

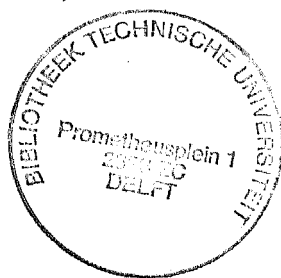
DE TEMPERATUURSINVLOED OP PHYSIO-  
LOGISCHE PROCESSEN DER ALCOHOLGIST.

# DE TEMPERATUURSINVLOED OP PHYSIOLOGISCHE PROCESSEN DER ALCOHOLGIST.

---

## PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN DOCTOR IN DE TECHNISCHE WETENSCHAP AAN DE TECHNISCHE HOOGESCHOOL TE DELFT, OP GEZAG VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS DR. J. CARDINAAL, W. I., HOOGLEERAAR IN DE AFDEELING DER ALGEMEENE WETENSCHAPPEN, VOOR DEN SENAAT TE VERDEDIGEN OP VRIJDAG 29 MAART 1912, DES NAMIDDAGS TE 3 UUR, DOOR JEANNE EGBERTINE VAN AMSTEL, TECHNOLOOG, GEBOREN TE SOEKABOEMI (JAVA). \* \* \*



AAN  
MIJNE OUDERS.

*Aan het einde van mijne studie aan de Technische Hoogeschool gekomen, is het mij een aangename plicht mijne dankbaarheid te uiten aan allen, wier colleges en practica mij van zooveel nut zijn geweest. Daarbij denk ik vooral aan U, Hoogleraren der Scheikundige Afdeeling; de jaren, die ik onder Uwe gewaardeerde leiding mocht werkzaam zijn, zullen mij steeds in dankbare herinnering blijven.*

*Uw colleges, Hooggeleerde Beijerinck, waren het, die in mij den wensch deden ontstaan, mijne studie in biologische richting voort te zetten. Ook de vele leerzame gesprekken, die ik het voorrecht had met U te mogen voeren, zijn voor mij van groote waarde geweest.*

*Het meest ben ik echter verschuldigd aan U, Hooggeleerde Van Iterson, Hooggeachte Promotor, onder wiens leiding ik mijne studie voltooide en wien geen moeite ooit te veel was, mij ter zijde te staan bij de samenstelling van dit proefschrift.*

*Uwe veelzijdige kennis, Uwe onvermoeide werkkraft en Uwe welwillende belangstelling zijn mij bij mijne onderzoekingen steeds een groote steun geweest.*

# INHOUD.

|   | Bladz. |
|---|--------|
| INLEIDING. . . . .  | I      |
| HOOFDSTUK I. INVLOED VAN DE TEMPERATUUR OP DE REACTIE-<br>SNELHEID VAN CHEMISCHE PROCESSEN.   |        |
| § 1. Theoretische beschouwingen . . . . .   | 5      |
| § 2. Empirische waarnemingen . . . . .  | 17     |
| HOOFDSTUK II. VROEGERE ONDERZOEKINGEN OMTRENT DEN TEM-<br>PERATUURINVLOED OP PHYSIOLOGISCHE PROCESSEN IN<br>HET ALGEMEEN.   |        |
| § 1. Toepassingen van den regel van VAN 'T HOFF en de<br>formule van ARRHENIUS op physiologische processen<br>en de vergelijking dezer processen met chemische. . . | 33     |
| § 2. Kardinale punten op de snelheid-temperatuur-lijn voor<br>physiologische processen. . . . .   | 51     |
| § 3. De theorie van DUCLAUX—BLACKMAN voor de verklaring<br>van het temperatuur-optimum . . . . .  | 68     |
| HOOFDSTUK III. OUDERE ONDERZOEKINGEN BETREFFENDE DEN<br>TEMPERATUURINVLOED OP DE ONDERZOCHE PROCESEN.   |        |
| § 1. De alcoholgisting . . . . .  | 77     |
| § 2. De ademhaling . . . . .  | 81     |
| § 3. De inversie van rietsuiker . . . . .   | 91     |

HOOFDSTUK IV. KRITIEK OP VROEGERE EN LEIDENDE BEGINSLEN  
BIJ EIGEN ONDERZOEKINGEN.

|   |     |
|---|-----|
| § 1. Kritiek op vroegere onderzoekingen . . . . .           | 96  |
| § 2. Leidende beginselen bij eigen onderzoekingen . . . . . | 103 |

HOOFDSTUK V. ALCOHOLGISTING.

|  |     |
|--|-----|
| § 1. Inrichting der proefnemingen . . . . .  | 110 |
| § 2. Snelheid en gistconcentratie . . . . .  | 115 |
| § 3. Snelheid en suikerconcentratie . . . . .  | 121 |
| § 4. Snelheid en temperatuur . . . . .   | 124 |
| § 5. Graad van afsterving en temperatuur . . . . .                                     | 135 |
| § 6. Berekening der optimumkromme voor het geval geen<br>afsterving intreedt . . . . . | 137 |
| § 7. Enkele conclusies uit de berekening der optimumkromme                             | 140 |

HOOFDSTUK VI. ZUURSTOFADEMHALING DER ALCOHOLGIST.

|   |     |
|---|-----|
| § 1. Voorloopige waarnemingen en beschrijving van de proef-<br>inrichting . . . . . | 143 |
| § 2. Lucht of zuurstof? . . . . .   | 151 |
| § 3. De ademhaling en de zuurstofspanning . . . . .                                 | 153 |
| § 4. De ademhaling en de gisthoeveelheid . . . . .                                  | 158 |
| § 5. Het temperatuur-optimum . . . . .  | 160 |
| § 6. De afsterving. . . . .   | 163 |
| § 7. De theoretische nullijn. . . . .   | 166 |

AANHANGSEL. ADEMHALING VAN KIEMPLANTEN . . . . . 169

HOOFDSTUK VII. INVERSIE VAN RIETSUIKER DOOR GIST-INVERTINE.

|   |     |
|---|-----|
| § 1. Gevolgde methode van onderzoek . . . . .   | 173 |
| § 2. Factoren, die de inversiesnelheid beïnvloeden. . . . .                           | 178 |
| § 3. Het afsterven bij verhitting . . . . .   | 183 |
| § 4. De bepaling der optimumkromme voor het geval geen<br>afsterven intreedt. . . . . | 185 |

|   |            |
|---|------------|
| HOOFDSTUK VIII. REDUCTIE VAN METHYLEENBLAUW . . . . . | Bladz. 189 |
|---|------------|

HOOFDSTUK IX. HET AFSTERVEN VAN VERSCHILLENDE FUNCTIES  
DER GIST BIJ SCHADELIJKE TEMPERatuur.

|  |     |
|--|-----|
| § 1. De regel van TAMMANN voor het afsterven van enzymen<br>bij verhitting . . . . . | 202 |
| § 2. De vorm der afstervingskrommen . . . . .  | 206 |
| § 3. Het verschillend gedrag der functies bij verhitting . . . . .                   | 211 |

HOOFDSTUK X. SLOTBESCHOUWINGEN.

|  |     |
|--|-----|
| § 1. Samenvatting der verkregen uitkomsten en conclusiën . . . . . | 215 |
| § 2. Punten van verschil met vroegere onderzoekers . . . . .       | 220 |
| § 3. Nieuwe gezichtspunten . . . . .                               | 230 |

|                            |     |
|----------------------------|-----|
| PLATENVERKLARING . . . . . | 237 |
|----------------------------|-----|



## INLEIDING.

---

Aanvankelijk was het doel van mijn onderzoek, de theorie van BLACKMAN aan het experiment te toetsen. Deze theorie, die, zij het dan ook in minder scherp omschreven vorm, ook door DUCLAUX en voor enzymprocessen door TAMMANN was geformuleerd, komt in hoofdzaak daarop neer, dat het optreden van een optimum in de aanvankelijk stijgende snelheid-temperatuurkromme voor physiologische processen alleen veroorzaakt zou worden door afsterven van protoplasma en dat de snelheid voor de schadelijke temperaturen den regel door VAN 'T HOFF voor chemische processen opgesteld, zou volgen, wanneer de objecten zonder afsterving op die temperaturen konden worden gebracht en de snelheid van het proces onder die omstandigheid gemeten was.

Waar BLACKMAN hierbij vooropstelde, dat physiologische processen chemische zouden zijn, die zich in het organisme afspelen, daar lag het voor de hand ook den temperatuursinvloed op chemische processen nader uit de literatuur te bestudeeren en na te gaan in hoeverre de betrekkingen door VAN 'T HOFF en ARRHENIUS voor chemische processen afgeleid, algemeen geldig waren en bevestigd werden door de uitkomsten der proefnemingen.

Van zelf splitste zich deze bestudeering der chemische processen omtrent den temperatuursinvloed in die van de reacties in *homogene* systemen en die in *heterogene* systemen. In beide gevallen bleek de samenhang van de reactiesnelheid met de temperatuur lang niet altijd zoo eenvoudig te zijn als dit door de betrekkingen van VAN 'T HOFF en van ARRHENIUS wordt



weergegeven. Vooral in de heterogene systemen waren daarvan talrijke afwijkingen te constateeren. Deze afwijkingen waren in vele gevallen theoretisch te verwachten en waar zij eerst proefondervindelijk werden gevonden, daar slaagde men er doorgaans in daarvoor een aannemelijke, ofschoon hypothetische verklaring te geven, uitgaande van de aanname, dat de bedoelde betrekkingen wel voor homogene systemen zouden gelden.

Nu is het toch zeker, dat physiologische processen verlopen in heterogene systemen, dit deed de verwachting ontstaan, dat ook voor physiologische processen, niet zonder meer de boven beschouwde betrekkingen van toepassing zouden zijn en het lag dus voor de hand na te gaan, of en in hoeverre dit bleek bij de resultaten der reeds vroeger verrichte proefnemingen.

Bij physiologische processen moesten wel onderscheiden worden, de invloed der onschadelijke en die der (blijvend) schadelijke temperaturen op de snelheid.

De oudste onderzoekingen omtrent den temperatuursinvloed op physiologische processen hadden meest alle betrekking op onschadelijke temperaturen. Hoewel voor zulke temperaturen aan de genoemde betrekkingen vaak vrij nauwkeurig wordt voldaan, blijkt dit bij eene nadere studie toch niet op voldoende wijze het geval te zijn om tot een volkomen geldigheid daarvan voor physiologische processen bij onschadelijke temperatuur te mogen besluiten.

Latere onderzoekers zetten de waarnemingen ook voort bij schadelijke temperaturen en dan werd doorgaans een optimum gevonden.

Voor de verklaring van het optreden van dit temperatuur-optimum, dat aanvankelijk als kenmerkend voor physiologische processen werd gehouden, werd in 1905 de op blz. 1 genoemde theorie van BLACKMAN opgesteld, in welke theorie de tijdsfactor een groote rol speelt, in zooverre namelijk, dat hierbij werd aangenomen, dat wanneer het brengen op een schadelijke temperatuur maar in 0 minuten tijds zou kunnen plaats hebben, er ook geen afsterving zou zijn ingetreden. Deze theorie werd

later nogmaals door KUYPER en RUTGERS aan het experiment getoetst. In hoofdzaak werd door hen in hunne uitkomsten een bevestiging der theorie gevonden, hoewel toch ook afwijkingen werden geconstateerd.

Bij nadere bestudeering leek ons nu de inrichting der proefnemingen en het materiaal daarbij gebruikt, zoowel bij die experimenten, waarop BLACKMAN zijne theorie baseerde, als voor die der andere onderzoekers, die zijne theorie wilden toetsen aan eigen proefnemingen, niet van dien aard, dat uit de uitkomsten daarvan zulke verstrekkende conclusies mochten getrokken worden, daar zich bij die proefnemingen omstandigheden konden voordoen, waardoor niet meer *alleen* de temperatuursinvloed werd nagegaan. Ook de wijze, waarop van de verkregen cijfers gebruik werd gemaakt leek ons eenigszins willekeurig.

Door nu de inrichting der proefnemingen zoodanig te wijzigen, dat men kon aannemen zooveel mogelijk alleen met den invloed van de temperatuur te doen te hebben, en mede door op doelmatige wijze de resultaten te interpreteren, hoopten wij een meer nauwkeurige toetsing van de theorie van BLACKMAN aan het experiment te verkrijgen. Als proefmateriaal werd gebruikt alcoholgist, welke zich wegens verschillende eigenschappen uitstekend daartoe eigent.

De door mij voor dit organisme bestudeerde functies behooren deels tot zulke, welke men doorgaans als typische levensprocessen beschouwt (reproductie en ademhaling), deels tot die, welke gewoonlijk tot de zoogenaamde enzymreacties worden gerekend (alcoholgisting, inversie), deels ook tot zulke, waaromtrent geen nadere opvatting bestaat (reductie van methyleenblauw). Voor deze drie soorten van processen werd nu de theorie van DUCLAUX-BLACKMAN als ontoereikend voor de verklaring van het optreden van een temperatuur-optimum gevonden.

Ieder der bestudeerde processen vereischte het construeeren van speciale apparaten; dat hetwelk voor de studie der ademhaling werd gebouwd, liet zich met een kleine wijziging ook

voor het onderzoek van dit proces met andere proefobjecten toepassen. Daarvan is dan ook gebruik gemaakt, teneinde de ademhaling van kiemplantjes van tarwe aan een hernieuwd onderzoek te onderwerpen. De resultaten van deze studie, die min of meer buiten het kader van mijne verdere onderzoekingen valt, zijn in een „Aanhangsel” van Hoofdstuk VI besproken.

Gedurende de studie van mijn aanvankelijk onderwerp wijzigde zich de opvatting over eenige der voorop gestelde theorieën, zoowel door uitkomsten van eigen onderzoekingen als door literatuurstudie en voor een deel ook door gedachtenwisseling met andere onderzoekers, zoodat tenslotte de aard van het proefschrift van een toetsing der theorie van BLACKMAN veranderde in een bijdrage tot de kennis van den temperatuursinvloed op physiologische processen, meer speciaal die van de alcoholgist, terwijl daarnaast een aannemelijke verklaring gezocht werd voor de daarbij verkregen uitkomsten.

In 't bijzonder werd de „afsterving” van de verschillende functies bij verhitting nagegaan en dit proces, waaromtrent door TAMMANN reeds een theorie was opgesteld, is in een afzonderlijk hoofdstuk behandeld.

De voor onze proefnemingen benoodigde alcoholgist werd ons met de grootste welwillendheid verstrekt door de Nederlandsche Gist- en Spiritusfabriek te Delft, waarvoor ik de Directie hier mijn dank betuig.

Ook den heer A. J. KLUYVER, assistent aan het Laboratorium voor microscopische anatomie, breng ik hier mijn welgemeenden dank voor de vele literatuuropgaven, welke hij mij deed toekomen.

## HOOFDSTUK I.

### Invloed van de temperatuur op de reactiesnelheid van chemische processen.

---

#### § 1. *Theoretische Beschouwingen.*

Tot heden ontbreekt een voldoende grondslag om eene theoretische formule op te stellen, die het algemeene verband tusschen de snelheid eener chemische reactie en de temperatuur weergeeft. Dit geldt zoowel voor de reacties in *homogene* als voor die in *heterogene* systemen, zelfs de verdund homogene systemen maken hierop geen uitzondering. Deze omstandigheid vindt hare verklaring in het feit, dat de thermodynamica den tijd buiten beschouwing laat en zich slechts met evenwichtsverschijnselen bezig houdt<sup>1)</sup>, terwijl de formules der chemische dynamica de warmtehoeveelheden niet in rekening brengen.

De moeilijkheid, die hier aanwezig is, treedt duidelijk in het licht door de beschouwingen van BODENSTEIN<sup>2)</sup>. Deze onderzoeker wijst er op, dat de reacties een grooten weerstand schijnen te ondervinden, die aan inwendige omstandigheden moet worden toegeschreven en waaraan GIBBS reeds in 1876 den naam gaf van *passive resistance*. Onder deze omstandigheden zal de snelheid binnen korten tijd na den aanvang der reactie recht evenredig worden met de *drijvende kracht* en in dat geval wordt dus:

$$\text{de snelheid} = \frac{\text{drijvende kracht}}{\text{weerstand}}.$$

---

1) Zie o. a. MELLOR: *Chemical Statics and Dynamics*, p. 387, London 1904.

2) *Z. f. physik. Ch.* **49**, 1904, S. 61.

Als maat voor de drijvende kracht kan men de *vrije energie* van het systeem beschouwen, waarvan het bekend is, dat ze bij stijgende temperatuur afneemt.

Van den *weerstand* is weinig bekend, juist hierin ligt dan ook de moeilijkheid van het vraagstuk. Men neemt doorgaans aan, dat de weerstand bij verhooging van temperatuur eveneens afneemt. *A priori* laat zich nu niet zeggen, hoe de *snelheid* met de temperatuur zal veranderen. Maar wel kan men uit deze beschouwing zien, dat afhankelijk van verschillen in den graad van afname van de vrije energie en den passieven weerstand, de mogelijkheid bestaat, dat de reactiesnelheid met stijging van temperatuur toeneemt, dat ze afneemt en ook, dat ze bij een zekere temperatuur een optimum bereikt <sup>1)</sup>. De ervaring heeft nu geleerd, dat de meeste chemische reacties, zooals wij die te zien krijgen, bij verhooging van temperatuur sneller gaan verlopen; enkele vertoonen evenwel eene afnemende snelheid bij stijging van temperatuur, terwijl sommige ook een temperatuur-optimum bezitten. Hierbij heeft men evenwel te bedenken, dat de meeste dezer reacties bestudeerd zijn in een zeer beperkt temperatuursgebied, zoodat zich daaruit geen algemeen besluit laat trekken.

Voor het snelheidsverloop van chemische processen bij veranderlijke temperatuur zijn nu binnen het hier bedoelde, beperkte temperatuursgebied regels en formules aangegeven, die inderdaad vaak door de uitkomsten van experimenten werden bevestigd. De bovenbedoelde uitzonderingsgevallen wijzen er echter op, dat men hier volstrekt niet de juiste algemeene uitdrukking voor het gezochte verband kan hebben gevonden.

Hierbij laat zich nog opmerken, dat voor sommige dier formules tot zekere hoogte een theoretische afleiding werd gegeven, maar zooals wij zullen zien, is deze steeds op vrij willekeurige vooronderstellingen gebaseerd.

<sup>1)</sup> Ten onrechte stelt MELLOR (l. c. p. 416) het voor, alsof uit deze beschouwing zou volgen, dat *iedere* chemische reactie met een optimum verloopt.

Beschouwen wij in de eerste plaats de formule, die door VAN 'T HOFF opgesteld is voor het hier besproken verband. Uitgangspunt daarvoor vormde eene thermodynamische betrekking, die het verband tusschen de evenwichtsconstante van een omkeerbaar chemisch proces en de temperatuur weergeeft en welke luidt:

$$\frac{d \lg K}{dT} = \frac{q}{2T^2},$$

waarin  $q$  de moleculaire omzettingwarmte beduidt bij de absolute temperatuur  $T$ <sup>1)</sup>. Men heeft nu te bedenken, dat deze formule uitsluitend werd afgeleid voor gevallen, waarin de opgeloste of gasvormige stof in verdunnen toestand aanwezig is. Zij geldt overigens zoowel voor homogene als voor heterogene stelsels.

Beschouwt men nu met VAN 'T HOFF<sup>2)</sup> het evenwicht als bestaande uit twee tegengesteld gerichte, met dezelfde snelheid verlopende reacties met de reactieconstanten  $k_1$  en  $k_2$ , dan is:

$$K = \frac{k_1}{k_2}$$

en laat zich bovenstaande formule schrijven in de gedaante:

$$\frac{d \lg k_1}{dT} - \frac{d \lg k_2}{dT} = \frac{q}{2T^2}.$$

Dit leidde er VAN 'T HOFF toe, aan te nemen, dat zich het verband tusschen de reactieconstanten  $k_1$  en  $k_2$  der beide reacties en de temperatuur laat voorstellen door de formules:

$$\frac{d \lg k_1}{dT} = \frac{A_1}{T^2} + B \text{ en}$$

$$\frac{d \lg k_2}{dT} = \frac{A_2}{T^2} + B.$$

Hij onderstelde n.l., dat zich de werking van de temperatuur op de snelheid van een reactie laat splitsen in 2 deelen, waar-

<sup>1)</sup> Een beknopte afleiding voor dit verband geeft VAN 'T HOFF in zijne Vorlesungen, I. S. 100 Braunschweig, 1905. Van zuiver thermodynamisch standpunt is echter juistere de afleiding van PLANCK in Vorlesungen über Thermodynamik. S. 217—225. Leipzig, 1905.

<sup>2)</sup> Études de Dynamique chimique. p. 115 e. v., Amsterdam, 1884.

van 't eene (B) het evenwicht niet verandert en dan ook, voor beide omkeerbare reacties als gelijk kan worden aangenomen, terwijl het andere deel  $\left(\frac{A}{2T^2}\right)$  juist wel invloed op het evenwicht zou uitoefenen en dit voor beide reacties op verschillende wijze. Willekeurig blijft hierbij echter de aanname, dat de term B onafhankelijk van de temperatuur zou zijn.

Stellig wordt nu deze formule van VAN 'T HOFF door verschillende experimenten bevestigd, maar deze hebben steeds op een zeer beperkt temperatuursgebied betrekking. Het laat zich trouwens van te voren verwachten, dat zij bij groote temperatuursverschillen niet aan de werkelijkheid beantwoordt. Immers wij zagen reeds, dat de formule

$$\frac{d \lg K}{dT} = \frac{q}{2T^2},$$

die uitgangspunt voor de afleiding vormt, slechts geldt voor gevallen, waarin de wet van BOYLE-GAY-LUSSAC mag worden toegepast; maar ook zal de afleiding slechts zin hebben zoolang  $q$  van de temperatuur onafhankelijk is, hetgeen volstrekt niet voor grootere temperatuursverschillen het geval is. Bij hogere temperatuur neemt  $q$  voor talrijke chemische reacties af, zelfs kan deze grootheid daarbij gelijk aan 0 en vervolgens negatief worden<sup>1)</sup>, en er is geen reden aan te geven, waarom dit ook niet met  $A_1$  en  $A_2$  het geval zou kunnen zijn.

Integreert men de formule van VAN 'T HOFF, dan vindt men:

$$\lg k = -\frac{A}{T} + B T + C.$$

Wanneer  $A$  *positief* is (B tevens positief aannemend), dan moet bij stijging der temperatuur ook  $k$  toenemen, dus ook de reactiesnelheid. Is  $A$  *negatief*, dan kan omgekeerd de reactiesnelheid bij stijging van temperatuur *afnemen*. Het schijnt, dat reacties, waarbij  $A$  positief is, het meest voorkomen, hetgeen waarschijnlijk daarmede samenhangt, dat de grootheid  $A$  nauw

<sup>1)</sup> Dat wil zeggen, dat een bij lage temperatuur exotherm proces, bij hooge temperatuur endotherm kan worden.

verband houdt met de reactiewarmte (zie ook de verdere beschouwingen), terwijl de chemische omzettingen, die men doorgaans bestudeert, meestal *exotherme* reacties zijn. <sup>1)</sup>

Waarom in den regel bij temperaturen, die niet veel van het gewone temperatuursgebied afwijken, voor iedere 10° temperatuurstijging een verdubbeling der reactiesnelheid wordt verkregen, eene regel waarop VAN 'T HOFF <sup>2)</sup> heeft gewezen, en die doorgaans naar dezen onderzoeker wordt genoemd, maar ook wel als de R. G. T. regel wordt aangeduid, leert deze formule niet. Terloops zij opgemerkt, dat reeds in 1867 door HARCOURT <sup>3)</sup> dezelfde empirische regel is gegeven, hoewel hij dezen niet nader met cijfers toelichtte.

Ook ARRHENIUS <sup>4)</sup> geeft op grond van thermodynamische beschouwingen en onder invoering van bepaalde hypothesen een formule voor het gezochte temperatuursverband. Hij gaat daarbij uit van een studie over de inversie van rietsuiker. In 't algemeen wijst ARRHENIUS er op, dat de toename van de reactiesnelheid bij een chemisch proces in zulke mate geschiedt, dat het onwaarschijnlijk moet genoemd worden, dit aan een verhooging van de kinetische energie der moleculen alléén toe te schrijven. De reactiesnelheid neemt n.l. bij chemische processen doorgaans bij 1° temperatuursverhoging met 10 à 15 % toe, de kinetische energie van gasvormige of van opgeloste moleculen daarentegen slechts met  $\frac{1}{8}$  %. Ook de verandering der inwendige wrijving zou niet zulk een belangrijke wijziging waarschijnlijk maken. ARRHENIUS onderstelt dus, dat er een chemische verandering in de werkzame stof plaats vindt en neemt aan, dat de om-

<sup>1)</sup> Dit berust op het feit, dat de grootheid  $U - T\eta$ , waarin  $U$  is de reactiewarmte,  $T$  de absolute temperatuur en  $\eta$  de entropie bij stijgende temperatuur afneemt. Is nu  $T$  zoo klein, dat  $U - T\eta > 0$ , dan is de reactie exotherm, is  $U - T\eta < 0$ , dan is de reactie endotherm. Slechts bij het absolute nulpunt is  $U - T\eta$  *altijd* grooter dan 0, daar zijn dus *alle* reacties exotherm.

<sup>2)</sup> Studien zur chemischen Dynamik, S. 128. Amsterdam, 1896.

<sup>3)</sup> Journal Chem. Soc. 20, 1867, p. 460.

<sup>4)</sup> Z. f. physik. Ch 4, 1889, S. 226; 28, 1893, S. 317.



zetting slechts geschiedt voor moleculen, die in een bepaalden actieven toestand zijn. Hij onderstelt dan, dat er een evenwichtstoestand is tusschen de actieve en de inactieve moleculen, welke laatste hij in groote overmaat ten opzichte van de eerste aanneemt. De evenwichtstoestand, welke zich laat voorstellen door de formule:

$$M_a = K M_i$$

(K is de evenwichtsconstante), zou zich met de temperatuur wijzigen en wel zou het verband tusschen de evenwichtsconstante en de temperatuur weer gegeven zijn door de formule:

$$\frac{d \lg K}{dT} = \frac{q}{2T^2},$$

waarin q de warmtehoeveelheid voorstelt, die bij overgang van één molecule inactieve stof in één molecule actieve stof zou vrijkomen. Hieruit volgt door integreeren:

$$K_{t_1} = K_{t_0} e^{q \frac{T_1 - T_0}{2T_1 T_0}}$$

Bedenkt men nu dat:

$$K = \frac{M_a}{M_i}$$

en dat aangenomen werd, dat de inactieve stof steeds in groote overmaat aanwezig is, dan mag K evenredig aan  $M_a$  worden ondersteld. Nu neemt ARRHENIUS verder (stilzwijgend) aan, dat de snelheid, waarmee zich het evenwicht tusschen de actieve en de inactieve moleculen instelt, zeer groot is, en onderstelt, dat de omzettingssnelheid der actieve moleculen onafhankelijk is van de temperatuur en evenredig met de op ieder oogenblik aanwezige hoeveelheid dier moleculen; daardoor kan men dan schrijven:

$$v_t = v_0 e^{q \frac{T_1 - T_0}{2T_1 T_0}}$$

Deze formule is inderdaad voor tal van chemische reacties juist gebleken en er kwam aan het licht, dat de grootheid q, zooals die zich uit de experimenten laat berekenen, voor zeer verschillende omzettingen binnen zekere grenzen constant wordt gevonden

en wel van de grootte 10 à 20 duizend Calorieën. Omgekeerd volgt hieruit de juistheid van den empirischen regel van VAN 'T HOFF, dat nl. binnen het temperatuursgebied, waarin onze chemische proeven doorgaans genomen worden, voor een gelijke temperatuursverhooging bij verschillende chemische reacties de snelheden in een zelfde verhouding (voor iedere 10° ongeveer 2 à 3 maal) toenemen, immers binnen dat temperatuursgebied mag men bij benadering het product  $T_0 T_1$  constant nemen. Geheel juist is deze aanname niet en men mag dan ook reeds op grond van de formules van VAN 'T HOFF en van ARRHENIUS voorspellen, dat de temperatuurscoëfficiënt bij stijging van temperatuur reeds binnen het gebied, waarvoor de regel werd gegeven, zal afnemen. De volgende becijfering gaat uit van deze laatste formule en geeft een inzicht in deze theoretisch te verwachten afname voor het temperatuursgebied van 0° tot 50° C. Passen wij haar toe:

1°. voor de temperaturen 0° en 10° C.,

2°. voor de temperaturen 40° en 50° C.

en noemen wij de temperatuurscoëfficiënten voor deze temperatuursintervallen resp.  $Q_1$  en  $Q_2$ , dan is:

$$Q_1 = e^q \frac{10}{273.2^{25}} \text{ en } Q_2 = e^q \frac{10}{313.323},$$

waaruit volgt:

$$\lg Q_1 = q \frac{10}{273.283} \text{ en } \lg Q_2 = q \frac{10}{313.323}$$

en:

$$\frac{\lg Q_2}{\lg Q_1} = \frac{273.283}{313.323} = 0.764.$$

Stel nu  $Q_1 = 3$ , dan is  $Q_2 = 2.3$  <sup>1)</sup>. Het blijkt dus, dat de

<sup>1)</sup> Ook uit de formule van VAN 'T HOFF is, zooals wij reeds opmerkten, af te leiden, dat de temperatuurscoëfficiënt afneemt met de temperatuur. Gaan wij nl. uit van de formule:

$$\lg k = -A/T + BT + C \text{ (zie blz. 8)}$$

en passen wij deze toe op 2 verschillende temperaturen  $T_1$  en  $T_0$ , dan

afname van den bedoelden temperatuurscoëfficiënt in 't hierbeschouwde temperatuursgebied gering is (en wij zullen later zien, dat zij geringer is dan dit meestal voor physiologische processen wordt waargenomen). Het zal nu duidelijk zijn, dat indien de formule van ARRHENIUS juist is, de grootheid  $q$ , die zich uit de waargenomen snelheid bij verschillende temperaturen laat berekenen, meer constant zal zijn, dan de temperatuurscoëfficiënt; dit bleek ook inderdaad het geval te wezen. <sup>1)</sup>

Door EULER <sup>2)</sup>, is de hypothese ingevoerd, dat voor zoover de reacties in waterige oplossing plaats vinden, de actieve stof steeds in ionentoestand aanwezig is. Hij onderstelt dus, dat bijvoorbeeld bij inversie van rietsuiker deze stof gedissocieerd voorkomt en de reactie uitsluitend geschiedt tusschen daarbij optredende ionen en ionen van gedissocieerd water.

Hierdoor wordt dan de beteekenis van  $q$ : de som der *dissociatiewarmten*. Nu is de dissociatiewarmte van water 13450 Calorieën en de dissociatiewarmte van een zwak electrolyt, als hoedanig rietsuiker moet worden beschouwd, kan men als van dezelfde grootte aannemen; in die onderstelling wordt dan  $q$  ongeveer 27000 Calorieën, hetgeen met de onder toepassing van de formule van ARRHENIUS, uit de experimenten berekende waarde van  $q$ , vrij goed overeenkomt.

vinden wij:

$$\lg v_1/v_0 = -A \left( \frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_0} \right) + B(T_1 - T_0)$$

$$\text{of: } v_1 = v_0 e^{A \frac{(T_1 - T_0)}{T_1 T_2} + B(T_1 - T_0)}.$$

Voor 10° temperatuursverschil wordt dus:

$$Q_{10} = e^{A \frac{10}{T_1 T_2} + 10 B}.$$

Hoewel nu deze formule niet te gebruiken is voor de berekening der afname van  $Q_{10}$  met stijging der temperatuur, zoo is daaruit toch te zien, dat de daling werkelijk moet optreden, daar bij stijging van temperatuur  $T_1$   $T_0$  grooter wordt en dus  $Q_{10}$  kleiner wordt.

<sup>1)</sup> Zie ook TRAUTZ en VOLKMANN Z. f. physik. Ch. 64, 1908, S. 87.  
Z. f. physik. Ch. 36, 1901, S. 641.

Hoewel deze formule van ARRHENIUS dus inderdaad voor verschillende gevallen geschikt blijkt, zoo laat ook hare afleiding, evenals die van de formule van VAN 'T HOFF, *a priori* uitzonderingsgevallen verwachten. Immers ook hierbij wordt uitgegaan van de formule;

$$\frac{d \lg K}{dT} = \frac{q}{2T^2},$$

welke, zooals wij zagen, slechts voor verdunde systemen geldigheid heeft en ook alleen bruikbaar is, zoolang  $q$  constant blijft. Wel heeft VAN 'T HOFF <sup>1)</sup> er op gewezen, dat men door gebruik te maken van de formule van HESS, die het verband tusschen  $q$  en de temperatuur weergeeft, n.l.:  $q_T = q_0 + (S_2 - S_1)T$  (waarin  $q_0$  de constante omzettingswarmte bij 0° C. en  $S_2$  en  $S_1$  de specifieke warmten van de twee systemen, die met elkaar in evenwicht zijn), de betrekking van ARRHENIUS zich in den meer algemeen geldigen vorm laat schrijven:

$$\frac{d \lg k}{dT} = \frac{A + BT}{T^2},$$

welke ook door KOOP <sup>2)</sup> langs empirischen weg is afgeleid; maar ook deze heeft slechts beperkte geldigheid. Immers de grootheden  $S_2$  en  $S_1$  zijn zelf weer functies van de temperatuur. <sup>3)</sup> Het behoeft dus niet te verwonderen, dat in verschillende gevallen andere formules geschikt bleken om het gezochte temperatuursverband uit te drukken.

In 't algemeen lieten zich deze empirische formules, zooals VAN 'T HOFF <sup>4)</sup> aantoonde, tot den vorm:

$$\frac{d \lg k}{dT} = \frac{A + BT + CT^2 \dots}{T^2}$$

terugbrengen en het bleek, dat men de hoogere termen der hierin voorkomende reeks doorgaans kon weglaten, d.w.z., dat de waarden der constanten in die reeks snel afnamen.

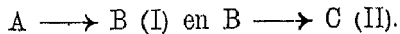
<sup>1)</sup> Vorlesungen, S. 219.

<sup>2)</sup> Z. f. physik. Ch. 12, 1893, S. 155.

<sup>3)</sup> Zie o. a. A. WINKELMANN, Handbuch der Physik II. 2. Breslau.

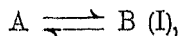
<sup>4)</sup> Vorlesungen S. 230; men zie ook: MELLOR, l. c. p. 388.

De afleiding der formules, en dit geldt zoowel voor die van ARRHENIUS als voor die van VAN 'T HOFF, sluit in zich eenige onderstellingen, welke niet altijd overeenkomstig de werkelijkheid zijn. Nemen wij echter aan, dat inderdaad voor homogene verdunde systemen die regels doorgaan, dan kan men toch nog gevallen voorspellen, waarbij groote afwijkingen van die formules zullen optreden. Dit kan n.l. het geval zijn, wanneer het bestudeerde proces bestaat uit een combinatie van reacties, waarvan er een omkeerbaar is en dus tot een evenwicht leidt. Beschouwen wij het eenvoudigste geval, n.l. de reactie  $A \longrightarrow C$ , bestaande uit de processen :



Men zal nu bij een dergelijk proces een abnormale temperatuurscoëfficiënt waarnemen, wanneer de gecombineerde processen aan de volgende voorwaarden voldoen :

- 1°. (I) omkeerbaar is, dus tot een evenwicht leidend en voort te stellen door :



- 2°. dit evenwicht zich instelt met een snelheid, die zeer groot is ten opzichte van de gemeten snelheid, d.i. in dit geval de snelheid van II,  
 3°. het evenwicht verschuifbaar is met de temperatuur,  
 4°. het evenwicht bij de beschouwde temperatuur nog voor *aanmerkelijke* verschuiving vatbaar, m. a. w. niet te veel naar een der beide zijden gelegen is.

Er zij op gewezen, dat in het hier beschouwde geval vooropgesteld wordt, dat het tweede proces aan de formule van VAN 'T HOFF of die van ARRHENIUS beantwoordt, en een normalen temperatuurscoëfficiënt heeft. Men houde dit wel in 't oog bij de vergelijking van deze onderstellingen met diegene, welke uitgangspunt vormden voor de afleiding van de formule van ARRHENIUS, daar toch werd ook een zelfde combinatie van reacties ondersteld, maar de tweede onafhankelijk van de temperatuur aangenomen.

De gemeten snelheid is nu bij aannahme der genoemde onderstellingen afhankelijk van de concentratie van B. Wordt dus door temperatuursverhoging het evenwicht (I) sterk naar rechts verschoven, en daardoor ook de concentratie van B sterk vergroot, dan zal dit ook voor de snelheid van (II) gelden.

Verschuift omgekeerd het evenwicht door temperatuursverhoging naar links, dan wordt de concentratie van B vermindert, waardoor de gemeten snelheid wordt gedeprimeerd, terwijl zij, daar II toch met grootere snelheid verloopt, van de andere zijde door de hogere temperatuur verhoogd wordt. In dit laatste geval kunnen zich nu drie mogelijkheden voordoen: 1°. de snelheid van de resulterende reactie blijft toch voortdurend toenemen, 2°. zij neemt af met temperatuursverhoging, 3°. zij vertoont een optimum.

Welk van de drie gevallen zal optreden, hangt af van de mate der evenwichtsverschuiving. Het kan zijn, dat de door die evenwichtsverschuiving optredende snelheidsvermindering zoo gering is, dat ze door de vermeerdering in de snelheid van II wordt opgeheven, maar ook is 't mogelijk, dat onmiddellijk de versnelling van het proces II door de temperatuur overheerscht wordt en dan heeft men dus een proces met een temperatuurscoëfficiënt  $< 1$ .<sup>1)</sup> Eindelijk kan het ook zijn, dat die overheersching eerst later bij nog hogere temperaturen optreedt, en dan heeft men een proces met een optimum.

Nog zij er op gewezen, dat indien bij een complex van processen, het eerste proces met veel grooter snelheid verloopt dan het tweede, (zonder dat het echter tot een evenwicht voert) een abnormaal groote temperatuurscoëfficiënt mogelijk wordt, welke men dus niet uitsluitend aan de aanwezigheid van evenwichtsreacties in het systeem behoeft toe te schrijven.

Hoewel verder bij de afleiding der formules van VAN 'T HOFF en ARRHENIUS geen rekening gehouden wordt met het al of niet homogeen zijn der media, zoo hebben toch de betrekkingen, die als

---

<sup>1)</sup> Ten onrechte spreekt men in zulk een geval vaak van een negatieven temperatuurscoëfficiënt.

uitgangspunt voor hunne beschouwingen dienden, in *heterogene systemen* slechts een beperkte toepassing. Afgescheiden dus van de afwijkingen, die wij op grond der voorafgaande beschouwingen reeds van deze formules kunnen verwachten, laat het zich aanzien, dat in *heterogene systemen* hunne toepassing beperkt zal blijven.

NERNST<sup>1)</sup> heeft aangetoond, dat bij tal van heterogene chemische reacties niet de eigenlijke reactiesnelheid wordt gemeten, maar die van physische processen, welke als een gevolg van den heterogenen bouw van het stelsel optreden. In andere gevallen, waarvan hieronder nog verschillende voorbeelden zullen worden aangehaald, schijnt men het resultaat van gesuperponeerde snelheden van chemische en physische processen te meten. Nu worden de physische processen in den regel op andere wijze door de temperatuur beïnvloed dan de chemische, terwijl bij deze laatste, zooals wij hierboven zagen, (in den regel) de snelheid in een meetkundige reeks stijgt, wanneer de temperatuur in een rekenkundige toeneemt, heeft bij de physische processen doorgaans onder die omstandigheden ook een rekenkundige toename der snelheid plaats.<sup>2)</sup> Bij de hier bedoelde processen in heterogene systemen zullen zich dus belangrijke afwijkingen van het gewone verloop kunnen voordoen.

Speciaal is bij heterogene *katalytische* reacties van te voren weinig omtrent het temperatuursverloop mee te delen, daar zich hierbij het proces naar alle waarschijnlijkheid in de grenslaag tusschen de katalysator en de oplossing afspeelt, in welke grenslaag ten gevolge van de temperatuursverandering zich niet alleen reactiesnelheden zullen wijzigen, maar ook concentratieveranderingen zullen optreden en zelfs een wijziging van het medium denkbaar is; vooral bij reacties, waarbij de katalysator in zeer fijn verdeelden toestand aanwezig is: bij suspensioide en emulsoide systemen zullen deze beschouwingen in aanmerking te nemen zijn. Ten

1) Z. f. phys. Chem. 47, 1904, S. 52.

2) Zie o. a. O. D. CHWOLSON, Lehrbuch der Physik S. 11, Braunschweig, 1905.

slotte zullen ook invloeden, die de katalysator zelve wijzigen een verandering van de snelheid met zich brengen.

Dat ook colloïdale oplossingen als heterogene media moeten worden beschouwd, mag men in hooge mate waarschijnlijk achten en het laat zich dus verwachten, dat ook bij reacties, waarbij colloïden als katalysator optreden, een abnormaal snelheid-temperatuur-verloop kan voorkomen.

## § 2. *Empirische waarnemingen.*

Bij het experimenteel onderzoek naar den temperatuursinvloed op chemische processen heeft men onderscheid te maken tusschen de proefnemingen, betrekking hebbende op processen in *homogene* en op die in *heterogene* systemen.

*Homogene processen.* Beschouwen wij nu eerst de onderzoekingen voor homogene stelsels, dan blijkt het, dat men in dit opzicht meestal bestudeerd heeft *verdunde* oplossingen. In vergelijk echter met het groot aantal reacties, welke in verdund homogene systemen kunnen verlopen, is het aantal op den temperatuursinvloed onderzochte processen betrekkelijk gering. De oorzaak hiervan is, dat de groote meerderheid der reacties, welke in verdund homogene systemen optreden, *ionenreacties* zijn, welke onmeetbaar snel verlopen. In 't algemeen werden voor de hier bedoelde onderzoekingen dan ook verdunde oplossingen gebruikt van organische verbindingen, welke zeer weinig gedissocieerd zijn. Ook de reacties, waaraan VAN 'T HOFF <sup>1)</sup> zijne formule:

$$\frac{d\lg k}{dT} = \frac{A}{T^2} + B$$

toetste en welke in zijn laboratorium zijn bestudeerd door SCHWAB, hadden plaats in stelsels, waarin tenminste de eene component een of andere organische verbinding was. Deze reacties waren nl.: de omzetting van dibroomfumaaruur in de isomere verbinding, die van chloorazijnzure natrium en natrium-

<sup>1)</sup> Etudes de Dynamique chimique, Amsterdam, 1884. S. 115.



hydroxyde en die van chloorazijnzuur in waterige oplossing. Op deze processen bleek inderdaad bovengenoemde formule van VAN 'T HOFF binnen de temperatuurgrenzen der waarnemingen zeer goed van toepassing te zijn.

Behalve de drie genoemde reacties zijn nog vele andere onderzoekingen gedaan voor processen in dergelijke systemen, terwijl ook door ARRHENIUS <sup>1)</sup> eenige dier onderzoekingen nader werden beschouwd en de uitkomsten volgens zijne formule:

$$\frac{d \lg k}{dT} = \frac{A}{T^2}$$

omgerekend, waarbij de resultaten zeer bevredigend waren. Ook het constant zijn van de door VAN 'T HOFF ingevoerde grootheid  $Q_{10}$  <sup>2)</sup> liet bij lagere temperaturen niets te wenschen over. Bij de hogere temperatuur, vanaf ongeveer 100° C. nam  $Q_{10}$  langzamerhand af, echter lang niet in die mate als dit reeds bij lagere temperaturen, zooals we zullen zien, het geval is bij physiologische processen. Deze afname bleef geheel binnen hetgeen te verwachten was volgens de theoretische formule van ARRHENIUS.

Toch zijn er enkele reacties in homogene verdunde systemen, die niet geheel aan den regel van VAN 'T HOFF of aan de formule van ARRHENIUS voldoen. Zoo heeft de inversie van rietsuiker door zuren een grooteren temperatuurscoëfficiënt terwijl deze ook abnormaal snel afneemt. URECH <sup>3)</sup> vond

o.a. voor:  $\frac{V_{30}}{V_{10}} = 4.6$ ,  $\frac{V_{30}}{V_{20}} = 4.3$ ,  $\frac{V_{40}}{V_{30}} = 3.4$ , terwijl SPOHR <sup>4)</sup> vond

voor:  $\frac{V_{50}}{V_{40}} = 3.6$  en  $\frac{V_{55}}{V_{45}} = 3.1$ .

Voor de verzeepings- en veresteringsnelheden daarentegen vindt men een abnormaal kleinen temperatuurscoëfficiënt. Uit de proeven van WARDER <sup>5)</sup> berekend, bedroeg  $Q_{10}$  voor de ver-

<sup>1)</sup> l. c. 1889.

<sup>2)</sup> Een korte schrijfwijze voor de temperatuurscoëfficiënt voor 10° temperatuurstijging.

<sup>3)</sup> B. d. d. chem. Ges. **16**, 1883, S. 765. **17**, 1884, S. 2175.

<sup>4)</sup> Z. f. physik. Ch. **2**, 1888, S. 195.

<sup>5)</sup> B. d. d. chem. Ges. **14**, 1881, S. 1365.

zeeping van aethylacetaat ongeveer 1.9, uit die van REICHER <sup>1)</sup> ongeveer 1.8. PETERSEN <sup>2)</sup> vond voor de methylestervorming, dat de snelheid bij 100° slechts 2½ à 3 maal zoo groot was als die bij 66° C., dit geeft voor 10° een temperatuurscoëfficiënt van 1.35. PETERSEN zocht de verklaring voor deze kleine  $Q_{10}$  in de verandering van den moleculairen toestand van de methylalcohol, welke, evenals andere alcoholen, bij gewone temperatuur waarschijnlijk uit molecuulcomplexen bestaat, die bij temperatuursverhoging worden gesplitst.

Ook door TRAUTZ en VOLKMANN <sup>3)</sup> zijn uitvoerige onderzoekingen verricht omtrent den temperatuursinvloed op de verzeepings-snelheid van verschillende esters en wel hoofdzakelijk met de bedoeling den temperatuursinvloed op de temperatuurscoëfficiënten na te gaan. Hierbij werd gevonden, dat de bedoelde coëfficiënt tusschen 10° en 20° C. een maximum bereikt, terwijl zij boven 20° afneemt, zoodat zij bij 60° soms reeds 1.4 bedraagt. Dit gedrag van den temperatuurscoëfficiënt trachtten zij in verband te brengen met de inwendige wrijving van het medium (water). Zij kwamen dan ook tot de conclusie, dat de R-G-T-regel niet algemeen geldig is voor chemische processen.

Voor de reacties in verdunde oplossing is het temperatuursgebied, waarin men den temperatuursinvloed kan nagaan altijd beperkt door het vries- en het kookpunt van het medium; anders is dit bij de *gasreacties* <sup>4)</sup>. Hierbij is het temperatuursgebied, waarin onderzoekingen kunnen verricht worden, doorgaans veel grooter, vaak 200° à 300° C. Door de bezwaren, die het onderzoek van gasreacties met zich brengt, zijn de waarnemingen op dit gebied echter nog maar zeer klein in aantal.

De voornaamste temperatuur-snelheid-onderzoekingen voor gasreacties werden verricht door KOOR <sup>5)</sup>, nl. over de ontleding van

1) Lieb. Ann. 232, 1835, S. 196.

2) Z. f. physik. Ch. 16, 1895, S. 385.

3) Z. f. physik. Ch. 64, 1898, S. 53.

4) BODENSTEIN, Z. f. physik. Ch. 29, 1899, S. 147.

5) Z. f. physik. Ch. 12, 1893, S. 155.

phosphorwaterstof bij vier verschillende temperaturen: 512°, 446°, 367° en 310° C. Uit zijne waarnemingen vindt men:

$$v_{512}/v_{446} = 3.2, v_{446}/v_{367} = 3.8, v_{367}/v_{310} = 3.2,$$

waaruit volgt, dat de temperatuurscoëfficiënten voor 10° veel kleiner zijn dan 2 à 3.

Ook BODENSTEIN <sup>1)</sup> vond voor de ontleding van HJ bij hooge temperaturen een zeer kleinen temperatuurscoëfficiënt, nl.:

$$v_{510}/v_{500} = 1.5, v_{410}/v_{400} = 1.6, v_{310}/v_{300} = 1.9.$$

Toch mag men deze getallen niet beschouwen als een afwijking van den regel van VAN 'T HOFF, ook vooral niet, omdat de temperaturen, waarbij de proefnemingen verricht zijn, veel hooger liggen dan die, waarvoor VAN 'T HOFF zijn regelgegeven heeft.

Waar dus gebleken is, dat in den regel voor verdund homogene processen, voorzover die zich althans voor het onderzoek in deze richting leenen, de snelheid toeneemt met stijging van temperatuur en wel doorgaans volgens den regel van VAN 'T HOFF, daar mag het zeker zeer belangrijk genoemd worden, dat er ook een dergelijk proces is waargenomen, waarbij de snelheid afneemt met toename der temperatuur. Voor dit proces is dus de temperatuurscoëfficiënt z.g. negatief. Dit proces is nl. de vorming van jodium uit een mengsel van joodkalium, ferrosulfaat en chroomzuur, en werd onderzocht door Miss BENSON. <sup>2)</sup> In zeer verdunden toestand werden bij elkaar gebracht eene oplossing van  $K_2Cr_2O_7$ , eene van  $H_2SO_4$ , eene van  $FeSO_4$  en eene van KJ. Door de oxydeerende werking van het kaliumbichromaat in zwavelzure oplossing wordt jodium vrij gemaakt uit KJ, waarbij het ferrosulfaat als negatieve katalysator werkt, immers bij afwezigheid hiervan verloopt de reactie onmeetbaar snel.

De snelheid werd gemeten door titreeren van het in een bepaalden tijd vrijgekomen jodium met 0.01 N. arsenigzure natrium.

<sup>1)</sup> l. c. 1899. S. 295; BODENSTEIN en VICT. MEYER. B. d. d. Ch. Ges. 26, 1898, S. 1146.

<sup>2)</sup> Journ. Phys. Chem. 8, 1904, p. 116.

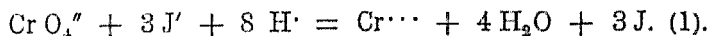
Het bleek, dat de snelheid bij 0° veel grooter was dan die bij 30°.2 C. Als verklaring van dezen abnormalen temperatuursinvloed geeft Miss BENSON twee mogelijkheden, die omschreven worden als de „ferriodon-theory” en de „peroxide-theory”.

De eerste verklaringswijze komt op het volgende neer:

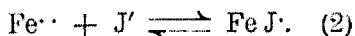
Het  $K_2Cr_2O_7$  vormt met  $H_2SO_4$  onmiddellijk chroomzuur, zoodat de reactie, waarvan de snelheid gemeten wordt, plaats vindt tusschen de volgende stoffen:



Bij de oxydatie van het KJ reageeren dan de ionen op de volgende wijze:



De snelheid dezer reactie wordt bepaald door de concentratie der jodium-ionen. In de oplossing zijn echter ook ferro-ionen en deze staan met de jodium-ionen in het volgende evenwicht:



Onderstelt men nu, dat dit evenwicht bij hooger temperatuur meer naar rechts is verschoven, dan blijven daarbij minder J-ionen in de vloeistof om aan de reactie (1) deel te nemen, zoodat dus dan die reactie verlangzaamd wordt. Stilzwijgend wordt nu door Miss BENSON ondersteld, dat het evenwicht (2) zich zeer snel instelt, terwijl de reactie (1) langzaam zou verlopen, zoodat daarvan de snelheid wordt gemeten.

De tweede verklaringswijze komt daarop neer, dat bij hooger temperatuur het peroxyde ( $CrO_4''$ ) grooter affiniteit zou vertoonen tot het ferrosulfaat dan tot het jodium, hetgeen daaruit zou mogen worden afgeleid, dat de mate van oxydatie van ferrosulfaat door  $K_2Cr_2O_7$  en zwavelzuur, afzonderlijk bestudeerd, sterk toeneemt met temperatuursverhooging. Ook hier wordt stilzwijgend door Miss BENSON aangenomen, dat de reactie van chroomzuur op ferrosulfaat een evenwichtsreactie is, die zich onmiddellijk instelt en afhankelijk is van de temperatuur.

Men zou in beide gevallen te doen hebben met twee processen, waarvan het eene een evenwichtsreactie is, die met een zeer

grote snelheid verloopt, terwijl de verschuiving van het evenwicht door verhooging van temperatuur ten gevolge heeft eene concentratievermindering van een der reageerende stoffen, waardoor de snelheid der resulterende reactie gedeprimeerd wordt. Beide gevallen laten zich dus terug brengen tot het op blz. 14 gegeven theoretisch schema.

Door SKRABAL <sup>1)</sup> werd een proces bestudeerd met een abnormaal hoogen temperatuurscoëfficiënt, nl. de jodaatvorming uit jodium en hydroxylion. Ook door dezen onderzoeker wordt dit proces gesplitst in meerdere reacties, waarvan één is een evenwichtsreactie, die zich met groote snelheid instelt. In tegenstelling met Miss BENSON heeft echter SKRABAL zelf de juiste verklaring voor het verband tusschen deze samengesteldheid der reactie en den abnormalen temperatuurscoëfficiënt gegeven.

Nu bestaan vele onzer chemische processen zeker uit een complex van reacties en men mag dus wel verwachten, dat bij nadere studie van reactiesnelheden in verdund homogene systemen, een grooter aantal van dergelijke gevallen zullen worden aangetroffen. Miss BENSON heeft dit reeds, zij het dan ook op andere gronden, opgemerkt. Deze omstandigheid moet dus ook omgekeerd zeker tot grooter omzichtigheid manen, wanneer men uit den temperatuurscoëfficiënt tot den aard van een reactie wil besluiten. Evenmin als uit het aantreffen van een normalen temperatuurscoëfficiënt mag besloten worden tot een zuiver chemische reactie, mag uit een kleinen of negatieven tot de afwezigheid daarvan worden geconcludeerd.

*Heterogene processen.* Wat betreft de processen in heterogene systemen, hierbij zijn veel grooter afwijkingen van den regel van VAN 'T HOFF aangetroffen, welke afwijkingen daarenboven van verschillenden aard zijn.

