

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: Hooge Rijndijk 15, telefoon 1449, postrekening 3569).

Redactie-Commissie: Dr. G. de Bruin, Dr. G. C. A. van Dorp, Dr. R. T. A. Mees, Dr. Jan Smit
en Dr. J. W. Terwen.

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. — Volontairsplaatsen door bemiddeling der Commissie voor Tewerkstelling en Crisisfondsen. — Dr. Ir. L. E. den Dooren de Jong, De immunologie en haar aanknopingspunten met de chemie. — Dr. J. D. Filippo, Reductasietijd van melk en haar aantal bacteriën. — Chemische kringen. — Personalía, enz. — Ter bespreking ontvangen boeken. — Correspondentie, enz. — Aangeboden betrekkingen, werk, subsidies, enz. — Gevraagde betrekkingen. — Sectie voor organische chemie.

MEDEDEELINGEN VAN HET ALGEMEEN BESTUUR DER NEDERLANDSCHE CHEMISCHE VEREENIGING.

In den ouderdom van 69 jaren is te Naarden overleden
Dr. Ir. F. H. van Leent, oud-adviseur-scheikundige der
Marine, lid van de Nederl. Chem. Vereeniging.

Veranderingen aan te brengen in de ledenlijst.

- Blz. 37: Engelhard (Dr. F. J. W.), Amsterdam-Z., v. Baerlestraat 42II.
„ 41: Goudsmit-Menko (Mevrouw H. C.), chem. cand., New York City (U. S. A.), 447 East 65th Street.
„ 44: Heymans (Mej. Dra. W. E.), Delft, Oude Delft 85.
„ 45: Hoejenbos (Drs. L.), Amersfoort, Koninginnelaan 17.
„ 48: Jacobs (Ir. G. H. W.), Helmond, Julianalaan 49.
„ 57: Lutgerhorst (Ir. A. G.), Schiedam, Louise de Colignystraat 34.
„ 74: Soudijn (Ir. P. J. W.), Oegstgeest, Waldeck Pyrmontlaan 20, scheik. b. d. Rijksrubberdienst.
„ 75: Stevens (Drs. Dipl. Ing. M. A. A.), 's-Hertogenbosch, v. d. Does de Willeboissingel 58.
„ 77: Tollenaar (Ir. L. H.), Overveen, Julianalaan 140.
„ 78: Wal (Dr. M. J. van der), Amsterdam-C., Prinsengracht 810 huis.

Wie kent het adres van:

Dr. Ir. F. C. van der Sluys Veer, vroeger Hilversum, Snelliuslaan 23 en Drs. E. L. Swart, vroeger Amsterdam-W., Nassaukade 334I?

Met mededeeling zal men den Secretaris zeer verplichten.

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

Zie verder blz. 604.

VOLONTAIRSPLAATSEN DOOR BEMIDDELING DER COMMISSIE VOOR TEWERKSTELLING EN CRISISFONDSEN.

De Commissie voor Tewerkstelling en Crisisfondsen maakt afstudeerende chemici opmerkzaam op de gelegenheid tot overleg met haar voor het vinden van een plaats als volontair in werk op door hen gewenscht gebied.

Verscheidene laboratoria hebben zich reeds bereid verklaard een of meer volontairsplaatsen beschikbaar te stellen, vele andere zullen dit vermoedelijk doen, wanneer de Commissie daarom ten behoeve van een werklozen chemicus zou verzoeken. Zoo noodig kan de Commissie in de door volontairs te maken onkosten bijdragen of zelfs een bescheiden tegemoetkoming in de kosten voor levensonderhoud verstrekken.

Op het oogenblik zijn o.a. de volgende plaatsen te vervullen:

A. Org.-chem. lab. der Landbouwhoogeschool, Heerenstr. 16, Wageningen. Directeur: Prof. Dr. S. C. J. Olivier. Onderwerp: in overleg met den practicant te kiezen, hetzij organisch-synthetisch of kinetisch, of wel op het gebied der zuivel- of suikerchemie. Schriftelijke aanmelding bij Prof. Olivier en bij de Commissie T. & C., Keizersgracht 732, Amsterdam.

B. Anorg.-chem. lab. der Universiteit, Hugo de Grootstraat 27, Leiden. Directeur: Prof. Dr. A. E. van Arkel. Onderwerp: algemeene problemen der ionentheorie, speciaal niet-waterige oplossingen. Afdeling Dr. W. P. Jorissen; onderwerpen: explosieve reacties, autoxydatie, geïnduceerde oxydatie. Schriftelijke aanmelding bij Prof. van Arkel, resp. Dr. Jorissen en bij de Commissie T. & C.

E. Histologisch lab. der Gemeentelijke Universiteit van Amsterdam, Sarphatistraat 108, Directeur: Prof. Dr. G. C. Heringa. Onderwerp: gedrag van kleurstoffen aan weefseloppervlakken en grensvlakken. Schriftelijke aanmelding bij Prof. Heringa en bij de Commissie T. & C.

F. Militaire Bedrijven (o.a. wasscherij) te Woerden. Directeur Centrale Militaire Magazijnen, Amsterdam. Onderwerp: leertijd in het bedrijf en medewerken aan proefnemingen. Schriftelijke aanmelding bij den Kapitein J. T. Smeets, Sarphatistr. 110, Amsterdam, en bij de Commissie T. & C.

H. Laboratorium voor technische botanie, Poortlandtlaan 67, Delft. Onderwerp: Anisotrope zwelling. Schriftelijke aanmelding bij Prof. G. van Iterson Jr., Delft.

I. Rijksinstituut voor Brandstoffeneconomie, J. P. Coenstraat 13, den Haag. Directeur: Ir. F. G. J. M. Wirtz. Onderwerp: Bureauwerk, literatuurstudie, laboratoriumonderzoek en inspecties. Schriftelijke aanmelding bij den Directeur en bij de Commissie T. & C.

J. Laboratorium der Nederlandsche Handels-Hoogeschool, Pieter de Hoochweg 122, Rotterdam. Medisch-chemisch onderwerp, verband houdende met de vetstofwisseling. Schriftelijke aanmelding bij Prof. Dr. P. E. Verkade en bij de Comm. T. & C.

K. Scheikundig laboratorium der Koninklijke Militaire Academie, Singelstraat 10, Breda. Onderwerp in overleg te kiezen, betrekking hebbende op: explosieve stoffen, metaalligates, smeermiddelen, water, mortels, verfstoffen. Schriftelijke aanmelding bij Prof. Ir. W. Th. Clous en bij de Commissie T. & C.

L. Laboratorium voor org. scheikunde der technische Hoogeschool, Westvest 9, Delft. Directeur: Prof. Dr. Ir. J. Böeseken. Onderwerp: In overleg met den practicant te kiezen op het gebied der organische scheikunde. Schriftelijke aanmelding bij Prof. Böeseken en bij de Commissie T. & C.

M. Proefstation voor de klei-industrie, Lange Tiendeweg 79, Gouda. Directeur: Dr. K. Zimmerman. Onderwerp: Voortzetting van een onderzoek over invloeden van vermageringsmiddelen bij baksteenfabricage en bestudeering van verweering van baksteen. Schriftelijke aanmelding bij Ir. H. W. Mauser, Julianalaan 20, Delft, en bij Dr. K. Zimmermann.

Bovendien zoekt de Commissie T. & C. een werklozen chemicus, die zich te Amsterdam als administrateur belasten wil met de behartiging van al hare loopende bureauwerkzaamheden.

Aan leiders van laboratoria, die plaatsen voor practicanten beschikbaar willen stellen, wordt verzocht dit aan de Commissie te melden onder inzending van een bericht ter opneming in deze rubriek.

576.809.7

DE IMMUNOLOGIE EN HAAR AANKNOOPINGSPUNTEN MET DE CHEMIE

door

L. E. DEN DOOREN DE JONG.

Inleiding.

H. Gideon Wells begint zijn boek „The Chemical Aspects of Immunity”¹⁾ met de uiteenzetting, dat immuniteitsreacties — processen, waarmede het levende organisme zichzelf tegen de chemische aanvallen van zijn vijanden verdedigt en waardoor het in staat is in een omgeving van zulke vijanden te bestaan — chemische reacties zijn. De gevormde substanties zijn het product van de chemische activiteit van het levende weefsel. Practisch gesproken is onze kennis der reageerende stoffen slechts tot die van hun werkingen beperkt en daardoor staat de chemie van de immuniteit op dezelfde basis als die van de enzymen. Hoe beperkt deze kennis ook is, de immuunreacties hebben een niet te onderschatten beteekenis voor vele problemen der chemie gekregen. Zij stellen ons in de gelegenheid de aanwezigheid van uiterst kleine proteïnehoeveelheden in mengsels van groote samengesteldheid aan te toonen en hiervan eigenschappen aan het licht te brengen, die door geen andere bekende chemische middelen nauwkeurig vast te stellen zijn. Zij staan ons toe uit te maken, van welke diersoort een kleine bloedvlek of een stukje vleesch afkomstig is, of een meelmonster een andere dan de aangegeven soort plantenmateriaal bevat, enz.

De immunologie berust in hoofdzaak hierop, dat men bij een proefdier herhaaldelijk en met tusschenpoozen een daartoe geschikte stof inspuit en in vivo of in vitro de reacties met de in het dierlijk lichaam gevormde stof bestudeert. Ten overvloed worden hier nog eens enkele definities gegeven van de in deze verhandeling te gebruiken termen en reacties.

*Antigenen*²⁾. Zooals het woord zegt zijn dit substanties, welke onder bepaalde voorwaarden in het dier ingespoten, dit ertoe dwingen stoffen te vormen, die zich *specifiek* met deze antigenen kunnen binden; antigenen wekken de vorming van antistoffen op. Zooals later uitvoerig te bespreken, bezitten niet alle vreemde verbindingen het vermogen antistoffen op te wekken (alcohol, alcaloïden, suikers en zelfs polysacchariden en lipoïden zijn niet antigenen).

Haptenen. Substanties, welke met antistoffen kunnen reageren, zonder deze evenwel te kunnen opwekken. Men onderscheidt: eenvoudige haptenen, welke reageren met antistoffen zonder precipitaatvorming; en complex-haptenen, welke dit doen met praecipitaatvorming.

Antistoffen (Antikörper, Antibody, Anticorps). Dit zijn agentien, welke in het bloed van geïmmuniseerde dieren ontstaan en de eigenschap bezitten met het tot immunisering gebruikte antigeen *specifiek* te reageren. Zooals later uitvoerig zal worden

behandeld hebben wij geen kennis van hun wezen, wij kennen hen slechts aan hun werkingen.

Zij kunnen door verschillende reacties worden geïdentificeerd, waarvan ik er hier echter slechts twee uitvoerig wil definieeren n.l.:

10. *Praecipitine-reacties*. Wanneer het antigeen (praecipitinogeen) oplosbaar is, zal het met het antiserum (het praecipitine-bevattend bloedserum van het geïmmuniseerde dier) tot de vorming van een neerslag aanleiding geven.

20. *Agglutinine-reacties*. Wanneer het antigeen (agglutinogeen) niet opgelost is, maar uit zichtbare deeltjes bestaat (bijv. bacteriën, roode bloedlichaampjes en andere cellen) dan zullen deze deeltjes onder den invloed van het antiserum (agglutinine-bevattend) aan elkander gaan hangen en vlokjes vormen, welke meestal neerslaan. Deze beide reacties zijn ten nauwste verwant, het verschil berust op de grootte van het colloïdale complex van het antigeen.

De overige reacties, n.l. toxine-antitoxine-binding, anaphylaxie en lysis zullen hier slechts bij uitzondering ter sprake worden gebracht, hun wezen is vooral wat de anaphylaxie betreft nog duister³⁾, wij zullen ons daarom zooveel mogelijk beperken tot de eerstgenoemde reacties, welke verreweg het begrijpelijkst zijn. Alleen zij hier nog medegedeeld, dat verbindingen zooals arsenicum en morphine geen antitoxine-vorming opwekken.

Alvorens over te gaan tot de behandeling van chemische ingrepen in het antigeen en de door deze antigenen opgewekte antistoffen, zij eerst een uiteenzetting gegeven over de natuurlijke antigenen, hun antistoffen en hun binding.

I. *Serologische reacties met natuurlijke verbindingen.*

De Antigenen. Zooals in de inleiding is medegedeeld, is een stof alleen dan een antigeen, indien ze antistoffen kan *opwekken*, want het is onvoldoende, als een stof uitsluitend ermede reageert. Stoffen, welke zich gedragen als deze laatsten heeten haptenen en het gemis aan inzicht in het verschil tusschen deze twee begrippen is vooral in vroegere jaren aanleiding geweest tot verkeerde opvattingen. Ten onrechte zijn daardoor de lipoïden langen tijd als antigenen beschouwd.

