungen von Kubowitz und Haas gleichfalls in gelb liegt — haben wir mit dem Spektroskop eine Bande im gelb gefunden. Sie ist nicht zu verwechseln mit einer von Fink in sauerstofffreier Bierhefe beobachteten schwachen Beschattung im gelb, deren Deutung noch unsicher ist. Die neuentdeckte Bande im gelb in Bäckerhefe tritt nur auf, wenn die Zellen mit Sauerstoff gesättigt sind und ist wohl deshalb bisher übersehen worden. Sättigt man Hefezellen mit Sauerstoff, so erscheint die Bande im gelb, während die drei Keilin'schen Cytochrombanden verschwinden. Wartet man dann, bis der Sauerstoff der Zellsuspension verbraucht ist, so verschwindet die Bande im gelb in dem Augenblick, in dem die Cytochrombanden erscheinen.

Die Substanz, von der die Bande im gelb der Bäckerhefe herrührt, halten wir für das Sauerstoffadditionsprodukt der Ferroverbindung des sauerstoffübertragenden Ferments, also für eine Verbindung vom Typus des Oxyhaemoglobins. Die Bande kann von keiner freien Ferroverbindung herrühren, da sie nur in Sauerstoff auftritt. Sie kann von keiner Ferri-Verbindung herrühren, da eine solche im rot liegen müsste. Wir ordnen die Bande dem Ferment zu, nicht nur wegen ihrer Lage im gelb, sondern auch, weil sie sich gegen die spezifischen Hemmungsmittel der Atmung wie eine Bande des Ferments verhält. Während, wie schon gesagt, die Bande im gelb verschwindet, wenn der Sauerstoff der Lösungen verbraucht ist und die Cytochrombanden erscheinen, so bleibt bei Gegenwart von Blausäure die Bande im gelb auch anaerob bestehen. Dann sieht man also die Bande im gelb neben den Cytochrombanden.

Aus dem unterschiedlichen Verhalten von Essigbakterien und von Hefe ist zu schliessen, dass das Primärprodukt der Sauerstoffatmung, das Anlagerungsprodukt von Sauerstoff an das Ferroatom des Ferments, in verschiedenen Zellen verschieden stabil ist. In Hefe ist es relativ beständig, in Essigbakterien

reagiert es schnell weiter unter Bildung von Ferri-eisen.

Ein drittes Objekt, in dem man das sauerstoffübertragende Ferment mit dem Spektroskop sehen kann, ist nach Versuchen von Negelein und Gerischer Azotobakter. Hier sind die Erscheinungen besonders schön und einfach, entsprechen sie doch vollkommen den Reagenzglasversuchen mit Haemin. Man sieht die Ferroform des Ferments unter anaeroben Bedingungen und die Ferriform des Ferments unter aeroben Bedingungen. Man sieht, wie die Ferroform des Ferments mit Kohlenoxyd reagiert und wie die Ferriform des Ferments mit Blausäure reagiert.

Interessant ist die Lage der Fermentbanden des Azotobakter. Während die langwelligste Ferro-Fermentbande im allgemeinen im gelb liegt, liegt sie in Azotobakter im rot, ist also für Spirographishaemin zu langwellig. Ferro-Banden im rot sind bisher nur gefunden worden bei den Chlorophyllhaemin, die entstehen, wenn man das Magnesium des Chlorophylls durch Eisen ersetzt, am besten nach Abspaltung des Phytols.

Banden, die im rot liegen, sind in gewissen Bakterien zuerst von dem Japaner Tamiya gesehen worden, der sie für Methaemoglobinbanden gehalten hat. Auch Keilin hat sich vor kurzem mit diesen Banden beschäftigt, aber ihre Reaktion mit Kohlenoxyd und Blausäure nicht gesehen.

Cytochrom. Nach der Eisenverbindung 1 betrachten wir die Eisenverbindungen 2 bis 4 unseres Schemas, die drei Komponenten des Keilin'schen Cytochroms. Ihre Reihenfolge in dem Schema ist willkürlich. Wie die Eisenverbindung 1, so sind auch die Eisenverbindungen 2 bis 4 Haeminverbindungen, deren Eisenatom beim Wechsel zwischen aeroben und anaeroben Bedingungen zwischen Ferri und Ferroform wechselt. Die Konzentration des Cytochroms in Zellen ist viel grösser, als die Konzentration des sauerstoffübertragenden Ferments, sodass man bei der spektroskopischen Untersuchung das Cytochrom im allgemeinen bei Schichtdicken sieht, bei denen von dem sauerstoffübertragenden Ferment noch nichts zu bemerken ist. Deshalb ist das Cytochrom früher als das sauerstoffübertragende Ferment mit dem Spektroskop gesehen worden.

Cytochrom reagiert in der lebenden Zelle weder mit Kohlenoxyd noch mit Blausäure, wovon man sich durch spektroskopische Beobachtung seiner Banden überzeugen kann. Noch merkwürdiger ist die Indifferenz des Cytochroms gegen molekularen Sauerstoff. Ferrocytochrom lagert weder Sauerstoff an, wie Haemoglobin, noch wird es von molekularem Sauerstoff zur Ferriverbindung oxydiert. Durch seine Indifferenz gegen Sauerstoff, Kohlenoxyd und Blausäure unterscheidet sich Cytochrom nicht nur von dem sauerstoffübertragenden Ferment, sondern von fast allen Haeminverbindungen, die bekannt sind.

Um Ferrocycytochrom zu Ferricytochrom zu oxydieren, braucht man, wie Keilin 1925 gefunden hat, Oxydationsmittel, die stärker sind als molekularer Sauerstoff, zum Beispiel Wasserstoffperoxyd oder Ferricyankalium. Ein Oxydationsmittel, das stärker ist, als molekularer Sauerstoff, ist nun auch das Ferri-eisen des sauerstoffübertragenden Ferments. Blockiert man das sauerstoffübertragende Ferment durch Kohlenoxyd oder Blausäure, so kann das Cytochrom in le-

benden Zellen nicht mehr oxydiert werden. Man sieht dann auch in Sauerstoff die Ferrobanden des Cytochroms. Gibt man das sauerstoffübertragende Ferment wieder frei, indem man die blockierenden Substanzen aus den Zellsuspensionen austreibt, so sieht man, wie die Ferrobanden des Cytochroms verschwinden, das heisst: in atmenden Zellen wird das Cytochrom durch das sauerstoffübertragende Ferment oxydiert. Dieses bemerkenswerte Ergebnis ist eine Synthese der Arbeiten Keilins über das Cytochrom und unserer Arbeiten über das sauerstoffübertragende Ferment.

Wenn nun in atmenden Zellen Cytochrom von dem Substrat reduziert und von dem sauerstoffübertragenden Ferment reoxydiert wird, so ist damit jedenfalls ein Weg gefunden, auf dem das sauerstoffübertragende Ferment mit dem Substrat reagiert: nämlich über das Cytochrom. Wir haben untersucht, ob dies ein Nebenweg oder der Hauptweg der Atmung ist.

Ist A der gesamte in der Atmung pro Minute verbrauchte Sauerstoff, so muss, wenn der Weg über das Cytochrom der Hauptweg der Atmung ist, in atmenden Zellen die Gleichung gelten:

$$A = k \cdot c \cdot \frac{1}{4}$$

wo c die Konzentration einer Cytochromkomponente ist, k die Geschwindigkeitskonstante ihrer Reduktion und der Faktor $\frac{1}{4}$ daher rührt, dass der Übergang Ferri-Ferro dem Verbrauch von $\frac{1}{4}$ Molekül Sauerstoff äquivalent ist. In unserem Ansatz sind Sauerstoffverbrauch und Cytochrom-Umsatz gleichgesetzt; zwei Grössen, die unabhängig von einander bestimmt werden können.

A, der gesamte pro Minute verbrauchte Sauerstoff, wurde für eine Hefesuspension in der üblichen Weise manometrisch bestimmt. Für die gleiche Hefesuspension wurden c und k von Erwin Haas folgendermassen bestimmt:

Ein Trog, der mit einer dichten Suspension von Hefezellen gefüllt ist, wird mit Licht der Wellenlänge 550 m μ bestrahlt, das ist ein Spektralbezirk, der in der Ferrobande einer Cytochromkomponente liegt. Auf der Hinterseite des Trogs befindet sich eine lichtelektrische Zelle, deren Photostrom über ein Verstärkersystem an einem Galvanometer abgelesen wird. Sättigt man die Zellsuspension abwechselnd mit Sauerstoff und mit Stickstoff, so tritt die Ferrobande 550 m μ abwechselnd auf und verschwindet wieder. Die Zellsuspension wird also für die Wellenlänge 550 m μ abwechselnd durchlässiger und undurchlässiger und aus der Differenz der Lichtausschläge hinter dem Trog kann man, da der Absorptionskoeffizient des Cytochroms aus Versuchen mit Lösungen bekannt ist, die Konzentration der Cytochroms in den Zellen berechnen. Es ergibt sich, dass 1 mg Bäckerhefe etwa 1/1000 mm³ Cytochromeisen enthält, wobei wir zur Vereinfachung das Eisen in mm³ ausdrücken und 1 mg Atom Eisen gleich 22400 mm³ setzen. Bedenkt man, dass bei 20° 1 mg Bäckerhefe pro Minute rund 1 mm³ Sauerstoff veratmet, so erkennt man, dass das Cytochromeisen pro Minute etwa 4000 mal reagieren muss, wenn der Weg der Atmung über das Cytochrom geht. Die Bestimmung von k, des pro Minute reagierenden Bruchteils des Cytochroms, machte deshalb Schwierigkeiten.