Zoo werd voor tal van processen een temperatuurscoëfficiënt gevonden, welke veel kleiner was dan voor chemische processen in 't algemeen. Voornamelijk waren dit die processen, waarbij

---

<sup>1)</sup> Sitzungsber., 120, IIB, 1911, S. 609.

men te doen heeft met het oplossen van vaste stoffen, bijv. van metalen of metaaloxiden, in verdunde zuren.

SPRING <sup>1)</sup> onderzocht in 1888 den temperatuursinvloed op de oplossingssnelheid van IJslandsch dubbelspaath in eenige zuren. Hierbij vond hij een kleinen temperatuurscoëfficiënt, n.l. voor 20° temperatuursverschil nauwelijks 2. In dezen lagen coëfficiënt, welke volgens dezen onderzoeker op het optreden van physische processen wijst en ook in het feit, dat alleen dan bij een zelfde temperatuur een constante snelheid kon worden verkregen, wanneer het oppervlak constant werd genomen, vond SPRING een bevestiging van de reeds door BOGUSKI <sup>2)</sup> opgestelde en door 't experiment bewezen opvatting, dat de aard van het oppervlak een groote rol speelt bij dergelijke processen.

Door NOYES en WHITNEY <sup>3)</sup> werden soortgelijke gevallen onderzocht, echter van veel eenvoudiger aard, n.l. het oplossen van loodnitraat en dat van benzoëzuur in water. Uit de uitkomsten hunner proeven bleek, dat in plaats van de ware oplossingssnelheden, gemeten werd de snelheid der diffusie van de op te lossen stof naar de omringende oplossing door het, om de vaste stof gevormde verzadigde laagje.

Een zeer uitvoerig onderzoek werd in 1903 verricht door E. BRUNNER <sup>4)</sup>, naar aanleiding van de ook door NERNST uitgesproken theorie, volgens welke men bij tal van heterogene reacties, inplaats van de chemische reactiesnelheid een diffusiesnelheid bepaalt.

BRUNNER onderzocht de volgende reacties: oplossen van benzoëzuur in water, van metaaloxiden en hydroxyden in verdunde zuren, en de electrolytische waterstofafscheiding uit zuren. Hierbij vond BRUNNER een zeer kleinen temperatuurscoëfficiënt, n.l. voor de snelheden bij 20° en 30° ongeveer 1.5. Deze kleine temperatuurscoëfficiënt bleek inderdaad daardoor te

<sup>1)</sup> Z. f. physik. Ch. 2, 1888, S. 13.

<sup>2)</sup> B. d. d. ch. Ges. 9, 1876, S. 1646; BOGUSKI en KAJANDER, *ibid.* 10, 1877, S. 34.

<sup>3)</sup> Z. f. physik. Ch. 23, 1897, S. 689.

<sup>4)</sup> Z. f. physik. Ch. 47, 1904, S. 56.

verklaren, dat men hier meet de gesuperponeerde snelheden van chemische en physische processen, waarbij laatstgenoemde sterk op den voorgrond treden.

De reactie kon in 3 deelen gesplitst worden:

- 1<sup>e</sup>. overgang der stoffen door de grensvlakken,
- 2<sup>e</sup>. chemische reactie in een der beide fasen,
- 3<sup>e</sup>. diffusie der stoffen naar de grensvlakken.

Men bleek dus te doen te hebben met het geval, dat de chemische reactiesnelheid zeer groot is ten opzichte van de diffusiesnelheid; de temperatuursinvloed wordt dan door deze laatste snelheid bepaald. Deze uitkomst komt overeen met die, waartoe L. BRUNNER en TOLLOCZKO <sup>1)</sup> bij hunne onderzoekingen over de oplossingsnelheid van vaste lichamen kwamen. Ook zij hadden n.l. reeds met proeven aangetoond, dat men hierbij een diffusiesnelheid meet, zonder echter den temperatuurscoëfficient te bepalen.

Uit de proeven van ERICSON-AUREN <sup>2)</sup> bleek, dat de temperatuursinvloed op de oplossingsnelheid van metalen in verdunde zuren nog geringer kan zijn, dan de door E. BRUNNER gevondene. ERICSON vond n.l. dat bij het oplossen van zink in verdund  $H_2SO_4$ , de temperatuursinvloed op de oplossingsnelheid des te geringer is, naarmate het zuur meer verdund is.

De snelheid-temperatuur-lijnen voor 0.15 N., 0.2 N., 0.25 N. en 0.3 N.  $H_2SO_4$  bereiken een maximum, dat naarmate het zuur minder verdund is, meer naar rechts ligt. Of nu de lijn boven die temperatuur weer gaat dalen, waarop de waarnemingen eenigszins wezen, m. a. w. of de snelheid-temperatuurlijn een optimum vertoont, daarvan was ERICSON niet zeker.

Bij een verdunning van het  $H_2SO_4$  op 0.1 N. had de temperatuur zoo goed als geen invloed op de oplossingsnelheid, tot welk resultaat ook WEEBEN <sup>3)</sup>, althans voor temperaturen

---

<sup>1)</sup> Z. f. physik. Ch. **35**, 1900, S. 283; Z. f. anorg. Ch. **28**, 1901, S. 314; **35**, 1903, S. 23.

<sup>2)</sup> Z. f. anorg. Ch. **27**, 1901, S. 209.

<sup>3)</sup> B. d. d. ch. Ges. **21**, 1891, S. 1792.

beneden  $100^{\circ}$  C. kwam. WEEREN onderzocht n.l. de oplossings-snelheid van chemisch zuiver zink in zwavelzuur van de verdunning 1:20, bij temperaturen tusschen  $0^{\circ}$  en  $100^{\circ}$ . Het bleek hierbij, dat de temperatuur tot  $98^{\circ}$  zoo weinig invloed had, dat de oplossingssnelheid bij  $98^{\circ}$  nauwelijks 2 maal zoo groot was als die bij  $0^{\circ}$  C. Zoodra echter het koken begon, dus bij  $100^{\circ}$ , was de oplossingssnelheid plotseling 13 maal zoo groot als bij  $18^{\circ}$  C.

Voor den geringen temperatuursinvloed is zoowel door ARRHENIUS <sup>1)</sup> als door ERICSON <sup>2)</sup> zelf een verklaring gezocht. ARRHENIUS trachtte deze te geven uit zijne theorie der actieve en inactieve moleculen; hij neemt n.l. aan, dat bij oplossen van zink in zuren niet eerst actieve en inactieve moleculen worden gevormd, zooals het geval is bij sterk door de temperatuur beïnvloede processen, doch dat de gewone zinkmoleculen worden aangetast. Bij hooge concentratie van het zuur zouden nu weliswaar aan de oppervlakte van het zink sterke zinkzoutoplossingen gevormd worden, welke het zink konden beschermen, maar deze zouden door de gasontwikkeling worden weggevoerd. Dit zou des te belangrijker zijn naarmate het ontwijken van gas gemakkelijker wordt, hetgeen bij hooger temperatuur door de grootere bewegelijkheid der vloeistof bevorderd wordt. Bij gebruik van de hooge zuurconcentraties zou de temperatuur dus ook meer invloed hebben op de oplossingssnelheid dan bij lagere, waarbij de gevormde zoutoplossing minder door de gasontwikkeling zou worden verbroken.

ERICSON geeft voor de onregelmatige, procentische snelheids-toenamen voor  $1^{\circ}$  temperatuurstijging, waarvan er misschien zelfs enkele negatief zijn, een veel eenvoudiger verklaring. Hij vat het proces op als de werking van een galvanisch element: zink — zuur — verontreiniging van zink. <sup>3)</sup> En nu is, daar de temperatuursinvloed op de geleidbaarheid zoowel als die op de

1) Bihang till. k. Sv. Vet. Akad. Handl. 24, II, Nr. 2.

2) ERICSON en PALMAER. Z. f. physik. Ch. 39, 1902, S. 1.

3) In dit geval 0.6 % Pb.



electromotorische kracht van een galvanisch element zeer verschillend en zelfs negatief kan zijn, niet van te voren te zeggen, welke bij een dergelijke proces de temperatuursinvloed zal zijn, deze kan negatief, positief of nul wezen.

Door KAJANDER<sup>1)</sup> werden proeven over het oplossen van magnesium in zuren verricht, waarbij ook de temperatuursinvloed werd nagegaan. Ook uit zijne cijfers vindt men zeer kleine temperatuurscoëfficiënten (1.2 à 1.3). Hij toonde nu hierbij door berekening aan, dat de snelheid in dezelfde mate wordt verhoogd als de inwendige wrijving der vloeistof afneemt.

Nog grooter afwijking van den regel van VAN 'T HOFF en de formule van ARRHENIUS werd gevonden door THORPE<sup>2)</sup>, nl. voor de reductie van ferrisulfaat door ijzer, zink of magnesium in zure oplossing. Door titreeren van het ontstane ferrosulfaat werd de hoeveelheid waterstof bepaald, welke bij verschillende temperaturen per tijdseenheid voor de reductie werd gebruikt. Uit de waarnemingen volgde, dat voor ijzer bij verhooging der temperatuur de aldus gemeten hoeveelheid waterstof afnam, terwijl bij zink en magnesium een toename werd geconstateerd. Een bevredigende verklaring van dit feit wordt door THORPE niet gegeven. De zijne zou zoowel voor het oplossen van ijzer als voor dat van zink of magnesium een negatieven temperatuurscoëfficiënt doen verwachten.

Een zeer karakteristiek verloop vertoont de snelheid-temperatuur-lijn voor de kristallisatie van oververzadigde en die van onderkoelde vloeistoffen. Vele onderzoekingen hieromtrent zijn verricht door TAMMANN<sup>3)</sup>.

TAMMANN nam bij de verschillende temperaturen het volgende waar: Bij het begin der onderkoeling, dus als de temperatuur

<sup>1)</sup> Journ. d. russ. phys. chem. Ges. 1881, Ref. van JAWEIN: B. d. d. ch. Ges. 14, 1881, S. 2053.

<sup>2)</sup> Journ. of the chem. Soc. 41, 1882, S. 287.

<sup>3)</sup> Z. f. physik. Ch. 23, 1897, S. 326; 25, 1898, S. 441; 26, 1898, S. 307; 29, 1899, S. 51.

TAMMANN en FRIEDLÄNDER, id. 24, 1897, S. 152.

TAMMANN Wied. Ann. N. F. 62, 1897, S. 280.

nog maar even beneden het smeltpunt is, neemt de snelheid der uitkristallisatie regelmatig toe bij afname der temperatuur. Bij nog verdere afkoeling blijft de snelheid gedurende een zeker temperatuursinterval constant en begint eindelijk bij een zekere, nog lagere temperatuur weer te dalen.

De verklaring van dit verloop der snelheid-temperatuur-lijn stelt TAMMANN zich aldus voor: bij het begin der onderkoeling zou de stollingssnelheid eigenlijk onafhankelijk van de temperatuur der onderkoeling zijn en wel zóó lang als de vrijkomende warmte voldoende is om de kristalliseerende stof op de temperatuur van het smeltpunt te brengen; is dit niet meer het geval dan gaat de kristallisatiesnelheid achteruit en staat ten slotte geheel stil. Dat bij het begin der onderkoeling in werkelijkheid de snelheid aanvankelijk wél afhankelijk is van den graad van onderkoeling, schrijft TAMMANN toe aan aanwezige onzuiverheden, want hij nam waar, dat door zuivering der stof dit gedeelte der kromme steiler wordt.

Uit deze beschouwingen blijkt, dat TAMMANN van meening is, dat op het scheidingsvlak tusschen vast en vloeibaar voortdurend de smeltemperatuur heerscht. KÜSTER<sup>1)</sup> daarentegen neemt aan, dat de temperatuur van het grensvlak ligt iets beneden de smeltemperatuur en dan zou in 't begin der onderkoeling de stollingssnelheid, ook voor een volkomen zuivere stof wél moeten toenemen met de onderkoeling, daar hiermede ook het aantal koude moleculen, dat zich afzet, zou vermeerderen.

Een zelfde verloop als in het bovenstaande voor de snelheid-temperatuur-lijn werd beschreven, vertoont ook de stollingssnelheid-temperatuur-lijn van gesmolten zwavel en phosphor, waarover uitvoerige proeven zijn verricht door GERNEZ<sup>2)</sup> en SCHENCK<sup>3)</sup>. Ook de uitkristallisatie van onderkoeld water, die door TUMLIRZ<sup>4)</sup>

1) Z. f. physik. Ch. 25, 1893, S. 480.

2) C. R. 95, 1882, p. 1248; 97, 1884, p. 1298, 1366 en 1423.

3) B. d. d. ch. Ges. 35, 1902, S. 351; 36, 1903, S. 979.

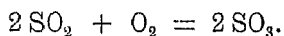
4) Sitzungsber. Wien. Akad. 103, IIA, 1894, S. 226.

en die van onderkoeld phenol en azijnzuur, welke door MOORE <sup>1)</sup> werd onderzocht, gaven evenals de door BOGOJAWLENSKI <sup>2)</sup> bestudeerde uitkristallisatie van eenige organische stoffen, een dergelijk verloop der snelheidskromme met verandering van temperatuur.

*Heterogene katalytische processen.* Geheel op zich zelf staande gevallen van heterogene chemische reacties vormen de *heterogene katalytische reacties*. Hiertoe behooren zoowel die processen, waarbij een vast oppervlak, bijv. de wand van het reactievat, als katalysator optreedt, als die, waarbij de katalysator bestaat uit een colloïdale oplossing.

Ook bij deze heterogene katalytische processen zijn nu groote afwijkingen van de eenvoudige temperatuursregels waargenomen.

Omtrent de eerstgenoemde soort zijn door BODENSTEIN <sup>3)</sup> talrijke proeven genomen; hij bestudeerde nl. de katalytische werking van platina-oppervlakken voor een knalgasmengsel en van platina-draadnet voor de reactie:



Bij deze laatste reactie werd ook  $\text{As}_2\text{O}_5$  als katalysator gebruikt.

Voor de knalgasproeven was de temperatuurscoëfficiënt ongeveer 12 à 17 % voor elke 5° temperatuurverhoging, terwijl hij voor de oxydatie van  $\text{SO}_2$  met Pt als katalysator voor elke 10° ongeveer 1.36 bedroeg en met  $\text{As}_2\text{O}_5$  : 1.22 en 1.10. Uit de verdere uitkomsten der proeven bleek nu, dat ook hier gemeten werden de snelheden van naast elkaar verloopende chemische en physische processen. De reactiesnelheid der knalgaskatalyse werd bijv. geregeld door de oplossingsnelheid van het minst snel diffundeerende gas, nl. de zuurstof, die diffundeerde in het zich op het platina afzettende laagje water.

Ook door BODLÄNDER en VON KÖPPEN <sup>4)</sup> is de vormingssnelheid

1) Z. f. physik. Ch. 12, 1893, S. 545.

2) Z. f. physik. Ch. 27, 1898, S. 505.

3) Z. f. physik. Ch. 46, 1903, S. 725; 49, 1904, S. 40; 60, 1907, S. 1 en 76.

4) Z. f. Elektrochemie, 9, 1903, S. 559.

van  $\text{SO}_2$  bij aanwezigheid van Pt in den vorm van draadnet bestudeerd, ook op den temperatuursinvloed.

De temperatuurscoëfficiënt bij hunne proeven bleek niet zoo heel klein te zijn, nl. voor de temperatuursintervallen  $182^\circ - 218^\circ$ ,  $218 - 302^\circ$  en  $302^\circ - 341^\circ$  resp. 1.51, 1.54 en 1.41. Hierin werd door hen dan ook geen afwijking van den regel van VAN 'T HOFF gezien en er werd slechts opgemerkt, dat de snelheidstoename bij gasreacties in 't algemeen veel geringer is dan bij reacties in oplossingen. Toch nemen ook zij aan, dat bij het beschouwde proces de diffusie een groote rol speelt.

Door BRODE<sup>1)</sup> werd de temperatuursinvloed op het loodenkamerproces, die reeds door LUNGE was bestudeerd, nader besproken, terwijl hij daaraan een beschouwing vastknoopte, omtrent de toepasselijkheid van de wetten, welke de reactiesnelheid bij bovengenoemd proces in 't algemeen beheerschen.

LUNGE had opgemerkt, dat de vorming van gehydrateerd zwavelzuur in de looden kamer practisch volledig verloopt bij  $90^\circ$ , zoodat hier dus de wetten voor het evenwicht niet kunnen worden toegepast, doch wel die voor de reactiesnelheden. Tevens werd waargenomen, dat voor het volledige proces de gemiddelde snelheid bij stijgende temperatuur tot  $90^\circ$  toeneemt, maar bij die temperatuur een optimum bereikt. Men heeft hier dus het geval, dat de gemiddelde snelheid van een volledig afgelopen reactie een optimum-temperatuur heeft. De verklaring hiervan zoekt nu BRODE deels in het optreden van tusschenproducten, welke gevormd worden bij de katalytische werking van het NO, en welke producten ook bekend zijn, deels echter ook in de heterogeniteit van dit proces: „Schlieszlich musz, wie bei jedem heterogenen Prozesse, auch beim Bleikammerprocess Condensations- und Absorptionsgeschwindigkeiten auf die Gesamtgeschwindigkeit einen wesentlichen Einfluss ausüben.”

Uit al deze beschouwingen blijkt dus, dat bij dergelijke

---

<sup>1)</sup> Z. f. angew. Ch. 1902, S. 1081.

katalytische processen, behalve eventueel intredende dissociatie- of diffusie-verschijnselen, ook de heterogeniteit een groote rol speelt bij de verklaring van het waarnemen van een of anderen abnormalen temperatuurscoëfficiënt.

Onder de heterogene katalytische processen zijn er, die in tal van opzichten een groote overeenkomst vertoonen met physiologische processen. Dit geldt bijvoorbeeld voor zulke, die tot stand komen in metaal-suspensoiden. Het meest bekende voorbeeld hiervan is de katalytische ontleding van waterstofperoxyd door colloïdale platina-oplossingen, welk proces nauwkeurig bestudeerd werd door BREDIG en MÜLLER VON BERNECK <sup>1)</sup>. De proeven, bij 4 verschillende temperaturen (nl. bij 25°, 45°, 65° en 85° C.) genomen, leerden, dat voor elke 20° temperatuursverhooging de snelheid 3 maal zoo groot werd. Hieruit vindt men dus voor den temperatuurscoëfficiënt voor 10° ongeveer 1,7.

Ook dienden hun de uitkomsten tot toetsing der vergelijking van ARRHENIUS. Hiermede werden voor  $A = 5899$  vrij goed met de waargenomen snelheden overeenkomende waarden gevonden. Wel werd echter bij 1½ uur voorwarmen op 65° een duidelijke achteruitgang in de werkzaamheid van den katalysator geobserveerd en BREDIG en VON BERNECK verwachtten dan ook, dat bij voldoende lange voorwarming der katalysator, een temperatuur-optimum zal optreden, maar dit werd bij de voor boven aangehaalde proeven gebezigde korte voorwarming (15 minuten), die niet hooger dan tot 85° was voortgezet, niet aangetroffen.

Nader onderzoek omtrent den temperatuursinvloed op de katalytische werking van colloïdale Pt-oplossing werd verricht door ERNST <sup>2)</sup>, die proeven deed over de katalyse van knalgas. Hierbij nam hij waar, dat bij stijgende temperatuur aanvankelijk de reactiesnelheid toenam. Er bleek echter een temperatuur te zijn, waarbij de reactiesnelheid een maximum bereikt en waarboven die snelheid weer afneemt. Er werd waargenomen, dat bij de

<sup>1)</sup> Z. f. physik. Ch. **31**, 1899, S. 258.

<sup>2)</sup> Z. f. physik. Ch. **37**, 1901, S. 448.

optimum-temperatuur en daarboven een deel van het platina onwerkzaam wordt en wel in toenemende mate bij voortzetting der verwarming.

Door nu de mate van activiteit van 't Pt. vóór en ná een bepaalden tijd van verwarming op een constante schadelijke temperatuur, met elkaar te vergelijken, berekende ERNST het percentage werkzaam gebleven platina. Daar hij verder had aangetoond, dat de reactiesnelheid evenredig is met de gebruikte hoeveelheid katalysator, kon hij berekenen de reactiesnelheid, die bij die temperatuur zou zijn waargenomen, wanneer alle platina werkzaam was gebleven. Aldus kon hij door berekening nagaan den invloed van de temperatuur op de reactie-snelheid zelve, wanneer de katalysator in haar geheel was werkzaam gebleven.

Hij vond nu, dat ook in die onderstelling de snelheid-temperatuur-kromme *toch een optimum* vertoonde.

ERNST trachtte deze uitkomst te verklaren door aan te nemen, dat weliswaar de snelheid der omzetting toeneemt met temperatuurstijging, doch dat hierbij de totale hoeveelheid gas, welke door het platina wordt geädsorbeerd, kleiner wordt, waardoor de reactiesnelheid wordt verminderd, welke tegenwerking bij hoge temperaturen de overhand zou verkrijgen op de versnelling door de temperatuursverhooging. Het adsorptie-evenwicht stelt zich daarbij met een oneindig groote snelheid in verzeleken met de snelheid van het proces zelve.

Men ziet dus uit de voorgaande beschouwingen, dat bij tal van chemische processen afwijkingen van den regel van VAN 'T HOFF en de formule van ARRHENIUS kunnen verwacht worden en ook inderdaad waargenomen zijn, zoowel voor verdund homogene als voor geconcentreerd homogene en heterogene reacties. Voor één bepaald, in een verdund homogeen systeem verloopend proces is een zogenaamd <sup>1)</sup> negatieve temperatuurscoëfficiënt waargenomen; voor verschillende in heterogene

---

1) Zie de opmerking op bl. 15.

systemen zich afspelende, werd een temperatuur-optimum geconstateerd.

Intusschen is inderdaad voor het meerendeel der verdund homogene systemen de regel van VAN 'T HOFF en beter nog de formule van VAN 'T HOFF of die van ARRHENIUS een benaderende uitdrukking voor het snelheid-temperatuur-verband.

---

## HOOFDSTUK II.

Vroegere onderzoekingen omtrent den temperatuurs-  
invloed op physiologische processen in 't algemeen.

---

§ 1. *Toepassingen van den regel van VAN 'T HOFF en de formule van ARRHENIUS op physiologische processen en de vergelijking dezer processen met chemische.*

Wanneer men de vroegere onderzoekingen omtrent den temperatuursinvloed op physiologische processen bestudeert, dan blijkt het, dat reeds lang bekend is, dat ook deze processen door verhooging der temperatuur zeer versneld worden, op welke versnelling door A. P. DE CANDOLLE <sup>1)</sup> reeds in 1832 werd gewezen.

Men kan zeggen, dat dit feit werd waargenomen ondanks de groote onnauwkeurigheid dier oudere onderzoekingen, waarbij o.a. de temperatuur slecht constant werd gehouden, de duur der proeven zeer lang was en een zelfde proefobject voortdurend werd gebruikt, vaak in besloten ruimte.

De processen, waarvoor de eerste onderzoekingen omtrent dezen invloed werden gedaan, waren voornamelijk de *groei* en de *ademhaling*, voor welk laatste proces de bedoelde versneling het eerst werd opgemerkt door DE SAUSSURE en GARREAU. Het eenige wat men echter opmerkte was, dat een dergelijk proces bij een hooge temperatuur sneller verloopt dan bij een lage temperatuur, uit de gevonden cijfers werden verder geen conclusies getrokken.

In 1837 werd door DUTROCHET en BECQUEREL <sup>2)</sup> gevonden, dat

---

<sup>1)</sup> Physiologie végétale, Paris, 2, 1832, p. 634.  
C. R. 5, 1837, p. 775.



de protoplasmastrooming bij *Chara flexilis* bij toename der temperatuur aanvankelijk verlangzaamd wordt, doch, dat bij een voortdurend verblijf op hoogere temperatuur de snelheid langzamerhand grooter wordt, totdat zij ten slotte (bij 27° C. na ongeveer 2 uur, bij 34° C. na ongeveer 1/4 uur) veel sneller is geworden. Dit feit werd toegeschreven aan bijzondere uitingen der „levenskracht”. Tevens werd echter waargenomen, dat bij 45° de strooming geheel ophoudt en de plant dood is.

Het eerste volledige onderzoek over den temperatuursinvloed op physiologische processen, waarbij tevens opmerkzaam werd gemaakt op de verschillende kardinale punten in de snelheid-temperatuur-kromme, werd verricht door SACHS<sup>1)</sup>, zonder echter de mate van dezen invloed nader te omschrijven of uit te drukken in een of andere formule. Dit werd het eerst gedaan door FÉLIX DE FAUCONPRET<sup>2)</sup>, die den temperatuursinvloed op de ademhaling van takken en van geheele planten bestudeerde, op welk onderzoek nog naderhand zal worden terug gekomen.

Toen nu uit de onderzoekingen van VAN 'T HOFF bleek, dat er een zeer eenvoudig verband bestaat tusschen de temperatuur en de snelheid van zekere chemische processen, vroeg men zich af, of een dergelijk verband ook voor physiologische processen kon worden waargenomen en of de hier bedoelde regel van VAN 'T HOFF ook op deze processen zou kunnen worden toegepast. Doorgaans beperkte men zich tot dezen regel en liet de meer algemeene formule van ARRHENIUS buiten beschouwing.

Op deze vraag werden tal van onderzoekingen gebaseerd, terwijl uit de uitkomsten van allerlei oudere onderzoekingen omtrent den temperatuursinvloed op de snelheid het snelheidsquotiënt ( $Q_{10}$ ) voor elke 10° temperatuurstijging werd berekend. Deze onderzoekingen hadden vooral plaats in de laatste 10-tal jaren, toen meer op den voorgrond trad de theorie, dat physiologische processen chemische reacties zouden zijn, welke zich

<sup>1)</sup> Jahrb. f. wiss. Bat. 2, 1860, S. 338.

<sup>2)</sup> C. R. 58, 1864, p. 334.

in het organisme afspelen, zoodat dus ook de levensprocessen onderworpen zouden moeten zijn aan de wetten der chemische processen.

Waar echter bij de chemische processen geen sprake is van leven of dood, moet bij de bestudeering van levensprocessen rekening worden gehouden met het feit, dat boven een bepaalde temperatuur het voorwerp gaat afsterven en men dus niet meer met voor chemische processen gevonden regels vergelijkbare resultaten verkrijgt. Hieruit volgt, dat de directe toetsing van den regel van VAN 'T HOFF aan levensprocessen alleen kan worden verricht bij zekere temperaturen, welke geheel onschadelijk zijn voor het organisme. De temperaturen, waarbij dergelijke onderzoekingen gedaan zijn, liggen dan ook alle ongeveer tusschen  $0^{\circ}$  en  $40^{\circ}$  C.

Daar in de volgende paragraaf het geheele verloop van de snelheid-temperatuur-lijn voor physiologische processen zal worden besproken, zal in deze slechts worden beschouwd het gedeelte der kromme gelegen bij onschadelijke temperaturen, waaraan dus zonder meer de regel van VAN 'T HOFF kan worden getoetst. Wat echter betreft de proeven over de ademhaling van planten, alcoholgisting en inversiewerking, hiervan zullen de oudere waarnemingen uitvoerig besproken worden in Hoofdstuk III, § 2, omdat op dit gebied mijne onderzoekingen vielen en een uitvoeriger behandeling dier oudere waarnemingen dus wenschelijk was.

Van de hier te bespreken onderzoekingen werd door KANITZ <sup>1)</sup> in 1907 een overzicht gegeven in een tabel, welke echter niet geheel volledig is, terwijl er sinds 1907 nog vele onderzoekingen op dit gebied zijn verricht. In de laatste kolom dier tabel vindt men een gemiddelde waarde voor het snelheidsquotiënt  $Q_{10}$  (vaak voor een vrij groot temperatuursinterval berekend). Wanneer men echter de bij die onderzoekingen waargenomen snelheden beschouwt voor de verschillende temperaturen, dan ziet men, dat

---

<sup>1)</sup> Z. f. Elektrochemie., 13, 1907, S. 707.

het bedoelde snelheidsquotiënt meestal sterk afneemt bij het stijgen der temperatuur, in het algemeen veel sterker dan bij chemische processen. Omgekeerd doet zich ook voor lage temperaturen bij physiologische processen het verschijnsel voor, dat de toename van den temperatuurscoëfficiënt zeer veel sneller plaats vindt dan volgens de formule van ARRHENIUS was te verwachten en dan bij chemische processen in verdund homogene systemen doorgaans het geval is.

Over het algemeen geldt dus de regel van VAN 'T HOFF, dat het quotiënt  $\frac{V_{t+10}}{V_t}$  tusschen 2 en 3 ligt, voor physiologische processen slechts voor een zeer klein temperatuursinterval en reeds lang vóór het afsterven door lage of hooge temperatuur begint, treedt dikwijls een niet geringe afwijking van bedoelden regel op, die zelfs sterker is dan de formule van ARRHENIUS zou doen verwachten.

In hetgeen volgt, zullen nu de hier bedoelde onderzoekingen aan een nadere beschouwing worden onderworpen.

*Protoplasmaströming.* Uit de uitkomsten van de proeven van NÄGELI <sup>1)</sup> over de rotatiestroomingen bij *Nitella syncarpa* is een zeer belangrijke afwijking van den regel van VAN 'T HOFF te zien. Het snelheidsquotiënt  $Q_{10}$  vertoont nl. met stijging der temperatuur de volgende cijfers:  $\frac{V_{11}}{V_1} = 8.6$ ,  $\frac{V_{15}}{V_5} = 4.8$ ,  $\frac{V_{17}}{V_7} = 3.5$ ,  $\frac{V_{20}}{V_{10}} = 2.2$ ,  $\frac{V_{26}}{V_{16}} = 1.9$ ,  $\frac{V_{31}}{V_{21}} = 2.3$ ,  $\frac{V_{37}}{V_{27}} = 3.6$ . De temperatuurscoëfficiënt neemt dus aanvankelijk zeer sterk af met toename der temperatuur, bereikt een minimum, waarna hij weer sterk gaat toenemen, hetgeen een geheel ander beeld geeft als men gewoonlijk voor chemische reacties waarneemt en bijv. niet verklaard kan worden uit de formule van ARRHENIUS. NÄGELI geeft slechts de tijden, die een microsoom bij verschillende opeenvolgende temperaturen noodig had om 0.1 m.M.

<sup>1)</sup> Beitr. z. wiss. Bot. 2, 1860, S. 76.

te doorloopen; verkeerdelijk trekt NÄGELI uit deze cijfers de gevolgtrekking, dat de snelheids*toename* afneemt bij stijgende temperatuur. Berekent men uit de gevonden cijfers voor die tijden de snelheden, dan ziet men integendeel, dat de snelheids*toename* ook *toeneemt* met de temperatuur.

In 1876 verschenen er wederom onderzoekingen over den temperatuursinvloed op de protoplasmastrooming en wel van VELTEN <sup>1)</sup> over die strooming bij *Elodea Canadensis*, *Vallisneria spiralis* en *Chara foetida*. Hierbij werd weer, evenals NÄGELI dit deed voor *Chara syncarpa*, de tijd gemeten, waarin bij verschillende temperaturen door een microsoom 0.1 m.M. werd afgelegd. Daar ook VELTEN echter, evenals NÄGELI, slechts deze tijden met elkaar vergelijkt, komt ook hij tot verkeerde conclusies omtrent de snelheid, waarop reeds door SCHAEFER <sup>2)</sup> werd gewezen. Zoo vond VELTEN, dat de snelheids*toename* per graad afneemt, naarmate de temperatuur hooger is. Dit is onjuist; VELTEN nam n.l. waar, dat de tijdsafname met temperatuursverhooging afneemt, dit is lang niet hetzelfde. Berekent men n.l. de snelheid door van die tijden de reciproke waarden te nemen, zooals SCHAEFER deed, dan ziet men integendeel, dat bij *toename* der temperatuur aanvankelijk ook de snelheids*toename* stijgt.

Belangrijk is echter de waarneming van VELTEN, dat de snelheid bij een bepaalde temperatuur een optimum bereikte. Bij verdere temperatuursverhooging nam de snelheid weer af tot bij een zekere temperatuur (32—35° R.) „Wärmestarre” optrad, en de protoplasmastrooming stilstond. Na afkoeling op een lagere temperatuur stroomde het protoplasma opnieuw met de bij deze laatste temperatuur behorende snelheid.

Wat betreft de temperatuurscoëfficiënten, die door mij uit de waarnemingen van VELTEN werden berekend, deze zijn bij de lage temperaturen (1—15° R.) zeer groot (4 à 5), boven

<sup>1)</sup> Flora, 59, 1877, S. 177.

<sup>2)</sup> Flora, 85, 1898, S. 135.

die temperaturen zijn zij klein (1.5 à 2) en vertoonen een sterke neiging tot dalen.

Zeer fraaie onderzoekingen omtrent den temperatuursinvloed op protoplasmastrooming werden verricht door EWART<sup>1)</sup>, die de stroomingssnelheid voor elke temperatuur mat na verschillende tijden van verwarming op die temperatuur.

EWART nam voor *Nitella translucens* waar den tijd, welke noodig is voor een chlorophylkorrel om 2 mM. af te leggen; uit deze cijfers zijn dan weer de snelheden te berekenen. Hiervoor werden bijv. de volgende getallen gevonden:

|                   |       |        |                |               |
|-------------------|-------|--------|----------------|---------------|
| Temperatuur. . .  | 25°   | 30°    | 40°            | 45°           |
| Duur der verwarm. | 24 u. | 5' 20' | 5' 20' 35' 50' | 1' 6' 21' 41' |
| 1000 × snelh. in  |       |        |                |               |
| mM. per secunde.  | 57    | 80 77  | 102 77 65 51   | 54 50 34 27   |

Hier treedt dus een duidelijk temperatuur-optimum op, dat afhankelijk is van den duur der verwarming, hoe langer nl. verwarmd is, hoe lager de optimum-temperatuur is en hoe kleiner de daarbij behoorende snelheid.

Hoewel wij hiermede eenigszins op onze verdere beschouwingen vooruitloopen, willen wij er toch reeds dadelijk op wijzen, dat men uit deze cijfers door een extrapolatie de waarde voor de snelheid kan vinden, welke men zou waarnemen na 0' minuten voorwarmen, nl. door op de X-as den duur der verwarming af te zetten en op de Y-as de snelheid.

Op deze wijze verkrijgt men dan de volgende cijfers:

|  |     |     |     |     |
|--|-----|-----|-----|-----|
| Temperatuur . . . . .                  | 25° | 30° | 40° | 45° |
| 1000 × snelheid bij 0' voorwarmen. . . | 57  | 83  | 114 | 71  |

Al moge nu extrapolatie onbetrouwbaar zijn, zoo wijzen deze cijfers toch op een primair optimum in de snelheid-temperatuur-kromme, waarbij er op gewezen moge worden, dat hier en ook voor de andere temperatuur-snelheid-lijnen van afsterven geen sprake was.

Reeds van af 30° C. ziet men uit de cijfers van EWART

<sup>1)</sup> On the physics and physiology of protoplasmic streaming in plants Oxford, 1903.

een afname der snelheid met den duur der verwarming, welke afname bij toenemende temperatuur groter wordt. Bij temperaturen boven  $40^{\circ}$  C. ziet men een regelmatigen achteruitgang in de stroomingssnelheid, welke ten slotte tot stilstand leidt; na afkoeling begint echter de strooming opnieuw, er was dus „Wärmestarre” opgetreden. Bij temperaturen tusschen  $55^{\circ}$  en  $60^{\circ}$  houdt de protoplasmastrooming bijna onmiddellijk op en komt na afkoeling ook niet meer terug. In het eerste geval schrijft Ewart het ophouden der strooming, dus het optreden der „Wärmestarre” toe aan een storing in het bewegings-mechanisme (functional derangement of the motor-mechanism), terwijl in het tweede geval de verklaring voor het plotseling ophouden der strooming gezocht wordt in een min of meer volledige coagulatie van het protoplasma.

*Ademhaling van dierlijke organismen.* Ook bij de beschouwing der waarnemingen over de ademhaling van kikvorschen, verricht door HUGO SCHULTZ <sup>1)</sup> treft men het eigenaardige geval aan, dat de snelheidsquotiënten een minimum (van  $\pm 2$ ) vertoonen tusschen  $10^{\circ}$  en  $25^{\circ}$ , dat is het gebied der *zg. behuaglijkheids-temperaturen*. De overeenkomst met den regel van VAN 'T HOFF is dus al zeer gering, eerder zou men ook dit geval als een voorbeeld van groote afwijking van dien regel kunnen beschouwen, hoewel erkend moet worden, dat de grafische voorstelling van het snelheid-temperatuur-verband eenigszins gelijkt op die voor den regel van VAN 'T HOFF.

Even weinig sprekend is ook het onderzoek van PFLÜGER <sup>2)</sup> over de ademhaling van konijnen. Hierbij werden de snelheden alleen bij 2 temperaturen onderzocht, welke slechts 2 graden verschillen en hieruit werd  $Q_{10}$  berekend; dit *eene* getal kan na hetgeen hierboven werd opgemerkt alléén geen voldoende bewijs voor de toepasselijkheid van den bedoelden regel vormen. Toch komt ABEGG <sup>3)</sup> tot het besluit, dat in beide

1) Pfl. Arch. f. Physiol. 14, 1877, S. 90.

2) Pfl. Arch. f. Physiol. 18, 1878, S. 355.

3) Z. f. Elektrochemie, 11, 1905, S. 823.

laatstgenoemde gevallen de temperatuursinvloed den regel van VAN 'T HOFF volgt.

In 1905 werd door VERNON<sup>1)</sup> de ademhaling van lagere zee-invertebraten bestudeerd bij 10 en 24° C. Voor den temperatuurscoëfficiënt voor 10° werden echter bij verschillende diersoorten zeer uiteenlopende waarden gevonden, schommelende tusschen 5.1 en 1.9. Het bleek hem, dat de temperatuurscoëfficiënt afhankelijk was van de morphologische structuur van het bestudeerde dier.

*Koolzuurassimilatie.* Omtrent den temperatuursinvloed op deze functie werden in 1887 uitvoerige proeven verricht door KREUSLER<sup>2)</sup> en wel voor temperaturen gelegen tusschen 0° en 33° C. Als proefobject werd gebruikt een bebladerde tak van *Rubus fruticosus*.

KREUSLER vond bij deze proeven een optimum, gelegen tusschen ongeveer 15 en 25° C. en dat waarschijnlijk dichterbij 25° zou gelegen zijn.

In 1905 verscheen het resultaat der onderzoekingen van Miss MATTHAEI<sup>3)</sup>, naar aanleiding waarvan BLACKMAN een theorie opstelde over den temperatuursinvloed op physiologische processen ook bij schadelijke temperaturen, welke theorie afzonderlijk besproken zal worden in § 3.

Uit deze waarnemingen werden ook door KANITZ<sup>4)</sup> conclusies getrokken, doch daarbij werden alleen de cijfers beschouwd, welke betrekking hadden op onschadelijke temperaturen. Uit de grafische voorstelling der waarnemingen leest KANITZ de hoeveelheden geassimileerd CO<sub>2</sub> af, bij verschillende temperaturen en berekent hieruit weer volgens de formule  $\frac{V_t + 10}{V_t}$  de snelheidsquotienten voor verschillende temperatuursintervallen.

1) The Journ. of Physiol. 19, 1895, p. 18.

2) Landw. Jahrb. 16, 1887, S. 711.

3) Phil. Trans., 197 B, 1905.

4) Z. f. Electrochemie. 11, 1905, S. 689.

Hij verkreeg hierbij de volgende cijfers:  $\frac{V_{10}}{V_0} = 2.40$ ,  $\frac{V_{20}}{V_{10}} = 2.12$ ,  $\frac{V_{30}}{V_{20}} = 1.76$ ,  $\frac{V_{37}}{V_{30}} = 1.81$ .

Hier is dus geen groote afwijking van den regel van VAN 'T HOFF, hoewel de afname van het snelheidsquotient nog iets sterker is dan volgens de formule van ARRHENIUS zou te verwachten zijn.

*Ontwikkeling van Organismen.* Door HANSEN <sup>1)</sup> werd omstreeks 1880 de temperatuursinvloed op de ontwikkeling van eenige gistsoorten onderzocht. Uit de verschillende waarnemingen van HANSEN werden door HERZOG <sup>2)</sup> tabellen samengesteld, die een overzicht van de ontwikkelingssnelheden bij verschillende temperaturen geven en hij besloot hieruit, dat voor dit proces de regel van VAN 'T HOFF van toepassing was. Uit de grafische voorstelling dier snelheden zijn nu de snelheidsquotienten door mij afgelezen, waarbij de volgende getallen werden verkregen:

voor *Saccharomyces Pasteurianus*:  $\frac{V_{17}}{V_7} = 4.2$ ,  $\frac{V_{18}}{V_8} = 3.2$ ,  $\frac{V_{20}}{V_{10}} = 2.-$ ,

$\frac{V_{25}}{V_{15}} = 2.-$  en  $\frac{V_{27}}{V_{17}} = 1.7$ , en voor *S. cerevisiae* I:

$\frac{V_{21.5}}{V_{11.5}} = 7.7$ ,  $\frac{V_{23}}{V_{13}} = 5.2$ ,  $\frac{V_{25}}{V_{15}} = 3.-$  en  $\frac{V_{30}}{V_{20}} = 1.9$ . Ook hier

treedt dus weer een sterke regelmatige afname van het snelheidsquotient op, naarmate de temperatuur hooger wordt. In tegenstelling dus met de conclusie van HERZOG, blijkt bij het hier bestudeerde proces groote afwijking van genoemden regel op te treden.

Verder geeft HERZOG <sup>3)</sup> nog een overzicht van den temperatuursinvloed op de ontwikkelingssnelheid van organismen, welk overzicht op de waarnemingen van verschillende onderzoekers gebaseerd is. In de eerste plaats op die over de

1) C. R. d. Labor. de Carlsberg, II, (2), 1883, S. 13.

2) Z. f. physiol. Ch. 37, 1903, S. 397.

3) Z. f. Elektrochemie, 11, 1905, S. 820.



ascosporenvorming van eenige gisten door HANSEN <sup>1)</sup>, verder op die van F. HABERLANDT <sup>2)</sup> over de kieming van plantenzaden en op die van DANNERIG over de ontwikkeling van visschen-eieren.

HERZOG zegt, dat in deze gevallen het temperatuursinterval, waarvoor de regel van VAN 'T HOFF geldt, niet groot pleegt te zijn en wel des te kleiner, hoe hooger de organismen georganiseerd zijn. Ook hierbij nam men nl. weer een abnormaal sterke afname van  $Q_{10}$  waar. De afwijking is bovendien veel sterker dan de formules van VAN 'T HOFF en ARRHENIUS zouden doen verwachten.

Trouwens ook HERZOG wijst reeds op de groote toename van den snelheidscoëfficiënt voor  $10^{\circ}$  bij daling der temperatuur beneden  $15$  à  $20^{\circ}$  C., waarover nader in § 2.

Waar dus zoowel bij de lage als bij de hooge onschadelijke temperaturen groote afwijking optreedt, daar is dus het temperatuursinterval, waar de regel van VAN 'T HOFF wel doorgaat al zeer klein, en wel  $5$  à  $10^{\circ}$  C. Dan mag het toch zeker wel eenigszins gewaagd genoemd worden, op grond hiervan aan te nemen, dat het proces dien regel volgt; met meer recht zou men dit een toevallige overeenkomst kunnen noemen.

Een onderzoek over het hier besproken onderwerp was reeds in 1875 gepubliceerd door E. EIDAM <sup>3)</sup> en wel over de ontwikkeling van *Bacterium thermo*. Een heldere voedingsvloeistof werd geïnfecteerd met een druppel eener bacteriën-houdende vloeistof en bij een bepaalde temperatuur geplaatst. Nu werd nagegaan na hoeveel tijd de eerste opalescentie optrad tengevolge van bacteriëngroei. De waarnemingen werden gedaan bij temperaturen tusschen  $1^{\circ}$  en  $45^{\circ}$  C.; de temperatuur, waarbij na den kortsten tijd opalescentie optrad, schommelde bij zijne proeven tusschen  $30-35^{\circ}$  C. Bij  $36-40^{\circ}$  C. had

1, l. c.

2) Landw. Vers. stat., 17, 1874, S. 107.

3) Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pflanzen, I, 3, 1875, S. 208.

geen ontwikkeling meer plaats, doch nadat de cultuur weer bij 30—35° C. was gezet, trad spoedig weer troebeling op, hier trad, volgens EIDAM, het verschijnsel der „Wärmestarre” op. Voor 45° had, ook na afkoeling op 30° geen ontwikkeling meer plaats. Omtrent den temperatuurscoëfficiënt valt uit deze proeven weinig te zeggen, daarvoor werden de temperaturen niet constant genoeg gehouden.

In 1887 verscheen een uitgebreide arbeid van R. en O. HERTWIG <sup>1)</sup> over de ontwikkeling van het bevruchte dierlijke ei onder invloed van uitwendige factoren. Ook werd hier bestudeerd de invloed van de temperatuur, waarbij zoowel werd nagegaan de invloed van den *duur* der verwarming op een bepaalde temperatuur (31° C.) als die van den graad der verwarming. Daar uit deze onderzoekingen echter niets valt af te leiden omtrent de verhouding der ontwikkelingssnelheden bij de verschillende temperaturen, waar 't hier om te doen is, zullen zij niet verder worden besproken. Uit deze onderzoekingen blijkt echter, dat reeds de gebroeders HERTWIG den tijdfactor in aanmerking namen en in zooverre waren zij hun tijdgenooten voor.

Later zijn nieuwe onderzoekingen over de ontwikkeling van bevruchte eieren verricht, n.l. door O. HERTWIG <sup>2)</sup> in 1898 door LOEB in 1905 en 1906 en door KARL PETER <sup>3)</sup> in 1906. Eerstgenoemde onderzoekingen handelen echter over door hoge temperaturen te voorschijn geroepen misvormingen, die bij de ontwikkeling van het ei optreden, zoodat deze onderzoekingen hier niet verder besproken zullen worden.

Uit de door LOEB <sup>4)</sup> verrichte onderzoekingen over de ontwikkeling van kunstmatig bevruchte zeeëgeleieren en eieren van mollusken berekende KANITZ de temperatuurscoëfficiënten en vond hiervoor resp. gemiddeld 3 en 2; hieruit volgt echter niet zonder meer de geldigheid van den regel van VAN 'T HOFF.

1) Jen. Z. f. Naturw. 20, 1887, S. 121.

2) Arch. f. mikr. Anat. 51, 1898, S. 319.

3) Arch. f. Entw. Mech. der Org. 20, 1906, S. 130.

4) Univers. of California. Publ. Phys. 3, 1905, p. 31; 3, 1906, p. 39.

Uit de cijfers, die LOEB verkreeg, ziet men integendeel bij berekening een zeer sterke afname der temperatuurscoëfficiënten, en wel zoo sterk, dat het gemiddelde dier getallen niet als *de* temperatuurscoëfficiënt mag worden beschouwd.

De onderzoekingen van PETER werden eveneens verricht met zeeëgeleieren, echter slechts bij drie verschillende temperaturen, n.l. 17–19°, 14–15° en 22–25° C. Als maatstaf voor de ontwikkelingssnelheid werd genomen de tijd, die noodig is om een bepaald ontwikkelingsstadium te bereiken; bij de waarnemingen waren de waarnemingsfouten groot. De temperatuurscoëfficiënt werd berekend volgens de formule:  $Q_{10} = \left( \frac{\text{Tijd bij } t_1^0}{\text{Tijd bij } t_2^0} \right)^{\frac{10}{t_2 - t_1}}$ .

$Q_{10}$  bleek ook hier bij toenemende temperatuur af te nemen:  $Q_{10}$  (14.5–3°) = 3.28,  $Q_{10}$  (24°–10°) = 2.26, welke afname PETER geheel vindt overeen te komen met die voor chemische processen. Wel zou de ontwikkelingsarbeid volgens PETER te splitsen zijn in chemischen en dynamischen arbeid, welke laatste noodig zou zijn voor de volvoering van morphologische differentieeringsprocessen, maar de snelheid van beide processen zou door de temperatuur even sterk beïnvloed worden, zoolang de warmte de ontwikkeling nog niet pathologisch beïnvloedt. De afname van  $Q_{10}$  met de temperatuursstijging van 3 op 24° C. is echter zeker grooter dan voor de meeste chemische processen wordt waargenomen en volgens de formule van ARRHENIUS te verwachten zou zijn.

Door BÜRSCHLI <sup>1)</sup> werd bij verschillende temperaturen de reproductiesnelheid van infusoriën nagegaan, welke ook aan den regel van VAN 'T HOFF zou voldoen, hetgeen volgens KANTZ <sup>2)</sup> zou worden bevestigd door waarneming van ROSSBACH. Deze laatste onderzoeker bracht de infusoriën in een voor hen op den duur dodelijke waterstof-atmosfeer en ging nu bij verschillende temperaturen na, hoe lang zij in die atmosfeer moesten

<sup>1)</sup> H. G. BRONN's Klassen und Ordnungen des Tierreichs., I. O. BÜRSCHLI. Protozoa. 3. Abt. Infusoria. S. 1589, 1887–'89.

<sup>2)</sup> Biol. Centralbl. 17, 1907, S. 11.

blijven om af te sterven, hetgeen waar te nemen was door het optreden van zg. „draaibewegingen”.

Uit ROSSBACH's waarnemingen berekende KANITZ een temperatuurscoëfficiënt van ongeveer 3.7, hetgeen dan weer de geldigheid van den regel van VAN 'T HOFF zou bewijzen en dientengevolge, volgens KANITZ, den chemischen aard van het proces.

Ten slotte werd ook door MASSART en Mlle MALTAUX <sup>1)</sup> een onderzoek verricht over den temperatuursinvloed op de deelings-snelheid van een infusorie-soort. Voor dit onderzoek werd gebruikt een cultuur van *Chilomonas*. Bij deze proeven werd de tijd gemeten, die er verloopt gedurende de deeling van een volwassen individu tot 2 jonge individuen. De gevonden temperatuurscoëfficiënten vertoonden niet onbelangrijke schommelingen.

*Periodieke physiologische processen.* Van de hand van KANITZ <sup>2)</sup> verscheen in 1907 nog een verhandeling over de toepassing van den regel van VAN 'T HOFF op biologische processen en wel naar aanleiding van de onderzoekingen van ROSSBACH <sup>3)</sup> over den temperatuursinvloed op de snelheid van vacuole-kloppingen bij *Euplotes charon*, *Stylonychia pustulata* en *Chilodon cucullulus* en die van DEGEN <sup>4)</sup> over hetzelfde verschijnsel bij *Glaucoma colpidium*. Als maatstaf voor de snelheid werd genomen de tijd, die noodig is om een zeker aantal vacuole-kloppingen te doen verlopen. Uit al deze waarnemingen berekende KANITZ weer voor elke temperatuur de snelheid, in dien zin, dat wanneer het bepaalde aantal kloppingen in 60 sec. werd volbracht, de snelheid 1 werd genoemd, waarop alle andere snelheden werden omgerekend. Terecht merkt KANITZ hierbij op, dat bij de onderzochte infusoriën voor een temperatuursinterval van  $\pm 20^\circ$  de waarden van  $Q_{10}$  tusschen 2 en 3 schommelen, doch dat ze, uitgezonderd bij *Euplotes* in dat interval voor verschillende temperaturen verre

1) Rec. d. l'Inst. Bot. LEO ERRERA. 6, 1906. p. 379.

2) Biol. Centralbl. 17, 1907. S. 11.

3) Verh. d. physik. mediz. Gesell. Würzburg. N. F. 2, 1872, S. 179.

4) Bot. Ztg. 63, Abt. 1, 1905, S. 163.

van constant zijn. Dit neemt niet weg, dat KANITZ deze uitkomst beschouwt als een bevestiging van de opvatting, dat wij hier met chemische processen te maken hebben. Tot nadere toelichting wijst hij er dan op, dat ook bij chemische reacties dergelijke periodieke verschijnselen, als vacuole-kloppingen, voorkomen, o. a. bij het oplossen van sommige modificaties van chroom in zuren en wel bij de daarmee gepaard gaande waterstofontwikkeling <sup>1)</sup> en bij het uiteenvallen van  $H_2O_2$  in  $O + H_2O$  bij aanraking met kwikoppervlakken.

Ter verklaring van het optreden dezer verschijnselen wezen BREIDIG en WEINMAYR er op, dat deze schijnen gebonden te zijn aan heterogene systemen en zij beschouwen ze als een gevolg van het optreden van veranderingen in oppervlaktespanningen. Een dergelijke verklaring was reeds vóór KANITZ door BÜTSCHLI ook voor de kloppende vacuolen gegeven.

In 1905 publiceerde SNIJDER <sup>2)</sup> een onderzoek over de snelheid van den hartslag bij landschildpadden en bij de crustacee *Cerrodaphnia* in de temperatuursintervallen  $10^\circ - 32^\circ$  en  $11^\circ - 29^\circ$ . Voor beide gevallen berekende KANITZ weer het snelheidsquotiënt voor  $10^\circ$  temperatuursverschil en vond in beide intervallen 2. Wanneer men den zeer hoogen temperatuurscoëfficiënt (8 à 12) voor de lagere temperaturen buiten beschouwing laat, nemen inderdaad de door SNIJDER gevonden temperatuurscoëfficiënten niet zóó af, dat daaruit niet een gemiddelde mag berekend worden. Verder schommelen ze om 2 à  $2\frac{1}{2}$ , zoodat het gemiddelde dezer getallen inderdaad ongeveer 2 is.

In 1907 verschenen van SNIJDER <sup>3)</sup> wederom 2 onderzoekingen over den temperatuurscoëfficiënt en wel over de „Frequenz”, van de overlevende sinus van het kikvorschhart. De onderzoekingen geschiedde voor een reeks temperaturen en ook voor

---

<sup>1)</sup> OSTWALD, Z. f. physik. Ch. 35, 1900, S. 33 en S. 204.

<sup>2)</sup> l. c. 1905.

<sup>3)</sup> Arch. f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abt. 1907, S. 118.

de temperatuursuitersten en bij toenemende ouderdom van het praeparaat.