Om zijn werking uit te oefenen, moet het antigeen de epitheliale lichaamsoppervlakte doordringen. De oppervlakte der huid, der spijsverteringskanalen en waarschijnlijk ook de placenta is een bijna volkomen barrière tegen het indringen van vreemde proteïnen. Zoo is bijv. het slangengif onschadelijk indien het in het darmkanaal gebracht wordt⁴⁾.

Antigenen zijn ten eerste practisch gesproken steeds proteïnen, in tegenstelling met de bacteriële polysacchariden en de lipoïden, welke haptenen zijn. De voornaamste antigene eiwitverbindingen

¹⁾ The Chemical Catalog Company, New York, 1929; vertaald in het Duitsch onder den titel: Die chemischen Anschauungen über Immunitätsvorgänge door R. Wigand (Jena, Fischer, 1932).

²⁾ Dit woord wordt ook als bijvoeglijk naamwoord gebruikt, bijv. antigene eigenschappen.

³⁾ Zelfs de toxine-antitoxine-binding is veel minder eenvoudig dan men vroeger wel aannam; zij volgt niet de wet der multiple proporties. Wanneer de reageerende stoffen in fracties bij elkander worden gebracht is er voor neutralisatie meer antitoxine noodig dan bij plotselinge menging (Danysz-effect). Het bij de lysis een integreerende rol spelende complement is een in wezen volkomen onbegrijpelijk stof, als het nog een stof is!

⁴⁾ Toch is het nog de vraag, of het darmkanaal inderdaad geheel ondoorlaatbaar is voor antigenen. Het is niet onmogelijk, dat de zgn. normaal agglutinen hieraan hun ontstaan danken.

welke in de natuur voorkomen zijn de nucleoproteïden, de glycoproteïden en het haemoglobine. Daarentegen zijn de histonen, de protaminen en het nucleïnezuur niet-antigeen en zelfs het nucleïne, dat uit de laatste verbinding is opgebouwd.

Ten tweede zijn antigenen steeds oplosbaar; coagulatie, bijv. door verhitting, doet — tenzij reversibel — dit vermogen verloren gaan. Caseïne daarentegen, dat bij verhitting niet coaguleert, behoudt zijn antigene werking.

Ten derde bevatten zij aromatische radicalen. Gelatine, dat deze radicalen (in het bijzonder tryptophaan en tyrosine) niet of practisch niet bevat, heeft daardoor geen antigene eigenschappen.

Ten vierde bezitten zij een colloïdale structuur, hebben m.a.w. groote moleculaire afmetingen. Bij afbraak van het proteïne-molecule verliest dit geleidelijk zijn antigene eigenschappen, men kent evenwel niet het stadium van afbraak waarbij dit begint. Zeker is het, dat de aminozuren niet-antigeen zijn ⁵⁾.

Ten vijfde zijn uiterst geringe hoeveelheden van een antigeen voldoende om antistoffen op te wekken. De proteïnen afkomstig van de bacteriën gegroeid in eenige cm³ gedestilleerd water zijn voldoende, om tot krachtige antistofproductie aanleiding te geven.

Ten zesde is zeer belangrijk, dat proteïnen, eigen aan het in te spuiten dier (homologe proteïnen) begrijpelijkerwijs nimmer aanleiding geven tot antistofproductie ⁶⁾.

Eiwitvrije polysacchariden zijn, zooals reeds is medegedeeld niet-antigeen. Toch is het a priori niet uitgesloten, dat toch nog eens verbindingen worden gevonden, welke deze eigenschap wel bezitten. Dit zelfde geldt voor de lipoiden en dit is des te beter te begrijpen, daar deze verbindingen bij de meest verschillende dieren identiek, dus niet soortvreemd zijn. Ook hier blijft de mogelijkheid bestaan dat er nog eens (bacteriën) lipoiden worden gevonden, welke voldoende soortvreemd zijn om antistoffen op te wekken. Zekerheid aangaande deze gelegenheid bestaat niet, daar het zeer moeilijk is deze stoffen volkomen zuiver (proteïne-vrij) te bereiden, eveneens een oorzaak van veel verwarring.

Wanneer men realiseert, dat proteïnen uit complexen van 20 verschillende aminozuren bestaan en dat hieruit volgens Abderhalden minstens 2.4 trillioen verschillende verbindingen gevormd zouden kunnen worden, dan is dit feit een sterke steun voor de hypothese, dat de duizelingwekkende verscheidenheid der immunreacties in hoofdzaak berust op de chemische structuur dezer verbindingen ⁷⁾ eventueel gewijzigd door koolhydraat en lipoidcomplexen.

⁵⁾ Zinnser neemt aan, dat het dierlijk organisme dan alleen antistoffen vormt, wanneer het niet in staat is vreemde stoffen in de cel onschadelijk te maken, zooals het geval is met diffundabele verbindingen, welke een klein molecule bezitten.

⁶⁾ De overgevoeligheid van personen voor eenvoudige verbindingen zooals jodium, kwikzalf, formaldehyde etc. is te verklaren door aan te nemen, dat deze stoffen verbindingen aangaan met het lichaamsproteïne, die vreemd genoeg zijn voor het opwekken van antistoffen. (Zie hiervoor het hst. over kunstmatige complexantigenen).

⁷⁾ In zeker opzicht is deze voorstelling niet geheel juist meer; zooals uit het hiernavolgende zal blijken hebben nieuwere onderzoekingen geleerd, dat het uitsluitend de oppervlakte der antigenen is, welke hieraan de immunologische specificiteit verleen, zoodat slechts het aan de oppervlakte liggende gedeelte der proteïnen hun invloed kan doen gelden.

Tegen dit standpunt, dat vooral door Landsteiner is gepropageerd, werden door Pick bezwaren aangevoerd; volgens hem zouden fysisch-chemische factoren de specificiteit verklaren. Hiertegen kan o.a. worden aangevoerd, dat alle fysische veranderingen waarschijnlijk met chemische veranderingen zijn verbonden, zoodat aan Landsteiner's zienswijze verreweg de voorkeur moet worden gegeven.

Dank zij het verschil in de chemische natuur is het mogelijk om morphologisch, fysiologisch en biochemisch niet te onderscheiden bacteriën zooals die der Paratyphus, der Botulinus ⁸⁾ en der Pneumococcen-groep door middel van serologische reacties (agglutinatie, complementbinding) te differentieeren, want geheel tegen de verwachting in is de chemische structuur der eencellige micro-organismen op zijn minst genomen even complex, zoo niet samengestelder dan van de afzonderlijke cellen der hogere organismen. Bij gisten, schimmels en de enkele bacteriënsoorten, welke men geanalyseerd heeft (in het bijzonder *Mycob. tuberculosis* ⁹⁾) zijn alle aminozuren van het dieren- en plantenrijk gevonden. Zij zijn niet eenvoudiger, wanneer men van het cystine afziet.

Het immunologisch onderzoek van de proteïnen, voorkomende bij de hogere organismen heeft aan het licht gebracht:

10. dat naast elkander *verschillende* gemakkelijk onderling differentieerbare antigenen kunnen voorkomen; in het kippenei kunnen met behulp van de anaphylactische reactie vijf verschillende antigenen worden aangetoond, overeenkomend met vijf chemisch te onderscheiden proteïnen; in melk is caseïne chemisch en immunologisch van de andere daarin voorkomende proteïnen te onderscheiden.

20. dat een *gemeenschappelijk* antigeen bij vele en zeer ver van elkander staande diersoorten wordt aangetroffen; zoo komen in de kristal-lens van alle dieren proteïnen voor, welke bij alle soorten dezelfde zijn, dit is ook het geval met het albumine van het ei-eiwit en met de caseïne.

De Antistoffen. Over de chemische structuur van de antistoffen is men spoedig uitgesproken, deze is nog volkomen duister, daar zij tot nu toe niet vrij van begeleidende substanties konden worden geïsoleerd en de zuiverste praeparaten slechts spoortjes ervan bevatten ¹⁰⁾. Evenals de enzymen worden zij meer herkend door hetgeen zij doen, dan door wat zij zijn.

Wat hun ontstaan betreft meen ik goed te doen de zinsnede te citeeren voorkomende op pag. 70 van het in 1933 verschenen boek van K. Landsteiner, „Die Spezifität der serologischen Reaktionen“, n.l. „Die Entstehung spezifischer Immunseren nach der Einführung beliebiger immunisierenden Stoffe ist ein Rätsel, von dessen Auflösung man fast ebenso weit entfernt ist als zur Zeit der ersten Entdeckung dieses vitalen Vorganges“.

⁸⁾ Hiervan zijn de toxinen zoo verschillend als die van *C. tetani* en *Cor. diphtheriae*.

⁹⁾ Zie hiervoor Wells en Long, The chemistry of tuberculosis (1932).

¹⁰⁾ Door adsorptie aan bloedstromata en elutie in alkalische oplossing konden von Euler en Brunius den zuiveringsgraad van haemolysinen tot op het driehonderdvoudige doen stijgen, zoodat $\pm 10^{-4}$ mg van het gezuiverde praeparaat na complement-toevoeging 0.025 cm³ schapebloed oplosten.

Tabel I (Tabel 11 van Landsteiner ¹⁴⁾).

Immuunsera bereid met behulp van de azoproteïnen dezer verbindingen	Antigenen											
	Aniline.	o-Amino- benzozuur.	Amino-m- toluylzuur.	m-Amino- benzozuur.	Amino-o- toluylzuur.	2-Amino-p- toluylzuur.	4-Chloor-3- amino- benzozuur.	4-Broom-3- amino- benzozuur.	p-Amino- benzozuur.	o-Amino- kaneelzuur.	m-Amino- kaneelzuur.	p-Amino- kaneelzuur.
Aniline	+++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
o-Aminobenzoëzuur	0	+++	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0
m-Aminobenzoëzuur	0	0	0	++++	0	0	0	0	0	0	0	0
2-Amino-p-toluylzuur	0	0	0	0	0	++	++	++	0	0	0	0
4-Chloor-3-aminobenzoëzuur	0	0	0	+++	0	+++	++++	++++	0	0	0	0
4-Broom-3-aminobenzoëzuur	0	0	0	0	0	++	+++	++	0	0	0	0
p-Aminobenzoëzuur	0	0	0	0	0	0	0	0	+++±	0	0	0
o-Aminokaneelzuur	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+++	0	0
m-Aminokaneelzuur	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+++±	0
p-Aminokaneelzuur	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+
o-Aminobenzolsulfonzuur	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4-Broom-anilin-sulfonzuur-(2)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
m-Aminobenzolsulfonzuur	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4-Amino-toluol-sulfonzuur-(2)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4-Chloor-aniline-sulfonzuur-(3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1,3-Dimethyl-6-amino-benzolsulfonzuur-(4)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
p-Aminobenzolsulfonzuur	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6-Amino-toluol-sulfonzuur-(3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5-Broom-6-amino-toluol-sulfonzuur-(3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Naphthionzuur	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Aminoazobenzoldisulfonzuur	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
p-Arsanilzuur	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Antigeenconcentratie 0.01 %.

Het is evenwel niet onwaarschijnlijk, dat de plaats van hun ontstaan hoofdzakelijk in het reticulo-endotheliale-systeem ¹¹⁾ moet worden gezocht, blokkeering door O.-I. inkt en andere colloïden heeft althans een sterk belemmerende invloed op hun vorming.

Wat de eigenschappen der antistoffen betreft, zij volstaan met de vermelding, dat zij bij filtratie door ontkiemingsfilters geheel of ten deele worden tegengehouden, bij 60° C reeds worden beschadigd en dat zuren, alkaliën en bestraling met ultra-violet licht een vernietigenden invloed uitoefenen.

Immunologisch worden zij onderscheiden in stoffen, welke den colloïdalen toestand veranderen door samenklontering der colloïden (agglutinatie en praecipitatie) of door vergroting der dispersie, zooals bij de lysis het geval is (waarschijnlijk berusten deze verschillende reacties op de werking van één en dezelfde antistof) en in stoffen, welke een neutraliserende werking bezitten, zooals de antitoxinen ten opzichte van de toxinen. Het is niet uitgesloten, dat ook de antitoxinen bij de eerstgenoemde groep moeten worden gerekend. Aanhangers van deze unitaire theorie zijn o. a. Friedberger, Zinnser, Dean en Nicolle. Hierop en op de daartegen ingebrachte bezwaren kan niet worden ingegaan.

Wel zij hier bezwaar gemaakt tegen de hypothese van verscheiden onderzoekers, dat antistoffen veranderde antigenen zouden zijn. Immers doet vergaande aderlating van het proefdier niet alleen de verloren gegane antistoffen aanvullen, maar zelfs op sterke wijze vermeerderen, hetgeen het tegendeel is van hetgeen men in het door hen veronderstelde geval zou verwachten. Bij immunisering met een arseen-

houdend eiwit-paraat, werd in het immuun-serum geen arseen gevonden, evenzoo bij immunisatie met kleurstofhoudend antigeen. Volgens Landsteiner blijft slechts het synthetische vermogen van het dierlijk lichaam als eenige mogelijkheid over.