Man hat k, wenn es gelingt, zu zwei verschiedenen Zeiten t_0 und t die Konzentration des Ferricytochroms c_0 und c zu bestimmen.

$$k = \frac{1}{t - t_0} \ln \frac{c_0}{c}$$

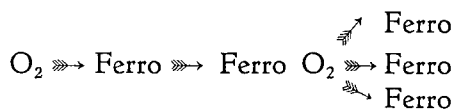
wobei aber die Reoxydation des Cytochroms durch das sauerstoffübertragende Ferment ausgeschlossen werden muss. Wegen der in betracht kommenden kurzen Zeiten war es nicht möglich, dies durch Entfernen des Sauerstoffs, etwa durch Stickstoffdurchleitung zu bewirken. Hinreichend schnell jedoch konnte die Reoxydation des Cytochroms ausgeschaltet werden durch Blausäure. Gibt man zu einer stark mit Sauerstoff durchströmten Zellsuspension einen Tropfen Blausäure, so ist im Laufe von etwa einer Sekunde das sauerstoffübertragende Ferment blockiert und die Cytochrombanden beginnen zu erscheinen. Lichtelektrisch wird dann der Schwärzungsgrad des Cytochroms zu verschiedenen Zeiten t_0 und t gemessen, wobei man, um die Schwärzungszeit zu verlängern, bei 0° und mit kleinen Konzentrationen an Substrat arbeitet. Aus den Schwärzungsgraden zu den Zeiten t_0 und t ergibt sich die Konzentration des Ferri-Cytochroms zu den Zeiten t_0 und t und damit die Geschwindigkeitskonstante k der Cytochromreduktion. Die gefundenen Werte waren: A = 0.32 mm³ O₂ pro Minute, pro cm³ Hefezellen, bei 0°; c = 0.32 mm³ Cytochromeisen, pro cm³ Hefezellen; $k = 4 \left(\frac{1}{\text{min.}} \right)$ bei 0°.

Setzen wir diese Werte in unsere Gleichung ein, so erhalten wir

$$A = k \cdot c \cdot \frac{1}{4} \\ 0.32 = 4 \cdot 0.32 \cdot \frac{1}{4} = 0.32$$

das heisst: der manometrisch gemessene Sauerstoffverbrauch und der optisch gemessene Cytochrom-Umsatz stimmen überein. Die gesamte Atmung geht also über das Cytochrom. Unser Schema der Atmung aerober Zellen ist damit bewiesen.

Ein davon abweichendes Schema wäre



wo also die drei Cytochromkomponenten nicht hintereinander, sondern nebeneinander geschaltet wären. An dieses Schema war zu denken wegen der Zahl 4, die hier 2 mal vorkommt. Einerseits ist 1 Molekül Sauerstoff nötig, um 4 Ferroatome zu Ferriatomen zu oxydieren, andererseits ist die Zeihl der Eisenverbindungen in atmenden Zellen im allgemeinen 4, nämlich sauerstoffübertragendes Ferment + 3 Cytochromkomponenten. Dann wäre jedoch der Faktor $\frac{1}{4}$ aus unserer Gleichung zu streichen, was nach dem Ergebnis der Messungen nicht erlaubt ist.

Am Schluss dessen, was ich über die Sauerstoffübertragung in aeroben Zellen zu sagen habe, möchte ich die Frage berühren, warum sich die Natur bei der Übertragung des Sauerstoffs nicht mit einer Eisenverbindungen begnügt, sondern mehrere Eisenverbindungen hintereinander schaltet.

Die Atmung der lebendigen Substanz ist in weiten Grenzen unabhängig sowohl von der Konzentration des Sauerstoffs als auch von der Konzentration des Substrats. Die Unabhängigkeit von der Sauerstoffseite her wird bewirkt, indem die Oxydation

der Eisenverbindung 1 schnell verläuft gegen ihre Reduktion, sodass also in atmenden Zellen fast das gesamte Eisen der Eisenverbindung 1 in der Ferri-form vorliegt. Würde nun das Ferrieisen 1 direkt mit dem Substrat reagieren, so wäre die Atmung zwar unabhängig von der Konzentration des Sauerstoffs, aber nicht unabhängig von der Konzentration des Substrats. Ist dagegen zwischen Eisenverbindung 1 und Substrat eine zweite Eisenverbindung eingeschaltet, so wird es möglich, die Atmung auch von der Substratseite her zu regulieren. Denn dann ist die Höchtgeschwindigkeit der Atmung, die nie überschritten werden kann, erreicht, wenn das gesamte Eisen 1 in der Ferri-form und das gesamte Eisen 2 in der Ferro-form vorliegt.

In der Tat sieht man, dass in atmenden Zellen bei grossen Konzentrationen an Substrat diese Steuerung der Atmung einsetzt. Nicht nur anaerob sondern auch in Sauerstoff sieht man in solchen Zellen die Ferrobanden des Cytochroms.

Ich glaube nicht, dass damit unsere Frage erschöpfend, beantwortet ist, vielmehr liegt es nahe anzunehmen, dass die Aufteilung der Energie der Atmung in kleinere Teile günstig ist für das, was die Natur mit der Atmung bezweckt: die Verwandlung chemischer Energie in Arbeit.

Gelbes Ferment. Dass es in Zellen Sauerstoffüberträger gibt, die keine Haeminverbindungen sind, wurde zuerst durch Erscheinungen wahrscheinlich, die man in Extrakten von Zellen beobachtete. So hat Hefepresssaft eine, wenn auch in Vergleich zur Atmung der intakten Zellen kleine Atmung, die nicht durch Kohlenoxyd und Blausäure gehemmt wird. Dies, wie hervorgehoben sei, *obwohl* die Atmung der intakten Hefezelle eine Haeminatmung ist und praktisch vollständig durch Kohlenoxyd und Blausäure gehemmt wird.

Am reinsten findet man Atmung ohne Haemin und, wie ich gleich hinzufügen will, Atmung ohne Eisen, in gewissen anaerob gezüchteten Bakterien, zum Beispiel in anaerob gezüchteten Milchsäurebakterien. Was diese Atmung physiologisch bedeutet, wollen wir zunächst ausser acht lassen. Chemisch ist sie vergleichbar der Atmung der aeroben Zellen, verbrennt doch in ihr Glukose vollständig unter Entwicklung der berechneten Menge Kohlensäure.

Dass die Atmung der anaeroben Milchsäurebakterien durch Blausäure nicht gehemmt wird, fanden O. Meyerhof und Finkle; dass sie auch durch Kohlenoxyd nicht gehemmt wird, fanden A. Bertho und W. Glück. Bertho und Glück fanden ferner, dass hier, anders als in der Atmung der aeroben Zellen, pro Mol verschwundenen Sauerstoff ein Mol Wasserstoffperoxyd entsteht. Dass die Bakterien kein Haemin enthalten, kann man zeigen, wenn man dichte Suspensionen im durchfallenden Licht betrachtet. Das durchfallende Licht ist fast weiss, während Licht, das eine gleich dichte Hefesuspension durchsetzt hat, rot ist.

Bei der näheren Untersuchung derartiger nicht durch Eisen bewirkten Sauerstoffübertragungen wurde mit Walter Christian ein Ferment entdeckt, dessen Lösungen gelb sind. Bei der spektroskopischen Untersuchung sieht man 2 Absorptionsbanden, eine im blau bei $465\text{ m}\mu$ und eine im blaugrün bei $495\text{ m}\mu$.

Das gelbe Ferment besteht aus einem kolloiden Träger und der damit verbundenen Wirkungsgruppe,

einem gelben Farbstoff. Überträgt das Ferment Sauerstoff, so wird der gelbe Farbstoff unter Anlagerung von 2 Atomen Wasserstoff zum Leukofarbstoff reduziert, durch molekularen Sauerstoff zum Farbstoff reoxydiert, wobei pro Molekül verschwundenen Sauerstoffs 1 Molekül Wasserstoffperoxyd erscheint.

Hugo Theorell, der zurzeit in Dahlem arbeitet, hat vor kurzem festgestellt, dass der kolloide Träger des Ferments ein Eiweisskörper ist, der etwa 16 % Stickstoff enthält. Unter der Voraussetzung dass ein Molekül Ferment ein Molekül gelben Farbstoff enthält, berechnete Theorell das Molekulargewicht des Ferments zu etwa 80000.

Behandelt man das Ferment mit warmem wässrigem Methanol, so wird die Wirkungsgruppe von dem Eiweisskörper abgespalten und geht mit grüner Fluoreszenz in Lösung. Im Vergleich zu dem Ferment hat die freie Wirkungsgruppe keinen katalytischen Wert.