De proefnemingen waren zoo ingericht, dat tijdens de waarnemingen de temperatuur werd veranderd, zoodat dus bestudeerd werd de invloed van de temperatuur aan een en hetzelfde praeparaat, hetgeen in dit geval zeker groot voordeel heeft, waar hier bleek, dat de ouderdom van het praeparaat geen invloed had op de werkzaamheid daarvan. De snelheden, bij de verschillende temperaturen waargenomen, zijn dus volkomen onderling vergelijkbaar. Uit de aldus verkregen waarnemingen werd nu voor verschillende temperatuursintervallen  $Q_{10}$  berekend, volgens de formule:  $Q_{10} = \frac{10 R_1}{R_2 (t_1 - t_2)}$ , waarin  $R_1$  en  $R_2$  de snelheden bij de temperaturen  $t_1$  en  $t_2$  zijn. Volgens deze berekening verkrijgt SNIJDER vrij constante waarden voor  $Q_{10}$ , waaruit hij de gemiddelde waarde berekent en deze laat doorgaan voor *den* temperatuurscoëfficiënt.

Stelt men de verkregen resultaten echter grafisch voor, dan zijn de hieruit afgelezen waarden voor  $Q_{10}$ :

$$\frac{V_{15}}{V_6} = 3.5; \quad \frac{V_{20}}{V_{10}} = 3.2; \quad \frac{V_{25}}{V_{15}} = 1.6; \quad \frac{V_{30}}{V_{20}} = 1.2.$$

Van deze waarden mag dus niet de gemiddelde waarde als *de* temperatuurscoëfficiënt aangenomen worden, daar zij zeer sterk achteruitgaan bij de verhooging der temperatuur.

Bij ongeveer 37° trad z.g. „Wärmelähmung” op, er werd nl. geen werking meer waargenomen. Toch bleek het voorwerp niet dood te zijn, want de werking kwam weer terug als het praeparaat gedurende eenigen tijd (ongeveer 12 minuten), op gewone temperatuur was geweest, 't was dan z.g. weer „uitgerust”. Hieruit volgt dus, dat de snelheid reeds 0 was vóórdat de temperatuur blijvend schadelijk voor 't organisme was geworden. Dit zou men dus kunnen opvatten als een remmende invloed van de temperatuur, terwijl het organisme levend blijft. Toch vindt SNIJDER de overeenkomst van de door hem berekende waarden van  $Q_{10}$  en die voor chemische

reacties zeer bevredigend en besluit ook: *das die Frequenz, der spontanen Reizerzeugung im Herzen von der Temperatur genau so beeinflusst wird, wie nicht vitale chemische Reaktionen.* Deze uitspraak baseert hij op een vermeende toepasselijkheid van den regel van VAN 'T HOFF, tot welke uitspraak hij echter niet gerechtigd is, daar er integendeel groote afwijkingen van genoemden regel optreden.

Tot hetzelfde resultaat komt SNIJDER bij berekening van  $Q_{10}$  uit de formule  $\frac{10 R_1}{R_2 (t_1 - t_2)}$  met gebruikmaking van de waarnemingen van STILES <sup>1)</sup> en van MAGNUS <sup>2)</sup>, resp. over den temperatuursinvloed op de frequentie van de trilharen van den overlevenden slokdarm van de kikvorsch in het temperatuursinterval van  $20.6 - 24^\circ$  en den overlevenden dunnen darm van hetzelfde dier in het gebied van  $50.5 - 42^\circ$  C. De proeven van STILES werden door SNIJDER herhaald voor het temperatuursinterval  $14^\circ - 35^\circ$ . De hierbij verkregen waarnemingen liepen nogal uiteen, doch waar hij er vele deed, was het mij toch mogelijk er een grafische voorstelling van te teekenen. Ook de uit deze lijn afgelezen waarden voor  $\frac{V_t + 10}{V_t}$  nemen sterk af bij stijging der temperatuur.

Ten slotte gaf SNIJDER nog een beschouwing over de toepasselijkheid van den R.G.T.-regel op de voortplanting van den zenuwprikkel, naar aanleiding van de onderzoekingen van NICOLAI <sup>3)</sup> en van VON MIRAM <sup>4)</sup>. Uit hunne waarnemingen berekende SNIJDER  $Q_{10}$  weer volgens de meergenoemde formule:

$$Q_{10} = \frac{10 R_1}{R_2 (t_2 - t_1)}$$

Uit al de waarden voor  $Q_{10}$ , berekend uit de verschillende onderzoekingen van NICOLAI en VON MIRAM, neemt SNIJDER nu

<sup>1)</sup> Amer. Journ. of physiology 5, 1901, p. 355.

<sup>2)</sup> Arch. f. d. ges. Physiol., 102, 1904, S. 143.

<sup>3)</sup> Arch. f. d. ges. Physiol., 85, 1905, S. 65.

<sup>4)</sup> Arch. f. Anat. und Physiologie 1906, Physiol. Abt. Suppl., S. 533.

weer het gemiddelde en vond hiervoor 2.56, waaruit hij weer de geldigheid van den regel van VAN 'T HOFF opmaakt en weer besluit tot den chemischen aard van het proces. Inderdaad is hier de afname van  $Q_{10}$  met stijgende temperatuur niet sterker dan voor een chemisch proces, zelfs is deze grootheid voor de middelbare temperaturen ( $9^{\circ}$ — $17^{\circ}$  C.) vrijwel constant.

Voor de waarnemingen van NICOLAÏ berekent SNIJDER verder volgens de formule van ARRHENIUS de theoretische snelheden, welke hij dan vergelijkt met de gevondene door ze naast elkaar in een tabel te plaatsen. Uit deze tabel ziet men, dat de overeenkomst bij lagere temperaturen vrij goed is. Boven  $14^{\circ}$  C. is deze echter niet groot meer en blijft de waargenomen snelheid belangrijk achter bij de berekende, welke bij  $23^{\circ}$  reeds meer dan  $1\frac{1}{2}$  maal, bij  $25^{\circ}$  ongeveer 2 maal zoo groot is als de waargenomene, wat nu juist niet wijst op groote toepasselijkheid van die formule.

Verder noemen we hier de proeven van BURNETT <sup>1)</sup> over den temperatuursinvloed op de samentrekking van de „gastrocnemius”-spier van den kikvorsch bij prikkeling door een electricischen stroom. Als maat der snelheid der overbrenging van den prikkel werd genomen het omgekeerde van den tijd, die na de prikkeling verliep, vóórdat er samentrekking optrad, welke tijd de z.g. latente periode wordt genoemd. Het snelheidsquotiënt werd berekend volgens de verhouding:

$$\frac{\text{latente periode bij } T^{\circ}}{\text{latente periode bij } (T + 10)^{\circ}}$$

De hierbij verkregen waarden van  $Q_{10}$  vereenigt BURNETT in een tabel. Uit deze tabel is te zien, dat de getallen, hoewel niet constant, toch ook met stijging der temperatuur geen neiging tot afnemen vertoonen, doch binnen zekere grenzen blijven schommelen. Hieruit zou dus met zeker recht te concludeeren zijn tot de toepasselijkheid van den regel van VAN 'T HOFF.

1) Journ. of biol. chemistry. 2, 1906, p. 195.



Vatten we nu de resultaten samen der beschouwingen omtrent de uitkomsten der proefnemingen over den temperatuursinvloed op physiologische processen. Het doel dezer proefnemingen was doorgaans, uit den aard van den temperatuursinvloed op de snelheid aan te toonen, dat physiologische processen veroorzaakt worden door chemische omzettingen, die zich in het organisme afspelen.

Als bewijs werd dan aangevoerd, dat physiologische processen juist zoo door de temperatuur worden beïnvloed als chemische processen, waarbij men echter uitsluitend de in verdund homogene systemen verloopende reacties op het oog had en deze als beantwoordend aan den regel van VAN 'T HOFF of aan de formules van dezen onderzoeker en van ARRHENIUS opvatte.

Nu is dit gebleken niet altijd juist te zijn, er kwamen zeer vele gevallen voor, waarin de temperatuursinvloed op de snelheid niet geheel van uit dit chemisch standpunt kon worden verklaard. Zoo zijn o.a. het optreden van de warmteverlamming, de zeer hooge waarde van den temperatuurscoëfficiënt voor de lage temperaturen en de vaak optredende abnormaal snelle afname van  $Q_{10}$  bij stijging van temperatuur hiermede in strijd.

Ook KANITZ<sup>1)</sup> merkte reeds op, dat bij physiologische processen vaak groote afwijkingen van den regel van VAN 'T HOFF optraden, hij schrijft dit echter toe aan het neven elkaar gaan van een groot aantal processen. Inderdaad hebben wij in Hoofdstuk I aangetoond, dat een complex van chemische reacties, die ieder op zich zelf de formules van VAN 'T HOFF of van ARRHENIUS volgen, een groote afwijking daarvan kunnen vertoonen. Dit geldt echter slechts onder zeer bepaalde omstandigheden, die KANITZ verzuimt aan te geven.

SNIJDER<sup>2)</sup> is volkomen overtuigd van de geheele overeenkomst tusschen physiologische processen eenerzijds en chemisch

---

1) l. c. 1907.

2) Amer. Journ. Physiol. 22, 1908, p. 309.

physische processen anderzijds. Deze onderzoeker houdt echter geen rekening met de afwijkingen bij de hoogere en de lagere temperaturen, waarbij juist voor levende organismen zulke typische bijzonderheden optreden.

§ 2. *Kardinale punten op de snelheid-temperatuur-lijn voor physiologische processen.*

Het wordt thans zoo goed als algemeen aangenomen, dat het verloop der reactiesnelheid van een physiologisch proces bij verandering der temperatuur voorgesteld kan worden door een kromme, welke een maximum vertoont. Dit wil zeggen, dat de intensiteit van een physiologisch proces aanvankelijk toeneemt bij stijging der temperatuur, doch bij verdere stijging boven een zekere temperatuur weer afneemt en ten slotte 0 wordt. Toch heeft het betrekkelijk lang geduurd eer deze omstandigheid algemeen erkend was, daar aanvankelijk de temperatuursinvloed slechts nagegaan werd bij niet of weinig schadelijke temperaturen.

De eerste onderzoeker, die het verloop van een physiologisch proces met de temperatuur naging van de laagste tot de hoogste temperatuur, waarbij nog reactie plaats heeft, is geweest J. SACHS.<sup>1)</sup> Deze bestudeerde de ontkiemings- en groeisnelheid van eenige granen, boonen en andere zaden bij verschillende temperaturen. Als maatstaf voor de groeisnelheid werd genomen de aangroei van het worteltje gedurende een bepaalden tijd.

Naar aanleiding zijner waarnemingen schreef SACHS dan ook: „Bisher hat man allgemein an der Annahme festgehalten, dass mit steigender Temperatur auch die Entwicklungsgeschwindigkeit steigt, man ist sogar soweit gegangen, diese beiden Grössen als proportional zu betrachten; eine genauere Beobachtung einzelner, vergleichbarer Entwicklungszustände bei verschiedenen Temperaturen zeigt aber, dass beide Annahmen falsch sind,

<sup>1)</sup> Jahrb. f. wissensch. Bot. 2, 1860, S. 338.

die Erhöhung der Temperatur bewirkt nur dann eine Beschleunigung des Wachstums, wenn sie einen bestimmten Grad nicht überschreitet; steigt dann die Temperatur noch höher, so bewirkt jede Wärmezunahme eine Verminderung der Wachstumsgeschwindigkeit".

Alsdan volgen een reeks tabellen zijner waarnemingen, waaruit SACHS tot deze conclusie was gekomen. Van deze velen zij er hier een weergegeven, nl. die voor *Zea Mays*.

| Tijd:                 | Temp. in ° R.: | Toename wortellengte: |
|-----------------------|----------------|-----------------------|
| 48 uren . . . . .     | 34.0°          | 5.9 mM.               |
| 48 " . . . . .        | 30.6°          | 25.2 "                |
| 48 " . . . . .        | <b>27.2°</b>   | <b>55.0</b> "         |
| 48 " . . . . .        | 26.6°          | 39.0 "                |
| 48 " . . . . .        | 21.0°          | 24.5 "                |
| 2 × 48 uren . . . . . | 13.7°          | 2.5 "                 |

De snelheid-temperatuur-lijn voor den groei bleek 3 onmiddellijk in 't oog vallende punten te bezitten:

- 1°. een temperatuur-minimum, d. i. de hoogste temperatuur, waarbij het organisme juist afsterft bij afkoeling;
- 2°. een temperatuur-optimum, d. i. de temperatuur, waarbij de grootst mogelijke snelheid wordt bereikt;
- 3°. een temperatuur-maximum, d. i. de laagste temperatuur waarbij het organisme juist afsterft bij verhitting.

Naast (juister: in plaats van) deze drie kardinale punten werden bij sommige functies door SACHS nog twee belangrijke punten waargenomen op de snelheid-temperatuur-kromme. Er bleek nl. somtijds een temperatuur te zijn, waar boven, en een andere, waar beneden de bestudeerde levensfunctie stilstaat, doch waarbij het organisme nog niet afgestorven is. De gebieden tusschen de hier bedoelde temperaturen en de minimum-, resp. maximum-temperatuur gelegen, zijn die der *Kältestarre*, resp. der *Wärmestarre*.

Achtereenvolgens werd nu de ligging van elk dier punten

zorgvuldig door SACHS onderzocht, hetgeen geschiedde door na te gaan hoeveel tijd er voor het ontkiemen bij verschillende temperaturen noodig was.

Ook voor andere invloeden dan de temperatuur geldt bovengenoemd verloop van de snelheid. Dit werd reeds in 1878 door ERRERA <sup>1)</sup> duidelijk tot uitdrukking gebracht. In een noot, behoorende bij een publicatie van dezen onderzoeker en GEVAERT, schreef hij toch: „On pourrait regarder la loi sur l'efficacité de la fécondation, comme un cas particulier d'une loi plus générale:

Tout phénomène vital, qui est fonction d'une variable, commence à se produire à partir d'un certain état de la variable (*minimum*), se réalise de mieux en mieux à mesure que la variable croît jusqu'à un état déterminé (*optimum*), après quoi un accroissement de la variable fait se réaliser de moins en moins bien le phénomène, celui-ci s'arrête enfin quand la variable atteint une certaine valeur (*maximum*). L'influence de la chaleur et de la lumière ou celle de l'origine des protoplasmas sexuels sur le résultat de la fécondation obéissent à cette loi aussi bien que l'action des excitants sur les muscles et les nerfs des animaux, ou l'effet d'un changement de climat sur leur santé.”

Deze schrijvers beschouwen dus bovengenoemden vorm van de snelheidskromme als het gevolg van een wet, welke algemeen van toepassing zou zijn op levensprocessen. De temperatuur is slechts een der vele invloeden, waarvoor deze algemeene wet zou gelden.

*Maximum.* SACHS was de eerste, die zoowel over het temperatuur-minimum als het temperatuur-maximum uitvoerige onderzoekingen heeft verricht. Vooral over het *maximum* zijn zijne onderzoekingen zeer volledig <sup>2)</sup>. Weliswaar zijn deze onderzoekingen alle op het gebied van den groei, doch waar SACHS tevens microscopisch de veranderingen naging, die in het

1) ERRERA et G. GEVAERT. Bull. Soc. bot. Belg. 17, 1878, p. 246.

2) Flora 47, 1864, S. 1.

protoplasma plaatsgrijpen door hooge temperatuur, zoo zijn deze onderzoekingen toch ook van waarde voor de studie van andere physiologische processen.

Bij de bepaling der temperatuur-maxima der verschillende proefobjecten vond SACHS, dat deze zeer verschillend zijn voor de diverse individuen. Hoe minder waterhoudend het proefobject was, hoe grooter het weerstandsvermogen tegen hooge temperaturen.

Terecht werd verder door SACHS reeds ingezien, dat er geen sprake is van *één* temperatuur-maximum, doch dat de ligging van dit punt o.a. afhangt van den tijd, gedurende welken men het voorwerp op die temperatuur verwarmt. Door SACHS werden dan ook de temperatuur-maxima bepaald voor een bepaalden verwarmingsduur van 10 à 30 minuten. Hierbij werden de planten in een zoo vochtig mogelijke atmosfeer geplaatst, om te voorkomen, dat zij ook zouden kunnen afsterven door uitdroging.

Algemeen werd toen ter tijde aangenomen, dat bij dooding door temperatuursverhooging, dit afsterven een gevolg zou zijn van de stolling van het protoplasma. SACHS nam echter waar, dat de bovenste temperatuurgrens ver lag beneden de stollings-temperatuur van kippeneiwit. Hieruit meende SACHS te mogen concludeeren, dat stolling van het eiwit *niet* de uitsluitende oorzaak zou zijn voor dooding door hooge temperatuur en hij werd in deze opvatting sterk gesteund door zijne ontdekking van de *Wärmestarre*, waarover later.

Daar tegenover staat, dat door vele onderzoekers en ontdekkingsreizigers organisch leven was gevonden in tal van warme bronnen, wier water zóó warm was, dat kippeneiwit bij die temperatuur stolt. Aanvankelijk berustte deze kennis slechts op vluchtige, soms niet geheel betrouwbare waarnemingen van ontdekkingsreizigers, waaraan niet veel waarde werd gehecht. Weldra werden echter dergelijke waarnemingen ook gedaan door botanici, welke het verschijnsel nauwkeuriger bekeken en ook wel trachtten te verklaren.

Zoo vond in 1855 MARTENS <sup>1)</sup> in de warme bronnen van *Abano* (*Andrejowsky*), welke een temperatuur hadden van ongeveer 35° R., een slak, *Paludinella thermalis*, die daar zeer goed leefde. Het temperatuursinterval, waarin deze slak kan leven, was zeer groot: eerst boven 42° R. en beneden 6° R. verstijfde zij (resp. Wärme- en Kältestarre), terwijl ze eerst gedood werd bij 48° R. en bij 5° R.

In 1875 stelde daarop HOPPE-SEYLER <sup>2)</sup> een onderzoek in omtrent het voorkomen van plantengroei in warme bronnen, waarvoor hij koos die, welke gelegen zijn aan de Oostzijde der *Euganeeën* bij *Padua*, meer speciaal in een meertje bij *Bad Monte Grotto*. De temperatuur van dit meertje was 50.8° C. en nu waren bodem en zijwanden daarvan bedekt met een laag algen, waarvan het bovenste gedeelte rood was en 't onderste groen. Dezelfde algen kwamen ook voor in één der bronnen, waar de temperatuur zelfs ongeveer 75° C. was en in een beekje, waar een temperatuur van ongeveer 69° C. heerschte. In een andere bron, waar de temperatuur schommelde tusschen 70° en 78° C. was echter geen groei.

Ook werd een levendige algengroei waargenomen in een warmen bron op het eiland *Ischia*, waarvan de temperatuur 53° C. bedroeg.

Van meer recenten datum, nl. van het jaar 1900, zijn de onderzoekingen van ISSEL <sup>3)</sup> over de fauna der warme bronnen van Italië. ISSEL nam waar, dat in 't algemeen tot 40° C. toe de fauna niet minder weelderig is dan bij lage temperatuur. Tusschen 40° en 45° echter verdwijnen verschillende soorten organismen, maar ontwikkelen er zich meer van een zelfde soort. Bij nog hooger temperaturen is het dierlijk leven echter alleen nog maar vertegenwoordigd door eenige weinige vormen, waarbij, zooals ISSEL dit noemt, de *accomodatie* meer volkomen is geworden.

ISSEL schrijft dus het standhouden van het dierlijk leven, dat

<sup>1)</sup> Jahresb. des Ver. f. vaterl. Naturk. in Württemberg **11**, 1855, S. 129.

<sup>2)</sup> Pfl. Arch. f. d. ges. Physiol. **11**, 1875, S. 113.

<sup>3)</sup> Boll. d. Mus. di Zoöl. e Anat. comp. d. R. univ. di Genova No. 100, 1900.

nog bij die hoogere temperaturen wordt gevonden, toe aan een adaptie-vermogen dier soorten, dat zou bestaan in een verandering van den bouw, waardoor zij bestand zouden zijn geworden tegen die hooge temperaturen.

Het is verder een zeer bekend feit, dat het temperatuur-maximum voor het leven van bacteriën- en schimmelsporen zeer hoog is gelegen. Reeds in 1848 vond PAYEN, dat de sporen van *Oidium aurantiacum* na een verwarming gedurende  $\frac{1}{2}$  uur op  $100^{\circ}$ ,  $105^{\circ}$  en  $120^{\circ}$ , uitgezaaid op brood en bij  $20^{\circ}$  in een vochtige atmosfeer geplaatst, ontkiemden. Eerst een verwarming op  $140^{\circ}$  gedurende dien zelfden tijd was toereikend om ze te dooden.

Een uitvoerige studie omtrent het groote weerstandsvermogen van sporen tegen hooge temperaturen werd verricht door LEWITT<sup>1)</sup> in 1890. LEWITT gaat uit van de volgende vraag: Neemt men aan, dat afsterving veroorzaakt wordt door coagulatie van eiwit, hoe is het dan te verklaren, dat sporen van bacteriën soms temperaturen kunnen verdragen, waarbij onder gewone omstandigheden coagulatie optreedt? Er moet dan een oorzaak zijn die de coagulatie tegenhoudt. Nu zijn er vele onderzoekingen gedaan omtrent den aard van de eitwitstoffen der bacteriën, o. a. door NENCKI en HELLWIG, die vonden, dat de eigenschappen dier eiwitten overeenkwamen met die van globuline. Zij waren nl. onoplosbaar in water, oplosbaar in ammoniumsulfaat en begonnen te coaguleeren bij  $45^{\circ}$ , hetgeen zichtbaar is doordat daarbij troebeling optreedt, terwijl ze bij  $60^{\circ}$ — $61^{\circ}$  als vlokken neersloegen.

Het bacteriëneiwit is dus wel coaguleerbaar door de warmte, het is dus, meent LEWITT, mogelijk dat ook de sporen, die uit de bacteriën gevormd worden, coaguleerbaar eiwit bevatten, maar dan moet er een omstandigheid zijn, waardoor het coaguleeren daarom bij verhitting verhinderd wordt. De eenige bekende oorzaak hiervoor is nu de *afwezigheid van water*. Het

1) Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmak. 26, 1890, S. 341.

is n.l. bekend, dat coaguleerbaar eiwit in volkomen drogen toestand zonder verandering der oplosbaarheid boven 100° kan verhit worden, ja zelfs bleek het aan LEWITH dat de coagulatie-temperatuur van volkomen watervrij eiwit (ei-albumine) tot 160° à 170° stijgt.

Neemt men dus aan, dat de vorming van sporen plaats heeft door opeenhooping van protoplasma onder afgave van water, dan zou hiermede verklaard zijn hun groote weerstand tegen droge hitte. Hierdoor zou tevens te begrijpen zijn, dat ingedroogde bacteriën eveneens een zeer grooten weerstand tegen hooge temperaturen hebben. Volkomen in overeenstemming hiermede is ook, dat de sporen bij ontkieming minder resistent worden, bij dit proces wordt n.l. water opgenomen.

Het temperatuur-maximum is ook om andere redenen geen vastliggend punt, het is integendeel ook afhankelijk van verschillende andere factoren. In de eerste plaats is de duur van verwarming van grooten invloed; hoe lager de temperatuur is, hoe langer het voorwerp op die temperatuur verwarmd moet worden om gedood te worden.

In de tweede plaats is het maximum te verschuiven door *adaptie*, d. w. z., dat organismen zich kunnen aanpassen aan een temperatuur, die hooger is dan waarbij zij oorspronkelijk konden leven.

Proefondervindelijk is dit bewezen door DALLINGER<sup>1)</sup>, deze slaagde er n.l. in organismen te kweken bij temperaturen, waarbij zij oorspronkelijk onmiddellijk zouden afsterven. Dit werd tot stand gebracht met 3 organismen, van wier levensproces DALLINGER geheel op de hoogte was, n.l. *Tetramitus rostratus*, *Monas Dallingeri* en *D. Drysdali*. Wanneer deze protozoën uit de natuur genomen worden, kan men ze zonder bijzondere voorzorgen voortdurend cultiveeren bij 18° C. en ze worden dan gedood door een temperatuur van 60° C. Langzamerhand werd nu door DALLINGER de temperatuur, waarbij

---

1) DALLINGER. Journ. Roy. Micr. Soc. 3, 1880, p. 1; 1887 p. 185.



ze gecultiveerd werden, verhoogd, ongeveer  $1^{\circ}$  F. per maand; telkens als de temperatuur schadelijk bleek, werd ze  $\frac{1}{2}^{\circ}$  verlaagd om de afsterving te doen ophouden en de organismen eerst beter aan de verlaagde temperatuur te doen wennen en dan met meer succes de temperatuur weer  $\frac{1}{2}^{\circ}$  te kunnen verhoogen. Na 5 jaren ongeveer was DALLINGER, aldus voortgaande, zoover gekomen, dat de organismen bij een temperatuur van  $70^{\circ}$  C. nog leefden, zij hadden zich door die zeer langzame toename der temperatuur geheel en al aangepast aan die hooge temperatuur. Bovendien had zich nu ook hun gedrag tegenover de andere temperaturen gewijzigd, want werden nu deze veranderde organismen, gebracht bij een temperatuur van  $15\frac{1}{2}^{\circ}$ , dan stierven zij af, terwijl zij vroeger bij die temperatuur wél konden leven.

Door adaptie kan dus het temperatuur-maximum aanzienlijk verhoogd worden, met deze verschuiving gaat echter tegelijkertijd gepaard een verandering in ligging der andere temperatuurgrenzen; zoowel de Kälte- als de Wärmestarre treden dan op bij een hooger temperatuur, terwijl ook het temperatuur-minimum hooger komt te liggen.

Bij deze proefnemingen nam DALLINGER het volgende verschijnsel waar: zoodra de temperatuur iets te vlug verhoogd werd en schadelijk was, dan traden er vacuolen op in het protoplasma en waren de organismen minder levendig. Zoodra zij zich echter aan die temperatuur hadden aangepast, verdwenen ook deze vacuolen. Dit zou volgens DAVENPORT en CASTLE<sup>1)</sup>, die in 1896 adaptieproeven verricht hebben met kikvorschlarven, hoewel niet zoo uitgebreid als DALLINGER, daarop wijzen, dat de adaptie een gevolg is van waterverlies van het protoplasma, en dit is dus een bevestiging voor de onderstellingen van LEWIS.

*Warmteverlamming.* Komen we nu terug op de door SACHS ontdekte *Wärmestarre*, welke hij microscopisch geheel kon

---

<sup>1)</sup> Arch. f. Entw. mech. der Organismen 2, 1896, S. 229.

vervolgen bij de protoplasmastrooming der haren van de meeldraden van *Tradescantia virginica*, welke eenigen tijd op een hooge temperatuur ( $\pm 50^\circ \text{C.}$ ) waren verwarmd geweest. Hij zag n.l., dat bij de Wärmestarre het protoplasma geheel samen-gebaldd en niet in beweging was; na een daarop volgend verblijf bij een normale temperatuur nam het protoplasma weer zijn gewonen vorm aan en begon opnieuw te stroomen. De tijd waarna het protoplasma weer hersteld was, bleek afhankelijk van den duur der verwarming en de hoogte der temperatuur, waarop was verwarmd.

Omtrent het optreden der warmteverlamming is door SACHS nog een ander onderzoek verricht, n.l. in 1863 voor de beweeglijkheid der bladen van *Mimosa pudica*. SACHS <sup>1)</sup> vond, dat bij genoemde plant de bladen boven een zekere temperatuur het vermogen verliezen om op een mechanischen prikkel te reageeren, doch dat bij verlaging der temperatuur dit vermogen weer terug komt. Deze onbeweeglijke toestand noemde SACHS de „vorübergehende Wärmestarre”, waar tegenover staat de „vorübergehende Kältestarre”, waarbij hetzelfde verschijnsel veroorzaakt werd door lage temperatuur.

De temperatuur, waarbij deze warmteverlamming optreedt, bleek afhankelijk te zijn van den duur der verwarming. Bij  $40^\circ \text{C.}$  trad de verdooving na één uur in, terwijl bij  $49^\circ - 50^\circ \text{C.}$  die toestand zich binnen enkele minuten instelde.

Het best is echter de Wärmestarre te bestudeeren bij de protoplasmastrooming, hierbij werd ze door verschillende onderzoekers waargenomen, o.a. ook door SCHULTZ <sup>2)</sup>, KÜHNE <sup>3)</sup> en VELTEN <sup>4)</sup>. Doch ook bij andere physiologische processen werd dit verschijnsel geconstateerd, o.a. zooals reeds is meegedeeld door SNIJDERS bij de frequentie van de sinus van een kikvorschhart.

1) Flora Bd. 46, 1863, S. 449.

2) Das Protoplasma der Rhizopoden und Pflanzenzellen, Leipzig, 1863.

3) Untersuchungen über das Protoplasma und die Contractilität, Leipzig, 1864.

4) l. c.

Zooals ook reeds is vermeld, schrijft EWART, de eenige onderzoeker, die van de *Wärmestarre* een verklaring heeft trachten te geven, dit verschijnsel niet toe aan een coagulatie van het protoplasma, maar neemt aan, dat het bewegingsmechanisme tijdelijk is gestoord door de hooge temperatuur. Hoe hij zich deze storing voorstelt, zet hij evenwel niet nader uiteen. Von FREY en zijne leerlingen noemden de verkorting van gepraepeerde spieren, die bij toenemende verwarming optrad eveneens *Wärmestarre* en verklaarden ze door een achtereenvolgende coagulatie van verschillende soorten eiwitten. Deze *Wärmestarre* is niet omkeerbaar, daar deze eiwitten na eenmaal gestold zijn niet meer in oplossing gaan. Dit is dus een geheel andere *Wärmestarre*, dan degene, die bij de vorige beschouwingen beoeld is.

*Minimum.* Het temperatuurminimum voor verschillende functies ligt in de meeste gevallen eenige graden beneden  $0^{\circ}$  C., toch is dan het celsap nog niet bevroren, daar tengevolge van de aanwezigheid van opgeloste stoffen in het celsap en van capillaire werkingen, het vriespunt hiervan gedeprimeerd is. <sup>1)</sup>

Ook het temperatuurminimum is zeer verschillend voor verschillende organismen. Door SACHS zijn ook hieromtrent voor de ontkieming van zaden nauwkeurige proeven gedaan. Voor den groei en de ontkieming blijkt het temperatuurminimum veel hooger te liggen dan voor andere functies.

Tusschen de doodingsverschijnselen door hooge en lage temperaturen werd door SACHS groote overeenkomst gevonden. Werden n.l. bladen van verschillende planten gedurende eenigen tijd (10 min.) in water van  $70^{\circ}$  C. verwarmd, dan werden zij geheel slap en doorschijnend als bevroren bladen.

Verder kan het temperatuurminimum zeer abnormaal gelegen zijn, zoo is door verschillende onderzoekers geconstateerd, dat verscheidene organismen een temperatuur van  $-100$  à  $-200^{\circ}$

---

<sup>1)</sup> Zie o. a. MOLISCH. Untersuchungen über das Erfrieren der Pflanzen, Jena, 1897.

kunnen verdragen, o.a. door BELJERINCK en JACOBSEN, SCHUMACHER, PIOTET en YOUNG, MACFADYAN.

MOLISCH schrijft het afsterven door bevrozen uitsluitend toe aan de gevolgen van wateronttrekking, die de ijsvorming buiten de cel meebrengt. Het zeldzamer voorkomende afsterven boven het vriespunt acht hij door functiestoring teweeg gebracht.

*Koudeverlamming.* Zooals reeds eerder is gezegd, wordt het temperatuur-minimum voorafgegaan door een gebied van koudeverlamming, welk verschijnsel door SACHS <sup>1)</sup> in 1863 eveneens werd waargenomen bij *Mimosa pudica*. Voor de protoplasma-strooming nam SACHS <sup>2)</sup> dit verschijnsel eveneens waar, en wel bij de haren van *Cucurbita Pepo*. Bij 10–11° C. was die strooming zoo goed als opgehouden, het protoplasma had echter zijn typischen bouw behouden.

Ook door KÜHNE werd deze koudeverlamming waargenomen. KÜHNE koelde een haar van een meeldraad van *Tradescantia* in een afkoelend mengsel af tot –14° en liet het gedurende 5 minuten op die temperatuur, waarna het bij gewone temperatuur onder den microscoop bekeken werd. Het bleek dan, dat aanvankelijk het protoplasma geheel uiteen was gevallen in ronde druppels en klompjes; naarmate de gewone temperatuur werd aangenomen, gingen deze klompjes weer bewegen, vloeiden samen, en vormden ten slotte na 10 minuten weer 't oorspronkelijke protoplasma-net, dat ook na 24 uur nog levendig in strooming was.

Sinds dien is ook dit verschijnsel meerdere malen waargenomen, zoowel bij functies van dierlijke als bij die van plantaardige organismen.

Zoo vond ERDAM <sup>3)</sup>, dat de sporen van *Bacillus thermo* zich bij een temperatuur beneden 5° C. niet ontwikkelen, doch in

1) l. c. 1863.

2) Flora 1864, S. 69.

3) l. c. 1875.

Kaltestarre verkeeren, daar ze bij verwarming dit vermogen weer terugkrijgen.

Ook bij de kern- en celdeeling werd het bedoelde verschijnsel waargenomen. HERTWIG<sup>1)</sup> vond, dat wanneer zeeëgel-eieren gedurende 15–30 minuten op  $-1$  à  $-4^{\circ}$  worden afgekoeld, het geheele achromatische deel der kerndeelingsfiguur wordt weggenomen, terwijl de chromatische deelen niet of weinig worden veranderd. Weer bij gewone temperatuur gebracht, verdwijnt de „Starre” echter in korten tijd; de geheele kerndeelingsfiguur herstelt zich en de deeling gaat verder.

In dit geval heeft de koude dus als rem gewerkt, het deelingsproces begint althans voor 't chromatisch deel der kern weer daar, waar 't door de koudeverlamming tot stilstand was gebracht. Had de afkoeling 2 à 3 uur geduurd, dan moest de kerndeelingsfiguur weer geheel en al opnieuw opgebouwd worden.

EWART vond, dat de protoplasmastrooming bij *Chara* en *Nitella* na een verblijf van 6 uur bij  $0^{\circ}$ – $0.2^{\circ}$  C. zeer langzaam wordt en zoo goed als stilstaat; worden de objecten daarna  $\pm \frac{1}{4}$  uur bij  $20^{\circ}$  C. gebracht, dan wordt de beweging weer levendig.

Merkwaardig is ook, dat, hoe dichter men bij het temperatuurminimum komt, des te grooter de temperatuurscoëfficiënt voor  $10^{\circ}$  wordt, en wel geschiedt deze toename op abnormaal sterke wijze tot de reactie bij het begin der koudeverlamming, wanneer deze althans intreedt, niet meer is te constateeren. Door sommige onderzoekers zijn eenige pogingen gewaagd ter verklaring van dit verschijnsel. In het algemeen doet zich dan de vraag voor of men bij die lage temperaturen te doen heeft met een oneindig langzaam verlopende reactie, of met een reactie, die geheel stilstaat. De laatste onderstelling aannemende, spreekt BREDIG,<sup>2)</sup> bij 't weer in gang gaan der functie van een *Auslösung*,

1) Experimentelle Studien am thierischen Ei vor, während und nach der Befruchtung. Jena, 1890.

2) Ergebnisse der Physiologie 1, Abt. I, 1902. S. 135–212.

en vergelijkt het voorwerp met een machine, die met een of andere inrichting, bijv. een haak, is vastgezet, welke inrichting dan plotseling zou worden losgelaten. In de eerste onderstelling zou men te doen hebben met een remmende werking, welke de machine niet geheel stop zet, doch de werking daarvan zeer bemoeilijkt, zoodat de snelheid ten slotte oneindig klein wordt.

KANITZ <sup>1)</sup> helt sterk over tot de aannahme van een „Auslösung”, en geeft tevens ter verklaring hiervan eenige hypothesen, waarvan de volgende hier vermeld zij, in verband met wat bij de afsterving bij schadelijke hooge temperaturen waargenomen wordt. De mate van afsterving bij hooge temperaturen neemt n.l. zeer snel toe met de temperatuur, ARRHENIUS <sup>2)</sup> spreekt daarbij zelfs van een temperatuurscoëfficiënt van 8000 voor 10°.

Analoog hiermede oppert nu KANITZ de onderstelling, dat bij zeer lage temperatuur de vormingssnelheid der fermenten op dergelijke wijze van de temperatuur afhankelijk is; eerst bij een zekere temperatuur zouden deze in merkbare hoeveelheid gevormd worden, maar dan ook zóó snel toenemen, dat dit als 't eigenlijke begin van het proces zou moeten gelden.

Ook HERZOG <sup>3)</sup> geeft de volgende uitspraak:

„Man hat die Wahl, anzunehmen, dass es sich um einen unendlich (oder nur überaus) langsamen verlaufenden Vorgang handle oder aber um eine Auslösungs- oder Reizerscheinung. Alle Gründe sprechen für die letztere Annahme.”

*Optimum.* Zooals reeds in het begin van deze paragraaf is opgemerkt, ligt tusschen minimum en maximum het z.g. *optimum*. Reeds SACHS vermoedde de algemeenheid van het optreden van dit punt bij physiologische processen. Deze opvatting werd door ERRERA in 1876 nadrukkelijk bevestigd (zie blz. 53), terwijl

<sup>1)</sup> Z. f. Elektrochemie 13, 1907. S. 707.

<sup>2)</sup> Immunochemie, Leipzig, 1907.

<sup>3)</sup> Z. f. Elektroch. 15, 1905, S. 820.

deze onderzoeker in 1896 <sup>1)</sup> eene verhandeling gaf over het optreden van het optimum en de noodzakelijkheid daarvan in de natuur. In deze verhandeling betoogt ERRERA n.l. de groote algemeenheid van het optimum: „l'Optimum n'en reste pas moins, par excellence une loi régulatrice de la vie.”

De veelvuldig heerschende opvatting van den temperatuursinvloed op physiologische processen was langen tijd, dat bij nog onschadelijke temperaturen een optimum zou optreden, en dat in dit opzicht de physiologische processen een tegenstelling vormden met de chemische. Dit wordt duidelijk onder woorden gebracht door PFEFFER <sup>2)</sup>: „Aus der Bedeutung der Temperatur als formale Bedingung ergibt sich ohne weiteres, dass das Ausmaass der Umsetzungen in erster Linie durch die *Verschiebung der Actionsfähigkeit des Organismus und mehr nebenbei durch die directe Beeinflüssung der chemischen Prozesse* durch die Temperatur regulirt wird. Die für letztere maassgebende Curve stimmt deshalb im allgemeinen nicht mit den physiologischen Reactionscurve überein, welche zumeist erst bei einer höheren Temperatur als die chemische Curve anfängt und der Regel nach mit steigender Temperatur (jenseits des Optimums) wieder abfällt, während die rein chemische Curve weiter ansteigt.”

Waar een ombuiging der kromme eerst begint op te treden bij temperaturen, waarbij reeds schadelijke invloed kan optreden, mag dit volgens PFEFFER niet aangemerkt worden als het optreden van een optimum, dit zou bij voorbeeld gelden voor de ademhaling. Van dit proces zegt PFEFFER <sup>3)</sup> n.l.: „Mit der Temperatur steigt die Sauerstoffathmung erheblich und augenscheinlich dauernd, bis ein benachtheiligender Einfluss der Wärme sogleich oder nach einiger Zeit einen Abfall bewirkt. *Innerhalb der günstigen und auf die Dauer zulässigen Temperaturen hat also die Athmung nicht, wie Wachsen, Kohlensäure-*

<sup>1)</sup> Recueil d'oeuvre de L. ERRERA, Physiologie générale, p. 338.

<sup>2)</sup> Pflanzenphysiologie I, S. 514. Leipzig, 1897.

<sup>3)</sup> l. c. S. 572.

zersetzung und auch verschiedene andere Stoffwechselprocesse ein ausgesprochenes Optimum aufzuweisen." <sup>1)</sup> En verder: „Im allgemeinen ergaben ältere und neuere Untersuchungen (bedoeld zijn die van KREUSLER, CLAUSEN, ZIEGENBEIN, BONNIER en MANGIN, e. a.) den gekennzeichneten Verlaaf der Athmungscurve. Jedenfalls ist ein Optimum, das nahe der Tödtungstemperatur liegen müsste, nicht sichergestellt. CLAUSEN und ZIEGENBEIN, die ein solches annehmen, stützen sich auf Versuche, in denen, soweit sich ersehen lässt, die Pflanze transitorisch benachtheiligt wurde, da sie bei der Rückkehr auf die frühere Vegetationstemperatur nicht wieder sogleich die zu vorige Athmungstätigkeit aufnahm, wie es sonst üblich ist."

Onder het optimum verstaat PFEFFER dus *die* temperatuur, waarbij de grootste snelheid wordt bereikt en waarboven de snelheid weer afneemt, mits die temperatuur ook op den duur *niet schadelijk* is. Dit optimum zou veroorzaakt worden door een verschuiving van het werkingsvermogen van het organisme met de temperatuur.

Tegenover deze opvatting van PFEFFER staat die van TAMMANN <sup>2)</sup> n.l., dat het temperatuur-optimum, althans voor de door hem bestudeerde enzymwerkingen, alleen veroorzaakt wordt door een met de temperatuur sterk toenemende vernietiging van het enzym, terwijl het proces als zoodanig niet door de temperatuur zou worden vertraagd.

Deze zelfde verklaring, maar dan op veel uitvoeriger wijze, geeft ook DUCLAUX in 1898; hierover zal echter nader in de volgende paragraaf worden gesproken.

#### *Temperatuurwisselingen.*

DUTROCHET en BECQUEREL <sup>3)</sup> merkten op, dat een temperatuurswisseling van 25° de plant (*Chara* en *Nitella*) kan doodden; toch vonden zij, dat, werd de temperatuur in 4 à 5 minuten

---

1) De cursiveering in dit en in het voorafgaande citaat geschiedde door mij.

2) Z. f. physiol. Ch. 16, 1892, S. 271.

3) l. c. 1837.



van 7° C. op 32° C. gebracht, de stroomingssnelheid van het protoplasma weliswaar zeer klein werd, maar na een verblijf bij 32° C. gedurende 2 uur, weer hare oorspronkelijke waarde terug kreeg, hetgeen dus in strijd is met de veronderstelling eener dooding.

DE VRIES <sup>1)</sup> kwam voor plantendeelen tot het resultaat, dat temperatuursveranderingen, hoe groot en hoe snel ze ook zijn, geen blijvend schadelijken invloed uitoefenen, mits zij blijven beneden de maximale en boven de minimale temperatuur. De proeven hieromtrent had hij verricht met bebladerde takken, die blootgesteld werden aan groote temperatuurswisselingen, zoowel van een lage temperatuur op een hooge, als van een hooge op een lage.

Ook de invloed van snelle temperatuurswisselingen op protoplasmastroomingen werd door DE VRIES onderzocht, n.l. bij de haren van *Hydrocharis morsus ranae*, waarbij hij vond, dat de beweging meer vertraagd is naarmate de temperatuursprong, 't zij naar boven, 't zij naar beneden, een grooter aantal graden bedraagt.

Andere onderzoekers, o. a. HÖRMANN, HOFMEISTER, KLEMM, verkregen eveneens bij dergelijke onderzoekingen een soortgelijk resultaat, n.l. dat een plotselinge temperatuurswisseling de strooming tijdelijk doet ophouden. Alleen VELTEN <sup>2)</sup> vond, dat temperatuurschommelingen binnen de grenzen der blijvend schadelijke temperaturen, noch een afbreking, noch een verlangzaming der strooming te voorschijn roepen.

In 't fraaie werk van EWART <sup>3)</sup> over de protoplasmastrooming wordt ook aan dit onderwerp aandacht geschonken. In het hoofdstuk, getiteld „Effect of sudden changes of temperature”, bespreekt schrijver n.l. de literatuur over dit onderwerp en toetst deze aan zijne eigen waarnemingen over protoplasmastroomingen in cellen van *Nitella*, *Chara*, *Elodea*, *Vallisneria*

<sup>1)</sup> Arch. Néerland. 5, 1870, p. 358.

<sup>2)</sup> l. c. 1896.

<sup>3)</sup> l. c. 1903.

en *Frutescencia*. Hierbij vond hij, dat een plotselinge temperatuursstijging van 30 à 25° C. (bijv. van 10 op 45° C.) voldoende is om onmiddellijk een tijdelijken stilstand in de protoplasmastrooming te veroorzaken, zonder nadeelige gevolgen.

Wat betreft plotselinge temperatuursdaling, vond EWART, geheel in overeenstemming met vroegere onderzoekers, dat na een temperatuursdaling van 10° C. op 2° C. een snelle afname zichtbaar is, zoodat binnen 4 à 5 minuten de protoplasmastrooming nog slechts zeer langzaam is, waarna ze langzamerhand verder afneemt en ten slotte tot rust komt. Wanneer de praeparaten, onmiddellijk na het ophouden der strooming gebracht werden op 15° C., is de strooming na 20 minuten weer normaal. Na een langer verblijf op die koude temperatuur duurt het langer eer bij 15° de normale snelheid weer terugkomt.

De *snelle afname* van de snelheid schrijft EWART nu toe aan de toegenomen viscositeit van het protoplasma tengevolge der lage temperatuur, terwijl de daaropvolgende langzame, vóórtduurende snelheidsafname veroorzaakt zou worden door een deprimeerenden invloed van de lage temperatuur op de intensiteit der *levensverrichtingen van de levende cel als zoodanig*, welke invloed hij niet nader omschrijft.

Uit deze onderzoekingen blijkt dus, dat temperatuursschommelingen over het algemeen binnen de temperatuursuitersten niet schadelijk zijn, hoewel zij een stilstand in de functie teweeg kunnen brengen, die echter niet van blijvenden aard is, want bij normale temperaturen treedt na korter of langer tijd (afhankelijk van de mate en de snelheid der temperatuurswisseling) weer dezelfde intensiteit van de functie in.

Ook de tijd, waarna de geheele stilstand intreedt, is afhankelijk van de snelheid der temperatuurswisseling; heeft deze langzaam plaats, dan blijft de stilstand achterwege, althans wanneer de temperaturen niet schadelijk waren; het voorwerp heeft dan waarschijnlijk tijd zich aan te passen aan de nieuwe temperatuur.

§ 3. *De theorie van DUCLAUX-BLACKMAN voor de verklaring van het temperatuur-optimum.*

Een nadere verklaring voor het optreden van een optimum werd het eerst gegeven door DUCLAUX <sup>1)</sup>. Zijne beschouwingen, die op enzymwerkingen betrekking hadden, waren geheel gebaseerd op reeds gedane onderzoekingen en hij trachtte daaruit het verloop te vinden van de snelheid-temperatuur-kromme voorbij het optimum, wanneer in het geheel geen afsterving van het organisme had plaats gehad.

DUCLAUX nam hierbij aan, dat de reactiesnelheid zelve bij stijging der temperatuur toeneemt volgens een voortdurend stijgende kromme. Hij stelt zich dus op het standpunt van TAMMANN, dat in de vorige paragraaf werd uiteengezet. De toename der temperatuur veroorzaakt echter volgens zijne opvatting, ook een steeds toenemende afsterving van het enzym, waardoor de snelheid kleiner wordt. Dit kleiner worden der snelheid zou ten slotte de overhand krijgen boven de toename door de

temperatuurstijging, zoodat de kromme, in plaats van voortdurend te stijgen, een optimum gaat vertoonen en dus daarna daalt.

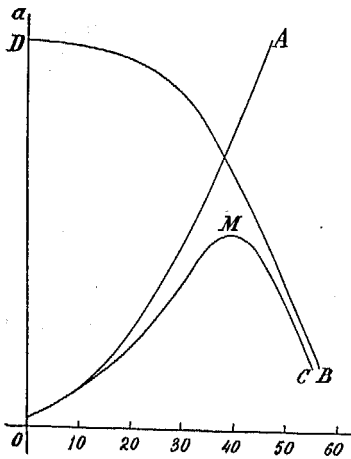


FIG. 1.

Figuur 1, die aan dezen onderzoeker werd ontleend, geeft van zijne theorie een schematische voorstelling. Op den abscis-as zijn daarbij de temperaturen afgezet en op de ordinaat-as de hoeveelheden stof, welke door eene hoeveelheid enzym gedurende een zekeren tijd wordt omgezet. Aldus wordt verkregen

<sup>1)</sup> *Traité de microbiologie*, T. II, p. 193, Paris, 1899.

een kromme O A. In dezelfde figuur wordt nu getrokken: „la courbe figurative de l'action destructrice de la chaleur sur la diastase seule". Op de abcis worden n.l. afgezet de temperaturen, op den ordinaat de hoeveelheden enzym, die werkzaam zijn gebleven na voorwarming op verschillende temperaturen gedurende den bovengenoemden tijd. Op deze wijze zou ontstaan de kromme D B, welke noodzakelijk de lijn O A moet snijden „et la superposition des deux actions se traduira, ainsi qu'il est facile de le comprendre, par une coupure de l'extrémité de la courbe A et la production d'une courbe résultante O M C avec un maximum M, tel que celui que révèle l'expérience".

Verder wees DUCLAUX er op, dat dit optimum voor verschillende enzymen geen zelfde punt kan zijn, daar de twee krommen O A en D B geheel onafhankelijk van elkaar kunnen veranderen, terwijl zij toch hun algemeen karakter behouden.

Het denkbeeld, dat aan de theorie van DUCLAUX ten grondslag ligt, vindt men nu terug in een verhandeling van BLACKMAN <sup>1)</sup>, maar hier wordt de onafhankelijk van DUCLAUX opgestelde beschouwingswijze getoetst aan de uitkomsten van een onderzoek, door dezen onderzoeker gemeenschappelijk met Miss MATTHAEI <sup>2)</sup> verricht over het verband tusschen de koolzuurassimilatie en de temperatuur. Dit onderzoek had ten doel het verloop der temperatuur-snelheid-kromme na te gaan voor temperaturen gelegen boven het optimum en een verklaring van de daarbij optredende afwijking van den regel van VAN 'T HOFF te geven.

BLACKMAN begint met de mededeeling, dat uit vroegere onderzoekingen is gebleken, dat voor tal van physiologische processen de regel van VAN 'T HOFF van toepassing is voor gemiddelde temperaturen van ongeveer 10°—27°. Als voorbeeld worden dan genoemd het onderzoek van HERZOG over de sporenvorming van *Sacch. pasteurianus* en van HERTWIG over de ontwikkeling van kikvorscheieren, berekend door COHEN. BLACKMAN heeft waarschijnlijk deze uitkomsten niet grafisch voorgesteld,

1) Ann. of Botany 19, 1905, p. 281.

2) Phil. Trans. Roy. Soc. B 197, 1904, p. 85.

anders zou het hem zeker zijn opgevallen, dat de kromme, welke in dit temperatuursinterval daarbij verkregen wordt, reeds een groote afwijking van dien regel en zelfs van de formules van VAN 'T HOFF en van ARRHENIUS vertoont (zie § 1).

Verder vraagt BLACKMAN zich af, wat er nu zal gebeuren als men de uiterste temperatuursgrens van de werking van het organisme nadert. Dan komt, zegt BLACKMAN, een nieuwe factor in 't spel, nl. de *tijd-factor*. En door nu dezen factor in aanmerking te nemen, achtte hij het mogelijk de proefnemingen bij de hoogere temperaturen zoodanig in te richten, dat daaruit met recht conclusies zouden zijn te trekken omtrent de oorzaken van de daarbij optredende afwijking. Voor de eerste maal werd hier met nadruk de aandacht gevestigd op dien factor. Wel schreef reeds SACHS <sup>1)</sup> in 1874: „Die obere Temperaturgrenze für die Reizbarkeit der Mimosenblätter hängt von der Dauer der Erwärmung ab”, doch verder werd er geen aandacht aan geschonken. Ook DUCLAUX <sup>2)</sup> voelde wel, dat rekening gehouden moest worden met den *duur* der proef, hetgeen uit de volgende zinsnede betreffende de teekening van de lijn DB, volgt: „Prenons toujours comme abscisses les températures, portons comme ordonnée, à chaque température, les quantités de diastases qui restent dans le liquide, après une *durée de chauffage à diverses températures égale à la durée choisie pour l'unité de temps*, la quantité de diastase étant évaluée, par la quantité de matière transformée pendant le même temps, c'est-à-dire au moyen de la même unité que *a*”, <sup>3)</sup> m. a. w. de lijnen DB en OA moeten, volgens DUCLAUX, betrekking hebben op dezelfde tijdseenheid. De verdere consequenties, waartoe deze overweging leidt, werden echter door DUCLAUX niet nader onder de oogen gezien.

BLACKMAN liet nu, in verband met zijne theoretische beschouwingen, proeven door Miss MATTHAEI verrichten. Uit

1) Lehrbuch der Botanik, 1874.

2) l. c. p. 193.

3) Cursiveering van mij.

de bij deze proeven verkregen waarnemingen trok hij de volgende conclusies:

1°. Bij hoge temperaturen blijft bij voortzetting der verwarming de beginsnelheid niet behouden doch neemt regelmatig af.

2°. Hoe hooger de temperatuur, hoe sneller de afname der snelheid plaats heeft.

3°. De afname is bij iedere temperatuur in het begin het snelst en wordt langzamerhand kleiner.

Deze afname der snelheid met den duur der verwarming maakte het nu onmogelijk de hoogste assimilatie waarde voor een gegeven schadelijke temperatuur te bereiken. Deze is dan slechts theoretisch te vinden en wel volgens BLACKMAN op de twee volgende wijzen:

1°. door extrapolatie;

2°. door bij lage, onschadelijke temperaturen den temperatuurscoëfficiënt, door toepassing van den regel van VAN 'T HOFF te bepalen en deze ook toe te passen voor hoogere temperaturen.

Deze beide methoden werden op de proeven over de koolzuurassimilatie toegepast en de uitkomsten daarvan met elkaar vergeleken, uit welke vergelijking dan weer was op te maken in hoeverre de bovengenoemde temperatuursregel werd gevolgd.