De antigeen-antistofreactie, in het bijzonder de agglutinatie. Als voorbeeld beschouwen wij de gedragingen van een bacteriënsuspensie onder invloed van het normale serum, het heterologe en het homologe immuunserum.

Zooals bekend, blijft een bacteriënsuspensie in fysiologisch water langen tijd stabiel. Zij dankt dezen toestand aan de afstootende werking der bacteriën onderling. Deze werking gaat uit van de negatieve lading der bacteriën ¹²⁾ en van Brown's beweging. Er zijn ook invloeden, welke deze stabiliteit tegenwerken, dit is naast de werking van de zwaartekracht de cohesie der deeltjes, die door middel van de grensvlakspanning de uitvloeking mogelijk maakt. Onder normale omstandigheden, dus bij afwezigheid van actieve sera, zijn laatstgenoemde werkingen te zwak om op de stabiliteit van de bacteriënsuspensie invloed uit te oefenen.

Nu is gebleken, dat waterige bacteriënsuspensies door electrolyten kunnen worden neergeslagen. Werkzaam is slechts het kation. Maar van de eenwaardige kationen is behalve het waterstof-ion slechts het zilver-ion werkzaam. Het natrium-ion van de fysiologische zoutoplossing oefent dus onder normale omstandigheden geen agglutineerende werking op de bacteriënsuspensie uit. Zij gedraagt zich als een stabiel hydrofiel colloïd.

Nu doet zich het wonderlijke verschijnsel voor, dat toevoeging van normaal serum, zelfs in betrekkelijk

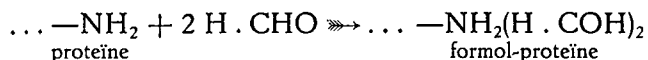
¹¹⁾ Een systeem van functioneel bij elkander behorende mesenchymcellen, welke zure kleurstoffen, colloïdale en grootere deeltjes (bloedcellen, bacteriën, enz.) gemakkelijk en sterk adsorberen. Hiertoe behoren o. a. celgroepen van de milt, het beenmerg, enz.

¹²⁾ Bacteriën hebben de eigenschap negatief geladen ionen op te nemen; het is echter volkomen onbekend, waaraan zij dit vermogen ontleenen.

(fermentwerking, behandeling met zuren en alkaliën). Het was daarom van groot belang, toen in 1903 Obermayer en Pick, die de aromatische kernen der proteïnen als de dragers van de specificiteit beschouwden, methodes vonden, waarbij door chemische ingrepen, welke de immuniseerende eigenschappen intact hielden, karakteristieke veranderingen in de specificiteit der antigenen werden verkregen. Met behulp van de praecipitatie-reactie vonden zij, dat, indien men eiwitten laat reageren met stoffen als jodium, salpeterigzuur en salpeterzuur (waarvan men weet, dat zij in den benzolring treden), men antigenen verkrijgt, waarmee men specifieke antisera kan bereiden. De soortspecificiteit van het antigeen ging daarmee meestal verloren, dus de oorspronkelijke eiwitten werden niet meer gepraecipiteerd. Het antiserum van geïodeerd paardenserum gaf ook positieve reacties met geïodeerd konijnenserumeiwit en met geïodeerd eiwit, maar niet meer met genitreeid proteïne-antigeen. De invoering der jodium- en nitro-groepen en hun plaats in den benzolring werd voornamelijk beschouwd als de oorzaak van de verandering der specificiteit.

Toch is de hier beschreven behandeling der proteïnen te drastisch om het resultaat van de inwerking dezer chemicaliën te overzien; immers kan behalve de chemische werking op de aromatische kernen van het proteïne, ook de wijziging van de geheele structuur van het eiwitmolecule plaats vinden, daar zowel jodium als salpeterzuur ook een oxydeerende werking kunnen uitoefenen.

Deze proefnemingen werden voortgezet door Landsteiner en zijn scheikundige medewerkers. Door behandeling van proteïnen met formaldehyde, dat op de vrije amino-groepen dezer verbindingen werkt, volgens de formule:

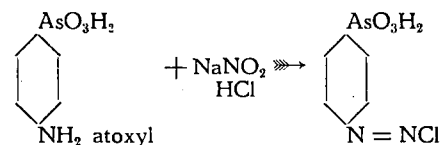


kreeg hij antisera, welke in tegenstelling met de bovenbeschrevene niet alleen specifiek waren voor de formolproteïnen, maar tevens hun soortspecificiteit nog grootendeels hadden behouden.

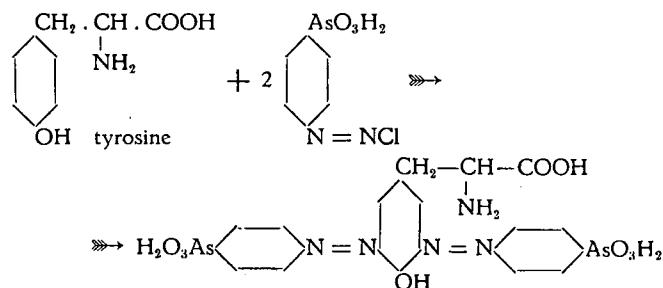
Ook voerde hij door behandeling van eiwitten met anhydriden of chloriden van verschillende zuren (boter- en isoboterzuur, mono, di- en trichloorazijnzuur, anijs- en kaneelzuur) hierin acylgroepen in. De onderscheiden substanties waren serologisch duidelijk te onderkennen en vertoonden zelfs verwantschapsreacties bij chemisch gelijkende zuurradicalen. Hoewel deze methodiek een verbetering beteekende, kleefden er toch nog theoretische en praktische bezwaren aan.

Landsteiner gooide het daarop over een anderen boeg. Het bleek, dat de door Pauli beschreven koppeling van proteïnen met diazolichamen een gemakkelijk uitvoerbare methode tot bereiding van complexantigenen was, welke de genoemde bezwaren niet had en bij al zijn latere onderzoekingen paste hij uitsluitend deze reactie toe.

Wanneer wij als voorbeeld van een in te voeren groep het atoxyl nemen (p-amino-phenyl-arsenigzuur) en dit mengen met natriumnitriet en zoutzuur, dan heeft de diazoteeringsreactie plaats volgens de vergelijking:



Zooals bekend is, heeft de gevormde diazogroep het vermogen zich te koppelen met aromatische substanties welke een hydroxylgroep in den benzolring bezitten, waarbij een azo-kleurstof ontstaat. Wanneer wij voor de aromatische substanties het tyrosine (p-phenyl-amino-propionzuur) nemen, dan heeft de volgende reactie plaats:



Wanneer gediazoteerd atoxyl wordt gemengd met een proteïne in alkalische oplossing, dan verbindt het zich naar alle waarschijnlijkheid met de tyrosine- en histidine-groepen van het proteïne en vormt ook nu een kleurstof (rood in alkalisch, geel in zuur milieu). Een dergelijke verbinding werd door Landsteiner een atoxyl-azo-proteïne genoemd en de ingevoerde groep een (eenvoudig) hapteen of zooals in de Engelsche literatuur gebruikelijk, een determinant-groep. Uit de analytische gegevens kan men berekenen, dat bijv. een molecule serumalbumine onder aanneming van een moleculairgewicht van 60—70000 ongeveer 20 tyrosine- en meer dan 10 histidine-resten bevat. Wanneer alle beschikbare plaatsen in beslag zijn genomen, is in de azoproteïnen het eiwit met talrijke vreemde groepen bezet, maar toch kan de belading geringer zijn, zonder dat daardoor de reactiviteit wordt opgeheven.

Door deze koppeling krijgt het eiwit een nieuw immunologisch karakter. Het geeft slechts zwakke reacties met immuunsera voor het onveranderde eiwit en roept bij konijnen de vorming van antistoffen op, ook wanneer zij uit het serum van deze diersoort zijn bereid. Zooals later duidelijk zal blijken, zijn het de ingevoerde groepen, de hapteneën, welke zich met de antistoffen verbinden en niet de bestanddeelen van het eiwit-molecule. Tevens bepalen deze hapteneën de specificiteit. De proteïnen fungeeren slechts als dragers van de specifiek reagerende azo-componenten, zij verschaffen dezen verbindingen slechts het colloïdale karakter, dat nu eenmaal voor de opwekking van antistoffen noodig is. Zooals hieronder blijkt, heeft de aard van het proteïne practisch geen betekenis meer voor de specificiteit, met andere woorden, het is eigenlijk de oppervlakte van de antigenen, die hieraan het specifieke karakter geeft. Dit zal later nog duidelijker blijken bij de behandeling van de kapsels der bacteriën.

Van de hier behandelde verbinding kan op de volgende wijzen het nieuwe immunologische karakter worden aangetoond:

a. het serum van een konijn geïmmuniseerd met een atoxyl-azoproteïne geeft een praecipitaat met dit proteïne en met andere proteïnen gekoppeld met

atoxyl, maar niet met een proteïne gekoppeld met gediazoteerd sulfanilzuur.

b. een cavia gesensibiliseerd met een atoxyl-azo-proteïne geeft een anaphylactische shock ¹³⁾ bij injectie met hetzelfde en met een ander atoxyl-azo-proteïne.

Op volkomen dezelfde wijze als het atoxyl kunnen ook de andere verbindingen met een amino-groep worden gediazoteerd en vervolgens gekoppeld met een proteïne en met het antiserum van deze verbinding praecipitine-reacties worden uitgevoerd.

Aromatische verbindingen. Landsteiner onderzocht in de eerste plaats 35 antigenen opgebouwd uit 35 verschillende aromatische zuren gekoppeld aan proteïne t.o.v. 23 antisera bereid met een deel dezer verbindingen.

Uit tabel I ¹⁴⁾ blijkt, dat immuunsera het sterkst, in verschillende gevallen uitsluitend, het homologe antigeen praecipiteerden; de optredende groeppreacties vertoonden bepaalde regelmatigheden. Van doorslaggevend invloed is in de eerste plaats de soort van zuurgroepen. De sulfonzuur-immuunsera reageerden met verschillende sulfonzuren, maar niet met carbonzuur-antigeen en de carbonzuur-immuunsera slechts bij uitzondering duidelijk met de een sulfonzuurgroep bevattende azoproteïnen. Nog meer uitgesproken was de determineerende invloed van de arsine-zuurrest, hetgeen daaruit bleek, dat het arsinezuur-serum alle zes onderzochte substanties met arsinezuur-radicalen en geen van de andere antigenen praecipiteerde.

Ook werden een groot aantal aniline-derivaten en verwante verbindingen onderzocht, welke dus geen zuurgroep bevatten.

Uit tabel II blijkt, dat bij vergelijking met de zuurgroepen (zie tabel I) de substitutie van de aromatische kern door methylhalogenen, methoxyl- en nitro-groepen van geringen invloed is op de specificiteit. Zoo werken in deze tabel de immuunsera in verschillende intensiteit op bijna alle antigenen met enkelvoudig of tweevoudig gesubstitueerde benzolkern. Nitro en methoxyl schenen de specificiteit wat meer te veranderen dan halogeen en methyl. Opvallende uitzonderingen vormden de carboxylgroep-bevattende resten $-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}_3$ en $-\text{CO}-\text{CH}_3$, daar deze uit acetyl-p-phenyleendiamine en p-amino-acetophenon bereide antigenen met de sera geen of slechts geringe praecipitaten gaven.

Een vergelijkend overzicht tusschen de tabellen I en II geeft de volgende tabel.

Tabel III geeft nog eens de belangrijke invloed van de zuurgroepen te zien; de „aniline-sera” praecipiteeren *niet* de antigenen met zuurgroepen en de immuunsera van zuur-azo-proteïnen geven met de „neutrale aniline” antigenen negatieve of zeer zwakke reacties.

Tevens blijkt uit deze tabel en ook uit tabel I het zeer merkwaardige feit, dat in het immuunserum als het ware de relatieve plaats van de zuurresten ten opzichte van de azogroep wordt afgedrukt; deze

¹³⁾ Heftige reactieverschijnselen welke kunnen optreden, wanneer een dier na een voorbehandeling met een vreemd eiwit eenigen tijd later weer hiermede wordt ingespoten.

¹⁴⁾ Die Spezifität der serologischen Reaktionen (1933). Hierbij beteekent 0 geen praecipitatie; $\pm$ spoor; $\pm$, +, ++, +++ enz. steeds sterker neerslagen.

Tabel II (Tabel 12 van Landsteiner).

Immuunsera	Antigenen uit															
	Aniline.	o-Toluidine.	o-Anisidine.	o-Nitroaniline.	o-Chlooraniline.	m-Toluidine.	m-Nitroaniline.	m-Chlooraniline.	m-Broomaniline.	p-Toluidine.	p-Anisidine.	p-Nitroaniline.	p-Chlooraniline.	p-Broomaniline.	p-Ioodaniline.	3-Nitro-4-methylaniline.
Aniline	++	++	++	+	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	+
o-Chlooraniline.	++	++	++	+	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	+
p-Toluidine	++	++	++	+	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	+
p-Nitroaniline	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
p-Chlooraniline.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Acetyl-p-phenyleendiamine.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
p-Xylidine.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Asymm. m. xylidine.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2-methylaniline.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4-Nitro-2-methylaniline.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4-methylaniline.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Monometh-p-phenyleendiamine.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
p-Amino-acetophenon.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Antigeneconcentratie: 0.01%.