Den extrahierten Farbstoff, der aus Wasser in kein organisches Lösungsmittel geht, kann man, ohne dass sich sein Spektrum im sichtbaren ändert, in ein chloroformlösliches Derivat umwandeln, indem man seine alkalische Lösung mit einer Metallfadenlampe belichtet. Nach der Belichtung säuert man an, extrahiert mit Chloroform und erhält so das „Photoderivat“, das leicht aus Chloroform oder aus Wasser kristallisiert.

Das Photoderivat hat die Zusammensetzung $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_2$. Erwärmt man das Photoderivat mit verdünntem Alkali, so wird ein Molekül Harnstoff abgespalten, daneben entsteht eine neue gut kristallisierende Substanz, die in einem Ring 2 Atome Stickstoff enthält.

R. Kuhn und Th. Wagner-Jauregg, die sich nach der Entdeckung des gelben Farbstoffs an seiner Untersuchung beteiligten, haben ihn aus Milch isoliert und nicht nur das Photoderivat, sondern auch den unbelichteten natürlichen Farbstoff kristallinisch erhalten. Nach ihnen ist die Zusammensetzung des natürlichen Farbstoffes $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_6$; es würde also bei der Lichtreaktion ein Rest $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_4$ abgespalten. Kuhn und Wagner-Jauregg haben ferner die interessante Tatsache gefunden, dass der gelbe Farbstoff — also die Wirkungsgruppe eines Ferments — ein Vitamin ist und zwar Vitamin B_2 .

Kuhn und Wagner-Jauregg, sowie Ellinger und Koschara sind der Ansicht, dass in der Natur nicht nur ein gelber Farbstoff, sondern viele gelbe Farbstoffe vorkommen, deren Spektrum das Spektrum der Wirkungsgruppe des gelben Ferments ist. Kuhn nennt diese Farbstoffe Flavine, Ellinger nennt sie Lyochrome. Doch scheint es, dass die Flavine und Lyochrome allmählich zusammenschrumpfen auf die Wirkungsgruppe des gelben Ferments, deren Photoderivat schon beschrieben war, als die Flavine und Lyochrome entdeckt wurden¹⁾.

Wirkungen des gelben Ferments. Das gelbe Ferment wirkt als Sauerstoffüberträger in den verschiedensten aus Zellen gewonnenen Flüssigkeiten, wobei der Farbstoff etwa 100 mal pro Minute reduziert und reoxydiert wird, 1 Mol Farbstoff also pro

¹⁾ Die Darstellung des kristallinen Photoderivates ist beschrieben in Heft 51 der Naturwissenschaften vom Jahre 1932. Die ersten vorläufigen Mitteilungen über die Entdeckung der „Lyochrome“ und „Flavine“ sandten Ellinger und Koschara, sowie Kuhn und Wagner-Jauregg am 14. Januar 1933 an die Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft.

Minute etwa 100 Mole Sauerstoff überträgt. Die vorhin erwähnte Atmung des Hefepresssafts ist im wesentlichen nichts anderes, als eine Sauerstoffübertragung durch das gelbe Ferment.

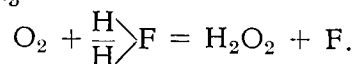
Indessen möchte ich auf die Wirkungen des Ferments im Zellextrakt — weil Versuche mit Zellextrakten doch immer physiologisch unbefriedigend sind — nicht eingehen sondern nur die Wirkungen des Ferments in atmenden lebenden Zellen beschreiben.

Anaerob gezüchtete Milchsäurebakterien enthalten pro kg 60 bis 80 mg des gelben Farbstoffs (berechnet ohne kolloiden Träger). Man kann den Farbstoff in den Bakterien sehen, wenn man zwei Suspensionen, von denen die eine sauerstofffrei, die andere mit Sauerstoff gesättigt ist, im durchfallenden Licht betrachtet. Das Licht, das durch die sauerstofffreie Lösung gegangen ist, sieht fast weiss aus, das Licht, das durch die sauerstoffgesättigte Suspension gegangen ist, sieht gelblich aus. Bestimmt man das Spektrum des Farbstoffs in der sauerstoffgesättigten gelben Suspension, so findet man das Spektrum des gelben Ferments, das also in lebenden Milchsäurebakterien reduziert und durch Sauerstoff reoxydiert wird, mit anderen Worten Sauerstoff überträgt. Ob es den gesamten in der Atmung verschwindenden Sauerstoff überträgt oder nur einen Teil davon, ist eine Frage, die nur durch quantitative Versuche beantwortet werden kann.

Ist wieder A der gesamte in der Volumen- und Zeiteinheit veratmete Sauerstoff, c die Konzentration des gelben Farbstoffs und k die Geschwindigkeitskonstante der Farbstoffreduktion, so muss

$$A = k \cdot c$$

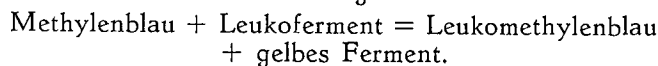
also die Atmung gleich dem Farbstoffumsatz sein, wenn die ganze Atmung der Bakterien über das gelbe Ferment geht. Wie man sieht, fehlt hier der Faktor $\frac{1}{4}$ mit dem wir, bei dem entsprechenden Versuch mit aeroben Zellen, den Farbstoffumsatz $k \cdot c$ multiplizieren mussten. Während 1 Mol Ferro-Cytochrom $\frac{1}{4}$ Mol Sauerstoff beim Übergang in die Ferriform verbraucht, erfordert der Übergang Leukoferment $\rightarrow$ gelbes Ferment ein ganzes Molekül Sauerstoff nach der Gleichung



Der Farbstoff-Umsatz c und k ist in atmenden Milchsäurebakterien von Erwin Haas in ähnlicher Weise bestimmt worden, wie der Cytochrom-Umsatz in Hefe, durch lichtelektrische Messung der Lichtdurchlässigkeit atmender Milchsäurebakterien. Als Wellenlänge wurde dabei 460 m μ gewählt, weil das gelbe Ferment bei dieser Wellenlänge stark absorbiert. Wird das Ferment in den atmenden Zellen reduziert, so werden sie, da das Leukoferment bei 460 m μ nicht absorbiert, für die Wellenlänge 460 m μ durchlässiger.

Bei den Messungen der Geschwindigkeitskonstante k war auch hier zunächst die Schwierigkeit, in einem bestimmten Augenblick den oxydierten Zustand des Ferments zu haben, die Reoxydation des gelben Ferments von diesem Augenblick an aber auszuschliessen. Die Methode mit der dies erreicht wurde, war folgende: Zu einer sauerstofffreien Bakterien-suspension, in der das gelbe Ferment in der Leukoform vorliegt, wird eine dem Ferment äquivalente

Menge Methylenblau in sauerstofffreier Lösung gegeben. Dann oxydiert das Methylenblau das Leukoferment sofort und vollständig zu dem gelben Ferment nach der Gleichung:



Die vorher weisse Zellsuspension wird also bei Zugabe des Methylenblaus gelb, und dann in dem Mass, als das gelbe Ferment reduziert wird, wieder weiss. Die Geschwindigkeit, mit der diese Farbänderung erfolgt, wird lichtelektrisch gemessen, aus ihr wird die Geschwindigkeitskonstante k der Fermentreduktion berechnet.

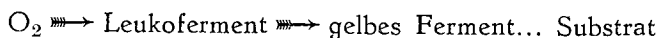
Erwin Haas fand bei solchen Versuchen: A bei $+1^\circ$: 1.0 mm³ O₂ pro Minute, pro cm³ Zellen;

k bei $+1^\circ$: $0.9 \left[\frac{1}{\text{min}} \right]$; c : 1.35 mm³ Farbstoff, pro cm³ Zellen.

Setzen wir diese Werte in unsere Gleichung ein, so ist

$$A = k \cdot c \\ 1.0 = 0.9 \cdot 1.35 = 1.2$$

das heisst: innerhalb der Fehlergrenzen der Messungen ist der manometrisch gemessene gesamte Sauerstoffverbrauch A gleich dem optisch gemessenen Farbstoffumsatz, oder: der gesamte in der Atmung der Milchsäurebakterien verbrauchte Sauerstoff wird von dem gelben Ferment übertragen. Anstelle des Schemas der Atmung aerober Zellen tritt also hier das Schema



Sauerstofflose Atmung. Die Tatsache, dass Methylenblau das Leukoferment schnell und vollständig zum gelben Ferment oxydiert, ist von Bedeutung für das viel diskutierte Problem der sauerstofflosen Atmung. An sich ist ja nicht verwunderlich, dass man, wenn man in atmenden Zellen durch Sauerstoffentziehung die Bildung des Ferrieisens verhindert, nun durch Zusatz eines anderen Oxydationsmittels, des Methylenblaus, Oxydationen bewirken kann. Merkwürdig ist aber, dass — wie Wieland gezeigt hat — Fälle existieren, in denen die Sauerstoffatmung und die sauerstofflose Methylenblauatmung ungefähr gleich gross sind, in denen also anaerob in der Zeiteinheit ungefähr ebensoviel Methylenblau reduziert, als aerob Sauerstoff verbraucht wird.