De proeven werden door Miss MATTHÆI verricht bij 30.5°, 37.5° en 40.5° C. Voor elke temperatuur werden 4 snelheidsmetingen gedaan, elk over een uur loopend, gedurende welk tijdsverloop de hoeveelheid verdwenen CO<sub>2</sub> werd gemeten; de 1<sup>e</sup> koolzuurbepaling werd na 1½ uur verricht. Aldus werd de hoeveelheid CO<sub>2</sub> gevonden, geabsorbeerd *gedurende* het 1<sup>e</sup>, 2<sup>e</sup>, 3<sup>e</sup> en 4<sup>e</sup> uur *na* die voorwarming van 1½ uur. Uit deze 4 waarden vond BLACKMAN nu door extrapolatie de snelheids waarde voor een voorwarmingstijd 0 en wel door op de ordinaat-as de in de achtereenvolgende uren geassimileerde hoeveelheden CO<sub>2</sub> af te zetten en op de abscis-as de tijden van verwarming, dus 1½, 2½, 3½ en 4½ uur. Verder becijfert hij deze waarden door als temperatuurscoëfficiënt van het niet

aan afsterving onderhevig gedachte proces de constante waarde 2.1 aan te nemen, berekend uit de snelheid bij 9° en bij 22° C.

Uit de uitkomsten van beide methoden concludeert BLACKMAN dat: „the calculated initial value and the observed subsequent values fall into one fairly harmonious curve for each temperature. We thus attain a graphic demonstration that both methods indicate practically identical initial values and this affords, its seems to me, satisfactory evidence for a preliminary acceptance of the theory that such values actually occur, though it is not possible to measure them.”

Het tweede gedeelte van de mededeeling van BLACKMAN handelt over de z.g. „limiting factors”. Het begrip hiervan is een uitbreiding van de algemeen bekende „wet van het minimum”. Wanneer de snelheid van een proces in 't algemeen afhankelijk is van een zeker aantal factoren, dan is het mogelijk de omstandigheden zoodanig te kiezen, dat de snelheid slechts afhankelijk wordt van 1 factor, en wel kan dit geschieden, door alle omstandigheden, die de andere factoren beïnvloeden zoo gunstig mogelijk te doen zijn, maar die voor deze eene ongunstig te doen blijven. Deze ééne factor, die de snelheid van het proces bepaalt, wordt door BLACKMAN genoemd de „limiting factor”.

Gebaseerd op de beschouwingen in deze verhandeling van BLACKMAN zijn nog eenige andere proefnemingen gedaan; deze zijn echter niet groot in aantal.

In 1908 verscheen een publicatie van W. LAWRENCE BALLS<sup>1)</sup> over den temperatuursinvloed op den groei van schimmelhyphen. De tijdfactor werd bij deze proeven echter op verkeerde wijze in rekening gebracht.

In 1908 verscheen nogmaals een verhandeling van BLACKMAN<sup>2)</sup>, als rede uitgesproken bij de opening van The British association, section K. (Botany). In deze rede begint BLACKMAN met er op te wijzen hoe alle mogelijke physiologische processen vroeger

1) Ann. of Botany 22, 1908, p. 557.

2) Nature 78, 1908, p. 556.

werden beschouwd als te verlopen tengevolge van een of andere prikkel. Spreker bedoelde hier de z.g. prikkeltheorie van PFEFFER en diens leerlingen, welke theorie indertijd haar groot nut had, thans echter voor de nadere bestudeering niet meer voldoende is. Zeer juist karakteriseert BLACKMAN deze theorie aldus: „The strength and the weakness of the conception lie in its extra-ordinary *lack of particularity*”. BLACKMAN schrijft alle physiologische processen toe aan chemische reacties, welke zich zouden afspelen in het organisme en welke reacties van katalytischen aard zouden zijn, waarbij dan het protoplasma de katalysator is. Vandaar zijne verwachting, dat ook voor physiologische processen de temperatuursinvloed op de snelheid den regel van VAN 'T HOFF zal volgen.

Een volgend onderzoek, gebaseerd op de theorie van BLACKMAN, verscheen in 1909 van J. KUYPER,<sup>1)</sup> die den temperatuurs invloed op de adembaling van hoogere planten onderzocht.

Dit onderzoek zal echter, evenals het door KUYPER in 1911 gepubliceerde, als handelende over de adembaling van hoogere planten, nader beschouwd worden in § 2 van Hoofdstuk III.

In 1910 werd wederom een onderzoek omtrent den temperatuursinvloed op een physiologisch proces gepubliceerd en ook dit onderzoek was geheel gebaseerd op de theorie van BLACKMAN. Bedoeld wordt hier de studie van RUGERS<sup>2)</sup> over den temperatuursinvloed op den praesentatietijd bij geotropie. Bij deze proeven werd dus niet een snelheid gemeten, maar iets wat te vergelijken is met het omgekeerde van een snelheid.

Deze onderzoeker, die op geheel analoge wijze te werk ging als KUYPER, gebruikte kiemplantjes als proefobjecten. Uit de resultaten dezer onderzoekingen was echter door extrapolatie niet tot de kromme te komen, die te verwachten was volgens den regel van VAN 'T HOFF.

---

<sup>1)</sup> De invloed der temperatuur op de adembaling der hoogere planten. Dissertatie, 1909.

<sup>2)</sup> De invloed der temperatuur op den praesentatietijd bij geotropie. Dissertatie, 1910.



De verklaring van deze afwijking tracht RUTGERS <sup>1)</sup> vooral te vinden in een gunstige werking van de voortgezette verwarming, waardoor de waarde van den theoretischen praesentatietijd voor een voorwarmingstijd 0 diegene zou worden, die volgens den regel van VAN 'T HOFF te verwachten is.

In 1911 verscheen van BLACKMAN nog een publicatie omtrent een nieuwe methode voor de uitvoering van assimilatieproeven met ondergedompelde waterplanten en eene voortzetting zijner verhandeling over de beperkende factoren, welke bij dit proces een rol spelen. Bij die nieuwe werkwijze werd over de waterplant een stroom water gevoerd, waarin een bepaalde hoeveelheid koolzuur was opgelost; de vermindering in het koolzuurgehalte was de maat voor de assimilatie.

Volgens deze methode werd de assimilatiesnelheid van *Elodea canadensis* bestudeerd in verband met 3 beperkende factoren, n.l. de temperatuur, de hoeveelheid CO<sub>2</sub> en de lichtintensiteit. 't Meest uitvoerig werd de invloed van de aanwezige hoeveelheid CO<sub>2</sub> nagegaan, bij een bepaalde lichtintensiteit en een bepaalde temperatuur.

Aanvankelijk werd bij stijgende koolzuurhoeveelheid ook stijging der assimilatiesnelheid gevonden. Boven een bepaalde concentratie bleek echter de snelheid niet meer toe te nemen met toename der CO<sub>2</sub>-concentratie. De lichtintensiteit was dan de limiting factor geworden; werd deze versterkt, dan trad de stijging der snelheid bij stijging van de hoeveelheid CO<sub>2</sub> weer opnieuw op.

Bij bestudeering van den invloed van de lichtintensiteit traden moeilijkheden in de uitvoering op.

De temperatuursinvloed werd bestudeerd voor slechts 3 temperaturen, n.l. 7°, 13° en 21° C., waarvoor 2 afzonderlijke proeven werden verricht. De uitvoering dezer proeven was als volgt: de gebruikte lichtintensiteit was geheel en de concentratie van het CO<sub>2</sub> nagenoeg constant. De temperatuur was bij het begin

---

<sup>1)</sup> l. c. bl. 139.

der proefneming  $7^{\circ}$  C., waarop zij gedurende 3 uur werd gehouden om vervolgens snel omhoog te worden gedreven tot  $21^{\circ}$  C., welke temperatuur 2 uur bleef gehandhaafd, waarna de proef werd afgebroken. Telkens werd om het uur de hoeveelheid geassimileerd  $\text{CO}_2$  voor dat uur bepaald. Bij  $7^{\circ}$  was de assimilatiesnelheid 0.0115 mgr.  $\text{CO}_2$  per uur, door de verwarming op  $21^{\circ}$  steeg zij op 0.0252.

De volgende proefneming werd op geheel analoge wijze gedaan; eerst werd de assimilatie bepaald bij  $13^{\circ}$  C., waarbij zij bedroeg 0.0177, waarna de temperatuur snel op  $21^{\circ}$  C. werd gebracht; de assimilatiesnelheid was nu bij die temperatuur 0.0226, iets lager dus dan bij de vorige proef, hetgeen BLACKMAN daaraan toeschrijft, dat 't licht bij  $21^{\circ}$  limiting factor was, hetgeen nog niet het geval zou zijn bij  $13^{\circ}$ .

Uit de gevonden snelheden bij  $7^{\circ}$  en  $13^{\circ}$  C. becijferde BLACKMAN den temperatuurscoëfficiënt voor  $10^{\circ}$  en vond hiervoor 2,05. Met behulp hiervan berekende hij, gebruik makende van den regel van VAN 'T HOFF, de „primary” kromme voor het verband tusschen de temperatuur en de assimilatie. De betrekkingen, welke gevonden werden tusschen de assimilatiesnelheid en elk der drie genoemde factoren werden nu met elkaar vergeleken door de drie grafische voorstellingen naast elkaar in ééne figuur te teekenen, waarbij op de Y-as werd afgezet de snelheid en op de X-as achter elkaar de hoeveelheid  $\text{CO}_2$ , de temperatuur en de lichtintensiteit. Voor de snelheid-temperatuur-kromme werd de „primary” kromme genomen.

Uit deze figuur kan nu afgelezen worden, welke koolzuurhoeveelheid, welke temperatuur en welke lichtintensiteit moeten samenwerken, om een bepaalde assimilatie-snelheid te veroorzaken. Is omgekeerd een bepaalde combinatie der drie factoren gegeven en wordt gevraagd de daarbij behorende snelheid te vinden, dan is dit op de volgende wijze uit te voeren. Voor elk der gegeven factoren zoekt men de bijbehorende snelheid, de kleinste snelheid, welke men hierbij vindt, zal die zijn, waarmee de assimilatie onder die gegeven omstandigheden zal verlopen.

De factor, waarbij die kleinste snelheid behoort zal dan de limiting factor zijn.

In 't kort vat BLACKMAN deze beschouwingen samen in de volgende woorden:

„The magnitude of this function in every combination of these factors is determined by one or other of them acting as limiting factor.

When the magnitude of a function is limited by one of a set of possible factors, increase of that factor, and of that one alone, will be found to bring about an increase of the magnitude of the function.”

---

## HOOFDSTUK III.

Oudere onderzoekingen betreffende den  
temperatuursinvloed op de onderzochte processen.

---

### § 1. *De Alcoholgisting.*

Onderzoekingen omtrent de alcoholgisting, wat betreft den invloed van uitwendige factoren op de gistingssnelheid zijn niet zeer talrijk verricht.

Wel was het lang een brandende strijdvraag of het gistingproces al of niet onafscheidelijk gebonden was aan de levende cel. In de jaren tusschen 1860 en '70 werd deze vraag door PASTEUR schijnbaar opgelost, daar hij meende aan te toonen, dat het bedoelde proces inderdaad gebonden was aan de intacte levende gistcel.

In 1897 ontdekte E. BUCHNER echter, dat ook met het uit de gistcel geperste protoplasma alcoholgisting kan worden te voorschijn geroepen en meende daarom bij de alcoholgisting met een enzymproces te maken te hebben; het betrokken enzym gaf hij den naam van *zymase*.

Later slaagden ALBERT, E. BUCHNER en RAPP er in de gisting ook met door alcohol en aether of aceton gedooide en vervolgens gedroogde gistcellen te doen verloopenen. In beide gevallen was de gistkracht echter sterk achteruitgegaan, vergeleken met die van de oorspronkelijke gist.

Daar echter nog geen scherpe definitie van enzymen is gegeven, heeft de strijdvraag of men hier te doen heeft met een enzymproces of met een werking van levend protoplasma geen zin.

Voor onze beschouwingen kan deze kwestie dan ook hier onbesproken blijven.

Door MAYER <sup>1)</sup> werd in 1873 een onderzoek gedaan over de inwerking van de temperatuur op de gistkracht van levende gist. Daartoe werd de gist langzaam verwarmd, met eene snelheid van ongeveer 1° temperatuursverhooging per minuut tot 65° C. Bij de temperaturen 50°, 55°, 60° en 65° C. werd eene bepaalde hoeveelheid der gist uitgenomen, afgekoeld en bij kamertemperatuur op hare activiteit onderzocht. Na de verwarming tot 50° was deze reeds verzwakt, eerst laat trad na afkoeling gisting in; met de tot 55° verwarmde gist trad eerst na 28 uur gisting op, terwijl de gist, die tot 60° en 65° was verwarmd, in het geheel geen gisting meer veroorzaakte.

Deze proeven zeggen echter niets over het *verband* der gistingssnelheid met de temperatuur.

Door KAYSER <sup>2)</sup> werden de hoogste temperaturen bepaald, waartegen verschillende gistsoorten bestand waren. Van belang voor de kennis van den temperatuursinvloed op de gistingssnelheid waren echter ook deze onderzoekingen niet.

SCHÜTZENBERGER <sup>3)</sup> had er reeds op gewezen, dat de temperatuur, waarbij de gisting 't snelst gaat, gelegen is tusschen 25° en 30°, terwijl de gist haar gistkracht verliest tusschen 53° en 60°. Aan den anderen kant beginnen de verschillende functies der gist (o.a. gisting, absorptie van zuurstof) eerst bij 8 à 10° C., terwijl zij zonder af te sterven tot 0° C. kan afgekoeld worden.

In 1897-'98 werden door NAKAMURA <sup>4)</sup> proeven gedaan ter bepaling van de hoogste temperatuur, waarbij nog gisting plaats kan hebben, en deze onderzoeker ging tevens na *hoe lang* de gist op een bepaalde temperatuur moest verwarmd worden om hare gistkracht te verliezen. De proeven werden

<sup>1)</sup> Landw. Vers. stat. 1873, S. 277.

<sup>2)</sup> Ann. de l'Inst. Pasteur 3, 1899, p. 513; 4, 1899, p. 321.

<sup>3)</sup> Les fermentations. Paris, 1876. p. 133.

<sup>4)</sup> Bull. of the Coll. of Agriculture 3, 1897/98, p. 227.

zoodanig genomen, dat de gist te voren gedurende een bepaalden tijd op een gegeven temperatuur werd verwarmd; vervolgens werd zij afgekoeld en werd nagegaan of de gistkracht al dan niet verloren was gegaan.

NAKAMURA vond hierbij, dat een verwarming van 25 min. op 50° C. juist de grens was; bij een langere verhitting op 50° C. of bij een verwarming van 25 min. op een hoogere temperatuur wordt de gistkracht vernietigd. Ook de invloed van het medium, waarin de gist werd verwarmd op de doodings-temperatuur werd nagegaan; van dit onderzoek kunnen de uitkomsten hier echter buiten beschouwing blijven.

Een uitvoerig onderzoek over de alcoholgisting werd in 1903 verricht door ABERSON<sup>1)</sup>, waarvan de resultaten hier eenigszins uitvoeriger moeten worden besproken, ook voor zoover zij niet rechtstreeks den temperatuursinvloed betreffen, omdat onze onderzoekingen ook op ditzelfde gebied moesten worden uitgebreid.

De formule voor monomoleculaire reacties bleek ABERSON niet geheel onveranderd toegepast te kunnen worden, daar de gisting sterk tegengewerkt werd door de aanwezigheid van de voor de vergisting gebruikte glucose; zoo vond hij, dat de reactieconstante, berekend uit de gisting van een 14<sup>0</sup>/<sub>0</sub>-ige glucose-oplossing veel geringer was dan die, welke met een 8<sup>0</sup>/<sub>0</sub>-ige oplossing was bepaald. Tengevolge der afname van het glucosegehalte gedurende het verloop der proef, welke op zijn minst 5 uur duurde, nam dus de reactieconstante toe.

Deze invloed der glucose werd in de reactieformule in aanmerking gebracht door 't invoeren van een nieuwen term, waardoor de uitdrukking voor de snelheid werd:

$$\frac{dx}{dt} = K (A - x) \left( 1 - \alpha \frac{x}{A} \right),$$

waaruit door integreeren en berekening, voor  $\alpha = 1$ , gevonden werd:

$$2k = \frac{1}{t} \lg \frac{A + x}{A - x}.$$

<sup>1)</sup> Chem. Weekblad. 1903, bl. 133, 149 en 161.

Volgens deze formule werden uit de proefnemingen inderdaad nagenoeg constante waarden gevonden.

Verder werd door ABERSON aangetoond, dat bij twee door hem toegepaste gistconcentraties de gistingsnelheid evenredig was met de gebruikte hoeveelheid gist.

Ook de temperatuursinvloed werd bij dit onderzoek nagegaan, echter slechts bij een gering aantal temperaturen, terwijl ook het temperatuursinterval, waarvoor de proeven werden verricht, vrij gering was: de laagste temperatuur was 12°, de hoogste 33° C. De waarnemingen werden getoetst aan de formule van ARRHENIUS:

$$k_{t_1} = k_{t_0} \times e^{\frac{A (T_1 - T_0)}{T_1 T_0}},$$

waarbij voor  $A = 7803.5$  een goede overeenkomst tusschen de waargenomen en berekende waarden werd gevonden. Voor den temperatuurscoëfficiënt  $Q_{10}$  berekende ABERSON een waarde 2.76.

Deze proefnemingen van ABERSON bleven dus bij geheel onschadelijke temperaturen. De duur van elke proefneming was echter zeer groot: de kortste proeven duurden 5 uur, er waren er echter bij van 10 uur. ABERSON wees er op, dat men bij zulk een langen duur der proefnemingen ten slotte niet meer den invloed van een enkelen factor meet, doch dat er dan nog meerdere invloeden gaan optreden, bijv. die van den gevormden alcohol en die van den groei der gist, waardoor men zeer voorzichtig moet zijn met het trekken van conclusies uit dergelijke proefnemingen. Dit is dan ook reeds gebleken bij de beschouwing van den invloed der aanwezige glucose.

Verder werd door enkele onderzoekers de temperatuursinvloed onderzocht op de gistings-activiteit van praeparaten, uit gist bereid.

Zoo werden in 1903 door HERZOG<sup>1)</sup> proeven gedaan met *zymin*, een praeparaat uit gist bereid door deze te doden met aceton, volgens een door ALBERT aangegeven methode. De

<sup>1)</sup> Z. f. physiol. Ch. 37, 1903, S. 149.

proeven werden verricht bij 4 temperaturen: 14.5°, 20°, 24.5°, en 28.5°; de uitkomsten hiervan werden vergeleken met de waarden, die men zou verkrijgen bij berekening volgens de formule van ARRHENIUS, waarin  $A = 3932$  werd genomen. Er werd een goede overeenkomst gevonden.

Ook bij hooger temperatuur, nl. bij 38°, werd een proef gedaan, doch hierbij werd waargenomen, dat de snelheid eerst sterk toe- en dan weer sterk afnam. De oorzaak van dit verschijnsel werd daarin gezocht, dat de hogere temperatuur voor een tryptisch enzym, dat in het praeparaat aanwezig was, gunstig zou zijn, waardoor het zym in vernietigd zou worden.

Verder werd gevonden, dat de snelheidsconstante evenredig is met het kwadraat van de fermentconcentratie.

Door BUCHNER<sup>1)</sup> werd de samenhang van de *zymase*-werking en de temperatuur onderzocht. Deze proeven strekten zich uit over eenige dagen en hij vond, dat het gistingsvermogen van het sap 't langst aanhoudt bij 5–7° C., de beginsnelheid der gisting over het eerste uur genomen het grootst is bij 28–30° C. en de absoluut hoogste gistingsgetallen verkregen worden bij 12–14° C.

## § 2. *De ademhaling.*

Bij de bespreking der oudere literatuur over dit onderwerp wordt hier die over de ademhaling der gist afzonderlijk behandeld.

Dit proces werd reeds in 1873 door SCHÜTZENBERGER en QUINQUAUD<sup>2)</sup> onderzocht, zoowel op den temperatuursinvloed als ook op den invloed van de zuurstofconcentratie van het water, waarin bij hunne proeven de gist was gesuspendeerd en waarvan vóór en na de proef het zuurstofgehalte bepaald werd.

1) H. u. E. BUCHNER, M. HAHN, *Die Zymasegärung*, München 1903, S. 146.

2) C. R. 77, 1873, p. 272. Ook: SCHÜTZENBERGER, *Les fermentations*, Paris 1876, p. 91 e. v.



Bij deze proeven werd waargenomen, dat door de omstandigheden, waaronder zij werkten, de beginconcentratie der zuurstof geen invloed heeft op de ademhalingsintensiteit, zoolang die concentratie nog niet geringer is dan 1 c.M<sup>3</sup> per L. Daar beneden wordt een geringe afname der ademhalingsintensiteit merkbaar, de ademhaling houdt echter niet op vóórdat alle zuurstof uit 't water geabsorbeerd is.

Voor den temperatuursinvloed werd het volgende verloop waargenomen: beneden 10° C. heeft bijna geen ademhaling plaats, daar boven neemt de snelheid langzaam toe tot 18° C., van waar zij snel toeneemt tot 35° C. Bij deze temperatuur bereikt de snelheid een maximum, dat vrijwel behouden blijft tot 50° C., terwijl bij 60° het absorptievermogen geheel vernietigd is.

In 1888 werd een dergelijk onderzoek verricht door GRÉHANT en QUINQUAUD <sup>1)</sup>, bij welk onderzoek zoowel het volume geabsorbeerde zuurstof als het volume afgegeven CO<sub>2</sub> werd gemeten.

Uit de grafische voorstelling der zuurstofabsorptie bij verschillende temperaturen, kon ik aflezen, dat de temperatuurscoëfficiënten voor 10° in het temperatuursinterval van 0–35° schommelden tusschen 1.5 en 1.7.

Ten slotte verscheen nog in 1901 eene korte mededeeling over de gistademhaling, verricht door HARDEN en ROWLAND <sup>2)</sup>. Door hen werd de gist in drogen toestand gebruikt. Het was den onderzoekers echter niet mogelijk bij hunne proeven de temperatuur constant te houden, wegens de groote hoeveelheid warmte, die daarbij vrij kwam, tengevolge der levendige oxydatie. Gedurende een proef steeg de temperatuur van 16.5° op 41.35°, waarna zij weer afnam tot 22.45° C., welke laatste temperatuur bereikt werd 4.6 uur na het begin der proef. Op dit tijdstip werd de proef afgebroken en het bleek, dat de gist in dien tijd 1103 c.M<sup>3</sup>. zuurstof had geabsorbeerd en 2148 c.M<sup>3</sup>. CO<sub>2</sub> had afgegeven. Uit een dergelijke proef is echter geen

<sup>1)</sup> C. R. 106, 1888, p. 609.

<sup>2)</sup> Journ. of Chem. Soc. 79, 1901, p. 1227.

besluit te trekken omtrent den temperatuursinvloed op de snelheid der zuurstofabsorptie.

Bij hunne proefnemingen namen zij verder waar, dat de gaswissel door de celwanden zeer snel gaat en het evenwicht tusschen de omringende gassen en den inhoud van de cel zeer snel wordt ingesteld. Zij vonden n.l., dat wanneer gist bevrijd is van CO<sub>2</sub>, door daar een stroom lucht of stikstof over te leiden, zij, weer geplaatst wordend in een CO<sub>2</sub>-atmosfeer, binnen 2 à 3 minuten weer geheel verzadigd is met koolzuur.

De overige oudere literatuur omtrent de ademhaling is veel uitgebreider dan die over de ademhaling der gist.

De eerste proefnemingen omtrent den temperatuursinvloed op de ademhaling der planten werden gedaan door DE SAUSSURE en GARREAU, die echter alleen opmerkten, dat het proces bij hooge temperatuur sneller verliep dan bij lage.

In 1864 verscheen het resultaat der onderzoekingen van FÉLIX DE FAUCONPRET<sup>1)</sup> over de ademhaling van takken en geheele planten. Uit zijne waarnemingen maakte hij op, dat de hoeveelheid afgegeven CO<sub>2</sub>, welke als maatstaf voor de snelheid werd genomen, regelmatig toeneemt met de temperatuur. Dit verband stelde-hij voor door de formule:

$$Q = A + Ct^2,$$

waarin Q is de afgegeven hoeveelheid CO<sub>2</sub>, en A en C constanten zijn onafhankelijk van de temperatuur t. Inderdaad verkreeg de FAUCONPRET een goede overeenkomst tusschen de waargenomen en de volgens deze formule berekende snelheden.

SCHÜTZENBERGER en QUINQUAUD<sup>2)</sup> bestudeerden bij *Eloдея canadensis* de volgende processen:

- 1°. de absorptie van zuurstof en de daarmee gepaard gaande afgave van CO<sub>2</sub>, d. i. de ademhaling;
- 2°. de afgave van zuurstof onder invloed van 't licht, d. i. de koolzuurassimilatie.

Bij het onderzoek van den temperatuursinvloed op de adem-

1) l. c. 1864.

2) l. c. 1873.

haling vernietigden zij het assimilatievermogen door de plant in water op 45° à 50° te verwarmen. De ademhaling werd vervolgens gemeten bij 24° en 40° C.; bij 40° bleek de snelheid ongeveer 3 × zoo groot als bij 24° C. te zijn.

WOLLKOFF en MAYER <sup>1)</sup> vonden, dat de ademhalingsnelheid, gemeten door bepaling der zuurstofabsorptie, evenredig met de temperatuursverhoging toeneemt.

Tot ditzelfde resultaat kwam ook MAYER, <sup>2)</sup> bij zijne onderzoekingen over de ademhaling (zuurstofopname) van tarwekiemplantjes.

RISCHAWI <sup>3)</sup> vond eveneens nagenoeg evenredigheid tusschen de ademhalingsnelheid van kiemplantjes en de temperatuursverhoging. De proeven werden regelmatig om de 5 graden C. verricht, tusschen 5° en 40° C., terwijl hier als maatstaf der snelheid werd genomen de koolzuurafgave.

PEDERSEN <sup>4)</sup> daarentegen vond door bepaling der hoeveelheden gevormd koolzuur, dat de ademhaling van kiemplantjes niet evenredig met de temperatuursverhoging, maar in veel sterkere verhouding toeneemt. Uit zijne waarnemingen verkreeg hij n.l. bij grafische voorstelling een lijn, die convex is ten opzichte van de temperatuur-as.

Van eenigszins verdere strekking waren de proeven van BORODIN. <sup>5)</sup> Deze onderzoeker vond n.l., dat de ademhalingsintensiteit bij een bepaalde temperatuur geringer is, wanneer de proefobjecten gedurende eenigen tijd op een hogere temperatuur verwarmd zijn geweest, dan wanneer zij steeds op die bepaalde temperatuur waren gebleven. Omgekeerd werd gevonden, dat de ademhaling bij die temperatuur sterker is, wanneer de proefobjecten gedurende een zekeren tijd op een lagere temperatuur zijn geweest.

---

<sup>1)</sup> Landw. Jahrb. 3, 1874, S. 481.

<sup>2)</sup> Landw. Versuchsstat. 19, 1876, S. 340.

<sup>3)</sup> Bot. Jahresb. 1877, S. 721. (Ref. uit 't Russ.)

<sup>4)</sup> Mitth. aus dem Carlsb. Lab., 1878, S. 59.

<sup>5)</sup> Bot. Jahresb. 1876, S. 919. (Ref. uit 't Russ.)

BORODIN verklaarde dit verschijnsel door aan te nemen, dat in het eerste geval de afname van de stoffen, die bij de ademhaling verbruikt worden, sterker, in het tweede geval geringer was dan wanneer de temperatuur constant was gebleven.

Wat betreft het verband tusschen de snelheid en de temperatuur vond hij, dat bij verhooging der temperatuur tot 38.5° C., de ademhaling toeneemt in intensiteit. Reeds bij 36° C. echter was de snelheid niet meer, gedurende langeren tijd constant, zooals dit bijvoorbeeld bij 20° C. 't geval was, doch nam voortdurend af. De snelheid bleek door verhooging der temperatuur van 24° op 37.4° en onmiddellijk gemeten, 2.37 maal zoo groot te worden. Voor deze verhouding werd bij verlaging der temperatuur van 37.4° op 24° gevonden 2.43; de twee gevonden waarden kunnen practisch als gelijk worden beschouwd.

In 1884 verscheen een uitvoerig onderzoek over de ademhaling van paddestoelen, verricht door BONNIER en MANGIN <sup>1)</sup>. De ademhalingsintensiteit werd hierbij gemeten zoowel door bepaling van 't afgegeven koolzuur als van de geabsorbeerde zuurstof. In beide gevallen werd het zelfde resultaat verkregen: bij grafische voorstelling van het verband tusschen de snelheid en de temperatuur ontstonden nagenoeg rechte lijnen. Zij kwamen dan ook tot het resultaat, dat er *geen temperatuur-optimum* is voor de ademhaling. Tot hetzelfde besluit leidden hen ook proeven met *Neottia nidus avis* en *Polygonatum multiflorum*. <sup>2)</sup>

Tot de meest aangehaalde proeven over het hier behandelde onderwerp behooren die van KREUSLER <sup>3)</sup>, verricht in 't donker met spruiten van *Rubus fruticosus*. Voor een serie temperaturen werd een en dezelfde tak gebruikt. Deze temperaturen waren gelegen tusschen 2.3° en 46.4° C. en verschilden onderling ongeveer 5°.

<sup>1)</sup> Ann. d. sc. nat. 6e ser. Bot. 17, 1884, p. 209.

<sup>2)</sup> Ann. d. sc. nat. 6e ser. Bot. 18, 1884, p. 369.

<sup>3)</sup> Landw. Jahrb. 16, 1887, S. 711.

De ademhaling werd gemeten als koolzuurafscheiding en begon reeds bij zeer lage temperatuur. Bij 15° C. was zij reeds ongeveer 4 maal, bij 29° 8 maal, bij 40° 16 maal en bij 46.4° ongeveer 26 maal zoo groot als bij 0°. Hieruit volgt, dat de temperatuurscoëfficiënt voor 10° ongeveer 2 bedroeg. Bij grafische voorstelling der resultaten werd binnen het beschouwde temperatuursgebied een steeds stijgende lijn verkregen, welke convex is naar den temperatuur-as.

KREUSLER kwam tot de conclusie, dat de ademhaling geen temperatuur-optimum heeft, of zoo dit wèl het geval is, dit bij zeer hooge temperatuur ligt, dicht bij den levensgrens, daar bij de hoogste temperatuur, waarbij werd waargenomen (46.4°) nog geen teruggang in de intensiteit van dit proces was te bespeuren.

Daarentegen kwam CLAUSEN <sup>1)</sup> bij zijne onderzoekingen tot de overtuiging, dat het ademhalingsproces wel een temperatuur-optimum bezit. CLAUSEN strekte zijne onderzoekingen uit over een grooter temperatuursinterval, nl. dat van af 0° C. tot 55° C., terwijl als proefobjecten genomen werden kiemplantjes van *Lupinus luteus* en van tarwe en verder ook seringbloemen. Deze proeven waren over 't algemeen veel nauwkeuriger dan die van KREUSLER; voor elke temperatuur werden o. a. nieuwe proefobjecten gebezigd; voor alle objecten werd een optimum bij 40° C. waargenomen.

CLAUSEN meent nu in tegenstelling met KREUSLER, dat het temperatuur-optimum niet gelegen is onmiddellijk nabij de doodingstemperatuur, doch vermoedt, dat de hooge temperatuur nog vóór de plantencellen beginnen af te sterven, een deprimeerenden invloed op het proces uitoefent. Hieruit zou dus volgen, dat het optimum hier niet uitsluitend aan afsterving is te wijten. CLAUSEN vond verder, dat de ademhaling reeds bij eenige graden onder 0° begint en bepaalde het temperatuur-maximum op ongeveer 50° C.

Op dezelfde wijze als CLAUSEN onderzocht ook ZIEGENBEIN <sup>2)</sup>.

<sup>1)</sup> Landw. Jahrb. 19, 1890, S. 893.

<sup>2)</sup> Jahrb. f. Wiss. Bot. 25, 1893, S. 562.

de ademhaling van verschillende planten en plantendeelen. Zijn proeven over de ademhaling van den aardappel strekten zich uit over het temperatuursinterval van  $10^{\circ}$  –  $60^{\circ}$ . Het optimum bleek om en bij  $50^{\circ}$  C. te liggen, een temperatuur waarbij de aardappelen er nog ongeschonden uitzagen. Bij  $60^{\circ}$  had nog een zeer geringe koolzuur-afscheiding plaats, bij deze temperatuur was de aardappel echter zoo goed als geheel gekookt.

Voor de kiemplantjes van *Vicia Faba* en voor de spruiten van *Abies excelsa* bleek het optimum bij ongeveer  $35^{\circ}$  C. te liggen, terwijl het voor de kiemplantjes van *Turaxacum officinale* gelegen was bij  $40^{\circ}$  C. De kiemplantjes en de spruiten waren bij de genoemde optimum temperaturen in het geheel niet beschadigd; zoo waren bijv. de kiemplantjes van *Vicia Faba* na de proeven op  $40^{\circ}$  en  $45^{\circ}$  uiterlijk nog geheel normaal en groeiden gewoon door nadat zij in zaagsel terug waren gelegd, toch was bij deze temperaturen de ademhaling reeds aanzienlijk minder dan bij het temperatuur optimum.

Verder werd door ZIEGENBEIN de invloed van temperatuurwisselingen onderzocht. Van kiemplanten van *Vicia Faba* en *Lupinus luteus* werd bij  $15^{\circ}$  de ademhalingssnelheid bepaald, daarna gedurende 5 uur verwarmd respectievelijk op  $30^{\circ}$  en op  $42-43\frac{1}{2}^{\circ}$ . Daarna werd de ademhalingssnelheid opnieuw bij  $15^{\circ}$  bepaald. Het bleek, dat na verwarming op  $30^{\circ}$  de ademhaling niet achteruit was gegaan, terwijl na de verwarming op  $42-43\frac{1}{2}^{\circ}$  C. de snelheid zeer sterk was verminderd. De temperatuur van  $42$  à  $43\frac{1}{2}^{\circ}$  C. bleek dus reeds schadelijk te zijn voor de proefobjecten.

In 1903 verscheen een uitgebreid onderzoek van STOKLASA, JELINÉK en VITÉK <sup>1)</sup> over de ademhaling van aardappelen, suikerbieten en citroenen, bestudeerd door na te gaan de hoeveelheid koolzuur, welke afgegeven wordt in een  $\text{CO}_2$  vrijen luchtstroom.

De proeven, verricht met gesteriliseerde en niet gesteriliseerde suikerbieten, hadden aanvankelijk slechts bij 3 temperaturen

<sup>1)</sup> Beiträge z. chem. Physiologie **3**, 1903, S. 460.

plaats, n.l. bij 1—3° C., 18—20° C. en 30—32° C. Voor de proeven bij deze drie temperaturen werd steeds dezelfde biet genomen. Eerst werd de biet bij 18—20° C. gebracht, waarna zij afgekoeld werd op 1—3° C., ten slotte werd verwarmd op 30—32° C., terwijl bij alle temperaturen de ademhalingsnelheid bepaald werd. Het overleiden der lucht werd bij elke temperatuur gedurende 8 à 10 uren voortgezet en na afloop van elk uur werd de hoeveelheid afgegeven CO<sub>2</sub> bepaald. Het gemiddelde van deze getallen, omgerekend voor 1 K.G. biet, werd aangenomen als maatstaf voor de ademhalingsnelheid.

Uit deze waarnemingen volgde, dat de temperatuurscoëfficiënt voor 10° bijna 2 bedroeg.

Vervolgens werd door deze 3 onderzoekers nagegaan de kooldioxydafscheiding bij uiterste temperaturen. Bij —2° C. bleek gedurende 2 uur 2 mgr. CO<sub>2</sub> afgescheiden te zijn, bij 4° begon de biet te bevriezen, bij onderzoek bleek, dat bij die temperatuur de CO<sub>2</sub>-afscheiding niet noemenswaard was.

Gedurende de proeven bij temperaturen boven de 30° C. werd in den proefcylinder steeds waterdamp toegevoerd om te voorkomen, dat de biet uitdroogde. Voor alle deze proeven werd dezelfde suikerbiet gebruikt. De snelheid werd bepaald om den graad, vanaf 30° tot 65°, de proeven duurden dan ook 7 dagen.

Van 30° tot 48° nam de ademhalingsnelheid steeds toe, de temperatuurscoëfficiënt echter over dit temperatuursinterval abnormaal sterk af, zooals uit de volgende cijfers, die door mij uit de waarnemingen der genoemde onderzoekers zijn berekend, te zien is:

$$V_{46} / V_{30} = 4; \quad V_{42} / V_{32} = 2.6; \quad V_{45} / V_{35} = 2; \quad V_{47} / V_{37} = 1.7.$$

Boven 48° nam de snelheid regelmatig af, bij 65° bedroeg de koolzuurafgave echter nog  $\frac{3}{4}$  deel van die bij 30°. Waar de afsterving begon, werd slechts beoordeeld naar het uiterlijk van de biet, n.l. aan het bruin worden daarvan. Dit begon bij 50° C., dus nadat de optimale temperatuur was bereikt.

Vermelden we nu nog de onderzoeken van POURIEVITCH <sup>1)</sup>, welke voornamelijk betrekking hadden op den temperatuursinvloed op het respiratie-quotient:  $\text{CO}_2/\text{O}_2$ , dan zijn hiermede wel de voornaamste onderzoeken genoemd over den temperatuursinvloed op de ademhaling van planten, voor zoover dergelijke onderzoeken verricht zijn vóór het opstellen van de theorie van BLACKMAN.

Daarna, in 1906, maar zonder met die theorie rekening te houden, constateerde SMITH <sup>2)</sup>, dat de ademhaling van *Hydrilla verticillata* steeds toeneemt bij stijging der temperatuur van  $7^\circ - 50^\circ$  C. en wel volgens den regel van VAN 'T HOFF, met den temperatuurscoëfficiënt 2,2. Omtrent de methode van onderzoek vermeldt SMITH alleen, dat de ademhalingsintensiteit voor iedere temperatuur bepaald werd binnen twee uur na het begin der proef.

Na dien werden, met inachtneming der theorie van BLACKMAN, door KUYPER (l. c.) proeven verricht over den temperatuursinvloed op de ademhaling van hoogere planten.

Deze proeven waren geheel ingericht zooals die over de assimilatie door Miss MATTHAEI. Ook door KUYPER werd de hoeveelheid  $\text{CO}_2$  gemeten, *gedurende* het  $1^\circ$ ,  $2^\circ$ ,  $3^\circ$ ,  $4^\circ$ ,  $5^\circ$  en  $6^\circ$  uur na een voorwarming van  $1\frac{1}{2}$  uur, bij een constante temperatuur afgegeven, waardoor de uitkomsten geheel vergelijkbaar waren met die der genoemde assimilatieproeven.

Bij de proeven bij constante temperatuur beneden  $10^\circ$  bleek de ademhaling constant te zijn; bij hooger temperaturen (tusschen  $20^\circ$  en  $30^\circ$ ) daarentegen was het verloop der ademhaling zeer onregelmatig. Bij nog hooger temperaturen werd in de achtereenvolgende uren een voortdurende afname der  $\text{CO}_2$ -afgave waargenomen en wel verlopend volgens een logarithmische kromme.

Voor den coëfficiënt voor  $10^\circ$  vond KUYPER bij proeven met *Pisum sativum*:

$$V_{10}/V_0 = 2.4, \quad V_{15}/V_5 = 3.1, \quad V_{20}/V_{10} = 2.8.$$

1) Ann. d. sc. nat. 9e série, Bot. 1905.

2) Proc. Cambr. Phil Soc. 14, 1907, p. 296.



Hiervan werd bij verdere berekening steeds genomen 2.8, welke waarde als de meest betrouwbare waarde werd beschouwd, daar zij uit de meeste waarnemingen was berekend.

Met dezen temperatuurscoëfficiënt berekende KUYPER volgens den regel van VAN 'T HOFF de theoretische kromme en ging op geheel dezelfde wijze als BLACKMAN na of dezelfde kromme ook door extrapolatie uit de waarnemingen was te vinden. Dit nu bleek niet geheel ongedwongen mogelijk te zijn, terwijl voor een mathematische behandeling de gegevens niet talrijk en niet precies genoeg waren. Het zelfde geval deed zich ook voor bij de uitkomst met de andere proefobjecten, n.l. bij die met *Lupinus luteus*, *Triticum vulgare* en bloemhoofdjes van *Crepis biennis*. De afwijking der door extrapolatie gevonden kromme van degene, die berekend werd met den regel van VAN 'T HOFF, schrijft KUYPER toe aan niet voldoende nauwkeurigheid der proeven.

In 1911 verscheen wederom een verder onderzoek van denzelfden onderzoeker<sup>1)</sup> over de ademhaling van hogere planten, maar nu verricht met kiemplantjes van tropische planten, welk onderzoek in den Plantentuin te *Buitenzorg* werd verricht.

KUYPER ging hierbij weer op geheel dezelfde wijze te werk als bij zijne proefnemingen in 1909, met dit verschil, dat de nieuwe proeven slechts gedurende 4 achtereenvolgende uren werden voortgezet. Het bleek hem echter, dat de temperatuur, waarbij hij gedurende de achtereenvolgende uren stijging der CO<sub>2</sub>-productie waarnam, zoowel als die, waarbij deze productie schommelde, als die, waarbij ze begon af te nemen, (d. z. de door KUYPER als „kritische temperaturen” betitelde) voor *Arachis* ongeveer 5 à 10° hooger lag dan voor *Lupinus* en *Pisum*. Hieruit besluit KUYPER, dat de planten in een soort evenwicht zijn met de uiterlijke omstandigheden, immers de gemiddelde temperatuur op *Java* is ongeveer 10° C. hooger dan die van de gematigde groeizône.

---

<sup>1)</sup> Ann. d. Jard. de Buitenz., 1911, p. 45.

Bij vergelijking der uitkomsten met de theorie van BLACKMAN komt KUYPER wederom tot de conclusie, dat ook hier die theorie van toepassing is.

### § 3. *De inversie van rietsuiker.*

In 't geen hier volgt, zal men van dit proces behalve de temperatuursinvloed op de snelheid ook die van de concentratie daarop vinden besproken, waarvan de rechtvaardiging te vinden is in de omstandigheid, dat wij bij onze berekeningen dit verband noodig hadden.

Zeer fraaie onderzoekingen hieromtrent werden verricht door O'SULLIVAN en THOMPSON <sup>1)</sup>.

Zij vergeleken de resultaten hunner proefnemingen met de regels, welke HARCOURT <sup>2)</sup> opstelde voor den invloed van uitwendige factoren op chemische processen, waarvan hier speciaal met die voor den temperatuursinvloed is rekening te houden (men zie blz. 9).

In de eerste plaats werd nu door O'SULLIVAN en THOMPSON aangetoond, dat de inversie verloopt volgens de vergelijking voor een monomoleculaire reactie.

Bij hunne onderzoekingen, waarbij de gevormde invertsuiker polarimetrisch werd bepaald, vonden zij, dat de oplossingen onmiddellijk na de inversie sterke multirotatie vertoonden, waardoor de waarnemingen aanmerkelijk zouden beïnvloed worden, als deze factor niet in aanmerking werd genomen. Alvorens dus de draaiing van het polarisatievlak te meten, voegden zij daarom eene kleine hoeveelheid eener geconcentreerde potasch-oplossing toe aan de vloeistof, waardoor onmiddellijk de multirotatie werd opgeheven.

Zij vonden op deze wijze werkende, voor de constante  $k$  in de formule:  $\frac{dx}{dt} = k(A-x)$ , toegepast op de waarnemingen bij constante temperatuur, gedurende langen tijd

<sup>1)</sup> J. Chem. Soc. **57**, 1890, p. 834.

<sup>2)</sup> J. Chem. Soc. **20**, 1867. p. 460.

en voor zeer verschillende suikerconcentraties inderdaad zeer constante waarden.

Verder werd door O'SULLIVAN en THOMPSON waargenomen, dat de inversiesnelheid evenredig is met de enzymconcentratie.

Omtrent den temperatuursinvloed op de inversiesnelheid zijn de onderzoekingen van O'SULLIVAN en THOMPSON zeer uitgebreid. De proeven werden gedaan tusschen  $0.0^{\circ}$  en  $60.0^{\circ}$  C. Elke proef duurde betrekkelijk lang; zoo werd bij de hoogst toegepaste temperaturen ( $55^{\circ}$ ,  $60^{\circ}$ ) de inversie nog gedurende ruim 8 uur voortgezet.

O'SULLIVAN en THOMPSON vonden hierbij, dat de overeenkomst met de wet van HARCOURT (temperatuurscoëfficiënt voor  $10^{\circ} = 2$ ) bij lager temperaturen wel goed was, maar dat zij bij hooger temperaturen niet meer zoo fraai was, want volgens de wet van HARCOURT had de snelheid bij  $55.95$  16 maal zoo groot moeten zijn als bij  $15.95$  in plaats van slechts 7.5 maal, zooals uit de proefnemingen werd gevonden.

Er moet nog op gewezen worden, dat O'SULLIVAN en THOMPSON de omstandigheid ontdekten, dat hunne invertine in tegenwoordigheid van een overmaat van rietsuiker veel beter bestand was tegen verwarming dan bij afwezigheid dier suiker. Bij aanwezigheid van rietsuiker was volgens hen nog geen sprake van afsterving bij temperaturen, die bij afwezigheid daarvan, reeds geheele afsterving met zich brengen (n.l.  $55^{\circ}$  en  $60^{\circ}$  C.).

Belangrijk zijn ook de uitvoerige onderzoekingen in 1892 door TAMMANN <sup>1)</sup> gedaan over de invertinewerking. Bestudeerd werden o. a. de invloed van de rietsuikerconcentratie en van de temperatuur op de snelheid van het proces.

TAMMANN zag, dat in gelijke tijden in verdunde rietsuikeroplossingen percentsgewijs minder wordt gesplitst dan in geconcentreerde. Bij de proeven over den temperatuursinvloed, die TAMMANN liet verrichten door VON SZABLOWSKI, werd als maatstaf der aanvangssnelheid beschouwd de afname van den draaiingshoek

---

1) Z. f. physiol. Ch. 16, 1892, S. 270.

in 20 minuten na den aanvang der inversie. Tot 50° C. nam de aanvangssnelheid toe met de temperatuur, hier bereikte ze een optimum en nam boven die temperatuur snel af.

Deze afname met stijgende temperatuur verklaarde TAMMANN, door aan te nemen, dat de snelheid der inversie der rietsuiker op zich zelf niet vertraagd zou worden door de toenemende temperatuur, terwijl daarentegen de invertine bij stijgende temperatuur met toenemende snelheid vernietigd wordt (zie Hoofdstuk II, § 2).

Door DUCLATX <sup>1)</sup> werden proeven gedaan over de afhankelijkheid der snelheid van hetzelfde proces van de rietsuikerconcentratie. In tegenstelling met O'SULLIVAN en THOMPSON vond deze onderzoeker, dat de inversiesnelheid onafhankelijk was van de rietsuikerconcentratie. Tot dit resultaat kwam ook BROWN <sup>2)</sup>, althans voor hooge rietsuikerconcentraties, voor de geringe vond hij evenredigheid met die concentratie.

De orde van de invertinereactie, die, zooals wij zagen, volgens O'SULLIVAN en THOMPSON van den eersten graad zou zijn, werd nogmaals door HENRI <sup>3)</sup> nagegaan. HENRI kwam daarbij echter in 't geheel niet tot de conclusie, dat de inversie door invertase een monomoleculaire reactie zou zijn. Integendeel werd door hem een formule opgesteld, die sterk afweek van die voor monomoleculaire reacties. Tot dezelfde formule kwam ook BODENSTEIN op grond van dezelfde proeven. Naderhand bleek echter, dat door HENRI bij de bepaling der invertsuiker door middel van polarisatie, geen rekening was gehouden met de multirotatie; wij zagen, dat deze door O'SULLIVAN en THOMPSON wel was voorkomen. Hier staat tegenover, dat BARENDRECHT <sup>4)</sup> uit andere proeven, waarbij de invertsuiker langs anderen weg werd bepaald, toch weder tot een zelfde formule kwam, waarvoor hij ook een theoretische afleiding gaf.

<sup>1)</sup> *Traité de microbiologie*, T. 2, p. 137. Paris 1898.

<sup>2)</sup> *J. Chem. Soc.* **81**, 1902, p. 373.

<sup>3)</sup> *C. R.* **135**, 1902, p. 916. Verder: *Lois générales de l'action des diastases*, Thèse, Paris, 1903, p. 77.

<sup>4)</sup> *Z. f. physik. Ch.* **49**, 1904, S. 456.

In 1905 verscheen een publicatie van HENRI <sup>1)</sup> omtrent het wezen der enzymreacties. HENRI wees er op, dat waar men bij enzymreacties te doen heeft met colloïdale oplossingen, het wel te verwachten is, dat voor enzymreacties analoge regels gelden als voor chemische in colloïdale oplossingen. Inderdaad vond ook HENRI, dat er een zeer groote overeenkomst bestaat tusschen de adsorptiekromme en de kromme, welke het verband weergeeft tusschen de inversiesnelheid en de rietsuikerconcentratie bij inversie onder den invloed van invertine.

De resultaten der onderzoekingen van O'SULLIVAN en THOMPSON werden in 1908 bevestigd door de proefnemingen van HUDSON <sup>2)</sup>, die tevens wees op bovengenoemde fout, welke HENRI bij zijne proefnemingen in 1902 maakte. Ook HUDSON vond, dat de inversie zich gedraagt als een monomoleculaire reactie en dat dus de inversiesnelheid evenredig is met de invertineconcentratie.

Tot deze zelfde resultaten kwam verder ook TAYLOR <sup>3)</sup> in 1909.

In 1910 verscheen een serie onderzoekingen van EULER en BETH AF UGGLAS <sup>4)</sup> omtrent den temperatuursinvloed op de enzymatische inversie van rietsuiker.

Deze onderzoekers stellen zich op volkomen hetzelfde standpunt als TAMMANN dit deed, zij onderstellen n.l., dat de teruggang der reactiesnelheid van de inversie, die zij als een monomoleculair proces opvatten, zou veroorzaakt worden door de vernietiging van het enzym, welke vernietiging ook volgens de vergelijking van een monomoleculair chemische reactie werd ondersteld plaats te vinden. Zij hebben van dit laatste proces de reactieconstante — inactiveringsconstante genoemd — bepaald door bij een onschadelijke temperatuur de inversiesnelheid vast te stellen vóór en na verhitting op een schadelijke. De waarden daarvoor bij verschillende schadelijke temperaturen verkregen, beantwoordden slecht aan de temperatuursformule van ARRHENIUS.

<sup>1)</sup> Z. f. physik. Ch. 51, 1905, S. 19.

<sup>2)</sup> J. Amer. Chem. Soc. 30, 1908, p. 1160 en 1564.

<sup>3)</sup> J. of biol. Chem. 5, 1909, p. 405.

<sup>4)</sup> Z. f. physiol. Ch. 55, 1910, S. 124.

Het scheen hun veeleer, dat de temperatuurscoëfficiënt voor de inactiveringsconstante tot een bepaalde temperatuur toeneemt en daarbij een maximum bereikt.

De proefnemingen omtrent den temperatuurinvloed op de reactiesnelheid zelve werden slechts bij 2 temperaturen verricht, n.l. bij 0° en 20°, en zij vonden nu, dat de temperatuurcoëfficiënt (bedoeld wordt hier de constante uit de formule van *ARRHENIUS*) voor enzymatische splitsing van rietsuiker kleiner is dan voor de splitsing door zuren. Trouwens vindt men in 't algemeen, zoo merken *EULER* en *Frl. AF UGGLAS* op, voor enzymatische reacties kleinere temperatuurscoëfficiënten opgegeven dan dezelfde reacties door zuren veroorzaakt, vertoonen.

Dit trachtten zij voor de invertine te verklaren en wel op twee verschillende wijzen. In de eerste plaats zou men volgens *EULER* en *Frl. AF UGGLAS* kunnen aannemen, dat in de grootheid *A* van de formule van *ARRHENIUS* tevens moet worden begrepen de warmte, die vrijkomt bij de binding rietsuikerzoutzuur, respectievelijk rietsuikerinvertine. Bij de laatste binding zou die warmte kleiner zijn dan bij de eerste.

Ook is echter volgens hen mogelijk, dat die geringere snelheidstoename per graad bij de enzymatische inversie, daardoor wordt veroorzaakt, dat de invertine bij stijgende temperatuur niet slechts *onomkeerbaar* wordt vernietigd, doch ook *omkeerbaar* wordt geïnactiveerd. Bij afkoeling na verhitting boven schadelijke temperatuur zou men dan dus alleen waarnemen de snelheidsafname door een onomkeerbare inactivering veroorzaakt.

Ten slotte vermelden we hier de onderzoekingen van *EULER* en *KULLBERG* <sup>1)</sup>, door welker resultaten in de eerste plaats de waarnemingen van *EULER* en *Frl. AF UGGLAS* werden bevestigd. Verder werd bestudeerd de bescherming tegen hooge temperaturen voor invertine door verschillende suikers, o. a. ook door rietsuiker. Deze bleek inderdaad te bestaan, doch zij namen die beschermende werking lang niet in die mate waar als *O'SULLIVAN* en *THOMPSON*.

<sup>1)</sup> Z. f. physiol. Ch. 71, 1911, S. 134.

## HOOFDSTUK IV.

### Kritiek op vroegere en leidende beginselen bij eigen onderzoekingen.

---

#### § 1. *Kritiek op vroegere onderzoekingen.*

Hoewel uit de beschouwingen van TAMMANN de groote beteekenis van den tijdsfactor voor de studie van enzymprocessen bij schadelijke temperaturen volgde, werd toch bij de onderzoekingen omtrent den temperatuursinvloed op physiologische processen, welke verricht zijn vóór 1905, dus vóórdat BLACKMAN voor den dag kwam met zijne meergenoemde theorie, deze invloed niet in acht genomen. Waar dus onderzoekingen gedaan werden bij hoogere temperatuur, waarvan het twijfelachtig was of zij nog volkomen onschadelijk waren, daar zijn dus, volgens de tegenwoordige opvattingen, de waarnemingen niet bruikbaar voor het trekken van conclusies omtrent het verband tusschen snelheid en temperatuur voor het onbeschadigde proces.