Tabel III. (Tabel 13 van Landsteiner).

Immuunsera.	Antigenen uit									
	p-Amino- benzozuur.	m-Amino- benzozuur.	o-Amino- benzozuur.	p-Arsanil- zuur.	Sulfanil- zuur.	o-Amino- kaneelzuur.	Aniline.	p-Nitro- aniline.	p-Toluidine.	m-Toluidine.
p-Aminobenzoëzuur.	+++	±	0	0	0	0	0	0	0	0
o-Aminobenzoëzuur.	0	0	++	0	0	0	±	±		±
p-Arsanilzuur.	0	0	0	++++	0	0	0	0		±
Aniline.	0	0	0	0	0	0	+++	+	±±	+++
p-Nitroaniline.	0	0	0	0	0	0	+	±±	+	+
p-Toluidine.	0	0	0	0	0	0	++	±±	+++	±±

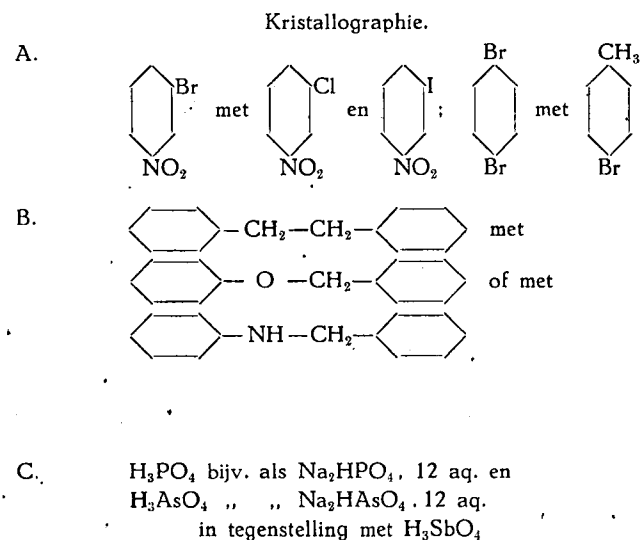
Antigeenconcentratie: 0.01 %.

blijkt voor de specificiteit en voor het intreden van verwantschapsreacties beslissend. Het para-serum reageert n.l. niet met het overeenkomstige ortho- en zwak met het meta-antigeen; het o-serum uitsluitend met het o- en niet met het p- en m-antigeen; het m-serum practisch uitsluitend met het m-antigeen. Zelfs reageert het o-aminobenzoezuurserum even sterk op het homologue als op het o-amino-benzol-sulfonzuur-antigeen, ondanks het verschil in zuur-groep.

Zoals uit het voorafgaande — zie tabel II — is gebleken, oefent de invoer van halogeen, methyl- en nitro-groepen practisch geen invloed uit op de specificiteit. Het is dus voor het antigeen onverschillig of het door een chlooraniline, toluidine, of een nitroaniline-houdend serum wordt neergeslagen. De verschillende haptenen worden dus even sterk door eenzelfde antistof gebonden.

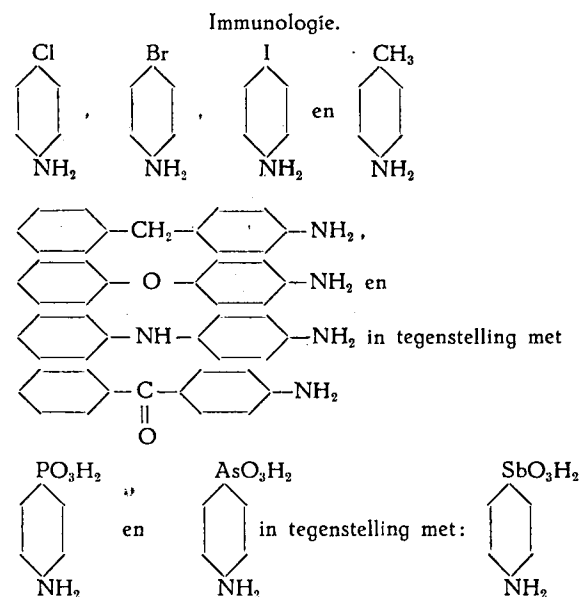
Marrack¹⁵⁾ zegt hiervan dat een dergelijk resultaat alleen het gevolg kan zijn van intramoleculaire krachten. Het specifieke karakter zou dus moeten worden toegeschreven: 1. aan een overeenkomstige distributie van polaire velden om het haptene en om de antistof en 2. aan zuiver ruimtelijke gelijkwaardigheden (considerations).

Dit nu zijn dezelfde factoren die de specifieke selectie van de moleculen die een kristal opbouwen bepalen en het waren Erlenmeijer en Berger die het eerst op de immunologische aequivalentie van dergelijke atomen of radicalen, zooals ze onderling in kristallen vervangbaar zijn, de aandacht hebben gevestigd. Ter toelichting volgt hieronder een opsomming van verbindingen, waarvan in de linker kolom degenen zijn geplaatst welke mengkristallen kunnen vormen en in de rechter kolom daaraan nauwverwante verbindingen, welke als haptene immunologisch aequivalent zijn:



Verbindingen met alifatische zijketens. De azopropteïne-methode kon ook op alifatische verbindingen worden toegepast. Daartoe werden tweebasische alifatische zuren met nitro-aniline versmolten en de zoo gevormde nitro-anilzuren na reductie der nitro-groepen en diazoteering met eiwit gekoppeld.

Zoals tabel IV laat zien, zijn de immuunsera voor de lagere anilzuren (oxanil- en succinanilzuur) zeer specifiek, zoodat de verlenging of verkorting



van de keten met een koolstofatoom een sterke uit-slag geeft, terwijl bij de twee andere immuunsera (adipanil- en suberanilzuur) de reacties veel meer met die der naburige homologen overeenkomen.

Stereo-isomere verbindingen. Gezien de ervaringen

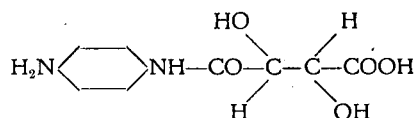
¹⁵⁾ J. R. Marrack, The Chemistry of Antigens and Antibodies, London, 1934, p. 82.

Tabel IV. (Naar tabel 14 van Landsteiner).

Immuunsera	Antigenen uit						
	p-Amino-oxanilzuur	p-Amino-malonilzuur	p-Amino-succinanilzuur	p-Amino-glutaranilzuur	p-Amino-adipaanilzuur	p-Amino-pimelanilzuur	p-Amino-suberanilzuur
p-Amino-oxanilzuur	++	0	0	0	0	0	0
p-Amino-succinanilzuur	0	0	++++	+	0	0	0
p-Amino-adipaanilzuur	0	0	±	+	+++	±±	±±
p-Amino-suberanilzuur	0	0	±	±±	+++	+++±	++++

Antigeenconcentratie: 0,01 %.

door Fischer opgedaan met enzymen ten opzichte van stereo-isomere verbindingen lag het voor de hand dat Landsteiner deze in zijn serologisch onderzoek opnam. De fraaiste resultaten verkreeg hij met de verschillende wijnsteen-zuren. Deze verbindingen kunnen door koppeling met nitro-aniline en daarop volgende reductie in het amino-tartranilzuur worden omgezet n.l.



hetwelk na diazotëering met proteïne kan worden verbonden.

Tabel V. (Tabel 15 van Landsteiner).

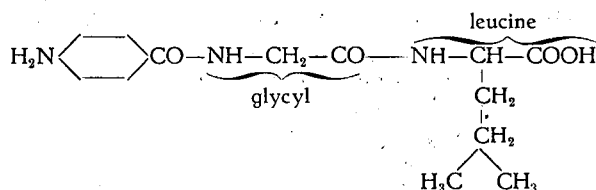
Immuunsera	Antigenen uit					
	l-wijnsteen-zuur	d-wijnsteen-zuur	m-wijnsteen-zuur	l-wijnsteen-zuur	d-wijnsteen-zuur	m-wijnsteen-zuur
l-wijnsteen-zuur	+++	+++	±	0	+	±
d-wijnsteen-zuur	0	0	+++	+++	+	±
m-wijnsteen-zuur	±	±	0	0	+++	+++

Antigeenconcentratie: 1e kolom 0,05 %, 2e kolom 0,01 %.

Hieruit blijkt, dat het l-serum practisch uitsluitend met het l-antigeen reageert en het d-serum met het d-antigeen. Er bestaat dus principieel de mogelijkheid sera evenals fermenten voor de bepaling der configuratie te gebruiken. Het m-wijnsteen-zuur gedraagt zich evenwel t.o.v. de l- en d-sera minder specifiek. Dit kan echter worden verklaard door het verschil in aantal der asymmetrische C-atomen.

Hoewel hierop later wordt teruggekomen, mag ter plaatse wel even worden gewezen op de verbluffende fijnheid waarmede het dierlijk organisme op prikkels reageert, n.l. dat het zelfs in staat is in zijn serum de ruimtelijke configuratie van een antigeen af te drukken!

Peptid-azoproteïnen. Het onderzoek van peptiden werd in behandeling genomen ten einde eenig inzicht te verkrijgen in de specifieke proteïne-reacties. De gebruikte (optisch inactieve) dipeptiden glycyl-glycine, glycyl-leucine, leucyl-glycine en leucyl-leucine werden daartoe genitrobenzoyleerd, de door reductie verkregen amino-verbindingen bijv.:



gediazoteerd en met eiwit gecombineerd.

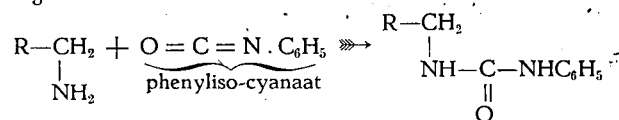
Tabel VI. (Tabel 16 van Landsteiner).

Immuunsera	Antigenen uit			
	Glycyl-glycine	Glycyl-leucine	Leucyl-glycine	Leucyl-leucine
Glycyl-glycine	+++	0	0	0
Glycyl-leucine I	0	+++	0	±
Glycyl-leucine II	±	+++	0	+
Leucyl-glycine I	+	0	+++	0
Leucyl-glycine II	++	0	+++	±
Leucyl-leucine	0	+	0	+++

Antigeenconcentratie: 0,01 %.

Deze tabel laat zien, dat de sera het sterkst het homologe azoproteïne praecipiteeren, daarna volgen zwakkere reacties met het antigeen, dat hetzelfde eindstandige amino-zuur bevat. Wanneer deze onderzoeken met samengestelde polypeptiden zullen worden uitgebreid zal er misschien meer licht komen in de antigene structuur der eiwitten zelf.

Al deze onderzoeken zijn geleid door Landsteiner. Het zou echter een te eenzijdige belichting van het onderwerp zijn, indien niet met een enkel woord de onderzoeken werden vermeld van andere zijde. Hier zij volstaan met de vermelding van de recente onderzoeken van Hopkins en Wormald¹⁶⁾ die een bijzondere eiwitstructuur-sparende methodiek vonden voor de invoer van haptene door middel van de phenyl-iso-cyanaat-methode waarbij deze verbinding zich aan de aminogroep koppelt volgens de formule:



III. Serologische reacties met eenvoudige verbindingen van bekende constitutie.

Terwijl tot nu toe de reactie tussen serum en met eiwit gecombineerde substantie door de vorming van neerslagen werd afgelezen, vond Landsteiner, dat de praecipitatie door immuun-serum afgezwakt of opgeheven werd, wanneer aan het immuunserum te voren de eenvoudige azo-komponent (niet gebonden aan eiwit), dus het eenvoudige hapteen, werd toegevoegd. In dit geval gaf het serum met het azoproteïne geen praecipitatie meer. Deze „Hemmung” (misschien het best te vertalen door belemmering) bleek in het veronderstelde geval volkomen specifiek te zijn. Het groote voordeel dezer methode bestaat in de gemakkelijke wijze waarop talrijke verbindingen kunnen worden onderzocht en in het gemakkelijke optreden van verwantschaps-reacties. De specificiteit bleek geringer bij eenvoudige verbindingen, welke om zoo te zeggen weinig kenmerken bezitten. Met andere, op gecompliceerde structuren (amino-benzoyl-phenylazijnzuur) ingestel-

¹⁶⁾ Biochem. J. 27, 740 (1933).

de immuunsera waren daarentegen de belemmeringen zeer sterk en even specifiek als de corresponderende praecipitine-proefnemingen. De uitspraak van Emil Fischer dat het slechts met eenvoudige sleutels mogelijk is verschillende sloten te openen is hier van toepassing.