Die Übereinstimmung zwischen Sauerstoffatmung und sauerstoffloser Methylenblauatmung ist besonders gut gerade für die anaerob gezüchteten Milchsäurebakterien. Ist die Sauerstoffatmung dieser Bakterien, wie es bei den gewöhnlichen Versuchsbedingungen der Fall ist, unabhängig vom Druck des Sauerstoffs, so ist geschwindigkeitsbestimmend *nicht* die Oxydation des Leukoferments, sondern die Reduktion des gelben Ferments. Ersetzt man den Sauerstoff durch Methylenblau, so oxydiert anstelle des Sauerstoffs das Methylenblau das Leukoferment zum gelben Ferment. Auch dann ist geschwindigkeitsbestimmend nicht die Oxydation des Leukoferments, sondern wieder die Reduktion des gelben Ferments. In beiden Fällen also, in Sauerstoff und sauerstofflos in Methylenblau, ist geschwindigkeitsbestimmend *derselbe chemische Vorgang*, die Reduktion des gelben Ferments durch das Substrat. Die Lösung des Problems ist also: in Sauerstoff und sauerstofflos in Methylenblau hat

man zwar — was die Bilanz anbetrifft — zwei verschiedene Oxydationsmittel. Das mit dem Substrat reagierende Oxydationsmittel jedoch ist in beiden Fällen chemisch identisch, nämlich das gelbe Ferment.

Ganz anders liegen die Verhältnisse in den aeroben Zellen, die zwar auch gelbes Ferment enthalten, deren Atmung aber wesentlich über das Eisensystem geht. Hier ist von einer Übereinstimmung zwischen Sauerstoffatmung und sauerstoffloser Atmung keine Rede. In Essigbakterien beträgt die maximale durch Methylenblau zu bewirkende sauerstofflose Atmung nach Versuchen von Albert Reid, nur 3 % von der Sauerstoffatmung.

Gelbes Ferment in aeroben Zellen. Ich habe es schon erwähnt und es ist sehr merkwürdig, dass das gelbe Ferment auch in aeroben Zellen vorkommt — und zwar in allen bisher untersuchten — die doch ihren Sauerstoff mit Haemeisen übertragen. Wir haben daran gedacht, ob vielleicht das gelbe Ferment in den aeroben Zellen in die Kette der Eisenverbindungen eingebaut ist, etwa so, dass das letzte Ferriatom der Kette nicht von dem Substrat, sondern von der Leukoform des gelben Ferments reduziert wird. Dann müsste in blausäurevergifteten aeroben Zellen die Oxydation des gelben Ferments gehemmt sein, was nach lichtelektrischen Versuchen mit Hefe nicht der Fall ist. Schaltet man in Bäckerhefe das Eisensystem durch Blausäure aus, sodass man zum Beispiel für die Wellenlänge der Cytochrombanden lichtelektrisch aerob und anaerob keinen Unterschied in der Durchlässigkeit findet, so bleiben für die Wellenlängen der Banden des gelben Ferments Ausschläge beim Wechsel zwischen aeroben und anaeroben Bedingungen übrig. Es geht daraus hervor, dass das gelbe Ferment in aeroben Zellen mit dem Eisensystem nicht verbunden ist, sondern frei neben ihm liegt. Hier überträgt es — also auf einem Nebenweg — Sauerstoff, dessen Mengen jedoch klein sind gegen die Mengen die auf dem Eisenwege reagieren. In Bäckerhefe reagiert über das gelbe Ferment etwa 0.5 %, in Essigbakterien etwa 0.1 % des veratmeten Sauerstoffs.

Wenn nun die Sauerstoffatmung durch das gelbe Ferment quantitativ bedeutungslos ist, wie in aeroben Zellen, oder unphysiologisch — wie in den anaerob lebenden Zellen — so kann die Sauerstoffübertragung nicht die physiologische Funktion des gelben Ferments sein. Wir haben den Verdacht, dass das gelbe Ferment mit der Gärung zu tun hat, können aber zur Begründung kaum mehr anführen, als dass wir in gärenden Zellen besonders viel von dem gelben Ferment gefunden haben.

Problem der Atmung. Zwischen dem letzten Eisenatom und dem Substrat oder zwischen dem gelben Ferment und dem Substrat sind in dem Schema der Atmung Punkte gezeichnet, die andeuten sollen, dass hier ein Gebiet liegt, das noch unerforscht ist. Weder Milchsäure noch Zucker noch Alkohol reduzieren in atmenden Zellen das Ferrieisen oder das gelbe Ferment direkt, sondern damit diese Reduktion zustande kommt, sind ausser dem Substrat noch Fermente und Kofermente nötig. Die chemische Natur dieser Katalysatoren zu bestimmen, ist heute das Problem der Atmung.

665.45:571.8(34)

ONDERZOEKINGEN OVER ASFALT, GEVONDEN BIJ DE OPGRAVINGEN TE MOHENJO-DARO (INDUS-VALLEI) ¹⁾

door

F. J. NELLENSTEYN.

Uit tal van archaeologische vondsten is gebleken, dat asfalt in de Oudheid op groote schaal werd toegepast. Chemisch onderzoek is er op dit gebied echter slechts weinig verricht, hoewel hieruit wellicht soms belangrijke gevolgtrekkingen te maken zouden zijn; gewoonlijk is het echter niet verantwoord een deel van het materiaal aan een chemisch onderzoek op te offeren.

Van de chemische analyses op dit gebied moet vooral genoemd worden die van een monster uit Ur door Hackford, Lawson en Spielmann ²⁾. Het betreft hier de oudste bekende toepassing van asfalt, nl. uit den tijd vóór den Zondvloed (3500—4000 v. C.), zooals uit de onderzoekingen van C. L. Woolley ³⁾ gebleken is. Ook door H. le Chatelier ⁴⁾ werd een zeer oude asfalt onderzocht, afkomstig van beeldhouwwerk der Iraniërs (2800—2500 v. C.).

Het is natuurlijk niet toevallig, dat juist in Mesopotamië dergelijke oude toepassingen van asfalt gevonden worden. Naast een tot vele duizenden jaren vóór C. teruggaande cultuur, die de mogelijkheid tot allerlei technische toepassingen schiep, vindt men hier op verschillende plaatsen gemakkelijk te winnen asfaltbitumen en natuurasfalt.

Met groote waarschijnlijkheid kon in bovengenoemde gevallen worden aangetoond, dat asfalt of asfaltbitumen uit de onmiddellijke omgeving gebruikt werd. Door den loop der eeuwen heen is asfalt in deze streken een voor vele doeleinden gebruikt materiaal gebleven.

In andere landen met een oude cultuur vindt men ook wel toepassingen van asfalt, doch als bouwstof werd het toch bijv. in Egypte niet gebruikt. Men paste het hier toe voor het mummificeren, doch zooals door Spielmann is aangetoond ⁵⁾ eerst van de 15e eeuw v. C. af, waartoe het uit Palestina ingevoerd werd.

Bij de oude bouwwerken van Mohenjo-Daro in de Indus-vallei vindt men asfalt toegepast als waterdichte laag ⁶⁾. Nevenstaande figuur geeft de constructie van den wand van een waterbassin aan. De buitenwand bestaat uit twee muren van baksteen, met ertusschen een 2.5 cm dikke asfaltlaag, vervolgens een dikke muur van in de zon gebakken steen en ten slotte een laag baksteen met gipsafdichting. Volgens Marshall is het waarschijnlijk,

¹⁾ Ik ontving dit asfalt met verschillend vergelijkingsmateriaal van Ir. R. J. Forbes van de Bataafsche Petroleum-Mij. Tevens werd mij inzage verstrekt van de op het laboratorium dezer Mij. te Amsterdam op dit product verrichte onderzoekingen en van andere gegevens, waardoor mij het onderzoek zeer vergemakkelijkt werd. Gaarne betuig ik de Bataafsche Petroleum-Mij. en in het bijzonder Ir. Forbes hiervoor mijn dank.

²⁾ Inst. Petr. Tech. 17, 738 (1931).

³⁾ C. L. Woolley, „Vor 5000 Jahren“, Leipzig 1930.

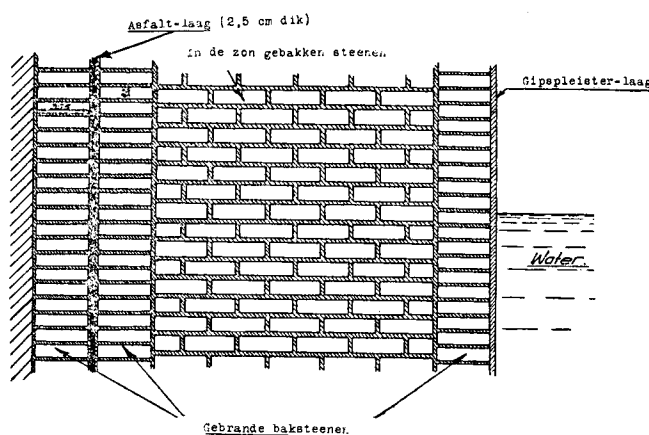
id. „Ur und die Sündflut“, Stuttgart.

⁴⁾ Mémoires, Délégation en Perse, Vol. VIII, blz. 162.

⁵⁾ J. Egypt. Archaeology 18, 177 (1933).