Wel trachtten verschillende onderzoekers, o. a. CLAUSEN, op een of andere wijze na te gaan, of de proefobjecten, meestal kiemplantjes, na verwarming op een bepaalde hooge temperatuur al of niet beschadigd waren. Dit werd gedaan door de kiemplantjes in vochtig zaagsel te leggen en wanneer dan groei of geotropische verschijnselen optraden, werden de plantjes voor levend verklaard. Daar het al of niet optreden dezer teekenen van leven vaak eerst waarneembaar was, nadat de planten gedurende geruimen tijd (bijv. 24 uur) op gewone temperatuur waren geweest, zoo is het optreden van een dier functies,

niet een volkomen juiste maatstaf voor den toestand van het voorwerp gedurende de proef zelve, daar het zeer goed mogelijk is, dat bij die gewone temperatuur regeneratie der plant heeft plaats gehad.

Door anderen, o.a. door STOKLASA en zijne medewerkers (zie blz. 80) werd de toestand van het proefobject slechts beoordeeld naar den uiterlijken toestand, hetgeen evenmin een juiste maatstaf is.

Bij de oudere onderzoekingen komt daar nog bij, dat de uitvoering der proefnemingen vaak zeer veel te wenschen overliet door de gebrekkigheid der hulpmiddelen. Vooral het constant houden der temperatuur bleek vaak een struikelblok te zijn; ook de veelgenoemde onderzoekingen van KREUSLER gaan sterk aan dit euvel mank. Dit bezwaar zal de resultaten des te meer beïnvloeden, naarmate de duur der proeven langer is, en deze was over 't algemeen bij die oude onderzoekingen zeer lang, meestal eenige uren.

Ook de keuze van het proefobject was bij die onderzoekingen vaak niet zeer gelukkig. Het gebruik door KREUSLER van een enkele *Rubus*-tak voor een geheele serie temperaturen en proeven, die meestal eenige dagen duurden, is niet doelmatig. Evenmin is dit het geval bij het gebruik van paddestoelen door BONNIER en MANGIN.

Geen wonder dan ook, dat de resultaten der proefnemingen elkander vaak tegenspraken. Zoo vonden o.a. BONNIER en MANGIN en ook KREUSLER (zie Hoofdst. III) *geen* temperatuur-optimum voor de ademhaling, terwijl CLAUSEN en ZIEGENBEIN wel een temperatuur-optimum vonden bij ongeveer 40° C.

De publicatie van BLACKMAN in 1905 bracht echter eene geheele ommekeer te weeg in de wijze van bestudeeren der functies in verband met de temperatuur. Niettemin zijn er door eenige onderzoekers bezwaren aangevoerd tegen de gronden, waarop BLACKMAN zijne theorie baseerde.

Zoo nam BLACKMAN voor de temperatuurscoëfficiënt het getal, dat hij vond uit de waarnemingen voor 9° en 22° nl. 2.1. Nu



is door KANITZ <sup>1)</sup> uit de cijfers van BLACKMAN berekend, dat met dezen coëfficiënt voor hogere nog onschadelijke temperaturen in 't geheel geen met de waarnemingen overeenstemmende waarden werden verkregen.

Eveneens wees reeds Jost <sup>2)</sup> er op, dat de waarde van  $Q_{10}$  nog voor onschadelijke temperaturen sterk afneemt met die temperatuur, welk verschijnsel Jost niet met de hypothese van BLACKMAN verklaarbaar acht: „est is entweder eine rein chemische *primäre* Erscheinung oder est is durch unbekante Einflüsse *sekundär* entstanden”. Uit deze sterke afname van  $Q_{10}$  zou volgen, dat de ademhalingskromme sterk afwijkt van die, welke men volgens de formule van VAN 'T HOFF zou verkrijgen met een temperatuurscoëfficiënt van 2.1. Al verdwijnt dus uit de theoretische kromme het optimum, er zou dus toch nog, volgens Jost, een afwijking van den regel van VAN 'T HOFF blijven bestaan.

BLACKMAN toetste bovendien zijne theorie aan de uitkomsten van proefnemingen, die voor dit doel niet voldoende nauwkeurig waren. De cijfers, welke Miss MATTHAEI verkreeg, waren er namelijk niet zeer vele, verder waren de tijden der verwarming zeer lang, terwijl ook het proefmateriaal niet tot het voor dat doel meest geschikte behoorde.

Bij de proeven van LAWRENCE BALLS in 1908 aan den groei van schimmelhyphen was de tijdfactor geheel verkeerd in rekening gebracht, zoodat ook de verkregen cijfers niet juist zijn. BALLS ging nl. als volgt te werk: In een bepaalden tijd werd een schimmelcultuur langzamerhand gebracht van een lage op een hooge temperatuur en telkens de lengte van een zelfde hyphe gemeten. Men heeft hier dus niet te doen met groeiselheden bij verschillende constante temperaturen, welke met elkaar vergeleken worden.

De proefnemingen van KUYPER en RUTGERS berustten, zooals wij reeds zeiden, geheel op hetzelfde beginsel als die van

1) Biol. Centralbl. 26, 1906, S. 225.

2) Biol. Centralbl. 27, 1907, S. 11.

Miss MATTHAËL, het doel was weder de snelheid te meten bij schadelijke temperaturen, na bepaalde verschillende tijden van voorwarming op die temperaturen.

De proefnemingen duurden ook hier, zooals nog nader zal worden toegelicht, veel te lang, zij werden doorgaans voortgezet over eenige uren, (bij KUYPER 6 uur, bij RUTGERS nog langer) terwijl bij de proeven van KUYPER de begin-voorwarmingstijd reeds  $1\frac{1}{2}$  uur bedroeg (bij die van Miss MATTHAËL was dezelfde tijd genomen).

De bezwaren tegen zulk een langen duur der proeven als door de genoemde onderzoekers werd toegepast, zijn nu de volgende:

a. Gedurende dien langen tijd, dat de voorwerpen aan de verwarming bloot staan, kunnen factoren een rol gaan spelen, die eveneens de snelheid beïnvloeden.

Zoo kunnen adaptie- en groeiverschijnselen optreden, waardoor men niet meer het juiste verband tusschen den schadelijken invloed en den tijd zal vinden. Werkelijk is ook door KUYPER bij  $25^{\circ}$  en  $30^{\circ}$  gedurende de proefnemingen een zeer sterke groei waargenomen, die zelfs zoo sterk was, dat hij na 6 uur gemakkelijk met het bloote oog was te constateeren.

b. Het voornaamste bezwaar tegen dien langen duur der proefnemingen is echter gelegen in het feit, dat daardoor het verband tusschen den schadelijken invloed en den duur der verwarming moeilijk is te bepalen. Bij grafische voorstelling der formule van TAMMANN, die zeker bij benadering een inzicht in de afsterving geeft, door op den X-as de verwarmingstijden af te zetten en op de Y-as de hoeveelheden levend gebleven proefmateriaal, verkrijgt men een logarithmische kromme. Daar nu het doel van KUYPER en RUTGERS was de snelheid voor een voorwarmingstijd 0 te vinden door middel van grafische extrapolatie, daar was het dus zaak geweest zooveel mogelijk in het begin dier kromme te blijven. Voor korte voorwarmings-tijden loopt n.l. de kromme zeer steil en dicht langs den Y-as, zoodat een kleine afwijking in de lijn een groote in de uitkomst

der extrapolatie geeft. Hoe korter dus de bij de proeven genomen voorwarmingstijden zijn, hoe korter ook het gedeelte der kromme zal zijn, dat willekeurig getrokken moet worden en hoe nauwkeuriger dus de waarde voor een voorwarmingstijd 0 is te vinden.

Bij de inrichting der proefnemingen van de genoemde onderzoekers waren deze lange tijden echter niet te voorkomen, het duurde n.l. betrekkelijk lang eer de voorwerpen op de gewenschte temperatuur waren. KUYPER vond bovendien, dat, ook wanneer die temperatuur eenmaal bereikt was, de ademhalingsintensiteit bij zijne proeven niet dadelijk op de hoogte was, die op den duur met die temperatuur (mits onschadelijk) overeenkomt.

Wat betreft de proefobjecten (bladen bij Miss MATTHAEI, kiemplantjes bij KUYPER en RUTGERS) zij nog het volgende opgemerkt: zoowel kiemplantjes als bladen bestaan uit weefsels van zeer verschillende soorten cellen, en het is bekend, dat de gevoeligheid voor hoge temperaturen daarvoor zeer uiteenlopend is. Bij het gebruik van dergelijke proefobjecten wordt dus geen zeer juiste maatstaf voor den totalen schadelijken temperatuursinvloed verkregen.

KUYPER<sup>1)</sup> vond, zooals wij reeds in 't vorige Hoofdstuk opmerkten, dat door extrapolatie uit zijne waarnemingen geen theoretische kromme was te construeeren, die geheel overeenkwam met de door BLACKMAN in 1905 verkregene, hij meent echter, dat dit onderscheid aanmerkelijk kleiner zal gemaakt kunnen worden door een betere kennis van het ademhalingsproces, bijv. „het kunnen splitsen van dit proces in verschillende deelen, die naast elkander verlopen”.

Nu is tegen deze splitsing in het geheel geen bezwaar, integendeel, zal dit inderdaad wel de weg zijn ter nadere bestudeering van het proces der ademhaling. KUYPER, van zijn standpunt, dat physiologische processen uitsluitend chemische zijn, die in 't organisme verlopen, moet dan echter aannemen, dat die

---

<sup>1)</sup> l. c, bl. 46.

verschillende deelen van het proces alle chemische reacties zullen zijn. Voor elk der processen zou dan echter de formule van VAN 'T HOFF, resp. de formule van ARRHENIUS moeten gelden, en dus ook voor het resulterende proces, tenzij omstandigheden in het spel zijn, zooals bijv. op blz. 14 zijn genoemd. Over de mogelijkheid van zulke omstandigheden laat KUYPER zich echter niet uit.

Gaan we nu over tot de bespreking der door RUTGERS uitgevoerde proefnemingen over den temperatuursinvloed op den praesentatietijd bij geotropie voor kiemplantjes van *Avena sativa*. Bij dit onderzoek werd de snelheid niet direkt gemeten, doch als maatstaf voor deze grootheid werd genomen de z.g. praesentatietijd, d.i. de tijd gedurende welke de kiemplantjes door de zwaartekracht geprikkeld moeten worden om, nadat ze weer recht gezet zijn, een na eenigen tijd met het bloote oog merkbare kromming te vertoonen.

Een afname van den praesentatietijd beduidt dus een toename van de gemiddelde snelheid van het proces en omgekeerd.

't Is nu zeer goed mogelijk, dat men bij deze wijze van waarnemen en berekenen, niet meet een beginsnelheid maar een gemiddelde snelheid van een bijna volledig verloopend proces. Immers het zou mogelijk kunnen zijn, dat tijdens de prikkeling een proces plaats vond, waarbij het grootste gedeelte van een in minimale hoeveelheid aanwezige stof wordt verbruikt, zij 't dan ook voor verschillende temperaturen in een verschillenden tijd.

RUTGERS vond voor de temperaturen 0°, 5°, 10°, 20° en 25° C. den praesentatietijd onafhankelijk van den tijd van verwarming. Bij 30° C. daarentegen nam de praesentatietijd *af* met toename van den voorwarmingstijd: na 12 uur was hij tot een minimum gedaald, welke waarde ook na 24 uur was constant gebleven. Deze afname schrijft RUTGERS toe aan een gunstigen invloed der voortgezette verwarming.

Boven 30° C. nam die tijd *toe* met den voorwarmingstijd, volgens RUTGERS ten gevolge van een schadelijken invloed, die bij deze temperaturen den gunstigen invloed te niet zou doen.

Trouwens, reeds bij  $30^{\circ}$  C. neemt RUTGERS een schadelijken invloed aan, hier zou echter de begunstiging groter zijn dan de beschadiging. De beschadiging bij  $30^{\circ}$  is echter door RUTGERS niet proefondervindelijk aangetoond, hij leidde ze af uit het feit, dat de theoretische waarde voor een voorwarmingstijd 0 lager is dan de bij die temperatuur gevonden waarde na 1 uur voorwarmen.

In deze veronderstelde gunstige werking zoekt RUTGERS de verklaring voor de door hem gevonden, in het vorige Hoofdstuk vermelde afwijkingen van de theorie van BLACKMAN, n.l., dat de waarden der theoretische praesentatietijden bleven boven die, welke volgens dien regel zouden te verwachten zijn.

Volgens RUTGERS zou nu, de bij een bepaalde temperatuur behorende reactiesnelheid niet onmiddellijk worden aangenomen, maar eerst na verloop van zekeren tijd. Bij BLACKMAN's theorie wordt echter stilzwijgend verondersteld, dat dit wel onmiddellijk 't geval is.

Is nu de onderstelling van RUTGERS juist, dan zou door extrapolatie de waarde van den presentatietijd na een voorwarmingstijd 0 volgens den regel van VAN 'T HOFF niet gevonden kunnen worden. Eerst wanneer men de waarden der praesentatietijden beschouwt, die optreden na afloop van de gunstige werking, zou men door extrapolatie een dergelijke kromme verkrijgen.

Een steun voor deze begunstigingstheorie vindt RUTGERS bij KUYPER in diens zinsnede: „M.i. hebben we hier te doen met twee over elkaar grijpende processen, die te zamen de oorzaken zijn van de  $\text{CO}_2$ -afscheiding bij de normale ademhaling. Het eene wordt door hooge temperatuur benadeeld en wel bijna direct zeer sterk, het andere daarentegen neemt tamelijk geleidelijk toe tijdens het verblijf onder de hooge temperatuur”. In een hieraan voorafgaande alinea echter had KUYPER vermeld, dat bij  $25^{\circ}$  en  $30^{\circ}$  de groei zeer sterk was, waarmee gewoonlijk

---

2) KUYPER, l. c. 1909, blz. 71.

gepaard gaat een verhoogde ademhalingsintensiteit. De door KUYPER bedoelde gunstige invloed is m. i. dus slechts een indirecte invloed, in 't leven geroepen door een toename van het ademhalende materiaal, welke bij een nauwkeurige behandeling der resultaten eigenlijk in aanmerking had moeten genomen worden. RUTGERS daarentegen, bedoelt een gunstigen invloed van de voortgezette verwarming op het physiologische proces.

Daarenboven wordt hiermede feitelijk door RUTGERS toegegeven, dat de theorie van BLACKMAN niet ongewijzigd voor de verklaring van zijne uitkomsten kan gebruikt worden.

Wat betreft de bezwaren van RUTGERS tegen onze voorloopige mededeeling <sup>1)</sup>, deze zullen nader besproken worden in Hoofdstuk X § 2.

Voor de onderzoekingen van KUYPER in 1911, verricht met kiemplanten van tropische gewassen, geldt dezelfde kritiek als boven reeds op de vroegere proefnemingen van dezen onderzoeker is gegeven. Bij deze nieuwe proeven spreekt KUYPER van een bevestiging zijner in 1909 opgestelde hypothese, dat bij den temperatuursinvloed een beschadigende en begunstigende werking optreden. Ook hier bedoelt KUYPER waarschijnlijk met dien begunstigenden invloed, die, welke teweeg wordt gebracht door sterken groei.

## § 2. *Leidende beginselen bij eigen onderzoekingen.*

Bij mijne proefnemingen heb ik mij in zooverre aangesloten bij die van BLACKMAN, KUYPER en RUTGERS, dat ook door mij optimumkrommen voor verschillende tijden van voorwarming werden bepaald, waaruit dan getracht werd de kromme te vinden, die zonder afsterving zou worden waargenomen. Speciaal werd nu echter daarop acht gegeven, dat de krommen werkelijk de betrekking der „begin“-snelheid met de temperatuur weergaven, immers alleen daarop heeft de theorie van BLACKMAN

---

<sup>1)</sup> G. v. IERSON en J. VAN AMSTEL. Verslagen der Koninkl. Akad. v. Wetensch. Amsterdam, 9 Juni 1910.

(dit geldt ook voor de formules van VAN 'T HOFF en ARRHENIUS) betrekking.

In verband met het voorafgaande moest nu verder zoowel gelet worden op den aard van het proefobject als op de inrichting der proefnemingen en den aard der te bestudeeren functies, terwijl ten slotte in het bijzonder de aandacht gewijd moest worden aan de wijze, waarop de theoretische kromme werd benaderd.

Als bijzonder geschikt materiaal voor de proefnemingen deed zich de alcoholgist voor, met hare talrijke gemakkelijk te bestudeeren functies, hetgeen hier nader zal gemotiveerd worden.

De gist, zooals die door de fabriek wordt afgeleverd, is een zeer homogeen materiaal, waarmede hier bedoeld wordt, dat zij bestaat uit gelijksoortige cellen, wier gedrag tegenover uitwendige factoren slechts een fluctueerende variatie zal vertoonen en geen plotselinge sprongen. Bovendien bleek de gist, die ons iederen morgen verstrekt werd, zeer constant van samenstelling te zijn en dus was de activiteit der functies weinig veranderlijk <sup>1)</sup>. Verder zijn deze cellen reeds in een kleine gewichtshoeveelheid der gist in een zeer groot aantal aanwezig, zoodat wij inderdaad een goed „gemiddelde” waarnemen.

Een zeer belangrijk voordeel, dat de gist biedt, is verder de kleinheid der individuen, hetgeen tengevolge heeft, dat deze in den kortst mogelijken tijd tot in het inwendige de temperatuur van de omgeving kunnen aannemen. Maar bovendien kan dit organisme vele zijner functies verrichten gesuspenseerd in een geschikte vloeistof of liggend op een vochtigen voedingsbodem, een omstandigheid, die het mogelijk maakt het proefobject zonder merkbare warmteonttrekking aan het omringende medium op een bepaalde temperatuur te brengen. Uit onze proefnemingen met kiemplantjes in een zuurstofatmosfeer zal blijken, hoe belangrijk de zoeven genoemde omstandigheid is voor het welslagen der proeven.

---

<sup>1)</sup> Intusschen werd steeds zooveel mogelijk zorg gedragen vergelijkende proeven met een zelfde gistlevering in een zoo kort mogelijk tijdsbestek uit te voeren.

Onder de functies der alcoholgist zijn er nu, die met zulk een intensiteit verlopen, dat het mogelijk is de snelheid in zeer korten tijd te meten. Dit brengt de volgende voordeelen mede:

In de eerste plaats, dat men een beginsnelheid kan meten en omdat gedurende de meting der snelheid geen der andere factoren die de snelheid beïnvloedt, noemenswaard verandert.

In de tweede plaats, dat uit de proefnemingen bij de schadelijke temperaturen geen onjuiste conclusies worden getrokken. Met de meting der snelheid werd nl. begonnen, wanneer een bepaalde voorwarmingstijd voorbij was, zooals ook bij de andere proefnemingen, gebaseerd op de theorie van BLACKMAN, gedaan was. Daar nu de afsterving steeds doorgaat, zou, wanneer de snelheid niet binnen korten tijd gemeten kon worden, de snelheid tijdens die meting aanmerkelijk achteruitgaan.

In de derde plaats, dat het mogelijk wordt, ook de voorwarmingstijden zóó kort te kiezen, dat men uit de gevonden waarden door extrapolatie of becijfering een beginwaarde kan vinden, waaraan men met eenig recht beschouwingen kan vastknoopen.

Aanvankelijk was het doel van het onderzoek bij alle bestudeerde functies uit de diverse optimumkrommen, gevonden voor de verschillende tijden van voorwarming door berekening de kromme te vinden, die zou gelden voor het geval niets was afgestorven. Uit die verschillende krommen moest bij juistheid onzer beschouwingen practisch een zelfde theoretische resulteren. De extrapolatie zou slechts als contróle worden beschouwd.

Voor de bedoelde berekening werd nagegaan, welk gedeelte der functie blijvend was verloren gegaan, gedurende de verschillende voorwarmingstijden op diverse schadelijke temperaturen. Dit gedeelte zal genoemd worden het „afgestorvene”, zoodat onder „afsterving” wordt verstaan een *onomkeerbaar* proces, waardoor een gedeelte der gist *blijvend* de bedoelde functie verliest.

Deze „afsterving” werd op de volgende wijze bepaald: Het



werkzame agens werd gedurende dezelfde voorwarmingstijden als waarvoor de verschillende optimumkrommen werden geconstrueerd, op een bepaalde schadelijke temperatuur verwarmd. Na afloop werd snel afgekoeld en de snelheid der functie van het op deze wijze behandelde agens bij een bepaalde onschadelijke temperatuur gemeten. Hieruit was dan te berekenen, welk deel van het agens zijne functie blijvend had verloren, voor welke berekening noodig was het verband te kennen tusschen de snelheid en de concentratie van dat werkzame agens <sup>1)</sup>. De afsterving werd voor een serie temperaturen bepaald en bij grafische voorstelling daarvan werden de z.g. *afstervingskrommen* (voor bepaalde voorwarmingstijden) verkregen.

Uit deze afstervingskrommen kon nu worden afgelezen door welk gedeelte van het werkzame agens de na verhitting op een bepaalde schadelijke temperatuur gedurende een zekeren tijd, waargenomen snelheid werd veroorzaakt.

Was nu de snelheid evenredig met de concentratie, dan wisten wij ook onmiddellijk de snelheid, die zou zijn afgelezen, wanneer niets was afgestorven en daarmee zou dan een punt van de gezochte kromme zijn bepaald. Inderdaad bleek voor sommige functies, die evenredigheid te bestaan en dan was dus de becijfering der gezochte kromme zeer eenvoudig. Voor andere week dit verband wel van een evenredigheid af en in dat geval werd aangenomen, dat de betrekking tusschen de snelheid en de concentratie van de gist, die wij voor de hoogst onschadelijke temperatuur vonden, ook nog doorging voor de schadelijke temperaturen en dan kon uit dit verband toch weder de bedoelde „snelheid zonder afsterving” worden bepaald.

De hier beschreven wijze van becijfering leverde zoowel voor de „inversie van rietsuiker” als voor de „alcoholgisting” goede resultaten. Wij willen dan ook nog opmerken, dat de daarmee verkregen uitkomsten gewonnen zijn geheel onafhankelijk van

---

<sup>1)</sup> Men zie in verband hiermede het opgemerkte in Hoofdstuk X, § 2.

de aanname, dat in een voorwarmingstijd van 0 minuten niets blijvend was afgestorven, welke aanname bij de beschouwingen van BLACKMAN was vooropgesteld. Toch werd ook deze laatste opvattingwijze aan mijne uitkomsten getoetst, waartoe werd nagegaan of door de punten, welke voor een bepaalde temperatuur voorstelden de experimenteel gevonden snelheden voor de verschillende tijden van voorwarming en dat voor de berekende snelheid voor 0 minuten voorwarming, een vloeiende kromme kon worden getrokken.

Uit onze proeven bleek nu verder, dat voor de twee laatstgenoemde functies de snelheid nagenoeg evenredig was met de concentratie van het werkzame agens (voor de alcoholgisting bij benadering, bij de invertine werking geheel) en dus stellen de aldus gevonden krommen ook voor het verband tusschen de hoeveelheden levend gebleven materiaal en den tijd van voorwarming. Voor dit verband werd, zooals wij zagen, door TAMMANN voor enzym-werkingen de volgende formule opgesteld:

$$K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{y}.$$

Passen wij deze ook op ons geval toe, dan stelt  $a$  voor de snelheid, die het proces zou gehad hebben, als niets was afgestorven en  $y$  de snelheid, welke na een bepaalden voorwarmingstijd werd waargenomen. Deze formule bleek nu bij de alcoholgisting vrij goed van toepassing te zijn op de bedoelde krommen. Minder goed was dit het geval voor de invertinewerking, hoewel ook voor deze functie die krommen dicht kwamen nabij logarithmische krommen, althans voor de hogere temperaturen.

Ook een tweede wijze van extrapoleeren werd beproefd, n.l. die bij constante snelheid. Op de Y-as werden afgezet die temperaturen, waarbij voor verschillende voorwarmingstijden de snelheid een bepaalde waarde heeft. Ook aan deze extrapolatie bleek zeer goed te kunnen worden voldaan.

Voor de ademhaling en de methyleenblauwreductie waren de uitkomsten der proefnemingen niet van dien aard, dat de kromme, welke zonder afsterving zou optreden, op de wijze,

als aangegeven is voor de alcoholgisting en de inversie van rietsuiker, was te berekenen.

Bij de ademhaling lag de oorzaak van het falen der berekening in de groote waarnemingsfouten, welke optraden bij bestudeering der afsterving, waardoor het ook niet mogelijk was met eenige zekerheid de afstervingskrommen te teekenen. Er moest dus naar een andere wijze van berekening worden omgezien. Het meest geschikt was nu een toepassing van de formule van TAMMANN voor de afsterving, omdat deze goed geschikt was voor de alcoholgisting en vrij goed voor de invertinefunctie.

Neemt men nu aan, dat bij de ademhaling de intensiteit van het proces evenredig is met de hoeveelheid levende gist (welke aanname nog nader zal worden gemotiveerd), dan stelt ook hier weer het verband tusschen de verschillende tijden van voorwarming en de daarvoor waargenomen snelheden tevens de betrekking tusschen de hoeveelheid levend gebleven gist en den tijd van voorwarming voor. Voor elke temperatuur waren nu voor verschillende waarden van  $t$  en  $y$  in die formule ook waarden voor  $a$ , d. i. de beginsnelheid voor 0 minuten voorwarmen te berekenen. Van de verschillende waarden, welke men daarbij voor  $a$  verkreeg, werd het gemiddelde genomen als *de* waarde voor de snelheid na een voorwarmingstijd 0. Door deze berekeningen voor eenige temperaturen uit te voeren kon dan de theoretische nulcurve geconstrueerd worden.

Ook voor dit geval werd beproefd of dezelfde nulcurve door extrapolatie zou kunnen worden verkregen, en wel volgens de beide bovengenoemde extrapolatiemethoden.

Bij de reductie van methyleenblauw was de groote onnauwkeurigheid gelegen in de bepaling der optimumcurve, daar men hier, zooals nader zal blijken, een totaal verloopende reactie bestudeert, zoodat hier geen beginsnelheid, doch een gemiddelde snelheid wordt gemeten, welke veel kleiner is dan de beginsnelheid.

De berekening der nulcurve met behulp der afstervings-

krommen gaf daarom resultaten, waaruit niets viel af te leiden. Ook een berekening met behulp van de formule van TAMMANN was om diezelfde reden niet toe te passen.

Voor dit proces bleef dus niets anders over dan de theoretische nullijn te vinden door extrapolatie. Hoewel dit een zeer onnauwkeurige methode is, zoo kon zij hier toch nog met eenige nauwkeurigheid worden verricht, daar de tijden van voorwarming slechts kort waren en dus het gedeelte der kromme, dat geheel vrij getrokken moest worden, eveneens slechts klein was.

Langs verschillende wegen werd dus naar het verloop der theoretische nul-kromme gezocht. Wordt voor deze kromme daarbij telkens dezelfde vorm waargenomen, dan is de waarschijnlijkheid groot, dat die vorm de juiste is.

Eindelijk werd ook nog bepaald het verband tusschen de snelheid en de concentratie van de stof, welke door het werkzame agens wordt verbruikt of gesplitst, hoewel daarvan voor de bepaling der theoretische nullijn geen gebruik behoefde te worden gemaakt. Uit de resultaten dezer proefnemingen zal blijken, dat hieruit belangrijke conclusies waren te trekken, welke konden bijdragen tot de verklaring van verschillende waargenomen verschijnselen.

---

## HOOFDSTUK V.

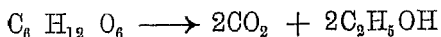
### Alcoholgisting.

---

#### § 1. *Inrichting der proefnemingen.*

Als maat voor de snelheid van de alcoholgisting werd genomen de hoeveelheid koolzuur in c.M<sup>3</sup>, welke zich per seconde ontwikkelt bij de vergisting van een glucose-oplossing door levende persgist.

Zooals bekend is, laat zich deze gisting voorstellen door de formule:



en 't is de snelheid van dit proces, welke bij verschillende uiterlijke omstandigheden (temperatuur, gist- en suikerconcentratie) werd gemeten.

Ten einde echter *uitsluitend* den invloed van een bepaalde uiterlijke omstandigheid na te gaan, moesten de overigen gedurende de proef constant en zoo gunstig mogelijk worden gehouden.

Naarmate de concentratie van de glucose afneemt, zal ook de omzettingssnelheid afnemen, althans wanneer verder alle andere omstandigheden gelijk blijven. Zonder nu voorop te stellen, dat bij de alcoholgisting overeenkomstig bovenstaande formule gelijktijdig niet meer dan 1 molecuul glucose aan de reactie deelneemt, maar in 't midden latende of daarbij meerdere tegelijk worden omgezet, laat zich, aannemende, dat de alcoholgisting een chemisch proces is, het verband tusschen de reactiesnelheid en de concentratie der zich omzettende stof,

volgens de onderzoeken van VAN 'T HOFF, OSTWALD, ARRHENIUS, NERNST e. a. voorstellen door de volgende vergelijking:

$$v = - \frac{dx}{dt} = kc^n.$$

Reeds in tal van gevallen is de toepasselijkheid van deze formule ook voor enzymreacties gebleken <sup>1)</sup>.

In deze formule stelt  $c$  voor de concentratie der zich omzetzende stof in grammoleculen per liter;  $k$  is de z.g. reactieconstante  $n$ , het aantal moleculen, dat gelijktijdig aan de reactie deelneemt. Het blijkt dus dat de reactiesnelheid ieder oogenblik evenredig is met den  $n^{\text{den}}$ -macht der concentratie van de nog niet omgezette hoeveelheid reageerende stof, in het hier bedoelde geval dus die van de nog niet omgezette glucose.

Neemt men nu aan, dat in een zekeren tijd  $t$ ,  $x$  gram glucose wordt omgezet, dan is de reactiesnelheid na afloop van dien tijd geworden:

$$v_t = k(c-x)^n.$$

Wordt echter die tijd  $t$  zóó kort genomen, dat de omgezette hoeveelheid glucose  $x$  zeer klein is ten opzichte van de beginconcentratie  $c$  en dus tegenover die beginconcentratie verwaarloosd kan worden, dan is de reactiesnelheid gedurende dien tijd  $t$  practisch constant, daar de formule dan overgaat in:  $v_t = kc^n$ , d. i. de „beginsnelheid”.

Het is nu zulk eene snelheid, welke wij bij onze proeven trachtten te meten.

Dat werkelijk deze beginsnelheid bij voldoende benadering werd gemeten, en dat dus  $x$  te verwaarloozen was ten opzichte van  $c$ , is, bovenstaande formule als juist aannemende, uit de proef te berekenen. Bij elke proefneming werd n.l. telkens en in 't geheel ongeveer 60 à 75 c.M<sup>3</sup> CO<sub>2</sub> opgevangen, waarvoor verbruikt werd ± 0.25 gr. glucose, zooals uit de formule voor de alcoholgisting is te berekenen. De gistende vloeistof bevatte bij 't begin van

<sup>1)</sup> G. BREDIG: Ergebnisse der Physiologie I, (1902), Abt. 1, S. 148, zie ook H. EULER: Allgem. Chemie der Enzyme 1910, S. 89 en W. M. BAYLIS: Das Wesen der Enzymwirkungen, uit 't Engelsch, 1910, S. 38.

de proef 3 gr. glucose<sup>1)</sup>. Het glucosegehalte varieerde dus gedurende de proef van 3 gram op 2.75 gram, en uit de bovenstaande formule volgt,  $n = 1$  nemende, dat de snelheid ook in deze mate moet afnemen. Daarbij bedenke men, dat dit de uiterste waarden zijn.

Nu zullen wij echter in § 3 zien, dat in de bovenstaande formule  $n$  kleiner dan 1 moet worden aangenomen en men ziet gemakkelijk in, dat dan de afname van de snelheid nog geringer is dan hier werd ondersteld. Dit bleek ook uit het verloop der koolzuurontwikkeling tijdens de proef zelve, want gedurende de waarneming was en bleef de snelheid constant, behoudens de niet te voorkomen waarnemingsfouten. Deze waren echter door oefening zeer te beperken, zoodat de afgelezen tijden, noodig voor de ontwikkeling van de opeenvolgende 10 cm<sup>3</sup> koolzuur, niet meer verschilden dan  $\pm 1$  sec. bij eene waarnemingstijd van minstens 25 seconden.

De afgewogen gist werd aangewreven met een bepaalde hoeveelheid water. In die gevallen, waarin een bepaalde gistconcentratie werd verlangd, werd in aanmerking genomen het water, dat reeds in de gist aanwezig was en dat dus ook meedeed aan de verdunning daarvan. Deze suspensie werd gelijktijdig met een glucose-oplossing van bekende concentratie voorgewarmd. De beide vloeistoffen werden eerst gemengd, wanneer zij de temperatuur van het waterbad, waarin de proeven werden gedaan, hadden aangenomen, hetgeen door de dunwandigheid van 't glaswerk en het goede schudden steeds binnen 3 minuten 't geval was. Het schudden was bovendien tijdens de proefneming zelve noodig om de gist goed gesuspendeerd te houden, want werden de proeven gedaan zonder schudden, zooals aanvankelijk geschiedde, dan bezonk de gist al spoedig en van bruikbare resultaten was geen sprake.

Het gevormde koolzuur werd in een eudiometer boven een verzadigde oplossing van keukenzout opgevangen, daar het

---

<sup>1)</sup> De „Antrieb“ (zie verder) hier niet in rekening brengende.

hierin zeer weinig oplosbaar is. <sup>1)</sup> De temperatuur van het waterbad kon tot op 0.1° C. constant gehouden worden.

Zooals bekend is, begint de koolzuurontwikkeling onmiddellijk nadat de vloeistoffen bij elkaar komen, ze is dan echter niet dadelijk regelmatig. Door waarneming der tijden, welke noodig zijn voor de ontwikkeling van achtereenvolgende volumina koolzuur, ieder van 5 c.M<sup>3</sup>., bleek, dat bij deze wijze van werken reeds na ontwikkeling van 20 à 25 c.M<sup>3</sup>. een zeer constante gasontwikkeling optreedt, althans bij temperaturen, waarbij geen afsterven der functie plaats heeft. De uit die tijden berekende snelheden zijn af te lezen uit onderstaande tabel I.

TABEL I.

Waarnemingen betreffende de „Antrieb“.

| c.M <sup>3</sup> . CO <sub>2</sub> : | 40 gram gist<br>78½ c.M <sup>3</sup> . H <sub>2</sub> O<br>25 c.M <sup>3</sup> . gluc. opl.<br>temp. 40°. | 12 gram gist<br>32.8 c.M <sup>3</sup> . H <sub>2</sub> O<br>10 c.M <sup>3</sup> . gluc. opl.<br>temp. 45°. | 6 gram gist<br>34.8 c.M <sup>3</sup> . H <sub>2</sub> O<br>10 c.M <sup>3</sup> . gluc. opl.<br>temp. 45°. | 16 gram gist<br>31.4 c.M <sup>3</sup> . H <sub>2</sub> O<br>10 c.M <sup>3</sup> . gluc. opl.<br>temp. 45°. |       |
|--------------------------------------|---|--|---|--|-------|
| 0—5                                  | 0.152   | 0.135  | 0.106   | 0.157  | 0.179 |
| 5—10                                 | 0.250   | 0.209  | 0.144   | 0.250  | 0.262 |
| 10—15                                | 0.357   | 0.253  | 0.190   | 0.312  | 0.333 |
| 15—20                                | 0.417   | 0.333  | 0.190   | 0.357  | 0.385 |
| 20—25                                | 0.500   | 0.357  | 0.200   | 0.333  | 0.419 |
| 25—30                                | 0.625   | 0.333  | 0.208   | 0.385  | 0.417 |
| 30—35                                | 0.625   | 0.357  | 0.208   | 0.357  | 0.357 |
| 35—40                                | 0.625   | 0.333  | 0.200   | 0.385  | 0.357 |
| 40—45                                | 0.625   | 0.312  | 0.208   | 0.417  | 0.285 |
| 45—50                                | 0.625   | 0.333  | 0.200   | 0.417  | 0.417 |
| 50—55                                | —   | 0.333  | 0.200   | 0.417  | 0.417 |
| 55—60                                | —   | 0.333  | 0.208   | 0.454  | 0.455 |
| 60—65                                | —   | —  | —   | 0.417  | 0.417 |

De waarnemingen voor het bepalen der gistingssnelheid werden dan ook eerst aangevangen, nadat 20 à 25 c.M<sup>3</sup>. gas was ont-

<sup>1)</sup> Bovendien werd de keukenzoutoplossing tijdens den z.g. „Antrieb“ reeds grootendeels met koolzuur verzadigd, waarbij nog komt, dat voor alle proeven dezelfde oplossing werd gebruikt, zoodat deze bij het begin der definitieve proeven reeds geheel verzadigd was met koolzuur.



weken, d. w. z. de z.g. „Antrieb” voorbij was. In den regel werd daarna voor *onschadelijke* temperaturen nog 60 à 75 c.M<sup>3</sup>. opgevangen en de tijd bepaald, welke vereischt werd voor de ontwikkeling van de op elkaar volgende 5, 10 of 25 c.M<sup>3</sup>. koolzuur. Uit die aflezingen konden dan getallen berekend worden voor de hoeveelheden koolzuur in c.M<sup>3</sup>.; die per sec. vrijkwamen en het gemiddelde daarvan werd dan als de beginsnelheid genomen. Waar echter de temperatuur *schadelijk* was, werd minder koolzuur opgevangen en de tijden waargenomen, noodig voor de ontwikkeling van achtereenvolgende hoeveelheden koolzuur, welke wisselden tusschen 1 en 5 c.M<sup>3</sup>., uit welke tijden nu door „extrapolatie”, de beginsnelheid was af te leiden.

Een bezwaar, dat men tegen deze volumetrische bepaling der ontwikkelde hoeveelheden koolzuur zou kunnen aanvoeren is, dat de af te lezen snelheid der koolzuurontwikkeling ook al was deze werkelijk volkomen regelmatig, merkbaar zou stijgen met 't afnemen van de hoogte der vloeistofzuil in den eudiometerbuis. Een eenvoudige berekening leert echter, dat deze invloed zeer gering is en dientengevolge valt binnen de waarnemingsfouten.

*Beschrijving van het toestel.* Plaat I geeft een schematische voorstelling van de gebruikte inrichting der proefnemingen. De gisting had plaats in een kleine Erlenmeyerkolf *k*, voorzien van een dubbel doorboorden stop, waarin bevestigd waren het toevloeiendrechtertje *s* met de afgemeten hoeveelheid glucose-oplossing, en een buis *a*. Aan deze buis was met een caoutchouc slangetje *c* een omgebogen buisje *a*<sub>1</sub> bevestigd, dat het gevormde CO<sub>2</sub> wegvoert, dit gas wordt opgevangen in een der beide verdeelde buizen B of C. Deze eudiometers staan in een bakje met verzadigde keukenzoutoplossing.

De verwarming werd bewerkstelligd in een waterbad A, waarvan de temperatuur constant werd gehouden door een toluol-thermoreguleur TR.

Om een goede roering in de reactiekolf *k* te verkrijgen, werd op de volgende wijze een schudinrichting aangebracht:

Door een heete luchtmachine H L M werd een schijfcomplex D in draaiing gebracht, waarvan de beweging door een riempje *b* werd overgebracht op een schijf E. Aan de as van E was een excentriekstangetje F, waarop een nok, bevestigd. Hierdoor werd de stang G, voorzien van een gleuf, waarin de nok van F kon glijden, in schommeling gebracht om het draaipunt H.

De stang G ging over in een dunner gedeelte, waaraan door middel van pen en gat een tweede stang L kon bevestigd worden, welke het kolfje *k* droeg, zooals in de figuren is aangegeven.

Om de schudmachine stil te doen staan zonder de motor stop te zetten (hetgeen o. a. noodig was voor 't inzetten van de stang L met de kolf) was het voldoende het riempje *b* van E af te doen slippen, waardoor E en dus ook de schud-inrichting werd stop gezet.

Het opleggen van 't riempje, om de schudinrichting weer in gang te zetten, was even eenvoudig als het doen slippen, slechts een enkele vingerbeweging was voldoende voor beide manipulaties.

## § 2. *Snelheid en gistconcentratie.*

Voor het verkrijgen van een constante suikerconcentratie bij verschillende hoeveelheden gist, deden zich eenige moeilijkheden voor. In den vorm n.l., waarin de gist ter beschikking was, bevat deze steeds water, en wel: 1<sup>e</sup> water als *celvocht* ingesloten door het protoplasma in de cellen, 2<sup>e</sup> water *tusschen* de cellen, en 3<sup>e</sup> water in de *celwanden*.

Het spreekt van zelf, dat het water, genoemd onder 2<sup>e</sup> en 3<sup>e</sup>, wel verdunning der suiker veroorzaakt. Of het water, genoemd onder 1<sup>e</sup>, al of niet aan die verdunning meedoet, is na te gaan door te onderzoeken of de gist al of niet door glucose kan worden geplasmolyseerd. Is dit n.l. wel en blijvend het geval, dan moet men aannemen, dat de glucose niet door het

protoplasma heen dringt en dus ook bij concentraties, waarbij nog geen plasmolyse plaats heeft, *niet* in het celvocht komt. Wel zal een deel van het celvocht, ook vóór plasmolyse zichtbaar wordt, door gedeeltelijke opheffing van den turgor, naar buiten treden en verdunning der omringende vloeistof kunnen veroorzaken, maar daar de afname in grootte bij de plasmolyse zeer gering is, kan deze buiten beschouwing blijven.

Talrijke proeven omtrent de plasmolyse van gist zijn verricht door SWELLENGREBBEL<sup>1)</sup>, die hiervoor persgist van de gist- en spiritusfabriek te Delft gebruikte. Echter geeft SWELLENGREBBEL geen cijfers omtrent zijne onderzoekingen met glucose, wel wordt er op gewezen, dat glucose persgist kan plasmolyseeren en dat na 24 uur déplasmolyse plaats had. Het protoplasma bleek dus wel doordringbaar te zijn voor glucose, doch waar dit eerst na 24 uur merkbaar werd, is veilig aan te nemen, dat tijdens de door mij verrichte proeven, welke hoogstens 30 minuten duurden, het protoplasma practisch ondoordringbaar was voor deze suiker.

Uit SWELLENGREBBEL's waarnemingen omtrent de plasmolyse van gist door rietsuikeroplossingen, kan men op eenvoudige wijze berekenen in welke concentratie een glucose-oplossing persgist kan plasmolyseeren, welke berekende concentratie bleek te bedragen 8 ‰.

Inderdaad leidden ook eigen proefnemingen hieromtrent gedaan, tot ongeveer eenzelfde resultaat. De plasmolyse was duidelijk waar te nemen door het kleiner worden der vacuole en het dientengevolge samenballen der granula rondom de vacuole, welke daardoor veel beter zichtbaar werden. Het bleek, dat in 7 ‰-ige glucose-oplossing nog juist plasmolyse plaats had. Blijft men dus — en dit was bij onze proeven met enkele uitzonderingen, die nog nader worden besproken, steeds het geval — beneden deze glucose-concentratie, dan kan het water, dat als celvocht in de gist voorkomt, buiten beschouwing

<sup>1)</sup> Centralblatt für Bakteriologie, u. s. w., 14, 1905, S. 374 u. 481.

blijven en moet alleen het water *tusschen de cellen* en dat *in de celwanden* in aanmerking genomen worden.

Om deze laatste hoeveelheden water te bepalen, werden 40 gram gist vlug aangewreven met 50 cM<sup>3</sup> eener 5-procentige glucose-oplossing (hierbij heeft dus geen plasmolyse plaats), en dan onmiddellijk afgefiltreerd. Deze geheele bewerking moest zoo vlug mogelijk en bij lage temperatuur geschieden om vergisting der suiker te voorkomen. In het filtraat werd vervolgens het glucosegehalte bepaald volgens de titratiemethode van SCHORL<sup>1)</sup>. Het bleek, dat het glucosegehalte van 5 % op 3.9 % was teruggegaan. Uit deze concentratie-afname der glucose werd het watergehalte der gist berekend op 35 %, dat wil dus zeggen, dat door aanmenging der 40 gram gist met de glucose-oplossing de concentratie dier oplossing zoodanig achteruit gaat, alsof de gist 35 % water bevatte. Het is echter niet gezegd, dat deze verdunning der glucose uitsluitend door 't water tusschen de gistcellen en in de wanden is veroorzaakt. Het kan zeer goed zijn en is zelfs, zooals uit de latere beschouwingen zal blijken, zeer waarschijnlijk, dat er glucose op de gistcellen door adsorptie is vastgelegd, hetgeen er eveneens toe kan hebben bijgedragen om de glucose-concentratie te doen achteruitgaan.

Hoe dit echter ook zij, wij hebben deze laatste factor niet in rekening gebracht, aangezien voldoende gegevens om de grootte van den invloed daarvan te bepalen, ontbraken.

Bij iedere proef werden nu gebruikt 10 c.M.<sup>3</sup> eener 30 %-ige glucoseoplossing, welke hoeveelheid dus 3 gram glucose bevatte. Vervolgens werd de gist aangewreven met zooveel water als noodig was om te maken, dat ze ten slotte in 47 cM<sup>3</sup> vloeistof was gesuspenseerd. Aanleiding tot deze eenigszins eigenaardige hoeveelheid van 47 c.M.<sup>3</sup> was de omstandigheid, dat genomen werd 20 gram gist, welke aangemengd werd met 30 cM<sup>3</sup>. water, waaraan tenslotte toegevoegd werd 10 cM<sup>3</sup>. der

---

<sup>1)</sup> Z. f. Analyt.-Chemie, 39, 1900, S. 474.

glucose-oplossing. De hoeveelheid vloeistof is daaruit als volgt te berekenen:

|  |                           |
|--|---------------------------|
| suikeroplossing: . . . . .             | 10 cM. <sup>3</sup>       |
| 35 % water uit 20 gr. gist: . . . . .  | 7 cM. <sup>3</sup>        |
| toegevoegd water: . . . . .            | 30 cM. <sup>3</sup>       |
| totaal volume der vloeistof: . . . . . | <u>47 cM.<sup>3</sup></u> |

De concentratie der glucose was dus bij alle proefnemingen  $\frac{3}{47}$  gram per cM.<sup>3</sup> = 6.4 %, een concentratie, waarbij de glucoseoplossing de gist nog niet plasmolyseert.

De hoeveelheid water, noodig voor de aanmenging van 16 gram gist, werd nu bijvoorbeeld als volgt berekend: Het volume der suikeroplossing bedraagt: 10 cM.<sup>3</sup>, dat van 't water uit 16 gr. gist: 5.6 c.M.<sup>3</sup>, te zamen 15.6 c.M.<sup>3</sup>. Er moet dus nog toegevoegd worden 31,4 c.M.<sup>3</sup>. water, om 't totaalvolume der vloeistof in de gistende massa weer op 47 c.M.<sup>3</sup>. te brengen.

Alle proeven geschieden bij 45° C., een temperatuur, waarbij gedurende de gebezigde proefnemingsstijden geen afsterving der gistingfunctie waarneembaar was, zooals naderhand zal blijken.

In tabel II, die het resultaat der waarnemingen voor de gistingssnelheden in cijfers weergeeft, vindt men in de 3e kolom de berekende hoeveelheden water, waarmede de gistquantiteiten, vermeld in de 1e kolom, werden aangewreven. De 2e kolom, geeft de gistconcentratie in procenten van de totale hoeveelheid vloeistof der gistende massa.

De grafische voorstelling van het verband tusschen de beginsnelheid der gisting en de gistconcentratie vindt men in fig. 2. Uit deze teekening blijkt, dat bij lage gistconcentratie (tot  $\pm 13\%$ ) de snelheid vrijwel evenredig is met die concentratie, welke evenredigheid echter niet meer geldt voor de hoogere waarden der gistconcentratie. Bij die concentraties is de gisterwerking zwakker dan het geval zou zijn, wanneer die evenredigheid nog van toepassing was. Wordt de gistconcentratie zeer groot, dan doet verdere toename daarvan de gistingssnelheid niet noemenswaard meer grooter worden.

Een dergelijk verloop als de lijn vertoont, die bovengenoemd verband weergeeft, werd ook voor dezelfde betrekking waargenomen bij vele enzymwerkingen <sup>1)</sup>, zelfs stelden SCHÜTZ en BORISSOW <sup>2)</sup> een wet op, volgens welke de snelheid van een dergelijk proces evenredig zou zijn met den wortel uit de enzymconcentratie. Toch werd bij vele enzymwerkingen lineaire evenredigheid tusschen de twee genoemde grootheden waargenomen, doch dit verschil kan daaruit voortkomen, dat niet onder analoge omstandigheden gewerkt werd, wat betreft de verschillende concentraties van enzym en medium.

TABEL II.

## Beginsnelheid en gistconcentratie.

| Hoeveelheid gist in grammen. | Concentratie der gist in % t/gistende vlst. | Hoev. H <sub>2</sub> O in c.M. <sup>3</sup> toegevoegd aan de gist. | Tijd t noodig voor ontwikk. van 75 c.M. <sup>3</sup> CO <sub>2</sub> in sec. | Beginsnelh. in c.M. <sup>3</sup> CO <sub>2</sub> p. sec. v <sub>0</sub> = 75/t. |
|------------------------------|---|---|--|---|
| 26                           | 55.3  | 28.—  | 210  | 0.357   |
| 22                           | 47.—  | 29.3  | 215  | 0.349   |
| 20                           | 42.6  | 30.—  | 205  | 0.366   |
| 18                           | 38.3  | 30.7  | 220  | 0.341   |
| 16                           | 34.—  | 31.4  | 235  | 0.319   |
| 14                           | 29.8  | 32.1  | 244  | 0.307   |
| 12                           | 25.5  | 32.8  | 281  | 0.268   |
| 10                           | 21.9  | 33.4  | 319  | 0.235   |
| 9                            | 19.1  | 33.8  | 343  | 0.219   |
| 8                            | 17.—  | 34.1  | 377  | 0.199   |
| 6                            | 12.8  | 34.8  | 468  | 0.160   |
| 5                            | 10.6  | 35.1  | 564  | 0.133   |
| 4                            | 8.5   | 35.4  | 637  | 0.112   |
| 3                            | 6.4   | 35.8  | 840  | 0.089   |
| 2                            | 4.3   | 36.1  | 1274   | 0.059   |
| 1                            | 2.2   | 36.5  | 3120   | 0.024   |

<sup>1)</sup> BAYLISS: Das Wesen der Enzymwirkungen, uit 't Engelsch, door KARL SCHORR. Dresden 1910.

<sup>2)</sup> Z. f. physiol. Ch., 9, 1885, S. 557.

BAYLISS verklaart het afwijken van de rechte lijn op de volgende wijze:

„Ist das Enzym in beträchtlich geringere Konzentration als das Substrat vorhanden, so wird infolge der Tatsache, dass es dann vollständig mit dem Substrat in wirkliche Verbindung treten kann, die Reaktionsgeschwindigkeit in direkt linearer Proportion zur vorhandenen Enzymmenge stehen. In dem Masse als sich die Konzentration des Substrates vermindert, tritt aber eine andere Gesetzmässigkeit hervor, der zufolge die grösseren Enzymmengen eine verhältnismässig geringere Wirkung besitzen. Das sogenannte „Gesetz“ von Schütz und

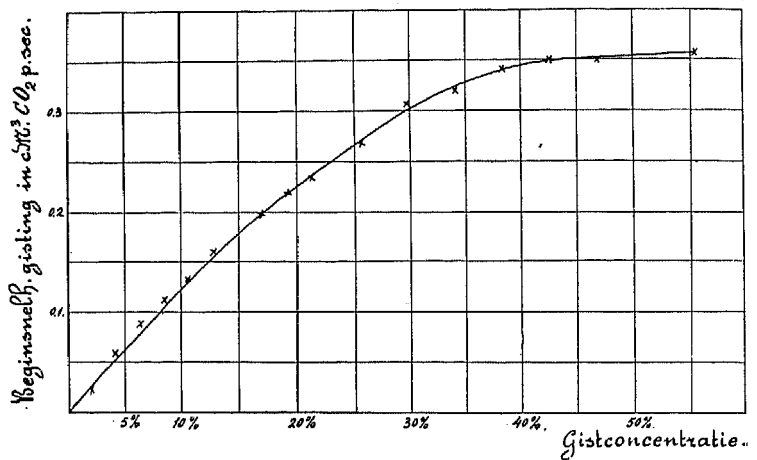


FIG. 2.

BORISSOW is nur een Spezialfall dieser Verhältnisse. Die in Wirklichkeit vorhanden Abhängigkeit ändert sich zwar etwas mit den Bedingungen, ist aber im Allgemeinen eine Wurzel, die kleiner ist als die Quadratswurzel”.

De vermoedelijke beteekenis van deze exponentiaalformule tracht BAYLISS nu door middel van de adsorptieverschijnselen te verklaren. Wij zullen zien, dat ook deze beschouwing van BAYLISS toe te passen is ter verklaring van het door mij ge-

vonden verband tusschen gistingssnelheid en gistconcentratie, daar ook bij de vergisting van glucose door gist adsorptie optreedt, waarover nader in de volgende paragraaf.

### § 3. Snelheid en suikerconcentratie.

De proefnemingen omtrent dit verband werden aanvankelijk volledigheidshalve verricht, daar dit niet direkt noodzakelijk was voor het vooropgestelde doel, n.l. de berekening der lijn bij afwezigheid van afsterven uit de krommen, die voor 5, 10, 15 en 20 minuten waren geobserveerd. Het bleek echter, dat

TABEL III.