Om nog eens een voorbeeld te geven, kan op de volgende wijze de belemmeringsreactie worden gedemonstreerd:

a. Het serum van een konijn, geïmmuniseerd met een atoxyl-azo-proteïne vormt geen praecipitaat met dit proteïne, wanneer er van te voren aan wordt toegevoegd: I. gediazoteerd atoxyl gekoppeld met tyrosine; II. atoxyl zelf in hoge concentratie; III. zelfs arsenigzuur in voldoende hoeveelheid.

b. Een cavia gesensibiliseerd met een atoxyl-azo-proteïne kan tegen een anaphylactische shock worden beschermd door voor de tweede injectie het corresponderende eenvoudige hapteen in te spuiten, dus bijv. atoxyl; sulfanilzuur is dus hier zonder werking.

Het belemmeringsverschijnsel is tevens het exacte bewijs, dat het de haptenen zijn, die zich met de antistoffen koppelen.

Bovendien leeren deze proefnemingen iets over de plaats van het molecule waar het antigeen zich koppelt met de antistof, n.l. daar waar het hapteen aan het proteïne is verbonden.

Landsteiner kon o.a. op de volgende wijzen de belemmeringsreacties demonstreeren:

Uit tabel VII blijkt, dat meestal onafhankelijk van den aard der substituenten (CH_3 , Cl, Br, OH, NO_2) hun plaats in de monogesubstitueerde benzoëzuren met behulp van de drie aminobenzoëzuursera kan worden bepaald en in ieder geval het onderscheid tusschen o- en p-verbindingen aantoonbaar is.

Uit tabel VIII blijkt, dat de praecipitatie van aminosuccinanilzuur begripelijkerwijs door barnsteen- en citraconzuur duidelijk specifiek wordt belemmerd, maar tevens dat ook de beide cis-verbindingen, n.l. maleïne- en citraconzuur belemmeren. Dit wijst erop, dat niet alleen het serum een malenoïde (cis) oriëntatie heeft

(even wonderlijk als die der l- en r-draaiing) maar tevens, dat het deze oriëntatie dankt aan het barnsteen- en citraconzuur, dat oorspronkelijk door gemis aan dubbele binding noch cis, noch trans is.

Tevens konden dergelijke belemmeringsreacties worden verricht met dipeptiden. De specificiteit werd bepaald door de natuur van de beide aminozuren, maar ook hier bleek het terminale aminozuur de principiele factor.

IV. De antigene structuur der bacteriën.

In 1921 toonde Arkwright aan, dat culturen van verschillende pathogene bacteriën (*B. dysenteriae*, *B. paratyphosum*, *B. typhosum* en *B. pseudotuberculosis rodentium*) welke oorspronkelijk glanzende (smooth) koloniën vormden, op den duur koloniën van een ruw (rough) uiterlijk konden opleveren. Later bleek, dat de S-koloniën gemakkelijk suspendabel en tevens virulent waren en dat de R-koloniën samenklonteren bij suspensie, bij groei een sediment vormden en uit bacteriën bestonden, welke avirulent waren. Het was ook hier de antigene structuur der bacteriën, die bij de eene bacterie in den S-, bij de andere in den R-toestand voorkomt.

Nu kreeg het verschijnsel algemeene belangstelling, het werd bij verreweg de meeste pathogene bacteriën¹⁷⁾ waargenomen en het grondigst bestudeerd bij de Pneumococci. Het bleek bij deze microorganismen zeer duidelijk, dat uitsluitend de S-toestand gebonden was aan het bezit van een koolhydraat-kapsel en dat daardoor niet alleen de virulentie, maar ook — zooals in het volgende hoofdstuk uitvoerig te behandelen — de specificiteit werd bepaald. De kapsellooze R-toestand was daarentegen avirulent en niet meer specifiek, zoodat alle R-pneumococci identiek zijn, van welk type zij ook afstammen. Deze onderzoekingen hebben zeer waarschijnlijk gemaakt, dat ook bij bacteriën, welke geen goed waarneembaar kapsel

¹⁷⁾ De tot de familie der Actinomyceten behorende *Myc. tuberculosis* werpt ook R-vormen af, maar deze zijn wel degelijk pathogeen. Bij *Bac. anthracis* en ook bij *Bac. mycoides* (zie: L. E. den Dooren de Jong, Archiv. Mikrobiologie 4, 36 (1933)) gaat de variatie daarentegen in de richting R → S.

Tabel VII (Tabel 18b van Landsteiner).

Immuunsera	Con- trôle	Voor de belemmeringsproef gebruikte verbindingen									Ben- zoëzuur									
		Amino- benzoëzuur o. m. p.			Methyl- benzoëzuur o. m. p.			Chloor- benzoëzuur o. m. p.				Broom- benzoëzuur o. m. p.			Oxy- benzoëzuur o. m. p.			Nitro- benzoëzuur o. m. p.		
o-Amino-benzoëzuur	+±	0	+	+	0	0	+	0	0	+	0	0	0	0	+	+	0	0	+	0
m-Amino-benzoëzuur	++	+	+	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	+	+	+	0	+	+
p-Amino-benzoëzuur I	+±	+	+	0	+	+	+	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+
p-Amino-benzoëzuur II	+++±				+++	+	+	0			+++	+	0				+++	+	0	

Tabel VIII (Tabel 19 van Landsteiner).

Immuunsera	Con- trôle	Voor de belemmeringsproef gebruikte verbindingen							
		Malon- zuur	Barnsteen- zuur	Glutaar- zuur	Adipine- zuur	Fumaar- zuur	Maleïne- zuur	Mesacon- zuur	Citracon- zuur
Aminosuccinanilzuur	+++	+	0	+	++	++	0	++	0
Amino adipanilzuur	+++	+++	++	++	++	++	++	++	+

vormen, zooals bijv. de bacteriën der Typhus-Paratyphusgroep de overgang $S \rightarrow R$ veroorzaakt wordt door veranderingen in de oppervlakte-structuur dezer bacteriën.

Bovenbeschreven waarnemingen sluiten fraai aan bij de eerder behandelde onderzoeken van Landsteiner. Deze toonde immers aan, dat de specificiteit der proteïnen bepaald wordt door de daaraan gekoppelde haptenen, m.a.w. dat hiervoor uitsluitend de oppervlakte verantwoordelijk is. Nu zien wij hetzelfde bij natuurlijke combinaties en tevens, dat door de aan het proteïne gekoppelde groepen de virulentie wordt bepaald. Wat ligt nu meer voor de hand dan aan te nemen, dat in het algemeen de oppervlakte der bacteriën hieraan de pathogene eigenschappen verleent en dat de celinhoud zelf van ondergeschikte betekenis is? Wanneer wij afzien van de echte toxinen van *Cl. botulinum*, *Cl. tetani*, *Cor. diphtheriae* en misschien nog enkele andere bacteriën, dan lijkt het mij zeer de vraag of men nog van „endotoxinen” kan spreken! Tevens bleek, dat men de R-variant het gemakkelijkst krijgt door de oorspronkelijk virulente S-bacterie te cultiveren in het homologe immuunserum. Deze waarneming heeft wellicht groote betekenis voor het reconvalescentie-stadium van lijders aan infectieziekten. Ook daar bevinden zich de bacteriën in een medium, dat immuunstoffen bevat en hoewel deze direct van weinig invloed zijn op de betreffende bacterie, is het in het geheel niet onmogelijk, dat zij daardoor in meerdere of mindere mate een variatie ondergaan in de richting $S \rightarrow R$, waardoor zij hun invasieve eigenschappen verliezen en gemakkelijk kunnen worden vernietigd door de phagocyten.

Het behoeft wel geen betoog, dat het voor de bereiding van vaccins noodzakelijk is, uit te gaan van den S-toestand der te gebruiken bacterie. Dit werd o.a. door Topley bewezen met behulp van de experimentele epidemiologie. Muizen werden ingeënt met verschillende vaccins van *B. aertrycke* en geplaatst in geïnfecteerde kooien met ongevaccineerde muizen als controle. Het bleek dat de dieren, geënt met vaccin dat het S-antigeen bevatte, een aanmerkelijke immuniteit tegen de infectie bezaten, maar dat muizen geënt met vaccin, dat het R-antigeen bevatte, even weinig werden beschermd als muizen, welke bijv. geënt waren met een indifferent vaccin (van *staphylococcus*).

Zoo bleek, dat in de U.S.A. practisch alle anti-typhus-vaccins waren bereid van een stam van *B. typhosum*, n.l. de Rawlings-stam, in 1900 geïsoleerd door Sir Almroth Wright. Deze bacterie had gedurende 33 jaar gegroeid op kunstmatige voedingsbodems. Toen 12 culturen van dezen stam, verkregen van verschillende laboratoria, werden onderzocht, bleek dat een ervan een complete R-variantie had ondergaan en dat de andere tusschen den R- en S-toestand instonden. Al deze Rawlings-stammen hadden hun virulentie voor muizen verloren en een auto-vaccin hiervan bereid, beschermde even weinig tegen infectie door een versche virulente typhus-stam als een inspuiting met physiologisch water! De mortaliteit der muizen bedroeg 87 %, terwijl muizen gevaccineerd met een S-typhus-stam een mortaliteit van 3 % opleverden. Dit alles zal voldoende zijn om de betekenis in te zien van de $S \rightarrow R$ variatie en de noodzakelijkheid om bij de bereiding van „stock”-vaccins uit te gaan van de juiste stammen!

V. Onderzoekingen over specifieke celsubstanties.

I. *De bacteriële polysacchariden, in het bijzonder die der pneumococcen.* De uit polysaccharid-achtige lichamen opgebouwde kapsels der pneumococcen zijn typische haptenen. Zij worden door het serum van het betreffende pneumococcentype geprecipiteerd, leveren echter bij inspuiting geen antistoffen op. Het koolhydraat is type-specifiek, dus bij *Pneumococcus* I, II, III en 4—32 verschillend, het proteïne van het bacteriënlichaam daarentegen soort-specifiek, dus eigen aan de soort *Pneumococcus*, m.a.w.: Het serum bereid van een virulente Pn. (met kapsel) precipiteert uitsluitend het corresponderende type¹⁸⁾ en: Het serum bereid van een avirulente Pn. (zonder kapsel) precipiteert daarentegen alle typen, het proteïne is bij alle Pn. gelijk.

Zooals reeds eerder medegedeeld, geeft het koolhydraat naast specificiteit ook de virulentie aan de Pn., hetgeen uit het volgende blijkt: 1e. vormt vanzelf sprekend het vol-antigene proteïne-koolhydraat der Pn. afweerstoffen tegen virulente Pn.; 2e. vormt daarentegen het proteïne-antigeen geen afweerstoffen; 3e. beschermt op zichzelf het koolhydraat-hapteen bij injectie tegen virulente Pn.

Het bezit van kapsels (hydrophilie) oefent dus een belemmerende werking uit op de phagocytose. Deze belemmering kan behalve door specifiek antiserum, volgens recente onderzoekingen van Dubos en Avery, ook door toepassing van een bacteriële enzym, dat op specifieke wijze de kapsel-substantie (van Pn. III) oplost, worden opgeheven.

De polysacchariden der Pn. werden in 1923 door Heidelberger en Avery het eerst zuiver uit de Pn-typen I, II en III bereid. De praeparaten kunnen in volkomen eiwitvrije toestand worden verkregen, de precipitatiereactie is des te sterker naarmate zij zuiverder zijn, onafhankelijk van de bereidingsmethoden en wordt bij de behandeling met zuren eerst dan verminderd, wanneer reduceerbare suikers optreden. De drie polysacchariden zijn door de chemische eigenschappen even scherp te onderscheiden als hun serologische reacties.

Het best is bestudeerd het koolhydraat van Pn. III. Dit is een kolloidaal, sterk zuur polysaccharide met een moleculairgewicht van 1000—5000, dat uit een aldobionzuur $C_{11}H_{19}O_{10}COOH$ is opgebouwd. Dit bestaat uit een molecule glucose en een molecule glucuronzuur, die door de aldehyd-groep van het zuur glucosidisch zijn verbonden.

Het polysaccharide van Pn. II is een zwak zuur, dat bij hydrolyse glucose oplevert.

Het koolhydraat van Pn. I bevat waarschijnlijk galacturonzuur en, in tegenstelling met de polysacchariden van Pn. III en II, 5 % stikstof. Dit is naar alle waarschijnlijkheid een bestanddeel van een amino-suiker. De Pn. bevatten ook een gemeenschappelijk koolhydraat.

Dergelijke koolhydraten bleken ook de kapsels van *Bac. pneumoniae* Friedlander te bevatten en uit

¹⁸⁾ Nu komen in suspensies van virulente Pn. tengevolge van dissociatie ook wel kapsellooze Pn. voor (en vrij koolhydraat). Dit heeft tengevolge, dat de hiermede verkregen sera a-specifiek reageren. Zij bevatten dus naast het type-specifieke ook het soort-specifieke agglutinine. Wanneer echter een dergelijke suspensie wordt verhit, dan wordt het vrije proteïne gedeneureerd in tegenstelling met het kapselhoudende proteïne. Bij inspuiting van een dergelijke suspensie verkrijgt men een type-specifiek agglutinine.