⁶⁾ R. J. Forbes, Bitumen 4, 6 en 43 (1934).

dat de asfaltlaag eerst tegen den eenen baksteenmuur is aangebracht, waarna, om het uitzakken van het asfalt tegen te gaan, de buitenste bakstenen muur



werd geplaatst. Deze toepassing van asfalt als kern- of hartafdichting duidt op het gebruik van een plastisch of min of meer vloeibaar mengsel. Aangezien het asfaltmengsel in den tegenwoordigen toestand een moeilijk smeltbare massa vormt, moeten in den loop der 50 eeuwen, die sinds de voltooiing van het bouwwerk verlopen zijn, aanzienlijke veranderingen in de eigenschappen van het asfalt opgetreden zijn. Met deze „verouderingsverschijnselen” moet bij verschillende conclusies rekening gehouden worden.

Het gebruik van asfalt in Mohenjo-Daro blijft een uiterst merkwaardig feit, omdat men zich hier niet, zooals in Mesopotamië, in een asfaltgebied bevindt, al zijn er ook nog wel enkele vindplaatsen op niet al te groote afstand bekend, nl. ⁷⁾ Isa Khel op den rechteroever van den Indus (N. W. F. Provincie), Khattan (Baluchistan), in de Mari-heuvels, N.O. van Sibi en aan den anderen kant van de Sibi-vlakte bij Sanni (Z.W. van Sibi).

De onderstelling ligt voor de hand, dat er verband bestaat tusschen de beschaving van Mohenjo-Daro, welke ruim 1000 jaar vóór de komst der Ariërs in Britsch-Indië (± 1800 v. C.) reeds een zeer hoog peil bereikt had en die der Sumerers, welke omstreeks denzelfden tijd in Mesopotamië bloeide.

De door Marshall ⁸⁾ geopperde mogelijkheid, dat het asfalt van Mohenjo-Daro uit Mesopotamië afkomstig is, is dan ook niet onwaarschijnlijk te achten, vooral daar het bekend is, dat de Sumerers handelsvestigingen in zeer verre streken hadden. Daar het schrift dezer oude bewoners van Mohenjo-Daro niet gelezen kan worden, kunnen de opgegraven tafels geen licht brengen in het probleem van de herkomst van het gebruikte asfalt. Uit de chemische analyse kunnen echter belangrijke aanwijzingen verkregen worden. Allereerst moet uitgemaakt worden, of men met asfalt te maken heeft of niet. Het is vooral A. Lucas ⁹⁾ geweest, die er op gewezen heeft, dat door archaeologen dikwijls stoffen tot asfalt verklaard worden, op grond van

een uiterlijke overeenkomst en brandbaarheid. Ook de oplosbaarheid in CS_2 is niet voldoende. De door de Egyptenaren veel gebruikte harsen worden in den loop der eeuwen dikwijls zeer donker gekleurd, zoodat zij op grond van de oplosbaarheid in CS_2 en de donkere kleur gemakkelijk met asfalt-bitumen verward kunnen worden. Lucas heeft hiervoor de oplosbaarheid in andere oplosmiddelen, laagkokende benzine, warmen alcohol en warm water, te baat genomen. Bij sterk verouderd asfalt-bitumen, waarvan de oplosbaarheid in CS_2 gering geworden is, zijn ook de andere oplosbaarheidskenmerken niet meer betrouwbaar. De volgende bepalingen geven hieromtrent een beslissing.

Oplosbaarheid in CS_2 :	gedeeltelijk oplosbaar
Ultramicroscopisch beeld van het CS_2 -extract:	deeltjes in Brown-beweging; asfalt-bitumenbeeld
Vanadium-reactie in de asch van het extract:	positief
Nikkelreactie in id.:	positief

Er blijkt hier zonder twijfel uit, dat het organisch bestanddeel van het asfalt geheel of gedeeltelijk uit asfaltbitumen bestaat.

Een tweede punt van belang is de vraag, of men hier met een natuurasfalt (natuurlijk mengsel van asfaltbitumen en minerale bestanddeelen) of met een kunstmatig opgebouwd mengsel te doen heeft. Deze vraag is vooral van beteekenis voor de quaestie van de herkomst, daar een kunstmatig mengsel een aanwijzing vormt voor de herkomst uit Mesopotamië.

Onderzoek der minerale bestanddeelen.

Het materiaal is reeds uiterlijk niet homogeen; het bevat stukjes schaal. Deze werden onderzocht door Dr. Ch. Bayer ¹⁰⁾, conservator van 's Rijksmuseum van Nat. Historie te Leiden. De volgende soorten werden herkend:

1. stukken schaal van Balanoidea (over de geheele wereld verspreide Crustacea, die in zee en in brakwater voorkomen);
2. horentjes, hoogstwaarschijnlijk van jonge exemplaren van een Planorbis soort (in geheel Azië voorkomende, in zoetwater levende mollusken);
3. het operculum van een Gastropode.

Dit zijn zeker ten opzichte van het asfaltbitumen vreemde bestanddeelen.

Zeefanalyse van het met CS_2 geëxtraheerde materiaal:

op zeef van	2.4 mm	— %
" "	0.42 "	24.2 "
" "	0.175 "	24.0 "
" "	0.075 "	17.3 "
door "	0.075 "	34.5 "

Chemische analyse van verschillende zeeffracties:

	Fractie 2.4—0.40 mm	Fractie < 0.075 mm	Gemiddeld
SiO_2 + onoplosbaar	50.8 %	59.4 %	55.1 %
Fe_2O_3 + Al_2O_3	12.0 "	10.4 "	11.2 "
$CaSO_4$	14.3 "	13.0 "	13.7 "
$CaCO_3$	14.8 "	3.0 "	8.9 "
CaO	3.9 "	5.7 "	4.8 "
$MgCO_3$	2.7 "	5.6 "	4.2 "
	98.5 %	97.1 %	97.9 %

De zeefanalyse toont de aanwezigheid van een betrekkelijk hoog percentage zeer fijn poeder (fijner dan zand); dit geeft geen uitsluitsel over de vraag,

⁷⁾ J. Marshall, „Mohenjo-Daro and the Indus Civilisation”, 1931, blz. 682.

⁸⁾ J. Marshall, „Mohenjo Daro and the Indus Civilisation”, 1931, blz. 268.

⁹⁾ A. Lucas, J. Egypt. Archaeology 1, 241 (1914).

¹⁰⁾ Gaarne betuig ik hierbij Dr. Bayer mijn dank voor het determineren van het bovengenoemde materiaal.

of men met een natuurlijk of kunstmatig mengsel te doen heeft, daar dergelijke fijne poeders steeds in de natuurasfalten voorkomen, doch evengoed aan asfaltbitumen kunnen zijn toegevoegd.

De chemische analyse geeft duidelijkere aanwijzingen. Bij de meeste natuurasfalten is het CaCO_3 -gehalte zeer hoog; dit is hier niet het geval. De gevonden samenstelling wijkt sterk af van die der minerale bestanddeelen van de bekende natuurasfalten. Het CaSO_4 is in dergelijke percentages zeker geen natuurasfalt-bestanddeel.

De analyses der verschillende zeeffracties verschillen onderling vrij veel; ook dit wijst op een kunstmatig mengsel.

Een bevestiging van deze onderstelling vindt men door het *ultramicroscopisch* onderzoek van de gefiltreerde oplossing in CS_2 van het asfaltmengsel. Dit geeft niet het bekende zeer levendige beeld der natuurasfalten; het beeld is zelfs minder levendig dan dat eener gewone asfaltbitumenoplossing.

Het ultramicroscopisch onderzoek met oplosmiddelen van verschillende oppervlaktetension gaf het volgende resultaat:

Oplosmiddel:	Beeld:
CS_2 (σ_{25}° 30.5 dn/cm)	Vrij leeg beeld, deeltjes vrij groot. Brown-beweging zwak.
Pyridine (σ_{25}° 34.9 dn/cm)	Iets voller en levendiger beeld.
2. Nitrotolueen (σ_{25}° 40.9 dn/cm)	Beeld weer voller.

Het ultramicroscopisch beeld vertoont zeer weinig overeenkomst met dat der oplossingen van natuurasfalt, doch het is ook veel minder levendig dan dat van asfaltbitumen met droge fijne poeders. Het beeld is veeleer dat van een asfaltbitumen, waarvan de koolstof weinig beschermd is. Het niet opnemen van het fijne minerale poeder als ultramicroscopisch door het asfaltbitumen wordt in dit geval verklaard, doordat wij hier met een vochthoudend poeder te doen hebben. Het mineraal moet zeer waarschijnlijk reeds bij de bereiding van het mengsel in vochtigen toestand met het asfaltbitumen zijn gemengd. De aard van het ultramicroscopisch beeld, de chemische samenstelling der minerale bestanddeelen, de aanwezigheid van schalen van zoetwaterdieren en de ongelijkmatige samenstelling van de verschillende zeeffracties wijzen er met groote waarschijnlijkheid op, dat het onderzochte asfaltbitumenhoudende materiaal *geen natuurasfalt* is, doch een *kunstmatig mengsel van asfaltbitumen, vochthoudende kleien gips*.