Beginsnelheid en Suikerconcentratie.

| Concentratie der toegevoegde glucose-oplossing. | Concentratie c der glucose in de totale vloeistof. | Tijd t in sec., noodig voor ontw. van 75 c.M <sup>3</sup> . CO <sub>2</sub> . | Snelheid $v = \frac{75}{t}$ | Snelheid, berekend volgens: $v = 73.6 c^{0.22}$ . |
|---|--|---|-----------------------------|---|
| 70 ‰  | 16.6 ‰   | 437   | 0.172                       | 0.187   |
| 65 "  | 15.4 "   | 446   | 0.168                       | 0.184   |
| 60 "  | 14.2 "   | 434   | 0.173                       | 0.181   |
| 55 "  | 13.- "   | 428   | 0.175                       | 0.178   |
| 50 "  | 11.8 "   | 422   | 0.178                       | 0.174   |
| 45 "  | 10.7 "   | 425   | 0.177                       | 0.170   |
| 40 "  | 9.5 "  | 433   | 0.173                       | 0.166   |
| 35 "  | 8.3 "  | 448   | 0.167                       | 0.161   |
| 30 "  | 7.1 "  | 460   | 0.163                       | 0.156   |
| 25 "  | 5.9 "  | 476   | 0.158                       | 0.149   |
| 20 "  | 4.8 "  | 512   | 0.146                       | 0.142   |
| 15 "  | 3.6 "  | 542   | 0.139                       | 0.134   |
| 10 "  | 2.4 "  | 606   | 0.124                       | 0.125   |
| 7.5 "   | 1.8 "  | 663   | 0.113                       | 0.115   |
| 5 "   | 1.2 "  | 713   | 0.105                       | 0.105   |
| 2.5 "   | 0.6 "  | 1059  | 0.071                       | 0.090   |

aan de bij dit onderzoek verkregen waarnemingen belangrijke gevolgtrekkingen waren te ontleenen, welke gebruikt konden worden ter verklaring van verscheidene bij 't verdere onderzoek verkregen resultaten.



Bij de in deze paragraaf bedoelde onderzoeken deed zich de moeilijkheid betreffende de aanwezigheid van water tusschen de cellen en in de celwanden genoemd in § 2, niet voor, daar hier steeds een zelfde hoeveelheid gist gebruikt werd, welke bij alle proeven aangemengd werd met dezelfde hoeveelheid water. Ook werd altijd evenveel glucose-oplossing toegevoegd, doch telkens van een andere concentratie. De concentratie van de gist bleef dus constant.

Alle proefnemingen werden weer verricht bij 45° C. De waarnemingen zijn vereenigd in tabel III en grafisch voorgesteld in fig. 3.

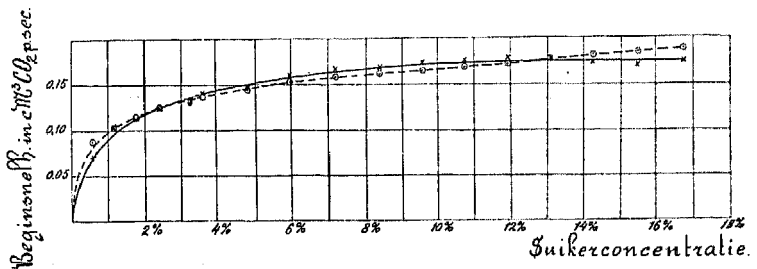


FIG. 3.

Men ziet daaruit, dat er geen sprake is van een evenredigheid tusschen de begingistingssnelheid en de suikerconcentratie; de grafische voorstelling vertoont veeleer een paraboolvormige kromme, welke sterk doet denken aan de lijn, die men verkrijgt bij grafische voorstelling van de *adsorptie-formule*. Deze overeenkomst maakt het dan ook zeer waarschijnlijk, dat het waargenomen verband tusschen gistingssnelheid en suikerconcentratie te verklaren is in de onderstelling van het optreden eener *adsorptie*.

Er kan n.l. in een suspensie van gist in glucose-oplossing adsorptie plaats hebben *in* den celwand, aan de grenslagen van celwand en vloeistof, of aan die van celwand en protoplasma, zelfs zouden verschillende dezer drie adsorpties gelijktijdig kunnen voorkomen.

Is onze onderstelling juist, dan zou de adsorptieformule gelden, welke de volgende gedaante heeft:

$$x/m = \alpha c^{\frac{1}{n}}, \quad (I) \text{ } ^1)$$

waarin  $\alpha$  een zekere constante is, welke afhangt van den aard der adsorbeerende en geadsorbeerde stoffen,  $\frac{1}{n}$  een constante, die daar betrekkelijk weinig van afhankelijk is, en waarin  $\frac{x}{m}$  voorstelt de geadsorbeerde hoeveelheid opgeloste stof per volume eenheid van het adsorbens;  $\frac{x}{m}$  is dus evenredig met de concentratie van het oppervlakte laagje. Stelt men die laatste concentratie  $c_1$ , dan mag de formule (I) dus ook geschreven worden:

$$c_1 = \alpha_1 c^{\frac{1}{n}}. \quad (II)$$

Neemt men nu aan, dat de gistingssnelheid evenredig is met de concentratie van de suikeroplossing, waarmee het protoplasma *rechtstreeks* in aanraking is, dan zou in dit geval de gistingssnelheid dus ook evenredig moeten zijn met de concentratie van het adsorptie laagje, d. i. met  $c_1$ .

Voor het verband tusschen de beginsnelheid en de concentratie in de *oplossing* zou men dan mogen schrijven:

$$v_0 = \beta c^q,$$

waarin  $\beta$  en  $q$  constanten zouden zijn van denzelfden aard als  $\alpha_1$  en  $\frac{1}{n}$  in formule (II).

Gaan wij thans na in hoeverre deze formule door onze uitkomsten wordt bevestigd.

Uit de waarnemingen is volgens de waarschijnlijkheidsrekening de meest waarschijnlijke waarde voor  $\beta$  en  $q$  te berekenen. Hiervoor kan men uitgaan van de volgende vergelijkingen:

$$(a) \quad \sum_{r=1}^{r=n} \log v_0 = n \log \beta + q \sum_{r=1}^{r=n} \log c_r$$

$$(b) \quad \sum c \log v_0 = \log \beta \sum_{r=1}^{r=n} c_r + q \sum_{r=1}^{r=n} c_r \log c_r$$

en volgens deze formule werd gevonden:  $q = 0.22$  en  $\beta = 73.60$ .

<sup>1)</sup> Zie o. a. H. FREUNDLICH: Kapillarchemie, Leipzig, 1909.

Het verband tusschen de beginsnelheid en de suikerconcentratie in de „oplossing” zou dan voor de alcoholgisting zijn :

$$v_0 = 73,6 \times c^{0,22}$$

Inderdaad bleek nu, dat er een concentratie-interval is, waarin deze theoretische kromme vrijwel samenvalt met de practisch gevonden kromme, zooals te constateeren is zoowel uit tabel III, waarin de 5e kolom getallen geeft, die volgens deze formule berekend zijn, als uit fig. 3, waarin de theoretische kromme gestreept is aangegeven.

Men ziet dus, dat de adsorptieformule inderdaad geschikt is om het verband tusschen de gistingssnelheid en de concentratie van de glucose weer te geven. Hierbij moet echter opgemerkt worden, dat de overeenstemming het best is bij de gemiddelde waarden der suikerconcentraties, doch bij de laagste en bij de hogere waarden voor de suikerconcentratie treedt een verschil op in het verloop der beide beschouwde lijnen. Nu zal bij de hogere suikerconcentraties plasmolyse der gist optreden en bij plasmolyse zal de uitkomst der vroeger beschreven waterbepaling in de gist niet meer bij de berekening mogen worden toegepast en dit zou zeer goed de bedoelde afwijking kunnen verklaren.

#### § 4. *Snelheid en Temperatuur.*

Voor de bepaling van het verband tusschen snelheid en temperatuur bij constante gist- en suikerconcentratie, welk verband uitgedrukt wordt door de *optimumkrommen*, werden de proefnemingen steeds verricht met 16 gram gist, die werd aangewreven met 31.5 cM.<sup>3</sup> water en 10 cM.<sup>3</sup> van een 30-percentige glucoseoplossing. Zooals te voren reeds is opgemerkt, werd de suikeroplossing eerst dan bij de gistsuspensie toegelaten, nadat beide vloeistoffen elk afzonderlijk op de gewenschte temperatuur waren gebracht. Daar nu het temperatuuroptimum afhankelijk is van den tijd gedurende welken is voorgewarmd, werd de gist, voordat ze met de suikeroplossing

gemengd werd, bij verschillende temperaturen gedurende respectievelijk 5, 10, 15 en 20 minuten voorgewarmd. Op deze wijze werden dan voor schadelijke temperaturen 4 verschillende krommen verkregen, die bij onschadelijke temperaturen samenvielen.

Bij deze uitvoering der proefnemingen moesten echter de volgende punten in aanmerking worden genomen.

In de *eerste* plaats moest bij onschadelijke temperaturen de Antrieb van ongeveer 25 cM.<sup>3</sup> CO<sub>2</sub> voorbij zijn, vóórdat de gistingssnelheid constant was.

Bij schadelijke temperaturen wordt geen constante snelheid bereikt en heeft men dus geen middel om na te gaan of de „Antrieb” voorbij is. Maar ook daarvoor moet men zeker wel 25 cM.<sup>3</sup> CO<sub>2</sub> laten ontwikkelen vóórdat men op de uitkomst der aflezing kan staat maken. Nu wordt er evenwel gedurende dien Antrieb ook gist vernietigd. Wanneer men dus 5, 10, 15 of 20 minuten ging voorverwarmen en dan nog den „Antrieb” moest afwachten, zou er, vóór de eerste bepaling geschiedde, langer zijn voorgewarmd dan bedoeld werd. Dit bezwaar werd nu op de volgende wijze voorkomen :

Uit tabel I bleek, dat voor de concentraties waaronder wij hier werkten en bij een temperatuur van 45° C., de Antrieb ongeveer 1½–2 minuten duurde, zoodat ze bij nog hoogere temperatuur stellig nog in korter tijd zal zijn afgelopen. Nu werd bij iedere proefneming 2 minuten vóór 't einde der voorverwarming (dus vóór de 5, 10, 15 of 20 minuten om waren), de suikeroplossing tot de gistsuspensie toegelaten. Bij 't begin der waarneming van de gistingssnelheid, was dan de „Antrieb” zeker afgelopen. Wel is waar werd nu de gist gedurende de twee laatste minuten voorgewarmd in tegenwoordigheid van glucose, waardoor de afsterving geringer wordt, zooals later zal blijken, maar dit verschil in de mate van afsterving is zóó klein, dat hiermede geen rekening behoeft gehouden te worden, als vallende binnen de grenzen der waarnemingsfouten.

In de *tweede* plaats moest voor schadelijke temperaturen de

gistsuspensie zoo spoedig mogelijk, nadat zij in het waterbad was geplaatst, de temperatuur hiervan aannemen, immers was dit niet het geval, dan had men geen zekerheid meer omtrent den duur van voorwarmen, waarvan de mate van afsterven afhangt. Dit werd, behalve door de vroeger beschreven inrichting, bereikt door de suspensie van te voren op een zoo hoog mogelijke onschadelijke temperatuur ( $45^{\circ}$  C.) te brengen, waarna zij in het definitieve bad werd geplaatst. Dank zij de schud-inrichting en de dunwandigheid van de gebruikte Erlemeyer-kolfjes was dan de gewenschte schadelijke temperatuur ongeveer binnen  $\frac{1}{4}$  minuut bereikt. Ook nu blijft er nog een kleine fout over, door het niet onmiddellijk op temperatuur zijn der gistsuspensie. Precies deze zelfde fout wordt echter ook gemaakt bij de bepaling der zoogenaamde *afstervingskromme*, welke nader beschreven zal worden in de volgende paragraaf. Deze twee gelijksoortige fouten heffen elkaar op bij de verdere berekeningen, zooals later zal blijken.

In de *derde* plaats moet worden opgemerkt, dat bij schadelijke temperaturen de afsterving ook gedurende de waarneming der snelheid nog door gaat. Hoe hooger de schadelijke temperatuur is, des te meer is die achteruitgang in snelheid merkbaar. Terwijl dus voor onschadelijke temperaturen de tijd van voorwarmen onverschillig was (althans wanneer ze binnen 20 min. bleef) en door het nemen van een gemiddelde waarde der snelheid gedurende een proef kon worden volstaan, — op welke wijze dan ook de cijfers uit de laatste kolom van Tabel V tot en met dat voor  $45^{\circ}$  konden worden verkregen — moest voor de schadelijke temperaturen een andere weg gevolgd worden.

De waarnemingen voor schadelijke temperaturen werden nu zoo verricht, dat de tijd opgenomen werd, noodig voor het ontwikkelen van opeenvolgende volumina, ieder van 25, 10, 5, 3, 2 of 1 cM.<sup>3</sup> CO<sub>2</sub>, welke waarnemingen zijn vereenigd in de tabelletjes IVa—i.

Daar de afsterving voor schadelijke temperaturen, ook gedurende de waarneming voortduurde, gaf daarvoor zelfs de tijd-

TABEL IV a-i.

a.                      Temperatuur: 46° C.

| 5 minuten voorwarmen.                            |                   |   | 10 minuten voorwarmen.                           |                   |   |
|--|-------------------|---|--|-------------------|---|
| Volumina<br>CO <sub>2</sub> in c.M. <sup>3</sup> | Tijd t<br>in sec. | Snelheid<br>$v = \frac{\text{volume}}{t}$ | Volumina<br>CO <sub>2</sub> in c.M. <sup>3</sup> | Tijd t<br>in sec. | Snelheid<br>$v = \frac{\text{volume}}{t}$ |
| 1 <sup>o</sup> 25                                | 64                | 0.39                                      | 1 <sup>o</sup> 25                                | 65                | 0.39 <sup>5</sup>                         |
| 2 <sup>o</sup> 25                                | 59                | 0.42                                      | 2 <sup>o</sup> 25                                | 66                | 0.37                                      |
| 3 <sup>o</sup> 25                                | 60                | 0.42                                      | 3 <sup>o</sup> 25                                | 64                | 0.39                                      |
| 4 <sup>o</sup> 25                                | 63                | 0.40                                      | 4 <sup>o</sup> 25                                | 63                | 0.40                                      |

| 15 minuten voorwarmen.                           |                   |   | 20 minuten voorwarmen.                           |                   |   |
|--|-------------------|---|--|-------------------|---|
| Volumina<br>CO <sub>2</sub> in c.M. <sup>3</sup> | Tijd t<br>in sec. | Snelheid<br>$v = \frac{\text{volume}}{t}$ | Volumina<br>CO <sub>2</sub> in c.M. <sup>3</sup> | Tijd t<br>in sec. | Snelheid<br>$v = \frac{\text{volume}}{t}$ |
| 1 <sup>o</sup> 25                                | 71                | 0.35                                      | 1 <sup>o</sup> 25                                | 81                | 0.31                                      |
| 2 <sup>o</sup> 25                                | 69                | 0.36                                      | 2 <sup>o</sup> 25                                | 73                | 0.34                                      |
| 3 <sup>o</sup> 25                                | 67                | 0.37                                      | 3 <sup>o</sup> 25                                | 73                | 0.34                                      |
| 4 <sup>o</sup> 25                                | 68                | 0.37                                      | 4 <sup>o</sup> 25                                | 77                | 0.32 <sup>5</sup>                         |

b.                      Temperatuur: 47° C.

| 5 minuten voorwarmen.                            |                   |   | 10 minuten voorwarmen.                           |                   |   |
|--|-------------------|---|--|-------------------|---|
| Volumina<br>CO <sub>2</sub> in c.M. <sup>3</sup> | Tijd t<br>in sec. | Snelheid<br>$v = \frac{\text{volume}}{t}$ | Volumina<br>CO <sub>2</sub> in c.M. <sup>3</sup> | Tijd t<br>in sec. | Snelheid<br>$v = \frac{\text{volume}}{t}$ |
| 1 <sup>o</sup> 25                                | 63                | 0.40                                      | 1 <sup>o</sup> 25                                | 71                | 0.35                                      |
| 2 <sup>o</sup> 25                                | 61                | 0.41                                      | 2 <sup>o</sup> 25                                | 67                | 0.37                                      |
| 3 <sup>o</sup> 25                                | 65                | 0.38                                      | 3 <sup>o</sup> 25                                | 67                | 0.37                                      |
| 4 <sup>o</sup> 25                                | 67                | 0.37                                      | 4 <sup>o</sup> 25                                | 71                | 0.35                                      |

| 15 minuten voorwarmen.                           |                   |   | 20 minuten voorwarmen.                           |                   |   |
|--|-------------------|---|--|-------------------|---|
| Volumina<br>CO <sub>2</sub> in c.M. <sup>3</sup> | Tijd t<br>in sec. | Snelheid<br>$v = \frac{\text{volume}}{t}$ | Volumina<br>CO <sub>2</sub> in c.M. <sup>3</sup> | Tijd t<br>in sec. | Snelheid<br>$v = \frac{\text{volume}}{t}$ |
| 1 <sup>o</sup> 25                                | 80                | 0.31                                      | 1 <sup>o</sup> 25                                | 93                | 0.27                                      |
| 2 <sup>o</sup> 25                                | 76                | 0.32                                      | 2 <sup>o</sup> 25                                | 86                | 0.29                                      |
| 3 <sup>o</sup> 25                                | 77                | 0.32                                      | 3 <sup>o</sup> 25                                | 86                | 0.29                                      |
| 4 <sup>o</sup> 25                                | 83                | 0.30                                      | 4 <sup>o</sup> 25                                | 95                | 0.26                                      |

c.                      Temperatuur: 48° C.

| 5 minuten voorwarmen.                             |                   |   | 10 minuten voorwarmen.                            |                   |   |
|---|-------------------|---|---|-------------------|---|
| Volumina<br>CO <sub>2</sub> in c.M <sup>3</sup> . | Tijd t<br>in sec. | Snelheid<br>volume<br>$v = \frac{\text{volume}}{t}$ | Volumina<br>CO <sub>2</sub> in c.M <sup>3</sup> . | Tijd t<br>in sec. | Snelheid<br>volume<br>$v = \frac{\text{volume}}{t}$ |
| 1 <sup>e</sup> 25                                 | 66                | 0.38  | 1 <sup>e</sup> 25                                 | 72                | 0.35  |
| 2 <sup>e</sup> 25                                 | 64                | 0.39  | 2 <sup>e</sup> 25                                 | 76                | 0.33  |
| 3 <sup>e</sup> 25                                 | 63                | 0.40  | 3 <sup>e</sup> 25                                 | 76                | 0.33  |
| 4 <sup>e</sup> 25                                 | 67                | 0.37  | 4 <sup>e</sup> 25                                 | —                 | —   |

| 15 minuten voorwarmen.                            |                   |   | 20 minuten voorwarmen.                            |                   |   |
|---|-------------------|---|---|-------------------|---|
| Volumina<br>CO <sub>2</sub> in c.M <sup>3</sup> . | Tijd t<br>in sec. | Snelheid<br>volume<br>$v = \frac{\text{volume}}{t}$ | Volumina<br>CO <sub>2</sub> in c.M <sup>3</sup> . | Tijd t<br>in sec. | Snelheid<br>volume<br>$v = \frac{\text{volume}}{t}$ |
| 1 <sup>e</sup> 25                                 | 95                | 0.26  | 1 <sup>e</sup> 25                                 | 107               | 0.23  |
| 2 <sup>e</sup> 25                                 | 88                | 0.28  | 2 <sup>e</sup> 25                                 | 95                | 0.26  |
| 3 <sup>e</sup> 25                                 | 87                | 0.29  | 3 <sup>e</sup> 25                                 | 97                | 0.26  |
| 4 <sup>e</sup> 25                                 | 96                | 0.26  | 4 <sup>e</sup> 25                                 | 101               | 0.25  |

d.                      Temperatuur: 50° C.

| 5 minuten voorwarmen.                             |                   |   | 10 minuten voorwarmen.                            |                   |   |
|---|-------------------|---|---|-------------------|---|
| Volumina<br>CO <sub>2</sub> in c.M <sup>3</sup> . | Tijd t<br>in sec. | Snelheid<br>volume<br>$v = \frac{\text{volume}}{t}$ | Volumina<br>CO <sub>2</sub> in c.M <sup>3</sup> . | Tijd t<br>in sec. | Snelheid<br>volume<br>$v = \frac{\text{volume}}{t}$ |
| 1 <sup>e</sup> 10                                 | 26                | 0.38 <sup>5</sup>                                   | 1 <sup>e</sup> 10                                 | 47                | 0.21  |
| 2 <sup>e</sup> 10                                 | 27                | 0.37  | 2 <sup>e</sup> 10                                 | 45                | 0.22  |
| 3 <sup>e</sup> 10                                 | 25                | 0.40  | 3 <sup>e</sup> 10                                 | 43                | 0.23  |
| 4 <sup>e</sup> 10                                 | 25                | 0.40  | 4 <sup>e</sup> 10                                 | 45                | 0.22  |
| 5 <sup>e</sup> 10                                 | 27                | 0.37  | 5 <sup>e</sup> 10                                 | 46                | 0.22  |
| 6 <sup>e</sup> 10                                 | 25                | 0.40  | 6 <sup>e</sup> 10                                 | 48                | 0.21  |
| 7 <sup>e</sup> 10                                 | 25                | 0.40  | 7 <sup>e</sup> 10                                 | 45                | 0.22  |
| 8 <sup>e</sup> 10                                 | 26                | 0.38  | 8 <sup>e</sup> 10                                 | 45                | 0.22  |
| 9 <sup>e</sup> 10                                 | 28                | 0.36  | 9 <sup>e</sup> 10                                 | 45                | 0.22  |
| 10 <sup>e</sup> 10                                | 26                | 0.38 <sup>5</sup>                                   | 10 <sup>e</sup> 10                                | 51                | 0.20  |

| 15 minuten voorwarmen.                            |                   |   | 20 minuten voorwarmen.                            |                   |   |
|---|-------------------|---|---|-------------------|---|
| Volumina<br>CO <sub>2</sub> in c.M <sup>3</sup> . | Tijd t<br>in sec. | Snelheid<br>volume<br>$v = \frac{\text{volume}}{t}$ | Volumina<br>CO <sub>2</sub> in c.M <sup>3</sup> . | Tijd t<br>in sec. | Snelheid<br>volume<br>$v = \frac{\text{volume}}{t}$ |
| 1 <sup>e</sup> 10                                 | 53                | 0.19  | 1 <sup>e</sup> 10                                 | 60                | 0.17  |
| 2 <sup>e</sup> 10                                 | 53                | 0.19  | 2 <sup>e</sup> 10                                 | 58                | 0.18  |
| 3 <sup>e</sup> 10                                 | 52                | 0.19  | 3 <sup>e</sup> 10                                 | 60                | 0.17  |
| 4 <sup>e</sup> 10                                 | 57                | 0.18  | 4 <sup>e</sup> 10                                 | 60                | 0.17  |
| 5 <sup>e</sup> 10                                 | 52                | 0.19  | 5 <sup>e</sup> 10                                 | 60                | 0.17  |
| 6 <sup>e</sup> 10                                 | 52                | 0.19  | 6 <sup>e</sup> 10                                 | 55                | 0.18  |
| 7 <sup>e</sup> 10                                 | 54                | 0.18 <sup>5</sup>                                   | 7 <sup>e</sup> 10                                 | 60                | 0.17  |
| 8 <sup>e</sup> 10                                 | 54                | 0.18 <sup>5</sup>                                   | 8 <sup>e</sup> 10                                 | 63                | 0.16  |
| 9 <sup>e</sup> 10                                 | 54                | 0.18 <sup>5</sup>                                   | 9 <sup>e</sup> 10                                 | 65                | 0.15  |
| 10 <sup>e</sup> 10                                | 57                | 0.18  | 10 <sup>e</sup> 10                                | 69                | 0.14 <sup>5</sup>                                   |

e.                      Temperatuur: 52° C.

| 5 minuten voorwarmen.                             |                   |   | 10 minuten voorwarmen.                            |                   |   |
|---|-------------------|---|---|-------------------|---|
| Volumina<br>CO <sub>2</sub> in c.M <sup>3</sup> . | Tijd t<br>in sec. | Snelheid<br>volume<br>$v = \frac{\text{volume}}{t}$ | Volumina<br>CO <sub>2</sub> in c.M <sup>3</sup> . | Tijd t<br>in sec. | Snelheid<br>volume<br>$v = \frac{\text{volume}}{t}$ |
| 1 <sup>e</sup> 10                                 | 51                | 0.20  | 1 <sup>e</sup> 10                                 | 73                | 0.14  |
| 2 <sup>e</sup> 10                                 | 54                | 0.18 <sup>5</sup>                                   | 2 <sup>e</sup> 10                                 | 78                | 0.13  |
| 3 <sup>e</sup> 10                                 | 54                | 0.18 <sup>5</sup>                                   | 3 <sup>e</sup> 10                                 | 80                | 0.12 <sup>5</sup>                                   |
| 4 <sup>e</sup> 10                                 | 57                | 0.18  | 4 <sup>e</sup> 10                                 | 84                | 0.12  |
| 5 <sup>e</sup> 10                                 | 57                | 0.18  | 5 <sup>e</sup> 10                                 | 85                | 0.12  |
| 6 <sup>e</sup> 10                                 | 57                | 0.18  | 6 <sup>e</sup> 10                                 | 91                | 0.11  |
| 7 <sup>e</sup> 10                                 | 66                | 0.15  | 7 <sup>e</sup> 10                                 | 97                | 0.10  |
| 8 <sup>e</sup> 10                                 | 66                | 0.15  | 8 <sup>e</sup> 10                                 | 104               | 0.10  |
| 9 <sup>e</sup> 10                                 | 71                | 0.14  | 9 <sup>e</sup> 10                                 | 110               | 0.09  |
| 10 <sup>e</sup> 10                                | —                 | —   | 10 <sup>e</sup> 10                                | 137               | 0.07  |

| 15 minuten voorwarmen.                            |                   |   | 20 minuten voorwarmen.                            |                   |   |
|---|-------------------|---|---|-------------------|---|
| Volumina<br>CO <sub>2</sub> in c.M <sup>3</sup> . | Tijd t<br>in sec. | Snelheid<br>volume<br>$v = \frac{\text{volume}}{t}$ | Volumina<br>CO <sub>2</sub> in c.M <sup>3</sup> . | Tijd t<br>in sec. | Snelheid<br>volume<br>$v = \frac{\text{volume}}{t}$ |
| 1 <sup>e</sup> 10                                 | 104               | 0.10  | 1 <sup>e</sup> 10                                 | 156               | 0.06  |
| 2 <sup>e</sup> 10                                 | 107               | 0.09  | 2 <sup>e</sup> 10                                 | 161               | 0.06  |
| 3 <sup>e</sup> 10                                 | 107               | 0.09  | 3 <sup>e</sup> 10                                 | 181               | 0.05 <sup>5</sup>                                   |
| 4 <sup>e</sup> 10                                 | 119               | 0.08  | 4 <sup>e</sup> 10                                 | 206               | 0.05  |
| 5 <sup>e</sup> 10                                 | 136               | 0.07  | 5 <sup>e</sup> 10                                 | 262               | 0.04  |
| 6 <sup>e</sup> 10                                 | 153               | 0.06 <sup>5</sup>                                   | 6 <sup>e</sup> 10                                 | 306               | 0.03  |



f.                      Temperatuur: 53° C.

| 5 minuten voorwarmen.                              |                   |   | 10 minuten voorwarmen.                             |                   |   |
|--|-------------------|---|--|-------------------|---|
| Volumina<br>CO <sub>2</sub> in c.M. <sup>3</sup> . | Tijd t<br>in sec. | Snelheid<br>volume<br>$v = \frac{\text{volume}}{t}$ | Volumina<br>CO <sub>2</sub> in c.M. <sup>3</sup> . | Tijd t<br>in sec. | Snelheid<br>volume<br>$v = \frac{\text{volume}}{t}$ |
| 1 <sup>e</sup> 10                                  | 59                | 0.17  | 1 <sup>e</sup> 10                                  | 97                | 0.10  |
| 2 <sup>e</sup> 10                                  | 60                | 0.17  | 2 <sup>e</sup> 10                                  | 109               | 0.09  |
| 3 <sup>e</sup> 10                                  | 76                | 0.13  | 3 <sup>e</sup> 10                                  | 126               | 0.08  |
| 4 <sup>e</sup> 10                                  | 85                | 0.12  | 4 <sup>e</sup> 10                                  | 158               | 0.06  |
| 5 <sup>e</sup> 10                                  | 88                | 0.11  | 5 <sup>e</sup> 10                                  | 210               | 0.05  |

| 15 minuten voorwarmen.                             |                   |   | 20 minuten voorwarmen.                             |                   |   |
|--|-------------------|---|--|-------------------|---|
| Volumina<br>CO <sub>2</sub> in c.M. <sup>3</sup> . | Tijd t<br>in sec. | Snelheid<br>volume<br>$v = \frac{\text{volume}}{t}$ | Volumina<br>CO <sub>2</sub> in c.M. <sup>3</sup> . | Tijd t<br>in sec. | Snelheid<br>volume<br>$v = \frac{\text{volume}}{t}$ |
| 1 <sup>e</sup> 5                                   | 153               | 0.06  | 1 <sup>e</sup> 5                                   | 300               | 0.02  |
| 2 <sup>e</sup> 5                                   | 112               | 0.09  | 2 <sup>e</sup> 5                                   | 432               | 0.01  |
| 3 <sup>e</sup> 5                                   | 246               | 0.04  | —  | —                 | —   |
| 4 <sup>e</sup> 5                                   | 206               | 0.05  | —  | —                 | —   |
| 5 <sup>e</sup> 5                                   | 248               | 0.04  | —  | —                 | —   |
| 6 <sup>e</sup> 5                                   | 332               | 0.03  | —  | —                 | —   |

g.                      Temperatuur: 54° C.

| 5 minuten voorwarmen.                            |                   |   | 10 minuten voorwarmen.                           |                   |   |
|--|-------------------|---|--|-------------------|---|
| Volumina<br>CO <sub>2</sub> in c.M. <sup>3</sup> | Tijd t<br>in sec. | Snelheid<br>volume<br>$v = \frac{\text{volume}}{t}$ | Volumina<br>CO <sub>2</sub> in c.M. <sup>3</sup> | Tijd t<br>in sec. | Snelheid<br>volume<br>$v = \frac{\text{volume}}{t}$ |
| 1 <sup>e</sup> 10                                | 99                | 0.10  | 1 <sup>e</sup> 5                                 | 194               | 0.026   |
| 2 <sup>e</sup> 10                                | 125               | 0.08  | 2 <sup>e</sup> 5                                 | 316               | 0.016   |
| 3 <sup>e</sup> 10                                | 188               | 0.05  | 2 <sup>e</sup> 5                                 | 674               | 0.007 <sup>5</sup>                                  |
| 4 <sup>e</sup> 10                                | 353               | 0.03  | —  | —                 | —   |

| 15 minuten voorwarmen.                           |                   |   |
|--|-------------------|---|
| Volumina<br>CO <sub>2</sub> in c.M. <sup>3</sup> | Tijd t<br>in sec. | Snelheid<br>volume<br>$v = \frac{\text{volume}}{t}$ |
| 1 <sup>e</sup> 2                                 | 206               | 0.010   |
| 2 <sup>e</sup> 1                                 | 84                | 0.012   |
| 3 <sup>e</sup> 2                                 | 288               | 0.007   |

h. Temperatuur: 55° C.

i. Temperatuur: 56° C.

| 5 minuten voorwarmen.                            |                   |   | 5 minuten voorwarmen.                            |                   |   |
|--|-------------------|---|--|-------------------|---|
| Volumina<br>CO <sub>2</sub> in c.M. <sup>3</sup> | Tijd t<br>in sec. | Snelheid<br>volume<br>$v = \frac{\text{volume}}{t}$ | Volumina<br>CO <sub>2</sub> in c.M. <sup>3</sup> | Tijd t<br>in sec. | Snelheid<br>volume<br>$v = \frac{\text{volume}}{t}$ |
| 1° 5   | 115               | 0.048   | 1° 3   | 394               | 0.008   |
| 2° 5   | 218               | 0.023   | 2° 2   | 451               | 0.004   |
| 3° 5   | 519               | 0.010   |  |                   |   |

opname van de ontwikkeling van het eerste volume CO<sub>2</sub>, niet de juiste beginsnelheid, dat is die snelheid, welke onmiddellijk na afloop van de voorwarming zal hebben bestaan. De snelheid nam echter voor ieder volgend gelijk volume ontwikkeld CO<sub>2</sub> regelmatig af, waardoor 't mogelijk was door een eenvoudige extrapolatie die gewenschte beginsnelheid te bepalen. Dit is voor de verschillende schadelijke temperaturen en wel telkens voor de verschillende voorwarmingstijden uitgevoerd in de figuren 4 a-i, door op de ordinaat-as af te zetten de gistingssnelheden, berekend uit den tijd, nodig voor de ontwikkeling van het 1°, 2°, 3° enz. aantal c.M.<sup>3</sup>, welke aantallen op de abscis-as werden uitgezet. Daar de punten in deze figuren voor ieder der waarnemingsreeksen vrijwel op rechte lijnen liggen, is de gistingssnelheid, die onmiddellijk na de verschillende tijden van voorwarming zal optreden, op de Y-as af te lezen.

Deze verlangde snelheden zijn te vinden in tabel V.

Terloops zij hier opgemerkt, dat de cijfers uit Tabel IV a-i nog leeren, dat de afsterving in de suikeroplossing minder snel geschiedt dan in water, immers de snelheid, die men uit de kolommen afleest na een voorwarming in water van t<sub>1</sub> sec. en een duur der gisting van t<sub>2</sub> sec. is grooter dan die, welke men na een enkele voorwarming in water van (t<sub>1</sub> + t<sub>2</sub>) sec. waarneemt. Het verschil is echter vrij gering (zie ook blz. 127).

Wij merkten reeds op, dat 't voor temperaturen beneden 46° onverschillig was of 5 of wel dat 20 minuten werd voorgewarmd, steeds werd dezelfde gistingssnelheid gevonden. Dat dit werkelijk voor 45° C. het geval was en daarbij zelfs nog meer dan

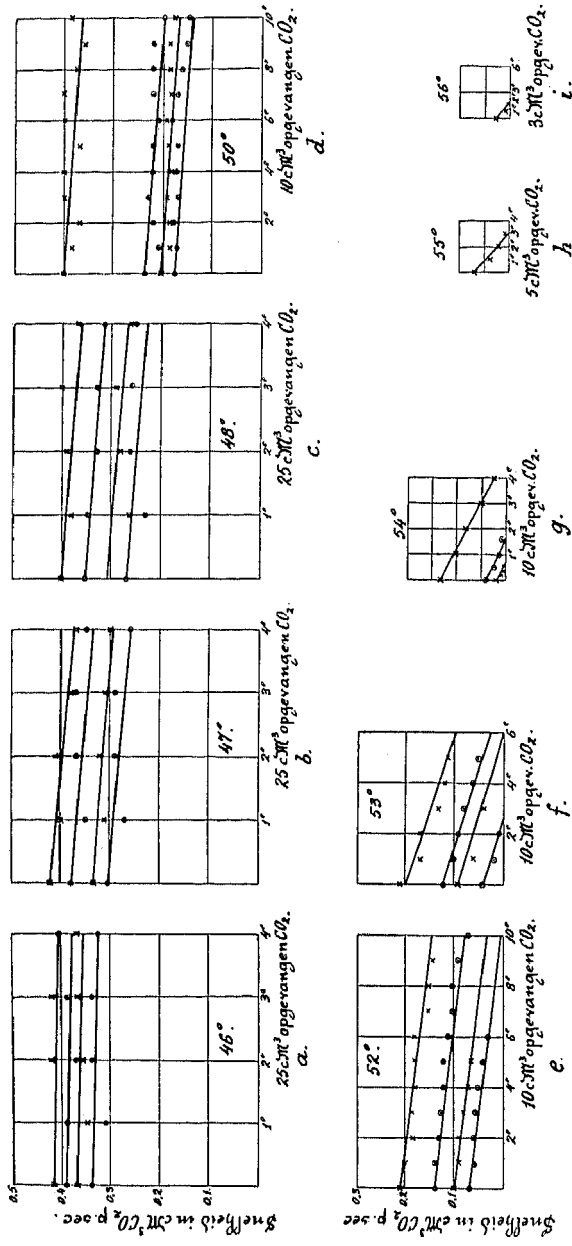


FIG. 4.

30 minuten kon worden voorgewarmd, zonder dat de gistings-snelheid achteruit ging, kan blijken uit tabel VI.

TABEL V.  
Beginsnelheid en Temperatuur.

| Temperatuur in graden Celsius. | Snelheid na 5' voorwarmen. | Snelheid na 10' voorwarmen. | Snelheid na 15' voorwarmen. | Snelheid na 20' voorwarmen. |
|--------------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 20                             | —                          | —                           | —                           | 0.087                       |
| 25                             | —                          | —                           | —                           | 0.139                       |
| 30                             | —                          | —                           | —                           | 0.199                       |
| 33                             | —                          | —                           | —                           | 0.239                       |
| 36                             | —                          | —                           | —                           | 0.298                       |
| 39                             | —                          | —                           | —                           | 0.360                       |
| 42                             | —                          | —                           | —                           | 0.385                       |
| 45                             | —                          | —                           | —                           | 0.405                       |
| 46                             | 0.42                       | 0.38                        | 0.35                        | 0.33                        |
| 47                             | 0.42                       | 0.38                        | 0.35                        | 0.31                        |
| 48                             | 0.42                       | 0.36                        | 0.30                        | 0.27                        |
| 50                             | 0.33 <sup>5</sup>          | 0.22                        | 0.19                        | 0.17                        |
| 52                             | 0.21                       | 0.14                        | 0.10                        | 0.07                        |
| 53                             | 0.20                       | 0.12                        | 0.09                        | 0.04                        |
| 54                             | 0.13                       | 0.04                        | 0.02                        | —                           |
| 55                             | 0.07                       | —                           | —                           | —                           |
| 56                             | 0.03                       | —                           | —                           | —                           |
| 57                             | 0.00                       | —                           | —                           | —                           |

TABEL VI.

Beginsnelheid en Voorwarmingstijd bij 45° C.

| 5' voorwarmen.   |  | 20' voorwarmen.  |  |
|--|--|--|--|
| Tijd noodig voor de ontw. van de achtereenv. 25 cM <sup>3</sup> . in seconden. | Snelheid = $\frac{25}{\text{tijd}} = v.$ | Tijd noodig voor de ontw. van de achtereenv. 25 cM <sup>3</sup> . in seconden. | Snelheid = $\frac{25}{\text{tijd}} = v.$ |
| 64   | 0.39                                     | 65   | 0.38                                     |
| 59   | 0.42                                     | 60   | 0.41                                     |
| 61   | 0.41                                     | 59   | 0.42                                     |
| 63   | 0.40                                     | 61   | 0.41                                     |

Nu zou men nog kunnen onderstellen, dat de gist bij de verhitting op 45° C. weliswaar niet bij voortdoring wordt

beschadigd, maar dat de verwarming een onmiddellijke beschadiging had teweeg gebracht. Dat hierbij dan echter zeker niet van een „blijvende” beschadiging (afsterving) sprake is, leerde eene afzonderlijke proefneming, waarbij voor een zekere gistconcentratie de snelheid eerst bepaald werd op 20° C., daarna een zelfde hoeveelheid gedurende 20 minuten op 45° C. werd gebracht, vervolgens snel tot 20° C. afgekoeld en nu gebruikt werd voor een nieuwe snelheidsbepaling bij die laatste temperatuur. De beide bepalingen op 20° C. leverden volkomen dezelfde uitkomst, zooals te zien is in tabel VII, welke op deze proeven betrekking heeft.

TABEL VII.

Beginsnelheid bij 20° C. vóór- en ná verwarming op 45° C.

| Geen voorverwarming op 45° C.   |  | Vooraf 20' verwarmd op 45° C.   |   |
|---|--|---|---|
| Tijd noodig voor de ontw. van de achtereenv. 10 c.M <sup>3</sup> . CO <sub>2</sub> in seconden. | Snelheid bij 20°<br>$v = \frac{10}{t}$ . | Tijd noodig voor de ontw. van de achtereenv. 10 c.M <sup>3</sup> . CO <sub>2</sub> in seconden. | Snelheid bij 20° C.<br>$v = \frac{10}{t}$ . |
| 124   | 0.081                                    | 120   | 0.083                                       |
| 118   | 0.084                                    | 123   | 0.081                                       |
| 123   | 0.081                                    | 118   | 0.084                                       |
| 117   | 0.084                                    | 124   | 0.081                                       |
| 116   | 0.085                                    | 119   | 0.083                                       |
| 120   | 0.083                                    | 123   | 0.081                                       |

Voor de temperatuur van 45° en daar beneden vallen dus de 4 lijnen, die men in de figuren 4*a-i* waarneemt, samen en loopen horizontaal. In de grafische voorstelling van 't verband tusschen gistingssnelheid en temperatuur wordt dus voor deze temperaturen voor de 4 tijden van waarneming één enkele kromme gevonden, zooals dit in fig. 1 van plaat III is te zien.

Opmerkelijk is het, dat deze kromme voor temperaturen beneden ongeveer 35° convex loopt ten opzichte van de temperatuur-as, boven die temperatuur echter concaaf.

Ook blijkt, dat reeds bij „onschadelijke temperaturen” het

temperatuurs-quotiënt van VAN 'T HOFF afneemt met stijgen der temperatuur, zooals uit de volgende cijfers is te zien (deels uit de grafische voorstelling afgelezen):

$$\frac{V_{30}}{V_{20}} = 2.3, \quad \frac{V_{35}}{V_{25}} = 2.0, \quad \frac{V_{40}}{V_{30}} = 1.8, \quad \frac{V_{45}}{V_{35}} = 1.5.$$

Deze afname is veel sterker dan die, welke bij aannahme van de formule van ARRHENIUS zou zijn te verwachten (zie blz. 11).

Boven 45° C. blijkt de duur der voorwarming wel grooten invloed uit te oefenen op de snelheid; bij deze temperaturen werden dan ook voor de 4 voorwarmingstijden 4 verschillende krommen gevonden. Noemt men de snelheid na 5 minuten  $V_5$ , die na 10 minuten  $V_{10}$ , na 15 minuten  $V_{15}$  en na 20 minuten  $V_{20}$ , dan ziet men uit de grafische voorstelling, dat bij die schadelijke temperaturen:  $V_5 > V_{10} > V_{15} > V_{20}$  en verder, dat  $V_5 - V_{10} > V_{10} - V_{15} > V_{15} - V_{20}$ . Verder bleek, dat bij 57° na 5 minuten voorwarmen geen gisting meer plaats vond, hier was dus het temperatuur-maximum voor 5 minuten voorwarmen bereikt.

### § 5. *De graad van afsterving en de temperatuur.*

Ten einde nu na te gaan welk gedeelte van de gistingfunctie gedurende de bij de vorige proeven gebruikte voorwarmingstijden bij de verschillende schadelijke temperaturen was verloren gegaan, werden de proefnemingen op de volgende wijze ingericht: Dezelfde hoeveelheid gist (16 gram), aangemengd met dezelfde hoeveelheid water (31.5 c.M<sup>3</sup>.) als gebruikt werd bij de bepaling der 4 optimumkrommen, werd gedurende dezelfde voorwarmingstijden (nl. 5, 10, 15 en 20 minuten) ook op weer dezelfde schadelijke temperaturen verwarmd, zoo snel mogelijk afgekoeld tot 45° C., bij welke temperatuur van de aldus behandelde gist de gistingssnelheid op de vroeger beschreven wijze werd bepaald.

Uit fig. 2 op bl. 121, is nu af te lezen, welke hoeveelheid gist bij 45° C. de op bovengenoemde wijze gevonden gistingssnelheid heeft. De oorspronkelijk gebruikte hoeveelheid gist verminderd

met de aldus afgelezene geeft dus aan, welk gedeelte der gistingsfunctie blijvend is verloren gegaan of juist uitgedrukt: de hoeveelheid gist, welke die gistkracht zou hebben gehad, die nu verloren is gegaan, kortweg genoemd: de afgestorven hoeveelheid gist. <sup>1)</sup> Deze hoeveelheid werd in percenten van de gebruikte hoeveelheid uitgedrukt.

Ook bij deze proeven deed zich weer het bezwaar voor, dat de gist niet onmiddellijk op de gewenschte temperatuur kwam. Hieraan werd echter op geheel dezelfde wijze tegemoet gekomen als bij de proefnemingen, beschreven in de vorige paragraaf, zoodat in beide gevallen dezelfde (weinig beteekende) onnauwkeurigheid in de voorverwarming bestond en de resultaten van beide proeven vergelijkbaar zijn.

De uitkomsten der waarnemingen en de daaruit op boven aangegeven wijze berekende percentages afgestorven gist, vindt men in tabel VIII in cijfers en in fig. 5 grafisch voorgesteld.

TABEL VIII.  
Graad van afstervingen Temperatuur.

| Temp.<br>in<br>graden<br>Celsius | Voorwarming 5 min.   |  |  | Voorwarming 10 min.  |  |  | Voorwarming 15 min   |  |  | Voorwarming 20 min.  |  |  |
|----------------------------------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
|                                  | Tijd t,<br>noodig<br>voor<br>75 cM <sup>3</sup> .<br>CO <sub>2</sub> in<br>sec. *) | Begin-<br>snelh.<br>$v_0 = \frac{75}{t}$ | Graad<br>van<br>afster-<br>ving<br>in %. | Tijd t,<br>noodig<br>voor<br>75 cM <sup>3</sup> .<br>CO <sub>2</sub> in<br>sec. *) | Begin-<br>snelh.<br>$v_0 = \frac{75}{t}$ | Graad<br>van<br>afster-<br>ving<br>in %. | Tijd t,<br>noodig<br>voor<br>75 cM <sup>3</sup> .<br>CO <sub>2</sub> in<br>sec. *) | Begin-<br>snelh.<br>$v_0 = \frac{75}{t}$ | Graad<br>van<br>afster-<br>ving<br>in %. | Tijd t,<br>noodig<br>voor<br>75 cM <sup>3</sup> .<br>CO <sub>2</sub> in<br>sec. *) | Begin-<br>snelh.<br>$v_0 = \frac{75}{t}$ | Graad<br>van<br>afster-<br>ving<br>in %. |
| 46°                              | 185  | 0.406                                    | 0.—                                      | 188  | 0.400                                    | 1.25                                     | 206  | 0.365                                    | 16.2                                     | 221  | 0.304                                    | 23.—                                     |
| 47°                              | 187  | 0.401                                    | 1.25                                     | 195  | 0.384                                    | 24.—                                     | 221  | 0.362                                    | 17.—                                     | 258  | 0.291                                    | 39.—                                     |
| 48°                              | 188  | 0.400                                    | 1.25                                     | 213  | 0.352                                    | 20.—                                     | 255  | 0.294                                    | 37.5                                     | 281  | 0.267                                    | 45.6                                     |
| 50°                              | 212  | 0.354                                    | 20.—                                     | 318  | 0.236                                    | 53.—                                     | 369  | 0.203                                    | 60.—                                     | 408  | 0.184                                    | 64.4                                     |
| 52°                              | 230  | 0.326                                    | 28.—                                     | 436  | 0.172                                    | 67.—                                     | 605  | 0.124                                    | 76.—                                     | 652  | 0.115                                    | 78.—                                     |
| 53°                              | 282  | 0.266                                    | 55.—                                     | 625  | 0.120                                    | 77.—                                     | 1411   | 0.053                                    | 90.—                                     | 1970   | 0.038                                    | 92.—                                     |
| 54°                              | 426  | 0.176                                    | 66.—                                     | 1271   | 0.059                                    | 89.—                                     | 7353   | 0.010                                    | 98.—                                     | —  | —  | —  |
| 55°                              | 862  | 0.087                                    | 83.—                                     | 6250   | 0.012                                    | 97.6                                     | ∞  | 0.000                                    | 100.—                                    | —  | —  | —  |
| 56°                              | 1974   | 0.038                                    | 92.—                                     | —  | —  | —  | —  | —  | —  | —  | —  | —  |
| 57°                              | ∞  | 0.000                                    | 100.—                                    | —  | —  | —  | —  | —  | —  | —  | —  | —  |

\*) Waar de tijd voor het opvangen van 75 cM<sup>3</sup>. CO<sub>2</sub> zeer lang was, werd minder opgevangen en de in deze kolommen voorkomende tijden uit de waargenomen tijden berekend.

<sup>1)</sup> Men zie ook hetgeen omtrent deze uitdrukkingwijze door mij in Hoofdstuk X § 2 wordt opgemerkt.

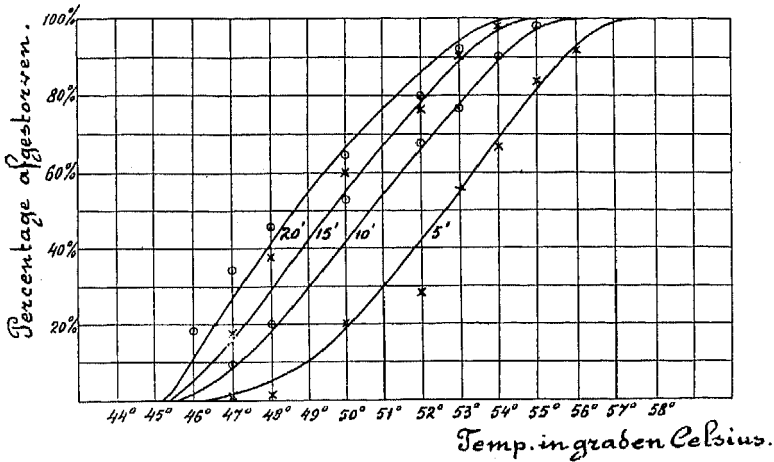


FIG. 5.

De vier lijnen in deze figuur zijn dus de „afstervingskrommen” voor 5, 10, 15 en 20 minuten voorwarmen.

### § 6. Berekening der optimumkromme voor het geval geen afsterving intreedt.

Voor de berekening der optimumkromme, die zou gevonden worden, indien de hooge temperaturen geen blijvend schadelijke werking op de gistingsfunctie uitoefenden, werd nu op de volgende wijze te werk gegaan:

1. Uit de afstervingskrommen is af te lezen, welk gedeelte der gistingsfunctie gedurende een bepaalden voorwarmingstijd, bijv. 10 minuten, op een zekere temperatuur, bijv. op 52° C., is afgestorven; in ons voorbeeld: 67 %. Hieruit is dus onmiddellijk te berekenen, welk deel der gistingsfunctie niet verloren is gegaan, dus levend is gebleven; dit is in ons voorbeeld: 33 % of 5.3 gram, beantwoordende aan een gistconcentratie van 11,3 %.

2. Uit de grafische voorstelling voor het verband tusschen gistingsnelheid en gistconcentratie (fig. 2) is af te lezen de snelheid, die de oorspronkelijk gebruikte hoeveelheid gist bij 45° C.



heeft, als zij niet te voren op een schadelijke temperatuur is voor-  
gewarmd. Verder is uit deze figuur af te lezen de gistingssnel-  
heid der nog levend gebleven gistingfunctie bij diezelfde  
temperatuur. Onmiddellijk is dus nu na te gaan, in welke  
mate de gistingssnelheid bij 45° C. door de verwarming gedu-  
rende dien bepaalden tijd op de schadelijke temperatuur achteruit  
is gegaan, door nl. te berekenen de verhouding der oorspronke-  
lijke snelheid tot deze verminderde snelheid. In het bovengestelde  
voorbeeld is dit:  $\frac{0,325}{0,14}$  (zie voor de verklaring der overeenkom-  
stige cijfers in tabel IX de noot daaronder).

3. Neemt men nu aan, dat het verband tusschen snelheid  
en gistconcentratie bij hogere temperaturen hetzelfde is als  
dat bij 45°, wat wel zeer waarschijnlijk is, dan verkrijgt men  
de theoretische snelheid, die op zou treden, wanneer afsterving  
achterwege bleef, door de bij de bedoelde temperatuur en  
voorwarmingstijd gevonden snelheid te vermenigvuldigen met  
de zoevengenoemde verhouding. In het boven beschouwde  
geval zou deze theoretische snelheid bedragen:

$$\frac{0,325}{0,14} \times 0,142^5 = 0,33$$

Verricht men deze becijfering voor waargenomen snelheden  
voor eenzelfde voorwarmingstijd maar bij verschillende tem-  
peraturen, dan vindt men de gezochte theoretische kromme  
voor het verband tusschen de snelheid en de temperatuur  
voor het geval niets afstierf gedurende dien voorwarmingstijd.

Voert men nu deze berekening uit voor elk der 4 ver-  
schillende optimumkrommen, dan moet men, indien werkelijk  
gedurende geen dier voorwarmingstijden van afsterving sprake  
was, uit ieder dezer krommen dezelfde theoretische kromme  
vinden die het bedoelde snelheid-temperatuur-verband geeft.

In werkelijkheid vindt men 4 krommen; daar echter de over-  
eenkomstige punten der 4 krommen slechts zeer weinig uit  
elkaar liggen, kon dit feit worden toegeschreven aan waar-  
nemingsfouten.

TABEL IX.