Tabel IX.

Eigenschappen en reacties met polysacchariden.

(Tabel VIII van Marrack *)

	[α] d.	Zuur- equi- valent.	C %	H %	N %	Reduceerd vermogen na hydrolyse als glucose berekend %	Producten der hydrolyse,	Titer.	„Cross”-reacties.
Pneumococcus; Type I. (Heidelberger, 1927).	+ 300°	310	43.3	5.8	5.0 (amino N 2.5)	28	Amino-suiker. Galacturonzuur.	1/6000.000	Geringe troebeling met antiserum voor Type III bij 1/400.
Pneumococcus; Type II. (Heidelberger, 1927).	+ 74°	1.250	45.8	6.4	0.0	70	Glucose. Aldobionzuur.	1/5000.000	Geen reactie met antiserum voor Type I en III. Praecipitaat met antiserum voor Friedländer, Type B tot 1/2000.000.
Pneumococcus; Type III. (Heidelberger en Goebel, 1927).	— 33°	340	42.6	5.6	0.0	75	Aldobionzuur (= glucose + glucuronzuur).	1/6000.000	
Pneumococcus; Groep IV, Type IV. (Heidelberger en Kendall, 1931).	+ 30°	1.550			5.5 (= acetyl amino-N)	71	Amino-suiker. Glucose. Azijnzuur.	1/2000.000	
Pneumococcus; Soort-specifiek. (Tillet, Goebel en Avery, 1930).	+ 42°	1.050			6.1 (3.7 acetyl- amino-N)		Amino-suiker derivaat. Phosphorzuur. Azijnzuur.		
Friedländer; Type A. (Goebel, 1927).	— 100°	430	43.95	6.0	0.0 (0.9 amino-N)	65	Glucose. Aldobionzuur (= glucose + glucuronzuur).	1/2000.000	
Friedländer; Type B, = Type E van Avery, Heidelberger en Goebel 1925. (Goebel, 1927).	+ 100°	680	44.6	6.1	0.0	70	Nog een ander disaccharidezuur. Glucose. Aldobionzuur.	1/2000.000	Praecipitaat met antiserum voor pneumo- coccus, Type II, tot 1/2.000.000.
Friedländer; Type C. (Goebel, 1927).	+ 100°	680			0.0	70	Glucose. Aldobionzuur.		
Gezuiverde Arabische gom (Heidelberger, Avery en Goebel, 1929; Heidelberger en Kendall 1929, b; Challinor, Haworth en Hirst, 1931).	— 107°	81			0.08	68	Aldobionzuur (= galactose + glucuronzuur).		Praecipitaat met antisera voor pneumo- coccus, Type II en III tot 1/1000.000
Tuberkelbacil. Typus humanus; bacteriële chlamen (Laidlow en Dudley, 1925), (Gough, 1932).						51	Mannose. d-Arabinose. Galactose. Zuren, die bij hydrolyse mannose geven.	1/6000.000	
Tuberkelbacil, Typus humanus; medium (Heidelberger en Menzel, 1932).	85°— 95°	Ongev. 7.000			0.1	87	d-Arabinose. Mannose.	1/50.000	
Fractie B.		Ongev. 2.000			0.6—0.8	61	d-Arabinose.	1/50.000	
Fractie C.					1.2	65	d-Arabinose. d-Mannose.		
Tuberkelbacil, Typus humanus; medium (Renfrew, 1930).	32°				0.3	99	Pentose.	1/2000.000	
Tuberkelbacil, Typus humanus; medium (Mueller, 1926).	17.3						d-Arabinose. Mannose. Galactose.	1/3000.000	
Tuberkelbacil, Typus humanus; polysaccharide van gezuiverde was. (Roberts en Anderson, 1931).							Inosiet } gelijke deelen. Mannose } Andere suikers.		
Tuberkelbacil; polysaccharide van phos- phatide, Typus humanus. (Anderson 1932).							Inosiet. Mannose.		
Tuberkelbacil; polysaccharide van het phosphatide, Typus bovinus en gallin. (Anderson, 1932).									
Cholera-vibrio. (Landsteiner en Levene, 1927, a).			49.05	7.77	4.43 (en P = 1.67)			1/500.000	
Typhus-bacterie. (Furth en Landsteiner, 1928).			43.8	6.5	1.86 (en P = 2.06)	63.8		1/25.000	
Dysenterie-bacterie (Shiga). (Morgan, 1931).			43.9	6.9	meer dan 2.0 (g. amino-N)	65		1/6000.000	
Penicillium luteum; luteïnezuur. (Raistrick en Rintoul, 1931).	— 47°	434			0		Glucose, 2 mol; malonzuur, 1 mol.		
Gist (Fleischmann's gedroogde gist). (Mueller en Tomesik, 1924).	+ 90°				0.19—0.69 (en P = 0.5)	84		1/400.000	

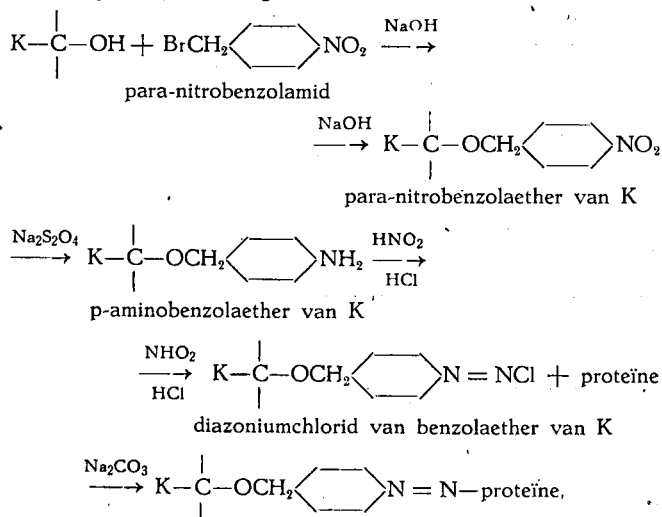
*) J. R. Marrack, The Chemistry of Antigens and Anti-bodies. p. 76 en 77, 1934.

glucose een aldobionzuur te zijn opgebouwd. Ook werden de polysacchariden van *Myc. tuberculosis* en van *Vibrio cholerae* bestudeerd (zie tabel IX).

De belangrijke ontdekking van Heidelberg en Avery, dat door de serologische specificiteit der bacteriën de koolhydraten van niet geringer beteekenis zijn dan de proteïnen kwam onverwacht, maar deed onmiddellijk inzien, dat het bestaan van uiterst talrijke immuun-polysacchariden in den grond even begrijpelijk is als de veelheid der eiwitlichamen; men behoeft daartoe slechts te denken aan de asymmetrie der koolstofatomen in de hexosen, pentosen en suikere-zuren, de plaats van de zuurstofbrug, de α - en β -glucosid-verbindingen, enz. Dat deze verschillen in de constitutie in staat zijn specificiteit der serum-reacties te verklaren, is wel duidelijk geworden door de proeven met de kunstmatige complex-antigenen, in het bijzonder met die, welke de wijnsteenzuren bevatten (zie blz. 597).

Zooals reeds vele malen uiteengezet is, bezitten de polysacchariden zelf geen antigene eigenschappen, maar krijgen deze door koppeling met proteïne. Dat deze binding van chemischen aard is en ook kunstmatig te verkrijgen, werd door Avery en Goebel bewezen. Deze onderzoekers gingen uit van het koolhydraat van Pn. III. Wanneer dit wordt voorgesteld

door de formule $K-C-OH$ en de H van één der drie OH-groepen door een nitrobenzol-groep wordt vervangen, de nitroverbinding daarop tot een amino-verbinding wordt gereduceerd en vervolgens deze op de bekende wijze door diazoteering aan een eiwit wordt gekoppeld volgens de formules:



dan wordt een verbinding verkregen, die bij inspuiting konijnen immuniseerde tegen Pn. III; de sera dezer dieren praecipiteerden het vrije koolhydraat, agglutineerden de coccen en beschutten muizen tegen infectie.

Deze proefnemingen sloten aan bij eerder door hen genomen proefnemingen. Toen hadden Avery en Goebel proteïnen met p-amino-phenol- β -glucoside en p-amino-phenol- β -galactoside gekoppeld en deze als antigeen gebruikt. Zooals bekend is, verschillen deze verbindingen uitsluitend in den stand van de H- en OH-groep aan het 4 C-atoom van het hexose-molecule. Het bleek evenwel, dat de praecipitaatvorming met de opgewekte antisera, en belemmering door de glucosiden als zoodanig, in hooge mate specifiek was.

De verschillen tusschen de α - en β -glucosiden waren daarentegen niet zoo duidelijk aantoonbaar als tusschen bovengenoemd glucoside en galactoside. De antisera geven namelijk praecipitaten met de heterologe antigenen, ofschoon zij niet zoo zwaar waren als met de homologe antigenen.

II. *Lipoiden.* Zooals in den aanvang is medegedeeld, bezitten de zuivere lipoiden geen antigene eigenschappen. Zij zijn niet vreemd aan het dierlijk organisme, maar bezitten het karakter van haptene, welke antigeen worden in combinatie met soortvreemde proteïnen. Geheel in tegenstelling met de polysacchariden is hier geen sprake van chemische binding; eenvoudige *menging* der beide bestanddeelen is voldoende voor het opwekken van antistoffen. De lipoiden wijzen tevens de specificiteit der proteïnen.

Wanneer dus lecithine of cholesterine met een vreemd eiwit worden gemengd en bij een proefdiertje worden ingespoten, verkrijgt men antisera welke het lecithine, resp. het cholesterine praecipiteeren. Wanneer men aan het Forssman-antigeen¹⁹⁾, dat uit een eiwit- en een lipoïde-deel bestaat, het laatste door alcohol extractie onttrekt, dan zal het antiserum van het verkregen praeparaat het Forssman-antigeen niet meer praecipiteeren. De menging der beide bestanddeelen moet in vitro geschieden; wanneer men bij een konijn het eiwitdeel in het linkeroor, het lipoïde-deel in het rechteroor inspuit, dan krijgt men ook nu geen antiserum t.o.v. het Forssman-antigeen.

Merkwaardig is dat Weil en Besser ook met synthetische lipoid-verbindingen, welke geen eiwitten bevatten n.l. di-stearyl-lecithine antistoffen konden opwekken. Al deze onderzoeken staan echter door de ingewikkelde structuur der lipoiden in chemisch opzicht op een losse basis, reden waarom over dit onderwerp verder niet zal worden uitgeweid.

Rotterdam, Gemeente-Ziekenhuizen, 30 Aug. 1935.

REDUCTASETIJD VAN MELK EN HAAR AANTAL BACTERIËN

door

J. D. FILIPPO.

Duclaux heeft het eerst waargenomen (in 1887), dat melk de eigenschap bezit bepaalde kleurstoffen te ontkleuren door deze te reduceeren en om te zetten in hunne leukoverbindingen. Hij schreef deze eigenschap toe aan in melk aanwezige microorganismen. Sedert dien hebben talrijke onderzoekers zich met deze eigenschap van melk bezig gehouden en getracht haar te gebruiken ter beoordeeling van melk uit een hygiënisch-bacteriologisch oogpunt. Als kleurstof werd in den regel methyleenblauw gebruikt. De tijd, waarbinnen de reductie der kleurstof door de melk plaats vond, werd beschouwd als een maatstaf ter beoordeeling van het bacteriëngehalte der melk en dus van hare deugdelijkheid (houdbaarheid).

Verleden jaar was ik in de gelegenheid van 426 monsters handelsmelk — waaronder vele, welke gedurende korteren of langeren tijd bewaard waren,

¹⁹⁾ Het Forssman-antigeen is aanwezig in organen van vele dieren. Ingespoten bij een konijn wekt het een haemolysine op tegen schapenbloedlichaampjes.

ten einde monsters met een zeer uiteenlopend aantal bacteriën in het onderzoek te kunnen betrekken — een vergelijkend onderzoek in te stellen naar het aantal bacteriën en den reductasetijd van elk der monsters.

De reductaseproef is uitgevoerd op de wijze, zooals in het Kon. Besluit van 24 Mei 1935, S. 311, tot wijziging van het Melkbesluit, S. 1929, No. 34, is aangegeven, terwijl de bepaling van het aantal bacteriën heeft plaats gehad volgens de methoden van onderzoek, behorende bij het Melkbesluit. Als voedingsbodem diende alcalische bouillon-agar.

De volgende tabel geeft een overzicht van de verkregen resultaten.

Procenten van het aantal onderzochte monsters.