De herkomst van het asfaltbitumen.

Analyse van het asfalt:

Oplosbaar in CS_2	8.3 %	
" " pyridine		24.2 %
" " chloroform	23.8 "	
Onoplosbare organische stof		4.1 "
Minerale bestanddeelen		71.7 "
		100 %

Het organische extract geeft een zwakke diazo-reactie en een negatieve reactie met Millon's reagens.

Analyse ¹¹⁾ van het	pyridine-extract (aschvrij)	chloroform-extract (aschvrij)
C	79.4 %	76.6 %
H	7.2 "	7.7 "
S	7.1 "	7.4 "
N	0.6 "	0.6 "
O (rest)	5.7 "	7.7 "

¹¹⁾ De elementair-analyses werden bepaald volgens ter Meulen-Heslinga, „Nieuwe methoden voor elementair-analyses", Delft 1930.

Voor de herkomst van het asfaltbitumen komt vrijwel alleen Mesopotamië in aanmerking, daar er in Voor-Indië wel natuurasfalt, maar geen natuurlijk asfaltbitumen gevonden wordt. Alleen wanneer de analyse een Mesopotamische herkomst uitsluit, zou een andere vindplaats aangenomen moeten worden. In het algemeen zijn de asfaltbitumina, natuurasfalten en minerale oliën uit het oude cultuurgebied tusschen Perzië en de Middellandsche Zee gekenmerkt door een hoog zwavelgehalte. Dit is echter niet constant; de minerale oliën bevatten minder zwavel dan de asfaltbitumina en natuurasfalten. Ter vergelijking neemt men het best het S-gehalte der (aether-) asfaltenen¹²⁾, waarvoor de volgende waarden gevonden werden:

Aether-asfaltenen (aschvrij) van:	Zwavelgehalte
Syrische asfalt I	8.4 %
" " II	7.5 "
Asfaltbitumen v/d Doode Zee	10.5 "
Asfaltbitumen van Hit (a. d. Euphraat) I	12.0 "
" " Hit II	11.2 "
Asfalt van Mohenjo Daro	7.6 "
Asfaltbitumen verkregen als destillatieresidu van Perzische aardolie	4.7 "

Zeer hoog is het zwavelgehalte van het asfaltbitumen uit de reeds in de Oudheid bekende bronnen van Hit, doch ook veel lagere zwavelgehalten komen voor. Behalve het voorkomen van asfaltbitumen bij Hit, waren in de Oudheid in Mesopotamië nog vele andere vindplaatsen bekend.

Het in het asfalt van Mohenjo-Daro geconstateerde S-gehalte der asfaltenen van 7.1–7.4 % wijst op een Mesopotamischen oorsprong, terwijl het vrij hoge zuurstofgehalte een aanduiding vormt, dat, behalve asfaltbitumen, nog andere organische stoffen in het mengsel verwerkt zijn. Ter vergelijking volgen hier nog de volledige elementair-analyses der asfaltenen uit het asfalt van Mohenjo-Daro, Hit en van een ruwe olie uit Perzië, omgerekend op aschvrij product.

	Mohenjo-Daro	Hit I	Hit II	Perzische ruwe olie
C	78.7 %	78.2 %	78.2 %	86.4 %
H	6.3 "	7.7 "	7.5 "	5.1 "
S	7.5 "	11.2 "	11.9 "	4.7 "
N	0.7 "	1.2 "	1.1 "	1.4 "
O (rest)	6.8 "	1.7 "	1.3 "	2.4 "

Zeer sterke aanwijzingen voor de Mesopotamische herkomst van het asfalt van Mohenjo-Daro vindt men bij vergelijking met de analysecijfers van Hackford, Lawson en Spielman¹³⁾ van het reeds vroeger genoemde asfalt uit Ur, dat zonder twijfel van Mesopotamischen oorsprong is.

Beide mengsels bestaan uit een sterk verouderd asfaltbitumen, klei en gips. Hackford, Lawson en Spielmann onderstellen, dat het gips afkomstig is van het zoute water, dat bij verschillende Mesopotamische asfaltbitumen-bronnen mede te voorschijn komt. Ook Le Chatelier vindt het bij asfalt van Iranische beelden, zij het ook in veel geringer percentage (3 %). De groote hoeveelheid CaSO_4 , die in de producten van Mohenjo-Daro en Ur

Aanbeveling verdient het echter, om in plaats van de voorgescreven gasovens, elektrische te gebruiken en voor de opneming van het water het CaCl_2 te vervangen door H_2SO_4 .

¹²⁾ F. J. Nellensteyn en R. Loman, Asfaltbitumen en Teer. A'dam, 1932, blz. 199.

¹³⁾ J. Inst. Petr. Techn. 17, 739 (1931).

	Asfalt van Mohenjo-Daro	Asfalt van Ur ¹³⁾
Organische bestanddeelen	28.3 %	66.9 %
Hiervan oplosbaar in CS ₂	29.3 "	—
" " " pyridine	85.5 "	95.2 "
S-gehalte CS ₂ + pyridine extract	7.1 "	7.9 "
Anorganische bestanddeelen	71.7 "	33.1 "
Hiervan		
SiO ₂ + onoplosbaar	55.1 "	51.3 "
Fe ₂ O ₃ + Al ₂ O ₃	11.2 "	7.3 "
CaSO ₄	13.7 "	34.2 "
CaCO ₃	8.9 "	—
CaO	4.8 "	7.1 "
MgCO ₃	4.2 "	—
V	aanwezig	0.16 "
Ni	aanwezig	aanwezig

gevonden wordt, duidt er echter op, dat men hier niet alleen met een gewonen begeleider der Mesopotamische asfaltbitumina te doen heeft, doch dat het gips waarschijnlijk ook opzettelijk toegevoegd is. Natte klei en gips laten zich vrij gemakkelijk met gesmolten asfaltbitumen mengen, onder vorming van een emulsie met water als gedispergeerde phase. Het ruwe asfaltbitumen van Hit is zelf reeds een grove emulsie van het type water in olie, waardoor de menging met natte poeders als klei en gips nog vergemakkelijkt wordt. Een menging van de verschillende soorten bind- en dichtingsmiddelen ligt hier dus wel voor de hand, vooral daar ruw, waterhoudend asfaltbitumen in de Oudheid als een bijzondere soort klei of slijk beschouwd werd, zooals ook bij de verschillende Bijbelvertalingen uitkomt, waar asfalt eenvoudig door klei vertaald wordt. They had bricks for stone, and slime had they for mortar; Genesis XI 3. Terwijl in de Luthervertaling van Thon gesproken wordt in dit verband, is er in den Statenbijbel sprake van *lijm*. Het mengen van asfaltbitumen met klei ter bereiding van een mortel wordt door Delaporte ¹⁴⁾ blijkbaar als een bekende werkwijze vermeld. Uit het bovenstaande volgt met groote waarschijnlijkheid, dat het *waterdichtend materiaal van Mohenjo-Daro een kunstmatig mengsel is van asfaltbitumen van Mesopotamische herkomst, klei en gips*.

„Verouderingsverschijnselen”. Zooals reeds vroeger werd aangegeven, is het materiaal in den loop der eeuwen aanzienlijk veranderd. Van een gemakkelijk smeltbaar product, dat voor deze constructie aangewend moet zijn, is het een brokkelig, weinig samenhangend mengsel geworden, waarvan het organische bestanddeel grootendeels onoplosbaar in CS₂ is.

De hooge ouderdom van het asfalt van Mohenjo-Daro is slechts zeer betrekkelijk; geologisch zijn de asfaltbitumina uit deze streken zeker niet oud te noemen. De veroudering wordt dus veroorzaakt door den toestand, waarin het na zijn toepassing verkeerde, nl. of door de menging met klei en gips, of door het blootstellen aan lucht en licht, of door beide oorzaken. Aan deze veroudering moet een chemische reactie ten grondslag liggen, die bij natuurasfalten niet optreedt. Noch bij de gewone CaCO₃-houdende natuurasfalt, noch bij Trinidad-asfalt, dat als natuurlijk mengsel van asfaltbitumen, water en klei of vulcanische asch de producten van Mohenjo-Daro en Mesopotamië meer nabij komt,

¹⁴⁾ L. Delaporte, La Mésopotamie, les civilisations babylonienne et assyrienne, page 198.

vindt men groote hoeveelheden in CS₂ onoplosbare organische bestanddeelen. De verouderingsverschijnselen houden dan ook zeker verband met de inwerking van zuurstof, waarbij een katalytische invloed der anorganische bestanddeelen mogelijk blijft. Bij deze inwerking van zuurstof wordt de oplosbaarheid in verschillende oplosmiddelen geringer; ten slotte wordt het gedeeltelijk onoplosbaar in oplosmiddelen, waarin het eerst volkomen oplosbaar was. De voor de producten van Ur en Mohenjo-Daro geconstateerde oplosbaarheidsverschijnselen wijzen dus niet direct op aanwezigheid van andere organische stoffen. Dit blijft echter wel mogelijk in verband met de zij het ook zeer zwak positieve diazoreactie en het voor asfaltbitumina te hooge zuurstofgehalte.