Berekening der theoretische kromme.

| Tempe-<br>ratuur in<br>graden C. | Tijd van<br>voorwarming<br>in minuten. | Verhouding<br>snelh. bij 45°<br>vóór en na<br>verwarm. 1) | Uit de gra-<br>fische voorst.<br>afgelezen<br>snelheid. 1) | Berekende<br>snelheid<br>zonder<br>afsterven. 1) | Gemiddelde<br>snelheid<br>zonder<br>afsterven. 1) |
|----------------------------------|--|---|--|--|---|
| 46°                              | 20'                                    | 13/12.1   | 15.9   | 17.1   | 17.1  |
| 47°                              | 5'                                     | 13/12.8   | 16.7   | 17.1   | 17.1  |
|                                  | 10'                                    | 13/12.25  | 16.8   | 17.3   |   |
|                                  | 15'                                    | 13/11.5   | 15.1   | 17.1   |   |
|                                  | 20'                                    | 13/10.4   | 13.6   | 17.-   |   |
| 48°                              | 5'                                     | 13/12.5   | 16.5   | 17.2   | 16.7  |
|                                  | 10'                                    | 13/11.3   | 15.2   | 17.5   |   |
|                                  | 15'                                    | 13/10.4   | 13.-   | 16.-   |   |
|                                  | 20'                                    | 13/8.8  | 11.-   | 16.2   |   |
| 49°                              | 5'                                     | 13/12.2   | 15.6   | 16.6   | 16.4  |
|                                  | 10'                                    | 13/10.3   | 13.2   | 16.7   |   |
|                                  | 15'                                    | 13/8.7  | 10.8   | 16.2   |   |
|                                  | 20'                                    | 13/7.3  | 8.5  | 15.2   |   |
| 50°                              | 5'                                     | 13/11.4   | 14.-   | 16.-   | 15.8  |
|                                  | 10'                                    | 13/8.8  | 11.1   | 16.5   |   |
|                                  | 15'                                    | 13/7.3  | 8.5  | 15.2   |   |
|                                  | 20'                                    | 13/5.5  | 6.1  | 15.4   |   |
| 51°                              | 5'                                     | 13/10.3   | 11.7   | 14.8   | 14.7  |
|                                  | 10'                                    | 13/7.3  | 8.1  | 14.4   |   |
|                                  | 15'                                    | 13/5.5  | 6.-  | 14.2   |   |
|                                  | 20'                                    | 13/3.6  | 4.4  | 15.4   |   |
| 52°                              | 5'                                     | 13/8.8  | 9.1  | 13.4   | 13.5  |
|                                  | 10'                                    | 13/5.6  | 5.7  | 13.2   |   |
|                                  | 15'                                    | 13/3.6  | 3.7  | 13.4   |   |
|                                  | 20'                                    | 13/2.6  | 2.7  | 13.5   |   |
| 53°                              | 5'                                     | 13/7.2  | 6.3  | 11.4   | 12.3  |
|                                  | 10'                                    | 13/3.6  | 3.2  | 11.6   |   |
|                                  | 15'                                    | 13/1.6  | 1.6  | 13.-   |   |
|                                  | 20'                                    | 13/0.8  | 0.8  | 13.-   |   |
| 54°                              | 5'                                     | 13/5.2  | 3.7  | 9.3  | 10.5  |
|                                  | 10'                                    | 13/1.8  | 1.6  | 11.6   |   |

1) Als eenheid dezer snelheid werd hier genomen: 0.025 c.M<sup>3</sup>. CO<sub>2</sub> per sec., omdat dit de aflezing uit de grafische voorstelling vorgemakkelijkte.

Van de 4 overeenkomstige punten, voor bepaalde temperaturen uit de verschillende krommen berekend, werd nu het gemiddelde genomen. De door de aldus verkregen punten getrokken kromme werd als het best aan de gezochte beantwoordend beschouwd.

Tabel IX geeft een overzicht van de waarden, gebruikt bij de berekening dier kromme.

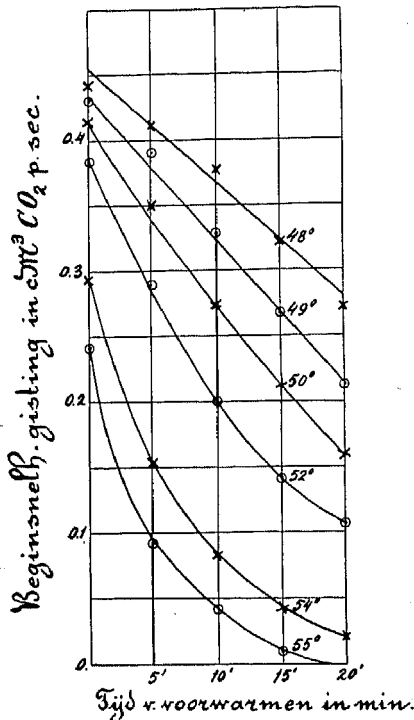


FIG. 6.

kromme als die voor 0 minuten voorwarmen aanduiden, zal dan ook in de volgende paragraaf worden gemotiveerd.

#### § 7. Enkele conclusies uit de berekening der optimumkromme.

Zoals in Hoofdstuk II § 3 werd uiteengezet, ging BLACKMAN voor het zoeken van de lijn, die zonder afsterving het snel-

De 4 verschillende punten der theoretische kromme, welke voor elke temperatuur werden gevonden, zijn in fig. 1 van Plaat III aangeduid met de cijfers 1, 2, 3 en 4 en het daaruit berekende gemiddelde door een cirkeltje.

Er zij nogmaals op gewezen, dat de aldus gevonden kromme aangeeft het berekende verband tusschen de begin-gistingssnelheid en de temperatuur bij afwezigheid van afsterven door verhitting. Hierbij is niet gebruik gemaakt van de onderstelling, dat in 0 minuten voorwarmen geen afsterving optreedt.

Waarom wij in onze fig. 1 van Plaat III de hier bedoelde

kromme als die voor 0 minuten voorwarmen aanduiden, zal dan ook in de volgende paragraaf worden gemotiveerd.

heid-temperatuursverband zou weergeven, uit van de onderstelling, dat bij 0 minuten voorwarmen niets zou zijn afgestorven. Door nu voor constante schadelijke temperatuur het verband tusschen de reactiesnelheid en den tijd van voorwarmen grafisch voor te stellen, trachtte hij, die snelheid bij 0 minuten voorwarmen te bepalen en wel door extrapolatie.

Bovengenoemd verband is nu ook hier voor 4 verschillende schadelijke temperaturen grafisch voorgesteld in fig. 6. Men ziet daaruit, dat door de 5 punten, die aangeven de gevonden snelheden voor voorwarmingstijden van 5, 10, 15 en 20 minuten en de „berekende” snelheid bij afwezigheid van afsterven zeer goed een vloeiende kromme is te trekken. Dit toont eensdeels de juistheid van de aanname, dat bij 0 minuten voorwarmen niets is afgestorven, anderdeels, dat ook door extrapolatie dezelfde waarden voor de laatstgenoemde snelheid zou kunnen worden gevonden. Tevens ligt hierin de rechtvaardiging van de omstandigheid, dat wij de theoretische kromme als die „voor 0 minuten voorwarmen” aanduiden.

Neemt men aan, dat de begin-gistingssnelheid recht evenredig is met de hoeveelheid (nog werkzame) gist, hetgeen blijkens fig. 2 niet volkomen juist is, maar dan toch wel bij benadering geldt, dan geeft fig. 6 ook het verband tusschen de nog actieve deel der gistingfunctie en den tijd van voorwarming. Is nu de opvatting van TAMMANN omtrent de afsterving der enzymen met den tijd juist, dan zouden, zooals wij op blz. 108 zagen, deze lijnen voor te stellen zijn door de formule:

$$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{y}.$$

In het geval der alcoholgisting stelt  $a$  voor de begin-gistingssnelheid na 0 minuten voorwarmen en  $y$  de gistingssnelheden na den voorwarmingstijd  $t$ .

Inderdaad blijkt door de gevonden waarden vrij goed aan deze formule voldaan te worden, zoo vindt men bijv. voor een temperatuur van  $55^{\circ}$ :

|              |             |             |             |
|--------------|-------------|-------------|-------------|
| $a = 0.225.$ | $t = 5'$    | $t = 10'$   | $t = 15'$   |
|              | $y = 0.095$ | $y = 0.04$  | $y = 0.012$ |
|              | $k = 0.074$ | $k = 0.075$ | $k = 0.080$ |

| k blijkt dus werkelijk vrij constant te zijn.

Ook op andere wijze kan men echter door extrapolatie de

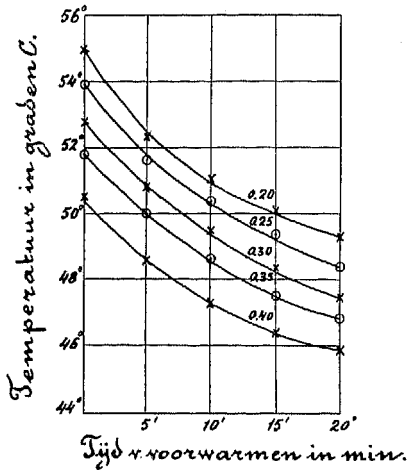


FIG. 7.

nullijn trachten te benaderen en wel door grafisch voor te stellen het verband tusschen den tijd van voorwarming en de temperatuur voor bepaalde constante gistingssnelheden. Dit is voor een 5-tal verschillende snelheden uitgevoerd in fig. 7. Hierbij blijkt eveneens, dat de 4 punten der experimenteel gevonden optimumkrommen en het daarbij behorende punt der door berekening benaderde theoretische lijn zeer

goed door een vloeiende kromme zijn te verbinden.

Het is dus mogelijk langs twee verschillende extrapolatiemethoden tot dezelfde nullijn te komen, welke in § 6 door berekening werd gevonden.

## HOOFDSTUK VI.

### Zuurstofademhaling der alcoholgist.

---

#### § 1. *Voorloopige waarnemingen en beschrijving van de proefinrichting.*

Van de bestudeerde functies heeft de ademhaling de meeste zorg veroorzaakt bij de uitvoering der experimenten. Er moet nl. voldaan worden aan drie voorwaarden:

- 1<sup>e</sup>. De zuurstofdruk moet constant blijven, zoodat er geen sprake kan zijn van een invloed eener verandering der zuurstofconcentratie op de ademhaling tijdens de proef.
- 2<sup>e</sup>. De waarnemingsgetallen moeten zoo groot mogelijk zijn ten opzichte van de waarnemingsfouten.
- 3<sup>e</sup>. Van den anderen kant moeten de tijden voor de proefnemingen zoo klein mogelijk genomen worden, omdat anders geen snelheid op een *bepaald* oogenblik kan worden afgelezen.

Het is nu verder nauwkeuriger om als maatstaf der ademhaling niet de koolzuurafscheiding te nemen, doch de zuurstofabsorptie. Koolzuurafscheiding immers kan ook tengevolge van andere functies als ademhaling plaats hebben, zoo bijv. tengevolge van zelfgisting.

Aan alle ideeën ter uitvoering mijner ademhalingsproeven lag dus ten grondslag om op een of andere nauwkeurige, vlugge wijze, een zuurstofafname te kunnen meten, 't zij dat de zuurstof in opgelosten toestand gebruikt werd en dan zou de bepaling titrimetrisch kunnen plaats hebben, 't zij in gas-toestand en dan kon de meting volumetrisch geschieden. Daar nu aanvankelijk een titrimetrische methode doeltreffender leek

dan een volumetrische, zoo was het eerste plan ook op een titrimetrische zuurstofbepaling gebaseerd.

Dit eerste plan bestond daarin, dat een gistsuspensie zou worden geschud met zuurstofhoudend water gedurende een zeker tijdsverloop, waarvóór en waarna het zuurstofgehalte door titreeren zou worden bepaald; deze methode stuitte echter op een onoverkomelijk bezwaar. Bij deze inrichting der proef moest nl. de afname der zuurstofconcentratie vrij aanzienlijk genomen worden, wilde de waarneming niet al te groote fouten bezitten. Er zou dus geen sprake zijn van de bepaling der [zuurstofademhaling bij een constante zuurstofconcentratie.

Van verdere proeven met titrimetrische zuurstofbepaling werd om dezelfde reden dan ook geheel afgezien, zoodat het grondidee bij de verdere proeven was: een zuurstofafname volumetrisch te meten.

Een tweede methode werd nu beproefd en wel berustte deze op het beginsel: een zekere hoeveelheid zuurstof door een geperforeerd platinablikje als kleine belletjes in een bepaalden tijd door een gistsuspensie te jagen en het gas daarna op te vangen in een eudiometer. De volume-afname zou dan waar te nemen zijn en een maat vormen voor de ademhalingsintensiteit. Het bedoelde toestel

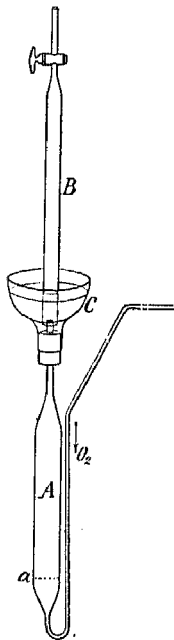


FIG. 8.

is afgebeeld in figuur 8, waaruit de inrichting zonder verdere toelichting is af te lezen.

Doch ook deze inrichting bleek niet te gebruiken te zijn; bij het doorblazen der zuurstof ontstond nl. zulk een schuimvorming, dat de gistsuspensie voor 't grootste deel werd meegenomen. Om dit schuimen tegen te gaan werd boven op de gistsuspensie olie gegoten; ook oliezuur werd beproefd. Het schuimen bedaarde wel een weinig, maar toch werd de olie door het zich

in de suspensie vormende schuim weggedrongen, weldra weer in gelijke mate gevolgd door de gistsuspensie.

Nu werd het denkbeeld opgevat de gist toe te passen in den toestand, waarin zij door de fabriek wordt afgeleverd, en wel uitgespreid in zoo dun mogelijke lagen en met zoo groot mogelijk oppervlak, waarover heen nu een bepaalde hoeveelheid gas gedurende zekeren tijd zou moeten strijken. Het gevormde  $\text{CO}_2$  kon daarna worden geabsorbeerd door een sterke KOH-oplossing en de volume afname bepaald.

Het eerste toestelletje, slechts vervaardigd ter oriëntering, bestond uit twee ronde glazen platen, waarop langs den rand een ongeveer 1 c.M. breede en 2 m.M. dikke glazen ring was gekit, waardoor twee zeer ondiepe glazen bakjes ontstonden. In den glasring van een der bakjes werden tegenover elkaar twee gleufjes gemaakt, waarin capillaire buisjes voor toe- en afvoer van gas werden bevestigd. Beide doozen werden nu zorgvuldig geheel met droge gist gevuld en met een scherp voorwerp glad afgestroken, waardoor twee fraaie oppervlakken ontstonden. De aldus gevulde doozen werden nu op elkaar gezet met een caoutchouc ring tusschen de glazen ringen en dus zóó, dat de gistoppervlakken naar elkaar toe waren gekeerd, op een afstand van elkaar, gelijk aan de dikte van de gebruikte caoutchouc ring. Daarna werden de bakjes door klemmen luchtdicht op elkaar gedrukt. De capillaire toevoerbuisjes werden nu bevestigd resp. aan een gasburet met kwik, welke de bepaalde hoeveelheid zuurstofhoudend gas bevatte en aan een gasburet met sterke KOH-oplossing om 't gevormde  $\text{CO}_2$  te absorbeeren. Door nu de open beenen der genoemde gasbureten beurtelings op en neder te halen, was 't mogelijk 't gas heen en weer te doen gaan door de doos.

Het toestel werd beproefd bij  $30^\circ \text{C}$ ., gedompeld in een waterbad van die temperatuur. Nu bleek het echter, dat ook deze inrichting verre van ideaal was te noemen. Vooreerst was gewone glaskit niet bestand tegen langdurige onderdompeling in lauw water. Bovendien, en dit bleek een afdoend bezwaar



te zijn tegen de methode, waren de gistlagen reeds na zeer korten tijd in een hevige zelfgisting geraakt, waardoor de mooie oppervlakken geheel bedorven waren.

Deze zelfgisting was veroorzaakt door gebrek aan zuurstof in de onderste gistlagen. 't Was dus zaak de proef zoodanig in te richten, dat de gistlagen zoo dun mogelijk waren, bovendien moest bedacht worden, dat indien de gist geen koolstofvoedsel ter beschikking stond, het glycogeen gehalte der cellen bij de ademhaling zou verminderen, waardoor een afname der intensiteit van dit proces tijdens de proef mogelijk zou te achten zijn. Het was dus wenschelijk voor een ruimen toevoer van voedende bestanddeelen tijdens de proef zorg te dragen.

Aan beide voorwaarden zou worden voldaan door op een vasten voedingsbodem (moutagar) een dunne suspensie van gist brengen en deze daarop door cultuur bij 30° C. tot een continue laag te laten uitgroeien.

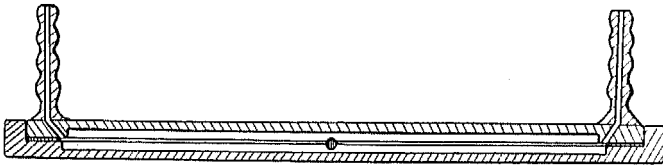


FIG. 9.  
( $\frac{1}{2}$  nat. grootte).

Tegen het uit elkaar weeken van het toestel, was niets anders te doen, dan het te vervangen door een metalen apparaat. 't Meest geschikte metaal was wel nikkel, daar dit zeer weinig aangetast wordt door 't eenigszins zure moutextract.

Alzoo werd een nikkelen apparaat vervaardigd volgens het schema, weergegeven in fig. 9, geheel dus volgens hetzelfde principe als het oorspronkelijke glazen toestelletje. Ook hier werd ter bevordering van een gasdichte sluiting, tusschen de randen der beide bakjes een caoutchouc ring gelegd; bodem en deksel werden dan met behulp van een zestal klemmen op elkaar gedrukt, waardoor de sluiting volkomen bleek te zijn.

Vóór de proef werden de dozen zorgvuldig gesteriliseerd en tot even onder den rand gevuld met moutagar, welke voedingsbodern voor ons doel bijzonder geschikt was, wegens zijn hooge smelttemperatuur, n.l.  $\pm 65^{\circ}$ , waardoor men zeker was, dat hij bij alle temperaturen, die voor de proeven in aanmerking kwamen, vast zou blijven.

De moutagarplaten werden nu intensief gedroogd door den bodern der dozen herhaaldelijk voorzichtig boven een gasvlam te verhitten, waardoor het bij het vast worden uit de agar geperste en ook een gedeelte van het colloïdaal vastgehouden water ontweek, zoodat de agar in staat was nieuwe quantiteiten water op te nemen.

De laagjes, die door den groei der op de platen uitgezaaide gist verkregen werden, bleken echter doorgaans te onregelmatig om er een bepaling mede uit te voeren.

Veel eenvoudiger bleek het te zijn, de gist in de gewenschte concentratie in water gesuspendeerd uit te strijken over de zorgvuldig horizontaal gestelde, gedroogde moutagar-oppervlakken. Des namiddags werden de platen op deze wijze toebercid, waarna ze den geheelen nacht op een koele plaats bleven staan. Het grootste deel van het water der suspensie trok dan in de agar en de gist bleef als een dunne zeer regelmatige laag achter op de oppervlakte van den voedingsbodern.

De aldus verkregen gistlaagjes waren nu zoo stevig, dat zonder gevaar van afdruppen de twee doos-helften, slechts van elkaar gescheiden door een caoutchouc ring, op elkander konden geklemd worden.

Een groot voordeel van deze methode boven die, waarbij gist op de moutagar werd gecultiveerd, was de omstandigheid, dat men het in de hand had om de hoeveelheid gist op de platen naar willekeur te varieeren, waardoor het ook mogelijk was den invloed van die „hoeveelheid” op de adembaling te bestudeeren. Een ander voordeel boven de zoeven genoemde werkwijze was, dat de platen nu in veel korteren tijd gereed waren, terwijl het verder niet meer noodig was de dozen

vooraf te steriliseeren en de platen voor infectie te behoeden, daar die platen koud bewaard werden en de proef in korten tijd afliep.

Ter verkrijging van een gelijkmatige verdeling van den gasstroom over de oppervlakte der platen, werd loodrecht op de richting van dien gasstroom een glazen staafje gelegd, iets korter dan de inwendige diameter van de doos, en zóó dik, dat het zoowel de onderste als de bovenste gistlaag raakte, wanneer de doos gesloten was.

De gasstroom werd bij het later te beschrijven heen en weer

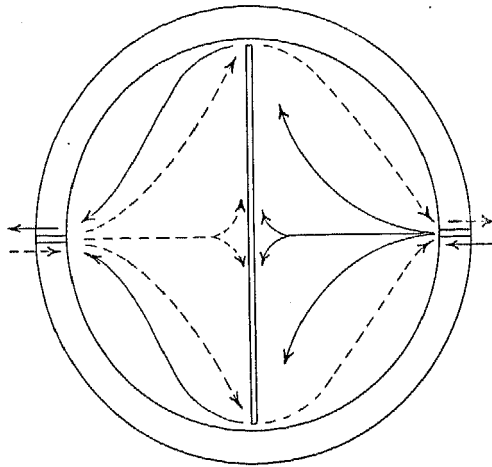


FIG. 10.

pompen van het gas, beurtelings in de eene en de tegenovergestelde richting geleid en wel zooals dit door de getrokken en de gestippelde pijlen in fig. 10 is aangegeven, zoodat ieder deel van het gistoppervlak door het heen en weer stroomende gas werd bereikt.

Het spreekt van zelf, dat ook de verdere opzet der proeven

niet onmiddellijk de voor het gebruik meest geschikte was, de definitieve opstelling ontstond langzamerhand door het aanbrengen van vele verbeteringen, die bij de voorloopige proefnemingen noodig bleken.

Ten slotte was nu de *inrichting der proefnemingen* de volgende (zie plaat II):

De nikkelen doos, welke in het waterbad *A* op de gewenschte temperatuur werd gehouden, stond door middel van twee capillaire caoutchouc slangen in verbinding eenerzijds met het

been *kw* van een kwikburet, welke de bepaalde hoeveelheid zuurstofhoudend gas bevatte, anderzijds met het been *ka* van een kaliburet. Dit been is voorzien van omgebogen glazen staaftjes, waardoor de absorptie van het  $\text{CO}_2$  door de sterke kali-oplossing bevorderd wordt.

Door nu het open been *kw'* van de kwikburet op en neer te bewegen, stroomde zuurstof heen en weer over de gistplaten op de wijze als vroeger is weergegeven en werd telkenmale in *ka* van koolzuur bevrijd.

Om het zuurstofhoudend gas, zoowel in de buretten als in de doos op de gewenschte temperatuur te houden, werd ook om de vaststaande buizen der buretten een glascylinder als waterbad *W*, aangebracht, terwijl om het op en en neer te halen been *kw'* der kwikburet een caoutchouc slang was getrokken. Het waterbad *W* stond met het waterbad *A* in

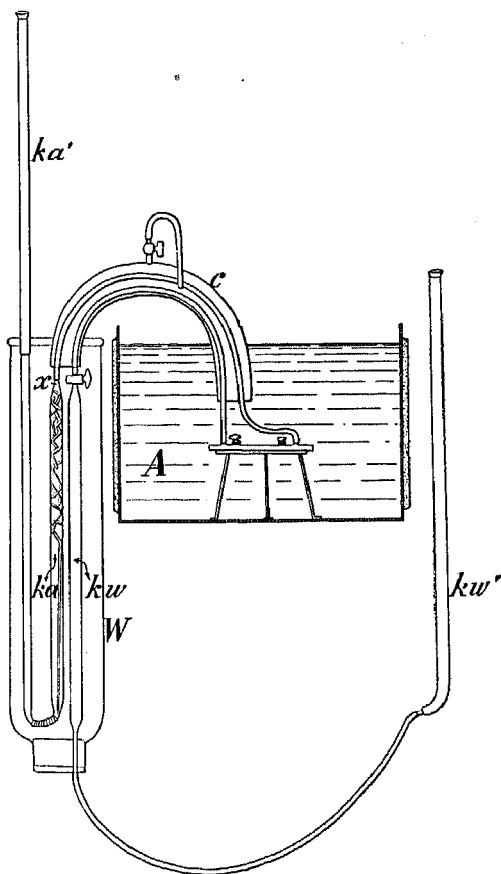


FIG. 11.

verbinding door een looden buis *c*, waar door ook de twee boven genoemde capillaire buizen komend van de doos liepen (zie ook fig. 11). Deze omgebogen buis werd vóór het begin der proef door middel van een op het hoogste punt aangebracht kraantje met water uit de waterbaden volgezogen.

Een circulatie van het water door de twee waterbaden werd nu tot stand gebracht door een pomp  $P$ , welke het water uit  $W$  in den bak  $A$  voerde terwijl dan gelijktijdig het water van  $A$  in  $W$  over loopt door de buis  $c$ . De loop van het water is in Plaat II door pijlen aangegeven. Hierdoor werd niet alleen een volkomen gelijkheid der temperatuur in  $A$  en  $W$  bereikt, niettegenstaande  $W$  zelf niet verwarmd werd, maar werd tevens het gas in de capillaire buizen op diezelfde temperatuur gehouden.

De aflezing had op de volgende wijze plaats: De kaliburet was zoodanig gevuld, dat wanneer de niveaus in de beide beenen daarvan gelijkstonden, de buis  $ka$ , waarin de koolzuur-absorptie plaats had, juist gevuld was tot een bepaald merkteeken  $x$ . Bij dezen stand van de kaliloog heerscht dan ook voortaan steeds in het toestel de spanning van 1 atmosfeer. In dit geval staat ook het kwik in de beide beenen van de kwikburet op gelijke hoogte, de stand van het kwik in  $kw$  geeft dus dan aan het volume zuurstof van atmospherischen druk in dit been. Om de 5 minuten, tijdens welke voortdurend gas heen en weer over de platen werd gepompt, door  $kw'$  op en neer te bewegen, werd nu afgelezen de stand, welke het kwik in  $kw$  heeft, wanneer de kali op het merkteeken  $x$  staat. Door het verschil der aflezingen was dan onmiddellijk bepaald de hoeveelheid zuurstof, welke in die 5 minuten was geabsorbeerd.

Zooals later zal blijken, was het bij onze proeven noodzakelijk op zeer vlugge wijze het water in  $A$  op andere temperatuur te kunnen brengen, hetgeen dan geschiedde door zoo snel mogelijk  $A$  te ledigen en weer te vullen met water van de gewenschte temperatuur. Daartoe werd eerst water in bak  $B$  op de gewenschte temperatuur gebracht, zoodat dit steeds bij de hand was. Hevel  $a$  was in staat het waterbad  $A$  in den tijd van 20 secunden in een bak  $C$  leeg te hevelen, waarna in ongeveer denzelfden tijd  $A$  met het water van  $B$  kon gevuld worden met behulp van hevel  $b$ . De waterverwisseling in  $A$  kon dan ook binnen 1 minuut plaats hebben.

Ten slotte zij nog vermeld, dat ten behoeve van de snelle afkoeling met koud water bij de afstervingsproeven in *A* een inrichting was aangebracht om de doos onmiddellijk door het openen van een kraan der waterleiding geheel met koud water te kunnen besproeien, welke inrichting op Plaat II door *d* is aangeduid (ze is niet in fig. 11 aangegeven).

Uit voorloopige proefnemingen met het op deze wijze uitgeruste toestel gedaan, bleek, dat door de gistlagen, elk bevattende 1 gram gist, dus te samen 2 gram, bij 30° C. in den tijd van 5 minuten ongeveer 5 c.M<sup>3</sup>. zuurstof van die temperatuur werd geabsorbeerd, wanneer zuivere zuurstof werd gebruikt.

Herhaalde proeven met doode gist leerden dat deze geen zuurstof absorbeert, toonden bovendien aan, dat het toestel luchtdicht sloot en bij onze proefnemingen geen absorptie plaats had door de caoutchoucslangen en andere deelen van het apparaat.

## § 2. *Lucht of Zuurstof?*

Alvorens nu over te kunnen gaan tot de definitieve proefnemingen moest uitgemaakt worden, welk gehalte aan zuurstof zich voor de bestudeering der ademhaling het best eigende.

Het rationeelste ware geweest om lucht te gebruiken; dit bracht echter vele bezwaren mede. Eerstens zou bij de inrichting onzer proeven, de ademhaling met lucht, zooals in de volgende paragraaf zal worden aangetoond, niet intensief genoeg zijn om betrouwbare resultaten te verkrijgen; het zal trouwens duidelijk zijn, dat hoe geringer de ademhalingsintensiteit is, hoe meer invloed de onvermijdelijke waarnemingsfouten hebben. In de tweede plaats zou bij gebruik van lucht, de samenstelling van het gas niet constant blijven, daar bij elke proef uitgegaan werd van een bepaald volume gas, dat dus steeds armer wordt aan zuurstof, naarmate de proefneming voortduurt.

Voor deze proefnemingen zou dus zuivere zuurstof het meest geschikte ademhalingsgas zijn, waardoor zoowel het eerste als het tweede bezwaar zou zijn ondervangen. Nog een voordeel van het gebruik van zuurstof zou ook zijn, dat men

minder afhankelijk zou wezen van den tijd, die er verloopt tusschen het aanzetten van het apparaat en de eerste aflezing. Daar de ademhaling onmiddellijk begint, zou men bij gebruik van lucht dien tijd in aanmerking moeten nemen, om te kunnen berekenen welke de zuurstofconcentratie was op het oogenblik dier eerste aflezing. Bij het gebruik van zuurstof blijft de zuurstofconcentratie steeds 100 %, daar het gevormde koolzuur voortdurend geabsorbeerd wordt door de sterke KOH-oplossing in de eene buret.

Doch nu deed zich de vraag voor of deze zuivere zuurstof-atmosfeer niet schadelijk zou zijn voor de proefobjecten.

Nu loopen de meeningen over het al of niet schadelijk zijn van zuivere zuurstof voor levende organismen, nog al uiteen. Zoo vond BERT<sup>1)</sup> bij proeven omtrent den invloed van de zuurstofspanning op de kieming van plantenzaden, dat toename van zuurstofgehalte soms geen invloed op de kiemingssnelheid had, maar dat zij deze meestal versnelde. Bij 80 à 90 % zuurstof, gelijkstaande met den partieelen zuurstofdruk van lucht tot 11 atmosferen samengeperst, bleek de kieming vertraagd te worden en dus scheen dit hooge zuurstofgehalte schadelijk te zijn.

BÖHM, RISCHAWI<sup>2)</sup> en DÉHERAIN en MOISSAN<sup>3)</sup> vonden daarentegen bij hunne proeven over de ontkieming en ademhaling van planten, dat de intensiteit van het beschouwde proces niet verschillend is bij gebruik van lucht of van zuurstof, dus evenmin versneld als vertraagd wordt door verhooging der zuurstofspanning.

BORODIN (l. c.) en ook GODLEWSKI<sup>4)</sup> vonden echter, dat de ademhalingsnelheid in zuivere zuurstof veel grooter was dan in lucht; van eenige schadelijkheid voor de proefobjecten wordt echter geen gewag gemaakt.

---

<sup>1)</sup> C. R. 76, 1873, p. 1493.

<sup>2)</sup> Landw. Versuchsstat. 19, 1876, S. 321.

<sup>3)</sup> Ann. de sc. nat. 19, 1874, p. 321.

<sup>4)</sup> Jahrb. f. Wiss. Bot. 13, 1882, S. 19.

Uit mijne voorloopige proefnemingen bleek eveneens, dat er althans geen *merkbare* beschadiging optrad bij het gebruik van zuivere zuurstof. Een schadelijke werking zou men toch dadelijk bemerken bij de waarnemingen, daar dan bij een onschadelijke temperatuur de ademhaling reeds tijdens een voortgezette proefneming achteruit zou moeten gaan, hiervan was echter geen sprake, zelfs al werd ook de proef gedurende 1 uur voortgezet, terwijl de eigenlijke proefnemingen alle ongeveer slechts drie kwartier duurden. Mocht dus ook al zuivere zuurstof op den duur schadelijk inwerken op de gist, zoo zou deze schadelijkheid voor onze proeven zijn te verwaarloozen als vallende geheel binnen de waarnemingsfouten.

Alles bij elkaar genomen, voelde ik mij voldoende gerechtigd zuivere zuurstof te bezigen.

Om een zuurstofatmosfeer in het ademhalingsapparaat te verkrijgen, werd vóór den aanvang der snelheidsbepaling bij 30°, welke aan iedere proef vooraf ging, de lucht in de nikkelen doos en in de caoutchouc slangen verdrongen door zuurstof. Daarna werden deze laatste verbonden met de kwikburet, welke de zuurstof bevatte en de kaliburet, die geheel met kaliloog gevuld was.

### § 3. *De ademhaling en de zuurstofspanning.*

In verband met het onder § 2 besprokene en mede met het oog op hetgeen bij de alcoholgisting werd waargenomen, was het ook wel de moeite waard na te gaan in hoeverre de partieele zuurstofspanning invloed heeft op de intensiteit der ademhaling.

Te dien einde werden resp. gebruikt zuivere lucht, waarvan aangenomen werd, dat de samenstelling was 21 0/0 O<sub>2</sub> en 79 0/0 N<sub>2</sub>, een mengsel van 4 volumedeelen lucht op 5 deelen zuurstof, hetgeen met 65 0/0 O<sub>2</sub> en 35 0/0 N<sub>2</sub>, en een van 5 volumina lucht op 4 deelen O<sub>2</sub>, hetgeen met 43.6 0/0 O<sub>2</sub> en 56.4 0/0 N<sub>2</sub> overeenkomt.

Bij het gebruik van deze mengsels moesten voorzorgsmaat-



regelen genomen worden door 't feit, dat de ademhaling onmiddellijk begint, wanneer het apparaat in elkander is gezet. Daarom moest zorgvuldig de tijd worden waargenomen, die verliep tusschen het verbinden van de doos met de buretten en de eerste aflezing, welk tijdsverloop altijd op 1 minuut werd afgestapt. De in die eene minuut geabsorbeerde hoeveelheid  $O_2$  werd bij benadering berekend uit het geabsorbeerde volume gedurende de volgende waarnemingsperiode. Deze cijfering was noodig voor de berekening der totale hoeveelheid oorspronkelijk in 't geheele apparaat aanwezige zuurstof, waarmede men bekend moest zijn om de afname der partieele zuurstofspanningen tijdens de op elkaar volgende tijdperken van ademhaling te kunnen vinden, zooals later nader uiteen zal worden gezet. Werd lucht gebruikt, dan werden de aflezingen gedaan met tusschenpoozen van een kwartier, terwijl bij de andere mengsels de aflezingen plaats hadden iedere 10 minuten.

Deze proeven geschieden alle bij  $30^\circ C$ . De resultaten voor elk der 3 gasmengsels vindt men vereenigd in tabel X *a*, *b* en *c*.

TABEL X.

Ademhaling en Zuurstofspanning.

*a.*

*Lucht.*

Temp. waterbad:  $30^\circ C$ ., hoeveelheid gist per plaat: 1 gram.  
Aflezingen iedere 15 min.

|  |                |
|--|----------------|
| Inhoud gasruimte tusschen de gistplaten.....                     | 53.8 $cm^3$ .  |
| Inhoud caoutchouc buizen . . . . .                               | 4.7 "          |
| Hoeveelheid lucht in de buret. . . . .                           | 82.4 "         |
| Totaal aanwezige lucht bij 't begin.....                         | 140.9 $cm^3$ . |
| Totale hoeveelheid $O_2$ aanwezig bij 't begin.....              | 29.4 "         |
| Hoeveelheid $O_2$ geabsorbeerd in 1 <sup>e</sup> minuut.....     | 0.5 "          |
| Hoeveelheid $O_2$ aanwezig bij 1 <sup>e</sup> aflezing . . . . . | 28.9 $cm^3$ .  |

| Vol.geabs.<br>O <sub>2</sub> in 10' | Snelh. in c.M. <sup>3</sup><br>geabs. p. 5' | Bij afl. aanw.<br>vol.O <sub>2</sub> in c.M. <sup>3</sup> | Percent.O <sub>2</sub> bij<br>de aflezigen. | Gemidd. % O <sub>2</sub> , waarbij<br>snelh. uit 2 <sup>o</sup> kolom. |
|-------------------------------------|---|---|---|--|
| 6.4                                 | 2.1   | 28.9  | 20.5  | 18.8   |
| 6.—                                 | 2.—   | 22.5  | 16.—  | 18.8   |
| 5.6                                 | 1.9   | 16.5  | 11.7  | 9.7  |
| 4.8                                 | 1.6   | 10.9  | 7.7   | 6.5  |
| 3.4                                 | 1.1   | 6.1   | 5.3   | 3.6  |
| 2.—                                 | 0.7   | 2.7   | 1.9   | 1.2  |
| 0.6                                 | 0.2   | 0.7   | 0.5   | 0.25   |
| 0.—                                 | 0.—   | 0.1   | 0.001                                       | 0.001  |

b. *Gasmengsel: 5 dln. lucht en 4 dln. zuurstof.*

Temp. waterbad: 30° C., hoeveelheid gist per plaat: 1 gram.  
Afllezigen iedere 10 min.

|   |                         |
|---|-------------------------|
| Inhoud gasruimte tusschen de gistplaten.....                          | 36.8 cM <sup>3</sup> .  |
| Inhoud caoutchouc buizen.....   | 4.7 „                   |
| Hoeveelheid lucht in de buret.....                                    | 93.— „                  |
| Totaal aanwezig gasmengsel bij 't begin.....                          | 134.5 cM <sup>3</sup> . |
| Totale hoeveelheid O <sub>2</sub> aanwezig bij 't begin.....          | 75.— „                  |
| Hoeveelheid O <sub>2</sub> geabsorbeerd in 1 <sup>e</sup> minuut..... | 0.8 „                   |
| Hoeveelheid O <sub>2</sub> aanwezig bij 1 <sup>e</sup> aflezing.....  | 74.2 cM <sup>3</sup> .  |

| Vol.geabs.<br>O <sub>2</sub> in 10' | Snelh. in c.M. <sup>3</sup><br>geabs. p. 5' | Bij afl. aanw.<br>vol.O <sub>2</sub> in c.M. <sup>3</sup> | Percent.O <sub>2</sub> bij<br>de aflezigen. | Gemidd. % O <sub>2</sub> , waarbij<br>snelh. uit 2 <sup>o</sup> kolom. |
|-------------------------------------|---|---|---|--|
| 8.4                                 | 4.2   | 74.2  | 55.5  | 54.—   |
| 7.6                                 | 3.8   | 65.8  | 52.5  | 51.—   |
| 7.4                                 | 3.7   | 58.2  | 49.5  | 44.8   |
| 6.8                                 | 3.4   | 50.8  | 46.1  | 44.3   |
| 6.8                                 | 3.4   | 44.—  | 42.5  | 40.5   |
| 5.6                                 | 2.8   | 37.2  | 38.5  | 36.6   |
| 5.2                                 | 2.6   | 31.6  | 34.7  | 32.8   |
|                                     |   | 26.4  | 30.8  |  |

c. *Gasmengsel: 4 dln. lucht en 5 dln. zuurstof.*

Temp. waterbad: 30° C., hoeveelheid gist per plaat: 1 gram.  
Afleringen iedere 10 min.

|   |                         |
|---|-------------------------|
| Inhoud gasruimte tusschen de gistplaten.....                          | 38.5 cM <sup>3</sup> .  |
| Inhoud caoutchouc buizen.....   | 4.7 „                   |
| Hoeveelheid lucht in de buret.....                                    | 93.4 „                  |
| <hr/>   |                         |
| Totaal aanwezig gasmengsel bij 't begin.....                          | 136.6 cM <sup>3</sup> . |
| Totale hoeveelheid O <sub>2</sub> aanwezig bij 't begin.....          | 88.2 „                  |
| Hoeveelheid O <sub>2</sub> geabsorbeerd in 1 <sup>e</sup> minuut..... | 0.8 „                   |
| <hr/>   |                         |
| Hoeveelheid O <sub>2</sub> aanwezig bij 1 <sup>e</sup> aflerzing..... | 87.4 cM <sup>3</sup> .  |

| Vol.goabs. O <sub>2</sub> in 15' | Snelh. in c.M. <sup>3</sup> geabs. p. 5' | Bij afl. aanw. vol.O <sub>2</sub> in c.M. <sup>3</sup> | Percent.O <sub>2</sub> bij de afleringen. | Gemidd. % O <sub>2</sub> , waarbij snelh. uit 2 <sup>o</sup> kolom. |
|----------------------------------|--|--|---|---|
| 8.4                              | 4.2                                      | 87.4   | 64.4                                      | 63.2  |
| 8.4                              | 4.2                                      | 79.—   | 62.—                                      | 60.7  |
| 7.8                              | 3.9                                      | 70.6   | 59.3                                      | 57.9  |
| 8.6                              | 4.3                                      | 62.8   | 56.5                                      | 54.7  |
| 7.6                              | 3.8                                      | 54.2   | 52.8                                      | 50.9  |
| 7.2                              | 3.6                                      | 46.6   | 49.1                                      | 47.—  |
| 5.—                              | 2.5                                      | 39.4   | 44.9                                      | 43.8  |
|                                  |  | 34.4   | 41.6                                      |   |

Een volledig overzicht over den samenhang van de snelheid met de zuurstofspanning vindt men in tabel XI.

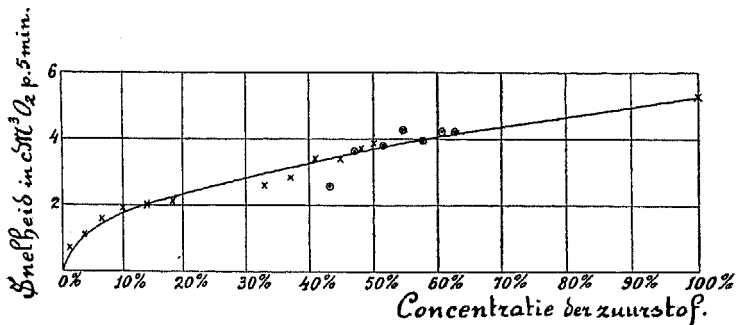


FIG. 12.

Als waarde van de zuurstofconcentraties behoorende bij de waargenomen gemiddelde snelheid werd beschouwd de gemiddelde waarde der concentraties, die voor 't begin en het einde der aflezingsperioden golden.

TABEL XI.

## Ademhaling en Zuurstofspanning.

| Partieele spanning<br>der zuurstof (p): | Waargenomen snelh.<br>in c.M <sup>3</sup> . geabs. p. 5'<br>(v <sub>0</sub> ): | Snelheid berekend<br>volgens:<br>$v_0 = 0.56 \times p^{0.49}$ : |
|---|--|---|
| 0.25                                    | 0.2  | 0.27  |
| 1.2                                     | 0.7  | 0.6   |
| 3.6                                     | 1.1  | 1.0   |
| 6.5                                     | 1.6  | 1.4   |
| 9.7                                     | 1.9  | 1.7   |
| 13.8                                    | 2.0  | 2.0   |
| 18.3                                    | 2.1  | 2.3   |
| 32.8                                    | 2.6  | 3.0   |
| 36.6                                    | 2.8  | 3.2   |
| 40.5                                    | 3.4  | 3.4   |
| 44.3                                    | 3.4  | 3.6   |
| 47.0                                    | 3.6  | 3.6   |
| 47.8                                    | 3.7  | 3.7   |
| 50.0                                    | 3.8  | 3.8   |
| 50.9                                    | 3.8  | 3.8   |
| 54.0                                    | 4.2  | 3.9   |
| 54.7                                    | 3.9  | 3.9   |
| 60.7                                    | 4.2  | 4.1   |
| 63.2                                    | 4.2  | 4.2   |

Overzichtelijker dan de tabellen is de grafische voorstelling der uitkomsten (fig. 12). Uit die figuur ziet men, dat de waarnemingen met het zuurstofrijkere mengsel gedaan, zich zeer goed aansluiten bij de proeven met lucht, en ook, dat de lijn vloeiend doorgetrokken kan worden naar 't punt, dat de snelheid bij dezelfde temperatuur weergeeft met zuivere zuurstof.

Bij de ademhaling heeft men nu weer te maken met een dis-

continu systeem, waarbij de zuurstof eerst in 't water moet worden opgelost en dan door of in de oppervlakte der gist wordt geadsorbeerd. Nu mag men hier weer als waarschijnlijk beschouwen een evenredigheid tusschen de ademhalingsnelheid en de zuurstofconcentratie in het oppervlaktelaagje en bedenkt men, dat het oplossen van zuurstof in water geschiedt volgens de wet van HENRY, dan ligt het voor de hand ook hier na te gaan de al of niet geldigheid der adsorptieformule:

$$v_0 = \beta p^q,$$

waarin  $p$  voorstelt de partieele spanning der zuurstof. De berekening van  $\beta$  en  $q$  geschiedde uit de waarnemingen met behulp van dezelfde waarschijnlijkheidsformules als gebruikt werden in Hoofdstuk V § 3. Er werd gevonden voor  $\beta = 0.550$  en voor  $q = 0.449$ ; de formule wordt dan:

$$v_0 = 0.556 \times p^{0.494}.$$

De volgens deze formule berekende waarden voor  $v_0$  stemmen, zooals tabel X te zien geeft, zeer goed overeen met de experimenteel gevondenen.

#### § 4. *De ademhaling en de gisthoeveelheid.*

Het spreekt vanzelf, dat de invloed der hoeveelheid gist op de ademhalingsintensiteit bij onze proeven slechts beperkt kon zijn; wordt n.l. die hoeveelheid groot, zoodat de gistlagen zóó dik worden, dat de zuurstof de onderste lagen niet kan bereiken, dan vindt men in verhouding een veel te kleine zuurstofopname.

Uit de getallen van tabel XII, welke alle desbetreffende waarnemingen bevat en uit de grafische voorstelling (fig. 13) ziet men dan ook, dat een gisthoeveelheid van 1 gram per laag (d. i. de doorgaans door ons gebruikte hoeveelheid) wel ongeveer de grens is, waarvoor nog juist alle gist mede doet aan de ademhaling; daarbeneden vindt men nagenoeg evenredigheid, daarboven treden belangrijke afwijkingen hiervan op. Dit was

ook te constateeren uit den toestand der gistplaten na afloop der proefnemingen. Hadden n.l. de onderste gistlagen, zooals bij de dikkere platen het geval was, gebrek aan zuurstof, dan ver-  
toonen zij, zelfgisting, hetgeen kenbaar is aan de vorming van kleine kratertjes, veroorzaakt door koolzuurbelletjes.

TABEL XII.

## Ademhaling en Gisthoeveelheid.

| Hoev. gist p. plaat. | c.M. <sup>3</sup> CO <sub>2</sub> geabsorbeerd.<br>in 5 Min. | Gemidd. aantal c.M. <sup>3</sup><br>CO <sub>2</sub> geabs. in 5 min. |
|----------------------|--|--|
| 1/4 gram.            | 1.6  | 1.75   |
|                      | 1.8  |  |
|                      | 1.8  |  |
|                      | 1.8  |  |
| 1/2 gram.            | 3.—  | 2.9  |
|                      | 2.8  |  |
|                      | 2.8  |  |
|                      | 3.—  |  |
| 1 gram.              | 5.2  | 5.2  |
|                      | 5.2  |  |
|                      | 5.2  |  |
| 1 1/2 gram.          | 6.—  | 5.85   |
|                      | 5.8  |  |
|                      | 5.8  |  |
| 2 gram.              | 7.—  | 7.—  |
|                      | 7.—  |  |
|                      | 7.—  |  |

Nu heerscht er echter bij de kleinere hoeveelheden gist ook geen „volkomen” evenredigheid tusschen gisthoeveelheid en ademhaling, hetgeen waarschijnlijk daaraan moet worden toegeschreven, dat ook bij lagen met minder dan 1 gram gist de zuurstofspanning onder in de laag niet volkomen gelijk is aan die aan de bovenzijde daarvan. De afwijking van de

evenredigheid is echter zoo gering, dat ze voor de verdere beschouwingen buiten rekening kan gelaten worden. Wanneer

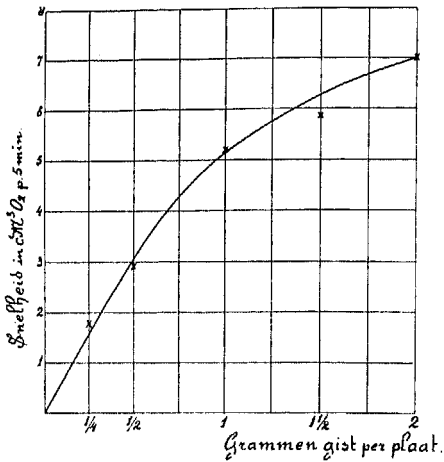


FIG. 13.

dan ook bij de proeven, die verder beschreven zullen worden, een deel van de gist door verhitting onwerkzaam wordt, dan mag men toch aannemen, dat de overblijvende gist door de geheele plaatdikte onder gelijke spanning blijft verkeerren.

De uitkomsten zelve dezer proeven werden echter toch niet gebruikt voor de berekening der

theoretische nullijn uit de optimum-krommen, hetgeen nader gemotiveerd zal worden in § 6.

### § 5. *Het temperatuur-optimum.*

De invloed van de temperatuur op de ademhalingsnelheid werd ook bestudeerd door bepaling der snelheid na resp. 5, 10 en 15 minuten voorwarmen. Deze 3 bepalingen konden, dank zij de inrichting der proefnemingen, verricht worden met een en dezelfde gistplaat.

Om de waarnemingen bij verschillende temperaturen, die wèl met verschillende gistplaten moesten geschieden, volkomen vergelijkbaar te doen zijn, werd telkens van elke te gebruiken gistplaat eerst de ademhalingsintensiteit bij 30° bepaald. Na afloop hiervan werd het bad door hevel *a* geleegd en dan gevuld met water van de gewenschte temperatuur, dat door hevel *b* uit bak *B* werd aangevoerd. Onmiddellijk wanneer nu het waterbad *A* gevuld was, werd een chronometer aangezet,

het cilinderglas *W* met water uit het waterbad A gevuld, de kleine hevel *c* in werking gezet en het water flink rondgepompt. In 1 minuut kwamen dan de waterbaden op constante temperatuur. Steeds werd echter van het eerste moment af, waarop de plaat in het bad kwam, voortdurend zuurstof door de doos gepompt om de gist geen gebrek daaraan te doen lijden en zelfgisting te voorkomen, die wellicht blijvend invloed op de ademhalingsintensiteit zou kunnen uitoefenen.  $2\frac{1}{2}$  Minuut na 't volloopen van het waterbad werd voor het eerst afgelezen, hetgeen daarna telkens om de 5 minuten werd herhaald. Bij de 2<sup>e</sup> aflezing, die dus plaats had  $2\frac{1}{2}' + 5' = 7\frac{1}{2}'$  na het volloopen van het bad, nam men dus waar het volume zuurstof, dat geabsorbeerd was gedurende den tijd tusschen de 1<sup>e</sup> en de 2<sup>e</sup> aflezing. Bij onschadelijke temperaturen bleef de geabsorbeerde hoeveelheid zuurstof in iedere volgende 5 minuten dezelfde en hiervoor was er dus geen bezwaar de waarde van de „beginsnelheid” der zuurstofademhaling onmiddellijk aan te geven. Daar de absorptiesnelheid gedurende de bedoelde 5 minuten bij schadelijke temperatuur afnam, werd voor die temperaturen aangenomen, dat de waargenomen „gemiddelde snelheid” voorstelt de snelheid, die de zuurstofabsorptie heeft, nadat de verschillende 5 minuten voor de helft zijn afgeloopen. Voor de eerste periode is dit  $2\frac{1}{2}$  minuut na de 1<sup>e</sup> aflezing of wel 5 minuten na het begin der proef en dus stelt deze snelheid voor de „aanvangsnelheid” der ademhaling na 5 minuten voorwarmen op de gebruikte temperatuur. Op dezelfde wijze stelt het geabsorbeerde volume tusschen de 2<sup>e</sup> en 3<sup>e</sup> aflezing voor, de snelheid na 10 minuten, en dat tusschen de 3<sup>e</sup> en 4<sup>e</sup> aflezing de snelheid na 15 minuten voorwarmen.

Voor de vergelijking der ademhalingssnelheden bij verschillende temperaturen moesten de afgelezen, geabsorbeerde volumina alle omgerekend worden op 0° C. en 760 mM. Daar echter de barometerstand in het tijdsverloop, waarin de proeven werden verricht, slechts zeer weinig veranderde en om 760 mM. schommelde, kon de omrekening voor de drukwijzigingen achterwege blijven. Wel moest de snelheid worden herleid op 0° C.



en daartoe werd, om voor verschillende gistplaten onderling vergelijkbare cijfers te krijgen, gedeeld door de op 0° gereduceerde snelheid bij 30°, welke uitkomst daarna met 10 is vermenigvuldigd. Hierbij werd dus de op 0° gereduceerde snelheid bij 30° steeds gelijk 10 gesteld. Het zijn nu de op deze wijze voor verschillende temperaturen verkregen getallen, welke weergeven het gezochte verband tusschen de ademhalingsnelheid en de temperatuur. Deze getallen vindt men vereenigd in tabel XIII, terwijl de grafische voorstelling daarvan gegeven wordt door fig. 2 van Plaat III. Ook uit deze figuur blijkt weer, dat de optimumkrommen voor 10' en 15' voorwarmen dichter bij elkaar komen dan die bij 5' en 10'. Verder ziet men dat de afsterving begint bij ongeveer 37°, dat wil dus zeggen, dat boven die temperatuur de gedurende de proef achtereenvolgens geabsorbeerde hoeveelheden zuurstof afnemen.

TABEL XIII.

## Ademhaling en Temperatuur.

| Temp.<br>in graden<br>Celsius. | Ademhaling<br>bij 30°.                                 |   | Verwarming 5'<br>(na 2½' voorwarmen).                               |   |   | Verwarming 10'.   |   |   | Verwarming 15'.   |   |   |
|--------------------------------|--|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
|                                | waarg.<br>vol. der<br>O <sub>2</sub> -abs.<br>bij 30°. | vol.<br>geabs.<br>zuurst.<br>ger. tot<br>0° = v <sub>30</sub> . | waarg.<br>vol. der<br>O <sub>2</sub> -abs.<br>in c.M <sup>3</sup> . | vol.<br>geabs.<br>O <sub>2</sub> om-<br>gerok<br>op 0°. | vol.<br>geabs.<br>O <sub>2</sub> verm.<br>met $\frac{10}{v_{30}}$ . | waarg.<br>vol. der<br>O <sub>2</sub> -abs.<br>in c.M <sup>3</sup> . | vol.<br>geabs.<br>O <sub>2</sub> om-<br>gerok<br>op 0°. | vol.<br>geabs.<br>O <sub>2</sub> verm.<br>met $\frac{10}{v_{30}}$ . | waarg.<br>vol. der<br>O <sub>2</sub> -abs.<br>in c.M <sup>3</sup> . | vol.<br>geabs.<br>O <sub>2</sub> om-<br>gerok<br>op 0°. | vol.<br>geabs.<br>O <sub>2</sub> verm.<br>met $\frac{10}{v_{30}}$ . |
| 15.8°                          | 4.8  | 4.3   | —   | —   | —   | —   | —   | —   | 2.3   | 2.15  | 4.35  |
| 23.6°                          | 4.8  | 4.3   | —   | —   | —   | —   | —   | —   | 3.7   | 3.4   | 7.9   |
| 35.8°                          | 5.4  | 4.8   | —   | —   | —   | —   | —   | —   | 7.3   | 6.4   | 13.4  |
| 37.-°                          | 3.8  | 3.4   | —   | —   | —   | —   | —   | —   | 5.9   | 5.2   | 15.3  |
| 39.4°                          | 5.4  | 4.8   | 9.2   | 8.—   | 16.3  | 8.2   | 7.2   | 14.7  | 7.4   | 6.4   | 13.1  |
| 42.-°                          | 5.1  | 4.6   | 8.4   | 7.3   | 15.8  | 7.4   | 6.4   | 14.—  | 6.6   | 5.7   | 12.4  |
| 46.-°                          | 4.9  | 4.4   | 6.4   | 5.5   | 12.5  | 5.6   | 4.8   | 10.9  | 4.4   | 3.8   | 8.7   |
| 49.6°                          | 4.8  | 4.4   | 4.4   | 3.7   | 8.4   | 3.2   | 2.7   | 6.—   | 2.4   | 2.—   | 4.5   |
| 52.-°                          | 6.2  | 5.5   | 2.6   | 2.2   | 4.—   | 2.—   | 1.7   | 3.1   | 1.6   | 1.4   | 2.5   |

Berekenen wij nu voor het enkelvoudige gedeelte der snelheid-temp.-lijn de snelheidsquotienten voor 10° temperatuursverschil, dan vinden wij de volgende cijfers:

$$\frac{V_{25}}{V_{15}} = 1.6; \quad \frac{V_{30}}{V_{20}} = 1.6; \quad \frac{V_{35}}{V_{25}} = 1.6; \quad \frac{V_{37}}{V_{27}} = 1.6.$$

In tegenstelling dus met hetgeen gevonden werd bij de alcoholgisting, en zooals we zien zullen ook bij de invertine-werking geldt, blijft hier het snelheidsquotiënt voor  $10^{\circ}$  tot onmiddellijk nabij de schadelijke temperaturen zeer constant op 1.6. Weliswaar is dit getal vrij klein en beneden 2, toch is het nog te groot om hieraan een argument te ontleenen voor de opvatting, dat de ademhalingsintensiteit zou geregeld worden door een physisch proces.