Aantal monsters	Reductasetijd	met minder dan 1 miljoen bact. per cm ³	met minder dan 1/2 miljoen bact. per cm ³	met minder dan 1/4 miljoen bact. per cm ³	met minder dan 100.000 bact. per cm ³
68	1/2 uur of korter	0	0	0	0
50	tusschen 1/2—1 uur	0	0	0	0
78	" 1—2 uur	3.8	1.3	0	0
32	" 2—3 uur	18.7	12.5	6.2	0
30	" 3—4 uur	60.—	20.—	20.—	0
46	" 4—5 uur	87.—	43.5	26.1	4.3
54	" 5—6 uur	100.—	81.—	44.—	26.—
68	groter dan 6 uur	100.—	94.1	80.—	74.—

Bij dit onderzoek bleek een absoluut parallelisme tusschen het aantal bacteriën in melk en den tijd, noodig ter ontkleuring der methyleenblauwoplossing, niet te bestaan. Zeker, er bestaat tusschen de uitkomsten der beide proeven wel eenig verband, immers de kans, dat een melk weinig bacteriën bevat, is grooter naarmate haar reductasetijd grooter is, doch voor de beoordeeling van een melk uit hygiënisch-bacteriologisch oogpunt heeft de reductasetijd alleen dan waarde, wanneer daarvoor een tijdsbestek wordt vastgesteld van ten hoogste 2 uur. De betrouwbaarheid der uit de reductaseproef te trekken conclusie omtrent de deugdelijkheid eener melk wordt kleiner bij reductasetijden, gelegen tusschen ongeveer 2 en 6 uur, omdat het aantal bacteriën in zulke melk-monsters zeer sterk uiteenloopt.

Het is duidelijk, dat aan de in de tabel opgenomen, in procenten uitgedrukte, cijfers niet een te groote waarde kan worden toegekend; daartoe is het aantal onderzochte monsters nog te klein; zij geven dan ook slechts een beeld van de verkregen resultaten.

Uit de tabel blijkt, dat melk, welke binnen 2 uur methyleenblauw ontkleurt en dus een reductasetijd heeft van ten hoogste 2 uur, als ondeugdelijk moet worden beschouwd, wegens haar zeer groot aantal bacteriën. Wel hadden 3.8 % der onderzochte monsters met een reductasetijd tusschen 1 en 2 uur minder dan 1 miljoen bacteriën per cm³, doch hiervan hadden 2 monsters meer dan 700.000 en slechts één ruim 400.000 bacteriën per cm³. Bij een ontkleuring der melk binnen 1 uur bevatten alle monsters meer dan 1 miljoen microorganismen per cm³ (het aantal schommelde tusschen 1.5 en 35 miljoen). Monsters, welke binnen 1 uur de methyleenblauwoplossing ontkleurden, waren na enkele uren staan bij kamertemperatuur, zuur geworden, zij hadden de grens, waarbij bederf intreedt, bereikt.

Geheel anders waren de resultaten, wanneer de reductasetijd schommelde tusschen 2 en 6 uur. Reeds bij een reductasetijd, gelegen tusschen 3 en 4 uur, bedroeg het aantal monsters met minder dan 1 miljoen bacteriën per cm³, 60 % van het aantal onderzochte monsters; bij een reductasetijd, gelegen tusschen 4 en 5 uur, was dit aantal gestegen tot ruim 80 %, terwijl reeds ruim 40 % dezer monsters minder dan 1/2 miljoen, ruim 25 % minder dan 1/4 miljoen en 4 % minder dan 100.000 bacteriën per cm³ bevatte.

Het is dus onjuist op grond van den reductasetijd omtrent de deugdelijkheid van melk uit bacteriologisch oogpunt een conclusie te trekken, wanneer althans de reductasetijd gelegen is tusschen ± 2 en 6 uur en het aantal bacteriën niet bekend is.

Een eisch, dat melk binnen 6 uur de methyleenblauwoplossing niet mag ontkleuren, is niet te verantwoorden. Immers melk, welke tusschen b.v. 4 en 6 uur methyleenblauwoplossing ontkleurt, bevat vaak een aantal bacteriën lager dan 1/2 miljoen per cm³, zelfs in 70 % der onderzochte monsters was dit aantal minder dan 250.000, in 30 % minder dan 100.000 en in 6 % minder dan 50.000. Indien de kleurstof in de melk ten minste 2, doch korter dan 6 uur onverändert blijft, kan het aantal bacteriën zeer sterk uiteenloopen. Er zijn daaronder monsters met 4 miljoen, er zijn er ook met minder dan 100.000, ja zelfs met minder dan 50.000 bacteriën per cm³.

Uitsluitend een reductasetijd van melk korter dan 2 uur toont aan, dat melk als consumptiemelk ondeugdelijk is tengevolge van haar groot aantal bacteriën. Deze ondeugdelijkheid wordt veroorzaakt door onzindelijke winning of door onoordeelkundige behandeling van een goed gewonnen product.

's-Gravenhage, October 1935.

CHEMISCHE KRINGEN.

Arnhemsche Chemische Kring. Vergadering op Dinsdag 22 October a.s. Te 19 u. 45 huishoudelijke vergadering in „Riche", Nieuwe Plein; te 20 uur spreekt daar Dr. J. H. de Boer (Eindhoven) over „Inter- en intramoleculaire krachten".

* * *

Bossche Chemische Kring. Op Vrijdag 20 September sprak Dr. Ir. R. Houwink te Eindhoven over: „Aanzienlijke" elasticiteit en moleculaire structuur.

Op grond van een schema over de bindingskrachten tusschen de atomen werd het wezen der elastische deformatie verklaard en werd de wet van Hooke toegelicht. Hieraan vastknoopend, werd een onderscheiding gemaakt tusschen „geringe" en „aanzienlijke" elasticiteit, en werd de tegenstelling besproken, die dikwijls bestaat tusschen „aanzienlijke" en zuivere elasticiteit.

Aangetoond werd, dat „aanzienlijke" elasticiteit in de natuur zeer veelvuldig voorkomt. Als bijzondere voorbeelden werd gewezen op rubber, wol, spieren en stoffen als glas, asphalt, harsen en zwavel. Aangaande de harsen werden zeer recente onderzoekingen besproken, waarbij aangetoond werd, hoe zeer de elastische eigenschappen van dergelijke stoffen met de molecuul-grootte kunnen variëren.

Vervolgens werden eenige voorwaarden opgesteld waaronder „aanzienlijke" elasticiteit te verwachten is, en werd een verband gelegd tusschen den energie-inhoud der bindingen in een stof en de mogelijkheid van plastische en elastische deformatie.

De theorieën, welke voor de verklaring van „aanzienlijke" elasticiteit bij verschillende stoffen zijn opgesteld, werden in drie groepen samengevat. Bij de amorfie stoffen kan men door een beschouwing over „open" en „gesloten" lichamen, in verband met den energie-inhoud der bindingen, de verschillen in „aanzienlijke" elasticiteit tusschen harsen eenerzijds (elastisch deformeerbaar tot 240 % toe) en stoffen als asphalt en glas anderzijds

(elastisch deformeerbaar tot $\pm 20\%$ toe) verklaren. Bij stoffen met kettingmoleculen kan men in sommige gevallen volstaan met de onderstelling van starre ketens, indien men daarop de beschouwing der „open“ en „gesloten“ lichamen toepast. In andere gevallen is men bovendien nog gedwongen bepaalde onderstellingen te maken over contractiekrachten, welke gelokaliseerd zijn op het kettingmolecuul zelf. Hiervan werden wol, op grond van het onderzoek van Astbury, en in het bijzonder rubber, op grond van het onderzoek van Mack, uitvoerig behandeld. Bij rubber werd de invloed van de rotatie van bepaalde groepen op de „aanzienlijke“ elasticiteit, aan de hand van molecuul-modellen gedemonstreerd, en werd een verklaring van het kracht-rek diagram op deze basis gegeven.

De voordracht werd gevolgd door een uitvoerige, levendige en vruchtdragende discussie, zonder twijfel een bewijs, dat de aanwezigen geboeid waren door de naar voren gebrachte theorieën en hypothesen, het overzicht van dit nog vaak verwarde gebied van verschijnselen en de praegnante wijze van behandelen.

* * *

Chemische Kring Breda. De eerste vergadering van het winterseizoen vindt plaats op Dinsdag 29 October a.s. Prof. Dr. W. Reinders uit Delft hoopt dan te spreken over „Het latente beeld“. Aanvang 8 uur, Hotel de Schuur.

* * *

Chemische Kring Leeuwarden. Bijeenkomst op Dinsdag 22 October 1935, 's avonds 8 uur in Hotel de Kroon. Voordracht van Ir. C. A. Daniëls over: „De zuivering van petroleum volgens het Edeleanu-proces“.

PERSONALIA, ENZ.

Aan de Universiteit van Amsterdam is met lof bevorderd tot doctor in de wis- en natuurkunde, op proefschrift „Meting van de dielectriciteitsconstante van geleidende oplossingen“, de heer W. M. Mazee, geboren te Zutphen.

* * *

Aan de Technische Hoogeschool te Delft zijn geslaagd voor het propaedeutisch examen voor scheikundig ingenieur de heeren A. J. W. Muysen en K. Over.

* * *

Aan de Universiteit te Leiden is geslaagd voor het kandidaatsexamen wis- en natuurkunde F de heer D. W. van Krevelen (vertraagd bericht).

* * *

Aan de Universiteit te Leiden is geslaagd voor het doctoraal-examen wis- en natuurkunde, hoofdvak pharmacie, de heer M. F. H. Bettink.

* * *

Aan de Universiteit te Utrecht zijn geslaagd: voor het kandidaatsexamen wis- en natuurkunde F de heeren W. A. J. Borg en J. C. de Wijs; voor het kandidaatsexamen wis- en natuurkunde L mejuffrouw H. M. S. Heirsch en de heeren J. A. C. M. van Beck, H. G. J. van Kempen en H. M. van Wylick.

* * *

De uitreiking van den gouden Hoogewerff-eerepenning aan Ir. D. P. Ross van Lennep. Zeer vele belangstellenden waren op Donderdag 3 October naar Hotel Wittebrug gekomen, ter bijwoning van de uitreiking van den gouden eerepenning van het Hoogewerff-Fonds aan Ir. D. P. Ross van Lennep, hoofdingenieur der Staatsmijnen in Limburg. De voorzitter van de Commissie van beheer van het Hoogewerff-Fonds, Ir. A. Spakler, sprak woorden van welkom tot de aanwezigen. Hij schetste verder het ontstaan en de werkwijze van het fonds, waarna hij het woord verleende aan Prof. Dr. Ir. J. Böeseken, die in een rede, welke in de vorige aflevering van dit Weekblad is opgenomen (blz. 581—582), de verdiensten van hem, aan wien de eerepenning was toegekend, uiteen zette. Ten slotte overhandigde hij hem den penning. Ir. Ross van Lennep betuigde daarna zijne erkentelijkheid voor de hem verleende onderscheiding.

Een gezellige intieme maaltijd van het bestuur en hen, die den eerepenning ontvingen (Ir. J. Rutten, Prof. Dr. Ir. H. ter Meulen en Ir. D. P. Ross van Lennep), besloot deze welgeslaagde huldiging.

Wie nadere gegevens wenscht te kennen in zake het Hoogewerff-Fonds leze het uittreksel uit de Statuten, opgenomen op blz. 251—253 van het Chem. Weekblad 15 (1918).

* * *

Organisatie van Natuurphilosophische en Technologische Faculteiten in Nederland. (Ab-actiaat: Wittevrouwensingel 39, Utrecht). Uit het Programma voor 1935—1936 nemen wij het volgende over. Voor de Kerstvacantie: Prof. Dr. P. Debye uit Berlijn over „Interferentieproeven met vrije moleculen“: Maandag 28 October te Utrecht; *Dinsdag 29 October te Amsterdam. Prof. Dr. R. Fabre uit Parijs over „La technique toxicologique“: Maandag 11 November te Leiden; Dinsdag 12 November te Utrecht; Woensdag 13 November te Amsterdam; Donderdag 14 November te Groningen. Prof. Dr. O. Hahn uit Berlijn over een fysisch-chemisch onderwerp: Maandag 25 November te Wageningen; Dinsdag 26 November te Leiden; Woensdag 27 November te Amsterdam; Donderdag 28 November te Delft; Vrijdag 29 November te Eindhoven; Maandag 2 December te Utrecht; Dinsdag 3 December te Groningen. *Prof. Dr. W. Heisenberg uit Leipzig over een fysisch onderwerp: Maandag 9 December te Groningen; Dinsdag 10 December te Utrecht; Woensdag 11 December te Amsterdam; Donderdag 12 December te Delft; Vrijdag 13 December te Eindhoven. Na de Kerstvacantie: Prof. Dr. H. Baggesgaard Rasmussen uit Kopenhagen over „Indikatorumschlag von Säuren und Basen in alkoholischer Lösung“: Maandag 27 Januari te Leiden; Dinsdag 28 Januari te Utrecht; Woensdag 29 Januari te Amsterdam; Donderdag 30 Januari te Delft; Vrijdag 31 Januari te Groningen. Dr. F. Feigl uit Weenen over „Qualitative anorganische und organische analyse mit Hilfe von Tüpfelreaktionen“ en „Verwendung von Katalysenreaktionen in der qualitativen Mikroanalyse“: Maandag 3 Februari te Leiden; Dinsdag 4 Februari te Utrecht; Woensdag 5 Februari te Amsterdam; Donderdag 6 Februari te Delft; Vrijdag 7 Februari te Groningen. Prof. Dr. W. Hückel uit Breslau over een organisch-chemisch onderwerp: Donderdag 20 Februari te Delft; Vrijdag 21 Februari te Leiden; Maandag 24 Februari te Amsterdam; Dinsdag 25 Februari te Utrecht; Woensdag 26 Februari te Wageningen; Donderdag 27 Februari te Groningen. Prof. Dr. K. Höfler uit Weenen over „Moderne Protoplasmaforschung“: Maandag 9 Maart te Utrecht; Dinsdag 10 Maart te Leiden; Woensdag 11 Maart te Amsterdam; Donderdag 12 Maart te Wageningen; Vrijdag 13 Maart te Groningen.