Als bijmenging komen sterk zuurstofhoudende producten in aanmerking als harsen en wel producten, die beter in chloroform dan in CS₂ oplosbaar zijn, waardoor de ook voor verouderde asfalt abnormale verhouding van de oplosbaarheid in chloroform en CS₂ verklaard zou worden.

Summary. A sample of a bituminous waterproofing material from the excavations at Mohenjo-Daro (Indus-Valley) has been analyzed. It consists mainly of an artificial mixture of asphaltic bitumen, wet clay and gypsum. The bituminous component has been altered considerably during the fifty centuries after its application. The bitumen is almost certainly of Mesopotamian origin.

The choice of the materials indicates relationship with Sumerian methods of manufacture.

Den Haag, Rijkswegenbouwlaboratorium,
April 1934.

545.2 : 546.19 : 546.22 QUANTITATIEVE BEPALING VAN ARSENICUM IN ZWAVEL

door
P. A. ROWAAN.

Bij verschillende toepassingen van zwavel is het noodig het gehalte aan arsenicum te kennen, n.l. voor de bereiding van bepaalde soorten zwavelzuur, de toepassing in de suikerfabricage (de Java-suikerindustrie laat hoogstens 0.1 % arsenicumverbindingen in de zwavel toe ¹⁾), het gebruik als conserveerend middel, als fungicide, enz. Op Java wordt thans de kraterzwavel op groote schaal en op moderne wijze geëxploiteerd, waarbij een product wordt verkregen, dat aan hooge eischen voldoet ²⁾.

In het handboek, genoemd in noot 1, wordt de volgende methode voor de bepaling van arsenicum in zwavel aangegeven: Eerst wordt de zwavel met ammoniak uitgetrokken, waarbij de arsenicumverbindingen in oplossing gaan; na filtreren en uitwasschen wordt aangezuurd met zoutzuur, waarna

¹⁾ Tervoreen, Handboek Suikerrietcultuur en Rietsuikerfabricage op Java, 1e deel, blz. 289 (vijfde druk, 1926).

²⁾ Meded. Koloniaal Inst. Amsterdam 35 (Afd. Handelsmuseum 14, 56 (1934).

door inleiden van zwavelwaterstof het arsenicum volledig als sulfide wordt neergeslagen; na filtratie wordt het neerslag opgelost in een weinig koningswater, en in de verkregen oplossing het arsenicum langs gravimetrischen weg bepaald als magnesium-ammoniumarseniat.

Deze tamelijk bewerkelijke methode kan bovendien licht te lage uitkomsten geven, daar een volledige extractie van de arsenicumverbindingen met ammoniak vooral bij niet zeer fijn gepoederde zwavelmonsters bezwaren meebrengt.

De volgende overweging heeft geleid tot het uitwerken van een eenvoudige methode, waarbij een extractie wordt vermeden. Bij verschillende methoden ter bepaling van arsenicum wordt dit eerst door middel van een bepaald reductiemiddel in den driewaardigen vorm overgevoerd; vervolgens wordt na verwijdering van de overmaat aan reductiemiddel het arsenicum langs titrimetrischen weg bepaald. Onder meer is door Rosendahl³⁾ zwavel als reductiemiddel voorgesteld. Hier van nu kan men gebruik maken om, door een afgewogen hoeveelheid van de te onderzoeken zwavel met sterk zwavelzuur zolang te koken, totdat alle zwavel verdreven is, een oplossing van het in de zwavel aanwezige arsenicum, door de zwavel zelf tot den driewaardigen vorm gereduceerd, te verkrijgen; in deze oplossing kan het arsenicum dan het eenvoudigst volgens de bromometrische methode van Györy⁴⁾ worden getitreerd.

De volgende punten dient men hierbij echter in het oog te houden: De aanwezigheid van zoutzuur of chloriden zou aanleiding geven tot de vervluchtiging van arsenicum als trichloride; daarom doet men het best vóór de verwarming steeds een weinig salpeterzuur toe te voegen.

De aanwezigheid van ijzer stoort de reactie niet; wanneer na verdrijving van alle zwavel nog eenigen tijd wordt doorgekookt, bevindt het ijzer zich volledig in den driewaardigen vorm. Om de bij de titratie storende gele kleur van het ijzer uit te schakelen, kan men een weinig vast natriumpyrophosfaat toevoegen, waardoor een kleurloze verbinding ontstaat.

Alleen de aanwezigheid van koper en van kwik (dit laatste als halogeenvverbinding) zou de arsenicumbepaling kunnen storen, maar deze elementen komen practisch niet in zwavel voor.

De bromometrische arsenicum-titratie wordt meestal in zoutzuurmilieu met methyloranje of methylrood als indicator uitgevoerd. Hier moet de bepaling echter in zwavelzure oplossing geschieden. Het is dan noodig, vóór de titratie met kaliumbromaat, een weinig kaliumbromide toe te voegen. Daar de titratie der meestal geringe hoeveelheden arsenicum met 1/100 n kaliumbromaat geschiedt, bleek bij gebruik van methyloranje of methylrood als indicator de kleuromslag van rood tot kleurloos bij het eindpunt der titratie niet scherp genoeg te zijn; zoo werd bij een blanco-bepaling meer dan 0.5 cm³ 1/100 n kaliumbromaat verbruikt. Ook een modificatie, aangegeven door Schulek en von Villecz⁵⁾,

bleek niet gevoelig genoeg. Tenslotte gelukte het, goede resultaten te verkrijgen bij gebruik van het reeds door Nissenson en Siedler⁶⁾ aanbevolen indigotine als indicator, waarbij een kleuromslag van blauw via lichtgroen naar kleurloos wordt verkregen (onder vernietiging van de kleurstof). Bij een blanco-bepaling werd een verbruik van 0.1 cm³ 1/100 n kaliumbromaat geconstateerd.

De volgende werkwijze bleek goed te voldoen: Een gram zwavel wordt afgewogen en gebracht in een Kjeldahlkolf van 100 cm³ inhoud. Na toevoeging van 6 cm³ zwavelzuur (s.g. 1.84), 1 cm³ salpeterzuur (s.g. 1.3) en eenige kooksteentjes wordt de kolf op een kleine vlam verhit. Nadat eerst nitreuze dampen zijn ontweken, wordt gekookt, totdat alle zwavel uit de kolf verdwenen is, waarna nog tien minuten wordt doorgekookt. In totaal neemt dit koken ongeveer 2 uren in beslag, maar vereischt vrijwel geen toezicht. Na afkoeling wordt verdund met 15 cm³ water, en na toevoeging van een weinig vast kaliumbromide en van 2 druppels indigotine (oplossing van 0.1 g in 100 cm³ zwavelzuur, s.g. 1.84) onder krachtig omschudden langzaam getitreerd met 1/100 n kaliumbromaat, totdat de blauwe kleur van de oplossing via lichtgroen in kleurloos omslaat. Is de te titreeren oplossing door ijzer geel gekleurd, dan voegt men vóór de titratie zooveel vast natriumpyrophosfaat toe, dat de gele kleur is verdwenen. Van de verkregen uitkomst wordt 0.1 cm³ (voor de blanco-bepaling) afgetrokken, waarna 1 cm³ 1/100 n kaliumbromaat 0.0375 % arsenicum (als As berekend) aangeeft. Volgens deze snelle en eenvoudige methode is het arsenicumgehalte van zwavel dus gemakkelijk tot op 0.01 % nauwkeurig vast te stellen.

De juistheid der methode werd bewezen aan talrijke monsters zuivere en arsenicumhoudende zwavel, waaraan ook bekende hoeveelheden arsenicum werden toegevoegd, terwijl bovendien het arsenicumgehalte zoowel langs kwalitatieven als quantitatieven weg werd gecontroleerd na reductie der verkregen arsenicumhoudende oplossing met behulp van onderphosphorigzuur tot metalliek arsenicum⁷⁾.

Summary: Arsenic in sulfur can easily be determined as follows:

Place 1 g of the sulfur to be analyzed in a 100 cm³ Kjeldahl flask. Add 6 cm³ of sulfuric acid (sp. gr. 1.84), 1 cm³ of nitric acid (sp. gr. 1.3) and a few pieces of pumice stone. Boil on a low flame until the sulfur has completely disappeared from the flask, then continue the boiling for about ten minutes. After cooling dilute with 15 cm³ of water, add a small quantity of potassium bromide and two drops of a 0.1 % solution of indigotine (in concentrated sulfuric acid) and titrate slowly with 1/100 n potassium bromate shaking vigorously, until the blue color of the indicator changes to colorless.

Amsterdam, Scheikundig Laboratorium der Afd. Handelsmuseum van het Koloniaal Instituut, Juni 1934.

³⁾ Rosendahl, Chem.-Ztg. 50, 73 (1926); verg. ook Samter, Analytische Schnellmethoden, blz. 46 (tweede druk. 1923).

⁴⁾ Györy, Z. anal. Chem. 32, 415 (1893).

⁵⁾ Schulek en von Villecz, Arch. Pharm. 266, 411 (1928) en Z. anal. Chem. 76, 81 (1929).

⁶⁾ Nissenson en Siedler, Chem. Ztg. 27, 751 (1903).