Het tweede *Natuurphilosophisch en Technologisch Studenten-Congres* zal op Maandag 6, Dinsdag 7 en Woensdag 8 April 1936 te Leiden worden gehouden.

Voor nadere inlichtingen en opmerkingen betreffende bovengenoemd programma wende men zich tot de ab-actis van de Organisatie: J. H. G. Ferman, Wittevrouwensingel 39, Utrecht, of plaatselijk tot de homines ab-actis van de Organisatie-leden: Amsterdam G.U., Amsterdamsche Studenten-Vereeniging Natuurphilosophische Faculteit, ab-actis E. Snapper, 3e Helmersstraat 84¹, Amsterdam-W.; Amsterdam V.U., Natuurphilosophische Faculteitsvereniging aan de Vrije Universiteit, ab-actis W. Th. Nauta, de Lairesestraat 174, Amsterdam-Z.; Delft, Technologisch Gezelschap te Delft, ab-actis P. M. Heringa, Westvest 9, Delft; Groningen, Groningsche Natuurphilosophische Faculteitsvereniging, ab-actis P. H. E. Tattje, Reitdiepskade 3a, Groningen; Leiden, Philosophische Faculteit der Leidse Studenten, ab-actis mejuffrouw C. Engelkamp, Joh. de Withstraat 30, Leiden; Utrecht, Philosophische Faculteit van het Utrechtsch Studenten Corps, ab-actis B. Verkaaik, Weerdsingel O.Z. 20, Utrecht; Wageningen, Vereeniging Studiebelangen, ab-actis J. A. Eshuis, Heerenstraat 18, Wageningen.

* * *

Congrès de l'Association pour la documentation photographique et cinématographique dans les sciences. Het derde congres van deze associatie is juist te Parijs gehouden in het Musée Pédagogique de l'Etat (29 rue d'Ulm). Het was georganiseerd door de heeren Claoué, Jean Painlevé en Servanne en had in 't bijzonder betrekking op de wetenschappelijke cinematographie. Onder de sprekers bevond zich o.a. de hier te lande door zijn voordrachten bekende Dr. Comandon. Nadere bijzonderheden kan men verkrijgen aan bovenstaand adres.

* * *

Het zestiende jaarcongres van de *Association des chimistes de l'industrie textile* (A. C. I. T. Paris) heeft van 20 tot 22 September te Brussel plaats gehad, onder voorzitterschap van den Heer Blondel. De Belgische Minister van economische zaken, van Isacker, opende de serie wetenschappelijke lezingen, die door ca. 300 deelnemers bezocht werden, met een korte toespraak. De volgende lezingen, die later in extenso in de „Revue generale des matières colorantes“ zullen verschijnen, werden gehouden: G. Simonin, Wit eboniet en zijn toepassingen voor bleek- en

* nog onzeker.

verf-apparaten. Rolland, Verbeteringen bij het verven en drukken van acetaat-cellulose. Delange, De kunstzijde-industrie in België. Mougeot, Over fluorescentie. M. Bader, Nieuwe octrooiën van de naphтол-AS-serie. Hodiament, Fouten in de ververij. Martin, De graad van nauwkeurigheid bij de kleurstofanalyse. Fleury-Bernheim, Een toepassing van absorptie bij de kleurstofanalyse. Guyot, Nieuwe bleek- en verfmethoden voor linnen. Mazzera, Normalisatie van textiel-onderzoekingen in Italië.

* * *

Binnenkort wordt de geheele inventaris van het „Nederl. Instituut voor Volksvoeding” geveild (tijdschriften, boeken, laboratorium-inventaris, enz.). De catalogus is verkrijgbaar bij G. Theod. Bom & Zoon, Kerkstraat 310, Amsterdam.

TER BESPREKING ONTVANGEN BOEKEN (aanvragen te richten tot de redactie).

- P. Heermann, Färberei- und textilchemische Untersuchungen. J. Springer, Berlin, 1935, 396 pp., geb. RM. 16.87.
Rapport inzake de wenschelijkheid van de oprichting van een noordelijke Economisch-technologische Organisatie. Groningen, 1935, 88 pp.
H. Schwarz, Die Mikrogasanalyse und ihre Anwendung. Emil Haim & Co., Leipzig und Wien, 1935, 286 pp., RM. 21.—, geb. RM. 21.80.
Gehes Codex, Nachtrag II, 1935, Schwarzeck-Verlag G. m. b. H., Dresden, 1935, 240 pp.
O. Kausch, Das Kieselsäuregel und die Bleicherden, Ergänzungsband. J. Springer, Berlin, 1935, 114 pp., RM. 12.—.
P. H. Beijer, Driehonderdvijftig scheikundige vraagstukken. N.V. D. B. Centen's Uitg.-Mij., Amsterdam, 1935, 61 pp., f 0.95 (antwoorden f 0.35).

CORRESPONDENTIE, ENZ.

J. te A. Over de behandeling van gevallen van vergiftiging door chemische strijdmiddelen leze U hetgeen de heer J. Creghton, arts te Oldenzaal, schreef in de „Geneeskundige Gids” (1934, pp. 538—543, 865—879) en de daar aangehaalde literatuur.

Gaarne nemen wij een verhandeling op over hetgeen men voor de slachtoffers doen mag, alvorens de medicus hen in behandeling neemt.

* * *

Wie weet voor het opplakken van etiketten en dgl. op de ruggen van boeken en tijdschriften een goedkoop plakmiddel, dat niet na korten of langen tijd den invloed ondervindt van warmte of vocht, waardoor de etiketten hetzij geheel of alleen aan de hoeken en zijanten loslaten?

* * *

In welke bibliotheek hier te lande is aanwezig: Bull. assoc. chim. suc. dist. 51 (1934).

Aangeboden betrekkingen, werk, subsidies, enz. **)

Een groote industriele onderneming in het Westen des lands zoekt — voorshands tijdelijk — voor het uitwerken en eventueel in de techniek tot toepassing brengen van nieuwe procédés op het gebied der kunstharzen en aanverwante stoffen, een bekwaam chemicus met technische ervaring (Dr. in de scheikunde of scheikundig ingenieur). Chemicus met ervaring op het betreffende gebied en (of) vertrouwd met de verwerking en keuring van plastische materialen genieten de voorkeur. Zie verder de adv. in No. 42.

* * *

Grootbedrijf in het zuiden des lands zoekt een chemicus (doctorandus of scheik. ing.), zelfstandigen werker, theoreticus met physischen inslag en gevoel voor de praktijk. Zie verder de adv. in No. 40.

* * *

Het Bestuur der Vereeniging voor Middelbaar Technisch en Ambachtsonderwijs te Leeuwarden roept sollicitanten op voor de op 1 April 1936 vacerende betrekking van directeur der Middelbare Technische School aldaar. — Vereischt is het bezit van het Diploma der T. H. te Delft, practijk en onderwijservaring. Leeftijd bij voorkeur niet boven 40 jaren. Salaris volgens Rijksregeling. Sollicitatiestukken te zenden vóór 1 Nov. a.s. aan Ir. D. F. Wouda, Emmakade 51, Leeuwarden, Bezoeken alleen na oproeping.

**) Men raadplege ook steeds de advertenties.

Gevraagde betrekkingen*) (plaatsing gratis voor leden).

No. 33. Dr. in de scheikunde, physico-chemicus, ook analytisch en anorganisch-chemisch goed onderlegd, bekend met bacteriologisch werk, zoekt werkring, ook buitenslands.

No. 84. Chem. drs., 28 jaar, organicus en bacterioloog, laboratoriumpraktijk levensmiddelenonderzoek en chem.-pharm. industrie, zoekt betrekking.

No. 90. Chem. drs., bekend met levensmiddelenleer en bacteriologie, zoekt betrekking.

No. 294. Dr. in de scheikunde, organicus en bacterioloog, ervaren analyticus met veel laboratoriumpraktijk, research, ass. Univ. Utrecht, met 5 j. onderwijservaring, zoekt passende betrekking.

No. 329. Duitsche chemicus, Dr. Ing., al jaren in Nederland, vraagt opdracht v. vertalingen van Nederl. manuscripten op chem. of techn. gebied in het Duitsch. Hij neemt ook chem. werkzaamheden op zich, is gespecialiseerd op het gebied van oliën en vetten, lak en verf, lijm en gelatine.

Sectie voor Organische Chemie.

Hiermede verzoekt ondergetekende degenen, die in de a.s. bijeenkomst der Sectie (tijdens de Algemene Vergadering met Kerstmis te Amsterdam) een mededeling wensen te doen, hem daarvan spoedig bericht te sturen, met vermelding van de duur van hun voordracht.

Tevens verzoekt ondergetekende den leden der Sectie hun contributie over 1934 en 1935 (totaal f 1.—) te willen voldoen, liefst door overschrijving op zijn postgirorekening No. 245659.

Dr. H. J. DEN HERTOOG Jr.,

Zwolsse str. 31,
Deventer.

Candidaat-leden.

Aan leden en aspirant-leden van de Ned. Chem. Ver.

Het is weer de tijd, om leden te werven voor de Ned. Chem. Ver. Het nieuwe verenigingsjaar begint op 1 Januari a.s. en daar candidaat-leden eerst na 2 maanden als lid kunnen worden aangenomen, moet ieder, die van het begin van het jaar af, de voordeelen van het lidmaatschap wil genieten, zich vóór 1 November bij den Secretaris aanmelden.

Het zal wel onnoodig zijn, er nog eens op te wijzen, dat iedere chemicus lid van de Ned. Chem. Ver. behoort te zijn. Het Chemisch Weekblad met zijn veelzijdigen inhoud en de deelen van het Chemisch Jaarboekje (ledenlijst, fabrieken- en laboratorialijst, tabellenboekje, tijdschriften- en boekenlijst), die ieder lid ontvangt, zijn de uiterlijke voordeelen van het lidmaatschap; belangrijker is echter dit lidmaatschap nog als band, die de beoefenaren der chemie in al haar vertakkingen bijeenhoudt.

Docenten en assistenten aan Universiteiten en Hoogeschoolen kunnen een nuttig werk doen, door de onder en met hen werkende chemici, niet-leden, op de Ned. Chem. Ver. opmerkzaam te maken. Laten zij deze gelegenheid, om de Vereeniging te versterken, niet verzuimen.

De namen en adressen van hen, die zich tijdig voor het lidmaatschap aanmelden, kunnen nog worden opgenomen in de nieuwe ledenlijst, die in het begin van 1936 zal verschijnen.

De contributie bedraagt in het algemeen f 15.— 's jaars, maar reeds eenige jaren bestaat de bepaling, dat leden zonder of met slechts een gering inkomen, onder bepaalde voorwaarden, niet meer dan f 5.— behoeven te betalen. Het Algemeen Bestuur is voornemens aan de a.s. Algemeene Vergadering voor te stellen, de contributie van die leden, wier inkomen beneden een nader te bepalen grens ligt en die niet vallen onder de contributie van f 5.—, op hun verzoek op f 10.— vast te stellen. Ook zal worden voorgesteld, de contributie van buitengewone leden (studenten en candidaten) op f 10.— te bepalen. Huisgenoot-leden betalen, zooals bekend is, slechts f 5.—.

Nadere inlichtingen omtrent het lidmaatschap verstrekt de Secretaris, die op aanvraag ook aangifte-formulieren toezendt.

De eerste lijst van candidaat-leden per 1 Januari a.s. zal in het Chemisch Weekblad van 2 November a.s. worden opgenomen. De Uitgevers hebben zich bereid verklaard, het Chemisch Weekblad van dien datum af gratis aan alle candidaat-leden toe te zenden.

*) Brieven te richten tot de Chem. Arbeidsbeurs, Keizersgracht 732, Amsterdam (met ingesloten porto voor doorzending).