⁷⁾ Verg. voor de uitvoering van deze en andere titrimetrische arsenicumbepalingen: Rowaan, Pharm. Weekblad 70, 849 (1933).

PERSONALIA, ENZ.

Bij Kon. besluit is aan Prof. Ir. P. D. C. Kley op zijn verzoek eervol ontslag verleend als hoogleeraar in de microchemie en de metalographie aan de Technische Hoogeschool te Delft, met dankbetuiging voor de in deze betrekking bewezen diensten.

* * *

Van de Stichting Nederlandsch Instituut voor Electrowarmte en Electrochemie zijn door het college van regenten tot voorzitter benoemd Prof. Dr. Ir. H. C. J. H. Gelissen en tot secretaris-penningmeester Prof. Ir. J. C. van Staveren. De laboratoria der stichting zijn gevestigd: Prins Bisschopsingel 2, Maastricht (leider: Dipl.-Ing. Ir. C. L. Beuken). Het telefoonnummer der stichting is 691 Maastricht.

* * *

P.B.N.A.-examen. Dit jaar werd voor de 25^{ste} maal het P.B.N.A.-examen afgenomen, onder toezicht o.a. van gedelegeerden van het Kon. Inst. van Ingenieurs. In de examencommissie hadden o.a. zitting de chemici Dr. H. L. Bredée, Dr. H. Goedhart, Dr. J. van der Lee en Dr. Ir. H. A. J. Pieters.

Geslaagd zijn als candidaat-technisch chemicus de heeren P. R. A. Claassens (Maastricht), L. W. J. Damen (Deventer), J. Heidstra (Likkum, Fr.), L. J. Hoogkamer (Amsterdam), C. J. v. d. Peyl (Amsterdam, C.), M. J. Veenendaal (Rotterdam) en G. M. Zwetsloot (den Haag); als gastechnicus (onderzoek A) de heeren R. Gerssen (Beverwijk), A. Lamein (Hooogeveen), A. G. Chr. Linschoten (Scheveningen) en G. van Riel (Pernis).

* * *

Nederlandsche Visscherij-Proefstation. Naar aanleiding van het bericht over het eervol ontslag, dat aan de wetenschappelijke adviseurs voor het Nederlandsche Visscherij-Proefstation, Prof. Kruyt, Prof. van Romburgh en Prof. Schreinemakers op hun verzoek verleend is, wordt ons van welingelichte zijde het volgende medegedeeld.

Sinds hun benoeming bij Kon. Besluit van 30 Juli 1917 No. 24 hebben genoemde chemici de belangen van het Proefstation op voortreffelijke wijze gediend door steeds beschikbaar te zijn om aan het Station hulp en voorlichting te geven, wanneer dit gewenscht of noodig was, en het Bestuur van deze instelling heeft dit op zeer hoogen prijs gesteld. Herhaaldelijk zijn ook adviezen verstrekt, in aangelegenheden het Proefstation betreffende, aan de Ministers, onder wie sedert 1917 de visscherij ressorteerde.

Telkens, wanneer dit nuttig of wenschelijk geoordeeld werd, hebben zij zich tot de Regeering gewend om de belangen van het Proefstation te bepleiten. De adviseurs hebben daarbij steeds doen blijken van hun groote waardeering voor de wijze, waarop het Proefstation geleid werd, dat, zich verheugende in een toenemende belangstelling van de zijde van het visscherij-bedrijf, een bijdrage van betekenis tot de volkswelvaart levert.

Aanleiding tot de ontslagaanvraag was het voorstel ter zake van een beperkte subsidieverlening aan het Proefstation, dat door den Minister van Economische Zaken aan het Bestuur werd voorgelegd. Als voorwaarde voor de toekenning van subsidie werd namelijk het ontslag geëischt van den huidige directeur en voorts werd van het Bestuur gevorderd de leiding van het Station op te dragen aan een met name genoemde persoon.

Het feit, dat genoemde Minister het niet noodig had geoordeeld in een zoo bij uitstek de kwestie van wetenschappelijke bekwaamheden rakende zaak het College van wetenschappelijke adviseurs te kennen, heeft de leden van dit College doen besluiten te verzoeken van hun functie ontheven te worden. Zij willen bovendien niet geacht worden ooit tot een als door den Minister van Economische Zaken gevorderde wijze van ingrijpen geadviseerd te hebben. Zij hebben zich echter bereid verklaard het Proefstation verder met raad en daad te blijven bijstaan.

Het Bestuur van het Station, dat het voorstel van den Minister heeft afgewezen, ondanks de groote moeilijkheden waarvoor het daardoor kwam te staan, heeft het loyale aanbod der wetenschappelijke adviseurs gaarne en met groote erkentelijkheid aanvaard.

TER BESPREKING ONTVANGEN BOEKEN

(aanvragen te richten tot de redactie).

- J. Ryan, M. C. and J. S. Taylor, Standard cost control for cotton spinning, Harlequin Press Co. Ltd., Manchester 2, 114 pp., 5/-.
J. Postma, Leven en golven; van Gorcum & Comp., 1934, 110 pp., f 3.90.
W. E. Hoare, Tin-iron alloy in tinplate with notes on some imperfections, London, Techn. Publ. Int. tin research and developm. council 1934, Ser. A No. 2, pp. 12.

F. E. E. Germann and O. S. Knight, Line coördinate charts for vapor pressure-temperature data, Univ. of Colorado, U. S. A., dep. of chem., 1934, 2 kaarten, \$ 2.00.

W. D. Jones, B. Eng., and W. E. Hoare, A microscopic examination of iron-tin reaction products, London, Techn. Publ. Int. tin research and developm. council 1934, Ser. A No. 4, pp. 14.

T. P. Hoar, The electrochemical behaviour of the tin-iron couple in dilute acid media, London, Techn. Publ. Int. tin research and developm. council, 1934, Ser. A No. 5, pp. 16.

C. J. V. Féry, The Féry-carbone dry tin accumulator, London, Techn. Publ. Int. tin research and developm. council, 1934, Ser. C No. 1, pp. 5.

Wissenschaftliche Berichte der Moskauer Staatsuniversität, Heft 2, Moskau 1934, pp. 348.

CORRESPONDENTIE, ENZ.

Wie bezit de volgende boeken: Bashforth and Adams, An attempt to test the theories of capillary action, en: Bashforth & Adams, Tables?

* * *

Ortt & Co's Handelsmaatschappij N.V., Rotterdam, Eerste Lombardstraat 34-40, deelt ons mede, dat zij zwaveldioxyde in kleine cylinders levert en steeds in voorraad heeft.

VRAAG EN AANBOD.

(correspondentie wordt over deze rubriek niet gevoerd: de Redactie zendt alleen brieven door).

Ter overneming gevraagd:

- I. M. Kolthoff, Säure-Basen-Indicatoren. Droogstoofje. Secalmolentje. Tinctuurpersje. Toestel v. Petit voor caps. amyl. Granulenplank. Vormen voor gelatin. caps. Tablettenpersje. Bougiespers. Gietvorm voor staafjes. Bovenweger. Gebruikte Ecco-trommelcentrifuge, 220 V. Laboratoriummolen voor suikerbieten enz., handkracht. Sharpless-laboratoriumsupercentrifuge. O. Lange, Chem.-techn. Vorschriften (laatste druk). Holleman, Leerb. der org. Chem. Meyer & Jacobson, Lehrbuch der org. Chem. Oliepomp, bereikbaar vacuum minstens 0.1 mm Hg.

Ter overneming aangeboden:

- Gehes Codex 1929 met Nachträge 1930 en 1931.
R. Escapes, Industrielle Chemie, 1912.
S. Fränkel, Arzneimittel-Synthese, 1912.
E. Dietrich, Neues pharm. Manual, 1909.
Lassar-Cohn, Arbeitsmethoden, 1907.
J. Meyer, Der Gaskampf u. die chem. Kampfstoffe.
J. Am. Chem. Soc. 1931 en 1932.
Projectieapparaat (epidiascoop).
Astron. kijker, lin. vergr. 40 en 80×, op statief.
A. Schoenflies, Theorie der Kristallstruktur, 1923.
Hurwitz-Courant, Funktionentheorie, 1922.
M. Planck, Thermodynamik, 1921.
M. Planck, Einf. in die allgem. Mechanik, 1921.
A. Sommerfeld, Atombau u. Spektrallinien, Ergänzungsband, 1929.
J. Rice, Relativity, 1923.
M. von Laue, Die Relativitätstheorie I, 1921.
Berl-Lunge, Chemisch-technische Untersuchungsmethoden, 8e (nieuwste) druk, compleet.
O. Lange, Die Schwefelfarbstoffe.
Nieuwe chem. balans, draagr. 100 g.

Analyst-examen 2e gedeelte, diploma B.

Het analyst-examen II B (hulpkrachten in wetenschappelijke laboratoria) werd op 7 en 8 September te Delft afgenomen.

Geslaagd zijn de Heeren: F. I. van Bloois, J. A. de Nooyer en W. R. Sombroek.

Twee kandidaten werden afgewezen.

Namens de Centrale Commissie voor het Analyst-examen,

Dr. J. VAN DER LEE, Secretaris.

Schiebroek, Adrianalaan 283.