Toch is het zeker, dat bij de ademhaling physische processen in 't spel zijn, nl. diffusie der zuurstof door den celwand der gistcellen naar binnen en van gevormd  $\text{CO}_2$  naar buiten. Naar alle waarschijnlijkheid zal echter deze diffusie voor den zeer dunnen gistwand zeer snel plaats vinden in vergelijk met de snelheid der inwendig optredende verbranding. <sup>1)</sup> 't Zijn dan toch de veranderingen der snelheid van dit laatste proces, welke worden waargenomen gedurende de proefnemingen.

#### § 6. *De afsterving.*

In verband met de wijze van inrichting der proeven, beschreven in § 5 werden ook de onderzoekingen over de afsterving verricht voor verwarmingstijden van 5, 10 en 15 minuten.

De inrichting der proefnemingen was als volgt: Eerst werd de ademhalingsintensiteit bij  $30^{\circ}$  bepaald, daarna door middel der meergenoemde hevels het bad geleegd en weer gevuld met water van de gewenschte temperatuur. Geheel in overeenstemming met de proeven voor de bepaling der optimumkrommen werd ook hier weer het begin der proeven gerekend samen te vallen met 't vol zijn van het bad. De gist werd onder voortdurend overleiden van zuurstof gedurende den verlangden tijd op een bepaalde schadelijke temperatuur gehouden. Na afloop hiervan werd het water uitgeheveld en de kraan der afkoelingsbuizen

---

<sup>1)</sup> Vergelijk ook de waarneming van HARDEN en ROWLAND l. c. op bl. 82 van dit Proefschrift, maar vooral onze beschouwingen omtrent de diffusie van glucose door den celwand in Hoofdstuk IX, § 2.

open gezet, zoodat de plaat onmiddellijk na afloop der verwarming werd afgekoeld.

Bij deze proeven moest echter de tijd in aanmerking genomen worden, gedurende welken de doos tijdens het leegloopen van het bad nog onder water blijft; deze bedroeg ongeveer 20 seconden. Verder kwam de doos door 't afkoelen niet onmiddellijk op een onschadelijke temperatuur, ook hiervoor was eenige tijd noodig. Deze tijd was echter door middel van een thermoelement, dat in de doos werd aangebracht gemakkelijk te bepalen. Was de temperatuur van het bad, dus ook die van de doos  $52^{\circ}$ , dan bedroeg deze tijd ongeveer  $10''$ , was die temperatuur  $56^{\circ}$  dan ongeveer  $15''$ .

Men ziet dus, dat wanneer men de afkoeling eerst zou laten beginnen, wanneer precies de gewenschte tijd van verwarming was verstreken de gist gedurende ongeveer 30 seconden te lang op schadelijke temperatuur zou blijven. Er zou dus iets te veel zijn afgestorven, hetgeen invloed zou hebben op de uitkomsten der proeven van 5 minuten verwarmen; voor 10 min. en 15 min. verwarmen, zou die invloed slechts gering zijn.

Deze  $35''$ , die de gist noodig heeft om op onschadelijke temperatuur te komen, werden daarom afgetrokken van den verwarmingstijd, en wel door  $35''$  vóórdát deze verwarmingstijd om was, de bak reeds leeg te hevelen.

Na de afkoeling werd het waterbad zoo vlug mogelijk met behulp van het weggevoelde warme water, dat met koud water vermengd werd, weer op  $30^{\circ}$  gebracht en opnieuw de ademhalingsintensiteit bij die temperatuur bepaald. Ook hier werd weer niet onmiddellijk met de aflezing begonnen, doch eerst na verloop van 20 minuten om zeker te zijn, dat de gewenschte temperatuur ( $30^{\circ}$  C.) overal bereikt was en evenwicht tusschen gas en oplossing was ingetreden.

Uit het verschil in ademhalingsintensiteit bij  $30^{\circ}$  vóór en ná de verwarming werd berekend hoeveel gist gedurende de verwarming haar ademhalingsfunctie had verloren. Hierbij werd aangenomen, dat de ademhalingsintensiteit evenredig was met

de hoeveelheid levend gebleven gist, en werd geen gebruik gemaakt van de getallen, welke in § 4 werden verkregen. Hiertoe leidde de overweging, dat er verschil is in de omstandigheden der levende gist bij de hier beschreven proeven en bij die behandeld in § 4. Bij de bepaling van het verband tusschen ademhalingssnelheid en hoeveelheid gist in § 4 was er n.l. alleen levende gist aanwezig, welke telkens over hetzelfde oppervlakte was verspreid, doch in verschillend dikke lagen, naarmate er meer of minder gist was gebruikt. Bij de hier besproken proeven daarentegen hebben de gistlagen steeds dezelfde dikte, en de afsterving is over de geheele laagdikte verdeeld. Trouwens zagen wij reeds in die § 4, dat ook bij de daar gevolgde werkwijze beneden 1 gram gist per plaat (d. i. de maximum hoeveelheid levende gist hier toegepast) vrijwel evenredigheid tusschen gisthoeveelheid en ademhaling bestond.

Wat de uitvoering der proefnemingen aangaat, zoo zij nog het volgende vermeld. Daar het bij de gevolgde werkwijze zeer moeilijk was, drie maal achtereen juist dezelfde temperatuur in het waterbad te verkrijgen, hetgeen voor de waarnemingen met 5, 10 en 15 minuten verwarmen eigenlijk noodig zou zijn, werd eerst voor een reeks verschillende temperaturen met 5 minuten verwarmen gewerkt, vervolgens met een andere serie temperaturen, die zoo goed mogelijk nabij de vorige werden gekozen, met 10 min. verwarmen, en eindelijk met een soortgelijke temperatuurreeks en 15 min. verwarmen.

De waarnemingsgetallen vindt men verzameld in tabel XIV.

Bij de grafische voorstelling dezer cijfers bleek, dat het niet goed mogelijk was met eenige zekerheid met behulp van de gevonden cijfers eenigermate continue verloopende afstervingskrommen te teekenen, daarvoor lagen de punten te veel uiteen.

Toch geeft de ligging dier punten een aanwijzing voor de conclusie, dat ook bij deze functie de afsterving plaats heeft op soortgelijke wijze als dit bij de alcoholgisting is gevonden. <sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> De kromme, die de afsterving voor 5 minuten verwarmen aangeeft, is met ruwe benadering in Fig. 29 door een gestreepte lijn weergegeven.

Daar echter deze lijnen te willekeurig moesten getrokken worden, zijn zij niet gebruikt voor de berekening van de theoretische nullijn.

TABEL XIV.

## Afsterving en Temperatuur.

| Duur der verwarming in minuten. | Temperatuur der verwarming in graden C. | Snelheid bij 30 graden C. vóór de verwarming. | Snelheid bij 30 graden C. ná de verwarming. | Afgestorven Percentage. |
|---------------------------------|---|---|---|-------------------------|
| 5                               | 40.-                                    | 5.4   | 5.2   | 3.7                     |
| 5                               | 42.5                                    | 4.7   | 4.5   | 4.2                     |
| 5                               | 45.4                                    | 5.2   | 4.6   | 11.5                    |
| 5                               | 43.4                                    | 5.5   | 4.2   | 23.6                    |
| 5                               | 48.6                                    | 5.4   | 3.6   | 33.3                    |
| 5                               | 50.5                                    | 5.-   | 1.9   | 62.-                    |
| 5                               | 50.6                                    | 5.5   | 4.6   | 16.4                    |
| 5                               | 53.-                                    | 5.3   | 1.1   | 79.3                    |
| 10                              | 40.-                                    | 5.6   | 5.2   | 7.1                     |
| 10                              | 41.8                                    | 5.7   | 5.1   | 10.5                    |
| 10                              | 38.8                                    | 6.2   | 6.2   | 0.-                     |
| 10                              | 42.-                                    | 5.4   | 4.9   | 9.3                     |
| 10                              | 45.4                                    | 5.2   | 3.9   | 25.-                    |
| 10                              | 49.6                                    | 5.2   | 2.-   | 61.5                    |
| 10                              | 51.2                                    | 5.2   | 1.3   | 75.-                    |
| 10                              | 46.2                                    | 4.6   | 3.8   | 17.4                    |
| 15                              | 40.-                                    | 5.5   | 4.8   | 12.7                    |
| 15                              | 41.5                                    | 6.-   | 5.4   | 10.-                    |
| 15                              | 44.8                                    | 5.2   | 3.5   | 32.7                    |
| 15                              | 40.5                                    | 5.8   | 5.1   | 12.1                    |
| 15                              | 49.4                                    | 5.3   | 2.1   | 60.4                    |
| 15                              | 50.8                                    | 5.2   | 0.8   | 84.6                    |
| 15                              | 50.2                                    | 4.8   | 0.9   | 81.3                    |

§ 7. *De theoretische nullijn.*

Ook hier was oorspronkelijk het doel de theoretische nullijn uit de optimumkrommen en de bijbehorende afstervingskrommen te „berekenen”. Dit is hier echter niet uitgevoerd daar,

zoals reeds in § 6 is betoogd, de bepaling der afstervingskrommen niet met de gewenschte nauwkeurigheid kon geschieden.

Er zijn, zooals in Hoofdstuk IV § 2 is uiteengezet, nu nog 2 andere manieren, waarop de verlangde nullijn kan gevonden worden.

TABEL XV.

Berekening der theoretische nulkrumme.

| Temp. in graden C. | Tijd van voorw. in min. | Uit de graf. voorst. afgel. <sup>1)</sup> snelheden. | a. <sup>1)</sup>   | Gemiddeld a <sup>1)</sup> |
|--------------------|-------------------------|--|--------------------|---------------------------|
| 40°                | 5                       | 8.2  | ( 5' en 10'): 8.97 | 8.8                       |
|                    | 10                      | 7.5  | (10' „ 15'): 8.6   |                           |
|                    | 15                      | 7.—  | ( 5' „ 15'): 8.9   |                           |
| 44°                | 5                       | 7.8  | ( 5' „ 10'): 8.7   | 8.8                       |
|                    | 10                      | 6.2  | (10' „ 15'): 7.9   |                           |
|                    | 15                      | 5.5  | ( 5' „ 15'): 8.4   |                           |
| 48°                | 5                       | 5.1  | ( 5' „ 10'): 6.8   | 6.7                       |
|                    | 10                      | 4.1  | (10' „ 15'): 7.2   |                           |
|                    | 15                      | 3.1  | ( 5' „ 15'): 6.7   |                           |
| 50°                | 5                       | 3.6  | ( 5' „ 10'): 4.8   | 5.1                       |
|                    | 10                      | 2.7  | (10' „ 15'): 5.5   |                           |
|                    | 15                      | 1.9  | ( 5' „ 15'): 5.0   |                           |
| 52°                | 5                       | 2.—  | ( 5' „ 10'): 3.3   | 3.4                       |
|                    | 10                      | 1.2  | (10' „ 15'): 3.5   |                           |
|                    | 15                      | 0.7  | ( 5' „ 15'): 3.0   |                           |

Nemen wij aan, dat ook voor de ademhaling de bekende formule van TAMMANN geldt, nl.  $k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{y}$ , dan is hieruit op de volgende wijze de nullijn te berekenen:

Uit de optimumkrommen zijn af te lezen de verschillende snelheden (y) voor de 3 tijden (t) van verwarming bij een bepaalde temperatuur. Vult men voor elken verwarmingstijd de waarden van t en y in de formule van TAMMANN in, dan krijgt men 3 vergelijkingen met 2 onbekenden, waaruit dan 3 waarden voor a (de snelheid na 0 min. verwarmen) kunnen

<sup>1)</sup> Als eenheid der snelheid werd hier genomen: 2 c.M.<sup>3</sup> O<sub>2</sub> geabs. per 5'.

worden verkregen. Het gemiddelde dezer 3 waarden werd aangenomen als de verlangde snelheid voor 0 min. verwarmen. Bij deze berekening bleek, dat ook bij de ademhaling voor de waarde  $k$  in de formule van TAMMANN, een voldoende constante waarde werd gevonden. Als voorbeeld volgt hier de berekening voor  $50^{\circ}$  C. :

$$\begin{array}{lll}
 t = 5' & t = 10' & t = 15' \\
 y = 3.6 & y = 2.7 & y = 1.9
 \end{array}$$

$$k = \frac{1}{5} \log \frac{a}{3.0} \quad (1) \quad k = \frac{1}{10} \log \frac{a}{2.7} \quad (2) \quad k = \frac{1}{15} \log \frac{a}{1.9} \quad (3).$$

Uit de vergelijkingen (1) en (2) vindt men:  $a = 4.8$  en  $k = 0.025$ .

Uit de vergelijkingen (2) en (3)  $a = 5.5$  en  $k = 0.031$ .

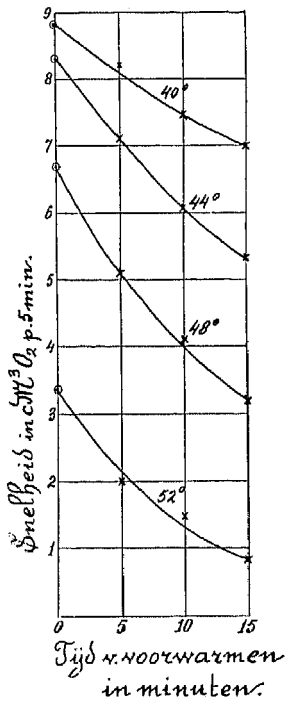


FIG. 14.

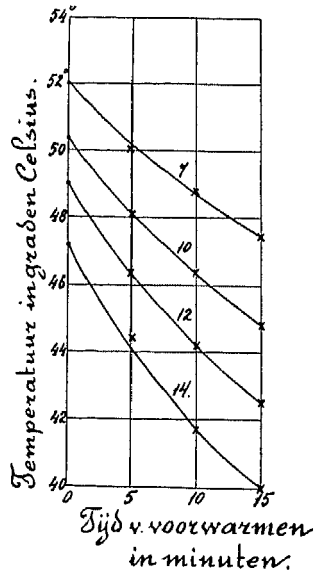


FIG. 15.

Volgens deze wijze van berekenen, bij verschillende temperaturen toegepast, werd een zeer goed verloopende kromme verkregen, welke in fig. 2 van Plaat III is gestreept, en die, zooals men ziet, ook weer een duidelijk optimum vertoont. Voor de berekening dier kromme zie men tabel XV.

Tot deze zelfde optimumkromme zou men nu ook moeten kunnen komen door extrapolatie, en wel wederom op twee verschillende wijzen, nl. door die extrapolatie toe te passen voor constante temperaturen of voor constante snelheden. Deze extrapolaties werden echter niet uitgevoerd, maar uit fig. 14 en fig. 15 blijkt duidelijk, dat door de punten, die de snelheden of temperaturen weergeven, voor 0, 5, 10 en 15 min. verwarmen, zooals die uit de grafische voorstelling voor de optimum krommen worden afgelezen, zeer goed vloeiende lijnen kunnen worden getrokken.

---

## AANHANGSEL.

### Ademhaling van Kiemplanten.

Volledigheidshalve werden ter vergelijking met de resultaten van vroegere onderzoekingen met onze proefinrichting, na aanbrengen van eene kleine wijziging, ook proeven over den temperatuursinvloed op de ademhaling met tarwekiemplantjes gedaan.

Bij deze proefnemingen werd de nikkelen doos, die bij de gistproeven werd gebruikt, vervangen door een glazen toestel, waarvan figuur 16 een afbeelding geeft, welke geen nadere toelichting behoeft.

Om de plantjes te behoeden voor gebrek aan vocht, werd de buis gevoerd met een reep vochtig filtreerpapier. Verder was in de tubus der buis een thermometer gestoken, zoodat was waar te nemen, wanneer de plantjes op temperatuur waren. Overigens waren de proeven geheel zoo ingericht, als die voor de ademhaling der gist.



Bij deze proefnemingen duurde het ongeveer 8 à 10 minuten eer de kiemplantjes op temperatuur waren. Daarom werd de voorwarmingstijd langer genomen: de 1<sup>e</sup> volume-aflezing werd n.l. uitgevoerd 10 minuten nadat het waterbad A was was volgelopen, in plaats van 2<sup>1</sup>/<sub>2</sub> minuut na dat tijdstip, zooals bij de proeven met gist. Verder werden wederom iedere 5 minuten aflezingen gedaan. Het eerst gevonden volume geabsorbeerde zuurstof had dus betrekking op een verwarmingstijd van 12<sup>1</sup>/<sub>2</sub> minuut, het tweede op een van 17<sup>1</sup>/<sub>2</sub>, het derde op een van 22<sup>1</sup>/<sub>2</sub> minuut.

Zooals te verwachten was, werd ook hier bij schadelijke temperaturen een regelmatige afname der absorptiesnelheid waargenomen.

De resultaten dezer proefnemingen vindt men in cijfers in tabel XVI en de grafische voorstelling daarvan op Plaat III, fig. 3.

Ter vergelijking der snelheden bij de verschillende temperaturen werd ook hier telkens van te voren de ademhalingssnelheid bepaald bij 30° C. en de snelheden bij de andere temperaturen omgerekend op een standaard-snelheid bij

die temperatuur hier die van 2 c.M<sup>3</sup>. O<sub>2</sub>, geabsorbeerd per 5 minuten. Men was dan ook onafhankelijk van de gebruikte hoeveelheid kiemplantjes, welke doorgaans ongeveer 70 gram bedroeg.

Uit de cijfers ziet men, dat door de hier bij een proef genomen hoeveelheid kiemplantjes totaal veel minder zuurstof werd verbruikt dan door de vroeger bij een proef toegepaste hoeveelheid gist, toch zijn de gevonden cijfers nog groot genoeg om afname bij schadelijke temperatuur met vrij groote nauwkeurigheid waar te nemen. De 3 optimumkrommen, welke voor de verschillende tijden van verwarming werden gevonden,

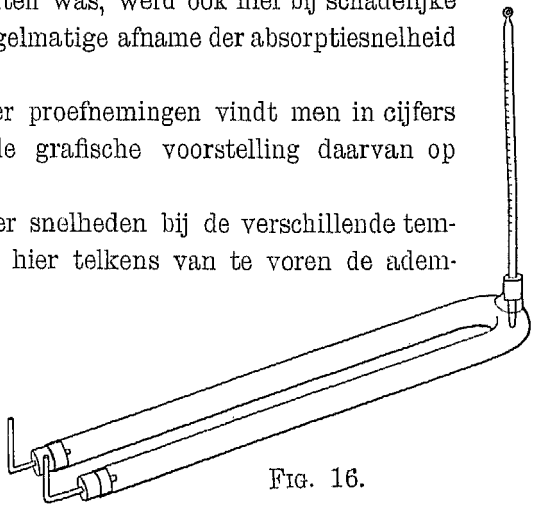


FIG. 16.

vertoonen dan ook geheele overeenkomst met die voor de ademhaling der gist.

De bepaling der afstervingskrommen bleek voor deze proefobjecten echter met nog veel minder nauwkeurigheid verricht te kunnen worden dan voor de gist. Dit behoeft niet te verwonderen, immers deze proeven met kiemplantjes brengen de volgende bezwaren mede:

Ten eerste het gebruik van een glazen apparaat, waardoor het op temperatuur komen en de afkoeling veel minder snel geschieden dan bij toepassing van een nikkelen doos. De afkoelingstijd van 52° tot 40° bedroeg  $\pm$  4 minuten; wel werd daarom met de afkoeling begonnen 2 minuten vóórdát de verwarming voorbij was, afdoende was dit echter niet.

Ten tweede het gebruik van proefobjecten, welke uit verschillende soorten cellen bestaan.

Ten derde de betrekkelijk geringe waarde der zuurstofabsorptie bij 30° C., waardoor de waarnemingsfouten zeer grooten invloed hebben op de waarde, welke men vindt voor de afsterving. Een verschil van 0.1 c.M.<sup>3</sup> in de afgelezen hoeveelheid, in 5 minuten geabsorbeerde zuurstof, bleek soms reeds een verschil van 10% te veroorzaken in de getallen, die het percentage afgestorven functie weergeven.

TABEL XVI.

## Ademhaling kiemplantjes en Temperatuur.

| Temp. in graden Celsius. | Ademhaling bij 20°  |  | Verwarming 5' na 10' voorwarmen.                          |   |  | Verwarming 10' na 10' voorwarmen.                         |   |  | Verwarming 15' na 10' voorwarmen.                         |   |  |
|--------------------------|---|--|---|---|--|---|---|--|---|---|--|
|                          | waarg. vol. der O <sub>2</sub> -abs. in c.M. <sup>3</sup> | vol. geabs. O <sub>2</sub> omger op 0° | waarg. vol. der O <sub>2</sub> -abs. in c.M. <sup>3</sup> | vol. geabs. O <sub>2</sub> omger op 0° C. | vol. geabs. O <sub>2</sub> vermen. met $\frac{2}{\sqrt{30}}$ | waarg. vol. der O <sub>2</sub> -abs. in c.M. <sup>3</sup> | vol. geabs. O <sub>2</sub> omger op 0° C. | vol. geabs. O <sub>2</sub> vermen. met $\frac{2}{\sqrt{30}}$ | waarg. vol. der O <sub>2</sub> -abs. in c.M. <sup>3</sup> | vol. geabs. O <sub>2</sub> omger op 0° C. | vol. geabs. O <sub>2</sub> vermen. met $\frac{2}{\sqrt{30}}$ |
| 20.1                     |   |  |   |   |  |   |   |  | 1.2   | 1.1                                       | 1.1  |
| 32.2                     |   |  |   |   |  |   |   |  | 2.3   | 2.1                                       | 2.1  |
| 39.2                     | 1.7   | 1.5                                    |   |   |  |   |   |  | 3.1   | 2.7                                       | 3.6  |
| 46.8                     | 2.4   | 2.1                                    | 5.2   | 4.4                                       | 4.2  | 4.6   | 3.9                                       | 3.7  | 4.2   | 3.0                                       | 3.4  |
| 49.5                     | 2.3   | 2.1                                    | 4.6   | 3.9                                       | 3.7  | 4.2   | 3.6                                       | 3.4  | 4.—   | 3.5                                       | 3.3  |
| 63.6                     | 2.3   | 2.1                                    | 3.6   | 3.—                                       | 2.9  | 3.—   | 2.5                                       | 2.4  | 2.4   | 2.1                                       | 2.—  |

Deze bezwaren doen zich bij het bepalen der optimumkrommen uit den aard der zaak minder gevoelen dan bij dat der afsterving en waar dit laatste tot zeer onregelmatige uitkomsten leidde, werd er de voorkeur aan gegeven alleen van de eerste krommen gebruik te maken.

De theoretische nullijn werd nu weer gevonden door berekening, gebruik makend van de formule van TAMMANN met uit de geteekende krommen afgelezen waarden. Deze becijfering bleek hier wederom zonder gevaar te kunnen worden toegepast: voor  $k$  zoowel als voor  $a$  werden vrijwel constante waarden

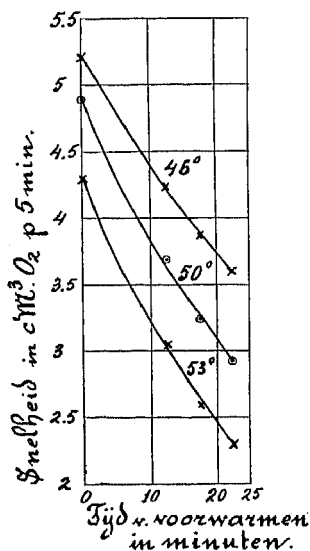


FIG. 17.

gevonden voor de verschillende tijden van verwarming op bepaalde schadelijke temperaturen.

De aldus verkregen theoretische nul-kromme vertoont een duidelijk optimum, zooals in fig. 3 van Plaat III is te zien, waar deze lijn gestreept is aangegeven. Deze kromme zou verder eveneens zeer goed door extrapolatie te vinden zijn geweest, zooals te zien is uit fig. 17, waar de afgelezen en de voor 0 minuten berekende snelheden voor verschillende constante temperaturen door continue krommen zijn verbonden.

Dat hier een ander resultaat werd verkregen dan hetgene, waartoe KUYPER kwam, laat zich waarschijnlijk verklaren uit de omstandigheid, dat mijne verwarmingstijden veel korter zijn genomen dan die van dezen onderzoeker.

## HOOFDSTUK VII.

### Inversie van rietsuiker door gist-invertine.

---

#### § 1. *Gevolgde methode van onderzoek.*

De invertine is wel het meest onderzochte enzym van de persgist; van dit organisme was reeds vroegtijdig het sterk inverteerend vermogen waargenomen. De verschillende methoden, die door andere onderzoekers gebruikt werden voor de bereiding van invertine-rijke praeparaten waren echter te gecompliceerd voor het hier beoogde doel. Daarom werd een andere methode toegepast, welke ook een zeer actief preparaat opleverde. Deze berustte eveneens op het algemeen gebruikte principe voor de isoleering van enzymen uit levende organismen, dat daarop neerkomt, dat het enzym bij behandeling van het organisme met alcohol neerslaat; het protoplasma wordt bij deze bewerking gedood, terwijl het enzym zijne activiteit, althans voor het grootste gedeelte, behoudt.

De invertine werd dus bereid door een klomp gist aan te mengen met 50 %-igen alcohol tot een dunne brei. Deze alcohol werkt wateronttrekkend, hetgeen onmiddellijk daaraan is te bemerken, dat de concentratie van de verkregen brei veel dunner is, dan ze zou zijn bij toevoeging van dezelfde hoeveelheid water. Deze alcoholische brei werd vervolgens uitgegoten in een groote overmaat 96 %-igen alcohol, waarin na eenigen tijd staan, de gedooide gistcellen bezonken als een lichtgekleurd poeder. Vervolgens werd dit poeder op een zuigfilter afgefiltreerd, zóó lang met 96 %-igen alcohol uitgewasschen, tot het aanvankelijk lichtgele filtraat kleurloos

doorliep, waarna het praeparaat ten slotte bij kamertemperatuur werd gedroogd en in een mortier fijn gewreven.

Het aldus verkregen poeder was licht geelbruin van kleur en kon in drogen toestand in een goed gesloten flesch langen tijd bewaard worden zonder dat de werkzaamheid merkbaar achteruitgaat. De omstandigheid, dat daarin naast de invertine andere enzymen voorkomen en dat wij de absolute concentratie van de invertine in het praeparaat niet kennen, heeft geen invloed op de conclusies, getrokken uit de uitkomsten der proefnemingen, daar men hier te doen heeft met een zeer innig mengsel, waardoor de concentratie van de zuivere invertine recht evenredig is met de gebruikte hoeveelheid van het praeparaat. Ook heeft men bij de proeven, die steeds vergelijkend genomen werden met hetzelfde enzympraeparaat, slechts met verhoudingen van snelheden te rekenen.

Ter *meting* der inversiesnelheid werd bepaald de hoeveelheid der invertsuiker, welke werd gevormd door een afgewogen hoeveelheid van het praeparaat gedurende 2 minuten te laten inwerken op een 20 %-ige rietsuiker-oplossing.

Het was noodig, ten einde ook geringe inversiesnelheden met scherp te kunnen aflezen, dat de rietsuikeroplossing volkomen vrij van invertsuiker was, daarom werd de gebruikte rietsuiker te voren zorgvuldig van die suiker en van mogelijk aanwezige andere reduceerende suikers bevrijd. Bij de hier toegepaste *zuivering der rietsuiker* werd gebruik gemaakt van een gefractioneerde praecipitatie van de rietsuiker met absoluten alcohol uit een geconcentreerde waterige oplossing. Van de ruwe rietsuiker in den vorm van kandij-klontjes genomen, werd een ongeveer 80 %-ige waterige oplossing gemaakt, waarbij na afkoeling een groote overmaat absolute alcohol werd gevoegd.

Bij het neerslaan zet de rietsuiker zich af als een strooperige massa, welke eerst [na eenige uren staan geheel overgaat in kristallijnen toestand. Dit neerslag werd nu door een zuigfilter afgefiltreerd, eenige malen uitgewasschen met absoluten alcohol en gedroogd. Deze suiker werd onderzocht op de aanwezigheid

van reduceerende suikers met behulp van FEHLING's proefvocht. Bleek hierbij, zooals vaak 't geval was, nog eenige verkleuring van het proefvocht op te treden, dan werd de geheele zuivering herhaald, waarna gewoonlijk FEHLING's proefvocht geen reactie meer gaf en de rietsuiker dus de gewenschte zuiverheid had.

*Verloop van de inversie.* Het is, zooals wij in Hoofdstuk III reeds opmerkten, aan vroegere onderzoekers gebleken, dat de inversie van rietsuiker binnen zekere grenzen verloopt als een monomoleculaire reactie.

Voor de reactiesnelheid is dus de formule van toepassing:

$$\frac{dx}{dt} = k(A-x),$$

waarin A voorstelt de beginconcentratie van de rietsuiker en x de hoeveelheid rietsuiker, omgezet gedurende een zekeren tijd t.

Beschouwt men nu de reactie in de periode, waarin de hoeveelheid omgezette stof zeer klein is ten opzichte van A, dan kan x worden verwaarloosd en wordt de formule:

$$\frac{dx}{dt} = kA,$$

d. w. z. in die periode meet men een snelheid, die gelijk is aan de beginsnelheid van het proces.

Dat werkelijk bij onze proeven, die 2 minuten duurden, aan aan bovenstaande voorwaarde werd voldaan, blijkt uit 't volgende: De grootste hoeveelheid invertsuiker, welke in die 2 minuten, werd gevormd, was ongeveer 260 m.gr. Hiervoor werd verbruikt 247 m.gr. rietsuiker, zooals door eenvoudige berekening is te vinden. De oorspronkelijke concentratie der rietsuiker bedroeg in de totale vloeistof 2 gram per 30 c.M.<sup>3</sup>, d. i. 6<sup>2</sup>/<sub>3</sub> 0/0. Aan 't eind der inversie was deze geworden ongeveer 1<sup>3</sup>/<sub>4</sub> gram per 30 c.M.<sup>3</sup>. of 5<sup>5</sup>/<sub>6</sub> 0/0, welke concentratievermindering, ook blijkens de onderzoekingen omtrent het verband tusschen de suikerconcentratie en de inversiesnelheid, geen aanmerkelijken invloed uitoefent op die snelheid.

*Bepaling der hoeveelheid invertsuiker.* De gevormde invertsuiker werd bepaald volgens de colorimetrische methode,

die door KJELDAHL gebruikt werd bij zijne proeven over de inwerking van maltase op oplosbaar amyllum. Waar KJELDAHL echter de hoeveelheden FEHLING's proefvocht, welke aan de afgepipeteerde volumina vloeistof werden toegevoegd, onderling 1 c.M<sup>3</sup>. liet verschillen, liepen deze hoeveelheden hier hoogstens 0.25 c.M<sup>3</sup>. uiteen en wanneer geringe invertsuikervorming kon worden verwacht, slechts 0.1 c.M<sup>3</sup>. De bepalingen werden voor de grootere hoeveelheden invertsuiker op de volgende wijze uitgevoerd :

Zes buisjes werden voorzien van verschillende hoeveelheden FEHLING's proefvocht, welke onderling hoogstens 0.25 c.M<sup>3</sup>. verschilden. In elk buisje werd vervolgens gebracht 5 c.M<sup>3</sup> der uit de reactiekolf gepipeteerde invertsuiker houdende vloeistof, welke te voren op 50 c.M<sup>3</sup>. was verdund. De buisjes werden dan terdege doorgeschud en ten slotte gehangen in een bak met kokend water, waarin zij 10 minuten werden gelaten. Tegen het eind van dien tijd werd, ter bevordering van het bezinken der gevormde koper-zuurstofverbindingen, elk buisje voorzien van 1 à 2 druppels CaCl<sub>2</sub>-oplossing. Het hierdoor ontstane zware witte neerslag bezonk spoedig en sleepte de koper-zuurstofverbindingen mede. Na afloop dier 10 minuten werden de buisjes uit het water gehaald en geplaatst vóór een plaat van wit melkglas, waartegen zeer duidelijk was waar te nemen het verschil in tint der vloeistoffen in die buisjes, waarin nog niet alle koper was neergeslagen en die waarin te weinig proefvocht was om alle invertsuiker te oxydeeren en wier inhoud min of meer geel was geworden door inwerking der sterke NaOH-oplossing op de nog aanwezige rietsuiker. Door nu het gemiddelde te nemen van de twee hoeveelheden proefvocht, welke toegevoegd waren aan de twee buisjes, die juist den overgang van deze kleuren toonden, werd dus tot op  $\frac{1}{8}$  c.M<sup>3</sup>. proefvocht nauwkeurig de hoeveelheid van dit vocht bepaald, welke noodig was om  $\frac{1}{10}$  deel der gevormde hoeveelheid invertsuiker te oxydeeren.

Het gebruikte FEHLING's proefvocht werd ook volgens deze colorimetrische methode gesteld, en wel op  $\frac{1}{2}$  0/0-ige oplossing

van invertsuiker, welke werd verkregen door 475 mgr. rietsuiker in water op te lossen tot ongeveer 70 c.M.<sup>3</sup> vloeistof, gedurende 5 minuten op 70° te verwarmen met verdund zoutzuur — waardoor alle rietsuiker geïnverteerd werd tot 500 mgr. invertsuiker — en nu te verdunnen tot een volume van 100 c.M.<sup>3</sup>. Het bleek, dat voor oxydatie van 25 mgr. invertsuiker noodig waren 3<sup>3</sup>/<sub>4</sub> c.M.<sup>3</sup> van het door mij gebruikte FEHLING's proefvocht, zoodat dus 1 c.M.<sup>3</sup> proefvocht overeenkwam met 6<sup>2</sup>/<sub>3</sub> m.Gr. invertsuiker.

Wat betreft de nauwkeurigheid dezer invertsuikerbepalingen, zoo zij vermeld, dat deze gaat tot 3 à 4 0/0 der verkregen uitkomsten, zooals gemakkelijk uit de gegevens is te berekenen. De bepaling van het 0.1 gedeelte der totaal gevormde invertsuiker geschiedde nl. tot op 1/8 c.M.<sup>3</sup> FEHLING's proefvocht = 5/6 mgr. invertsuiker nauwkeurig, dus die der totale hoeveelheid tot op 50/6 = 8<sup>1</sup>/<sub>3</sub> mgr.; aangezien nu de bij deze werkwijze bepaalde hoeveelheid invertsuiker doorgaans minstens 200 mgr. bedroeg, was dit ongeveer 4 0/0 dier hoeveelheid. Voor de kleinere hoeveelheden invertsuiker ging de nauwkeurigheid der bepaling tot op 1/20 c.M.<sup>3</sup> FEHLING's proefvocht, d. w. z. voor de totale hoeveelheid tot op 3<sup>1</sup>/<sub>3</sub> mgr. invertsuiker, hetgeen ook weer ongeveer denzelfden graad van nauwkeurigheid beteekent.

*Inrichting der proeven.* De noodige hoeveelheid invertine werd op een dekglasje afgewogen en daarna met glasje en al in een kleine ERLLENMEYER-kolf met 20 c.M.<sup>3</sup> water gedaan en nu werd de suspensie gelijktijdig met 10 c.M.<sup>3</sup> der rietsuikeroplossing, die zich in een toevloeiarechttertje bevond, in een waterbad op de gewenschte temperatuur gebracht. Daar het ook hier van belang was het enzym goed door de vloeistof gesuspenseerd te houden, werd dezelfde schudinrichting gebezigd als voor de alcoholgisting, ook geleek de verdere inrichting van het toestel zeer veel op die, welke bij de studie van dat proces werd gebezigd (zie Plaat I); slechts was de slang, welke daar de ERLLENMEYER-kolf met de eudiometer verbond, nu vervangen door een open glazen buisje, dat boven het water uitstak. Door dit buisje kon de lucht ontsnappen, welke



wordt verdrongen bij de toevloeiing der suikeroplossing. Dit toelaten vond eerst plaats, wanneer de suikeroplossing en enzym-suspensie op de gewenschte temperatuur waren gekomen. Dadelijk, wanneer de twee vloeistoffen bij elkaar komen, begint de inversie. Na afloop van 2 minuten werd de reactiekolf uit het water gehaald en de vloeistof onmiddellijk afgekoeld door direct 20 c.M.<sup>3</sup> koud water toe te voegen, en vervolgens onder een koudwaterstraal te schudden. Praktisch stond dan de inversiewerking stil en in deze vloeistof werd de invertsuiker op bovenbeschreven wijze bepaald.

§ 2. *Factoren, die de inversiesnelheid beïnvloeden.*

Van drie factoren is hier wederom de invloed, dien zij op de reactiesnelheid kunnen uitoefenen, bestudeerd, n.l. voor:

- 1°. de enzymconcentratie;
- 2°. de rietsuikerconcentratie;
- 3°. de temperatuur.

*Invloed der enzymconcentratie.* De proeven ter bestudeering van dezen invloed werden verricht bij 48° C., terwijl voor elke bepaling 10 c.M.<sup>3</sup> eener 20<sup>0</sup>/<sub>0</sub>-ige rietsuikeroplossing werd gebruikt en de afgewogen verschillende hoeveelheden enzym in 20 c.M.<sup>3</sup> water waren gesuspenderd. De verkregen cijfers zijn verzameld in tabel XVII en grafisch voorgesteld in fig. 18.

TABEL XVII.

Beginsnelheid en Invertineconcentratie.

| Hoeveelheid invertine in mgr. | Concentratie der invertine in procenten. | c.M. <sup>4</sup> . FEHL. proefvocht, voor 5 c.M. <sup>3</sup> der geïnvert. vlst. | mgr. invert-suiker, gevormd in 2 min. (n.) | Beginsnelheid in mgr. invert-suiker p. sec. $V_0 = n/120.$ |
|-------------------------------|--|--|--|--|
| 10                            | $\frac{1}{30}$                           | $\frac{3}{4}$  | 50.—                                       | 0.416  |
| 20                            | $\frac{2}{30}$                           | $1\frac{1}{2}$   | 100.—                                      | 0.834  |
| 30                            | $\frac{3}{30}$                           | $2\frac{1}{4}$   | 150.—                                      | 1.250  |
| 40                            | $\frac{4}{30}$                           | $2\frac{5}{8}$   | 175.—                                      | 1.460  |
| 50                            | $\frac{5}{30}$                           | $3\frac{5}{8}$   | 241.7                                      | 2.014  |
| 60                            | $\frac{6}{30}$                           | $4\frac{3}{8}$   | 292.—                                      | 2.433  |
| 70                            | $\frac{7}{30}$                           | $5\frac{1}{8}$   | 350.—                                      | 2.917  |
| 80                            | $\frac{8}{30}$                           | $5\frac{7}{8}$   | 392.—                                      | 3.267  |

Uit deze waarnemingen volgt, dat bij de hier gebruikte enzymconcentraties de inversiesnelheid evenredig met die concentraties is. Dit resultaat is geheel in overeenstemming met hetgeen O'SULLIVAN en THOMPSON vonden, wier uitkomsten door latere onderzoekingen zijn bevestigd (zie Hoofdstuk III, § 3). Dit is vooral daarom van belang, omdat bij de door ons gevolgde methode invloed van multirotatie op de uitkomsten is buitengesloten.

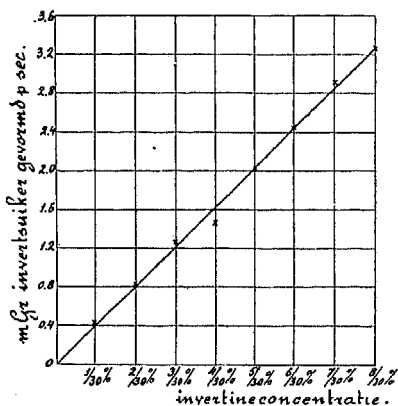


Fig. 18.

*Involed der rietsuikerconcentratie.* De hoeveelheid van het gebruikte enzympraeparaat bedroeg, evenals bij de proeven over den temperatuursinvloed, 50 mgr., welke weder in 20 c.M<sup>3</sup>. water werden gesuspendeerd. De verschillende rietsuikercon-

TABEL XVIII.

## Beginsnelheid en Suikerconcentratie.

| Concentratie der toegevoegde rietsuikeropl. | Concentr. (c.) der rietsuiker in de vloeistof | c.M <sup>3</sup> . FEHL. proefv. voor 5 c.M <sup>3</sup> . geïnvert. vlist. | mgr. invert-suiker gevormd in 2 minuten. | Beginsnelheid in mgr. inv. suiker per sec. | V <sub>0</sub> = 0.5 C <sub>0</sub> .d |
|---|---|---|--|--|--|
| 1   | 1/3 ‰   | 3/4   | 50                                       | 0.416                                      | 0.500                                  |
| 2 1/2                                       | 5/6 ‰   | 1 1/4   | 88.3                                     | 0.694                                      | 0.723                                  |
| 5   | 5/3 ‰   | 2   | 133.3                                    | 1.111                                      | 0.961                                  |
| 10  | 3 1/3 ‰                                       | 2 1/4   | 150.—                                    | 1.251                                      | 1.278                                  |
| 15  | 5 ‰   | 3   | 200.—                                    | 1.668                                      | 1.508                                  |
| 20  | 6 2/3 ‰                                       | 3 1/4   | 217.—                                    | 1.810                                      | 1.697                                  |
| 30  | 10 ‰  | 3 5/8   | 241.7                                    | 2.017                                      | 2.004                                  |
| 40  | 13 1/3 ‰                                      | 3 3/4   | 250.—                                    | 2.083                                      | 2.254                                  |

centraties in de totale vloeistof bij de achtereenvolgende proeven werden verkregen door telkens 10 c.M<sup>3</sup>. rietsuikeroplossing van andere concentratie toe te voegen, waardoor het mogelijk was

het volume der totale vloeistof en dus ook de enzymconcentratie constant te houden.

Voor de resultaten van dit onderzoek zie men tabel XVIII en de grafische voorstelling fig. 19. Hierbij werd dus, evenals bij de alcoholgisting, weer geen evenredigheid met de suikerconcentratie gevonden, maar kon het verband tusschen de inversiesnelheid en de rietsuikerconcentratie worden voorgesteld door een paraboolvormige kromme. Het lag dus voor de hand ook deze waarnemingen te toetsen aan de uit de adsorptieformule afgeleide betrekking :

$$v = \beta c^q \text{ } ^1).$$

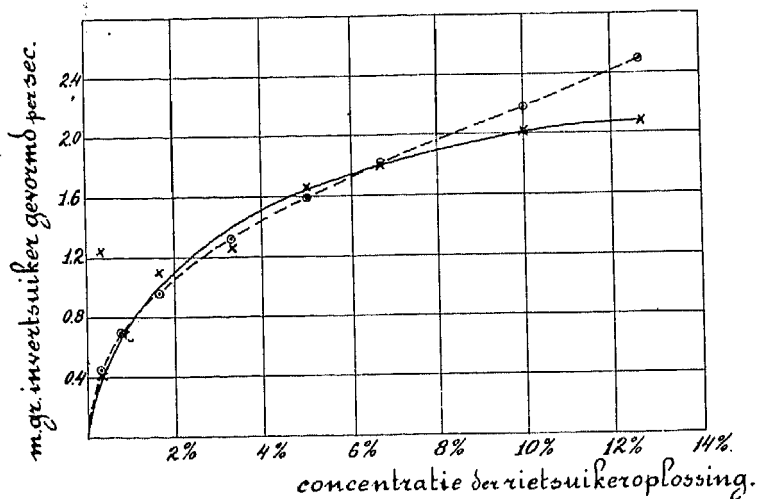


FIG. 19.

Op geheel analoge wijze als dit werd gedaan voor de alcoholgisting, werden  $\beta$  en  $q$  berekend, voor welke grootheden gevonden werd :

$$\beta = 0.497 \text{ en } q = 0.41.$$

De volgens deze formule berekende snelheden vindt men in de 6<sup>e</sup> kolom van tabel XVIII en zijn in fig. 19 door de gestreepte lijn aangegeven.

<sup>1)</sup> Zie Hoofdstuk V, § 3.

Er treedt bij de hoogste der gebruikte suikerconcentraties een aanmerkelijk verschil op tusschen de gevonden en de berekende inversiesnelheid, in dien zin, dat de eerste achter blijft bij de tweede. Bij nog hogere concentraties zal dan ook de empirisch gevonden lijn waarschijnlijk sterk tot een horizontale naderen, hetgeen beteekent een onafhankelijkheid van de inversiesnelheid van de rietsuikerconcentratie en in overeenstemming zou zijn met de waarnemingen van BROWN <sup>1)</sup>.

*Temperatuursinvloed.* Voor de proeven ter bestudeering van dezen invloed werd telkens gebruikt 50 mgr. invertine, gesuspenseerd in 20 c.M.<sup>3</sup> water, terwijl weer toegevoegd werd 10 c.M.<sup>3</sup>. eener 20 0/0-ige rietsuikeroplossing.

Voor onschadelijke temperaturen was de duur der voorwarming (binnen zekere grenzen) onverschillig.

Voor schadelijke temperaturen werd de inversiesnelheid bepaald na resp. 5, 10, 15 en 20 minuten voorwarmen, waardoor weer vier verschillende optimumkrommen werden verkregen, waaruit met behulp van de op aanstonds aan te geven wijze bepaalde afstervingskrommen, werd „berekend” de kromme, welke zou gevonden zijn, indien door de verhitting geen vernietiging van het enzym plaats vond.

Om de invertine-suspensie voor zulke schadelijke temperaturen zoo spoedig mogelijk de temperatuur van het waterbad te doen aannemen, werd ze te voren op een zoo hoog mogelijke onschadelijke temperatuur gebracht, welke in dit geval bedroeg 48° C. Ditzelfde werd, zooals wij later zullen zien, eveneens toegepast bij de bepaling der afstervingskrommen voor de verschillende tijden van voorwarming, waardoor niettegenstaande de omstandigheid, dat de gewenschte temperatuur niet „onmiddellijk” werd bereikt, toch de verkregen resultaten geheel vergelijkbaar zijn en onze berekening volkomen gerechtvaardigd wordt. Ging nu de afsterving gedurende de 2 minuten, die de inversie na afloop der voorwarming duurde, in dezelfde mate

---

<sup>1)</sup> l. c.

door als gedurende de voorwarming in water, dan zou een te kleine waarde voor de beginsnelheid gevonden worden; dit zou vooral merkbaar worden, in de uitkomsten dier proeven, waarbij slechts gedurende 5 minuten was voorgewarmd. Dit bezwaar zou men kunnen ondervangen door aan te nemen, dat bij de bepaling der optimumkrommen niet gedurende 5, 10, 15 en 20 minuten was voorgewarmd, doch gedurende 6, 11, 16 en 21 minuten. Nu vonden echter verschillende onderzoekers <sup>1)</sup>, dat invertine gesuspenseerd in een suikeroplossing veel hoger temperaturen kan verdragen dan gesuspenseerd in water. Wij waren dan ook op dezen grond gerechtigd aan te nemen, dat de waargenomen snelheden inderdaad met voldoende nauwkeurigheid de gezochte beginsnelheden voorstelden.

TABEL XIX.

## Beginsnelheid en Temperatuur.

| Temp. in graden Celsius. | Voorwarming 5 min.  |   |  | Voorwarming 10 min.   |   |  | Voorwarming 15 min.   |   |   | Voorwarming 20 min.   |   |  |
|--------------------------|---|---|--|---|---|--|---|---|---|---|---|--|
|                          | c.M. <sup>3</sup> FEHL. proefvocht voor 5 c.M. <sup>3</sup> geïnvert. vlst. | mgr. invert. suiker gevormd in 2 min. (n.). | Beginsnelh. in mgr. inv. suiker p. sec $v_0 = \frac{v}{n/120}$ . | c.M. <sup>3</sup> FEHL. proefvocht voor 5 c.M. <sup>3</sup> geïnvert. vlst. | mgr. invert. suiker gevormd in 2 min. (n.). | Beginsnelh. in mgr. inv. suiker per sec. $v_0 = \frac{v}{n/120}$ . | c.M. <sup>3</sup> FEHL. proefvocht voor 5 c.M. <sup>3</sup> geïnvert. vlst. | mgr. invert. suiker gevormd in 2 min. (n.). | Beginsnelh. in mgr. inv. suiker p. sec. $v_0 = \frac{v}{n/120}$ . | c.M. <sup>3</sup> FEHL. proefvocht voor 5 c.M. <sup>3</sup> geïnvert. vlst. | mgr. invert. suiker gevormd in 2 min. (n.). | Beginsnelh. in mgr. inv. suiker per sec. $v_0 = \frac{v}{n/120}$ . |
| 20°                      |   |   |  |   |   |  |   |   |   | 1   | 66.7  | 0.555  |
| 25°                      |   |   |  |   |   |  |   |   |   | 1 <sup>3</sup> / <sub>8</sub>   | 91.7  | 0.763  |
| 30°                      |   |   |  |   |   |  |   |   |   | 1 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>   | 117.—                                       | 0.975  |
| 35°                      |   |   |  |   |   |  |   |   |   | 2 <sup>3</sup> / <sub>8</sub>   | 158.3                                       | 1.320  |
| 39°                      |   |   |  |   |   |  |   |   |   | 2 <sup>3</sup> / <sub>8</sub>   | 158.3                                       | 1.320  |
| 42°                      |   |   |  |   |   |  |   |   |   | 2 <sup>7</sup> / <sub>8</sub>   | 191.7                                       | 1.597  |
| 45°                      |   |   |  |   |   |  |   |   |   | 3 <sup>3</sup> / <sub>8</sub>   | 225.—                                       | 1.875  |
| 48°                      |   |   |  |   |   |  |   |   |   | 3 <sup>5</sup> / <sub>8</sub>   | 241.6                                       | 2.014  |
| 50°                      | 3 <sup>7</sup> / <sub>8</sub>   | 258.3                                       | 2.152  | —   | —   | —  | 3 <sup>5</sup> / <sub>8</sub>   | 241.7                                       | 2.014   | 3 <sup>3</sup> / <sub>8</sub>   | 225.—                                       | 1.875  |
| 52°                      | 3 <sup>3</sup> / <sub>8</sub>   | 225.—                                       | 1.875  | 2 <sup>7</sup> / <sub>8</sub>   | 191.7                                       | 1.597  | 2 <sup>3</sup> / <sub>8</sub>   | 158.3                                       | 1.320   | 2 <sup>1</sup> / <sub>8</sub>   | 141.7                                       | 1.181  |
| 54°                      | 2 <sup>1</sup> / <sub>8</sub>   | 141.7                                       | 1.181  | 1 <sup>7</sup> / <sub>8</sub>   | 125.—                                       | 1.042  | 1 <sup>5</sup> / <sub>8</sub>   | 108.3                                       | 0.902   | —   | —   | —  |
| 56°                      | 1 <sup>3</sup> / <sub>8</sub>   | 91.7  | 0.763  | 7 <sup>7</sup> / <sub>8</sub>   | 58.7  | 0.489  | 5 <sup>5</sup> / <sub>8</sub>   | 41.7  | 0.347   | 3 <sup>3</sup> / <sub>5</sub>   | 40.—  | 0.833  |
| 58°                      | 3 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>   | 50.—  | 0.417  | 0.55  | 36.7  | 0.306  | 2 <sup>2</sup> / <sub>5</sub>   | 26.7  | 0.222   | 1 <sup>1</sup> / <sub>4</sub>   | 16.7  | 0.139  |
| 60°                      | 7 <sup>1</sup> / <sub>16</sub>  | 29.3  | 0.245  | 3 <sup>3</sup> / <sub>8</sub>   | 25.—  | 0.208  | 1 <sup>1</sup> / <sub>4</sub>   | 16.7  | 0.139   | —   | —   | —  |

1) Zie Hoofdstuk III, § 3.

In tabel XIX vindt men de resultaten der waarnemingen bijeen en wel voor de onschadelijke temperaturen alleen voor 20 minuten voorwarmen, voor de schadelijke voor de 4 verschillende tijden van voorwarmen, nl. in de 1<sup>e</sup> kolom de hoeveelheid FEHLING's proefvocht in c.M.<sup>3</sup> noodig voor de invert-suiker aanwezig in 5 c.M.<sup>3</sup> van de tot 50 c.M.<sup>3</sup> verdunde vloeistof uit de reactiekolf, in de 2<sup>e</sup> de daaruit door vermenigvuldiging met  $10 \times 6^{2/3}$  berekende totaal gevormde hoeveelheid invertsuiker in mgr. en in de 3<sup>e</sup> de inversiesnelheid, uitgedrukt in mgr. invertsuiker gevormd per seconde.

De grafische voorstelling dezer resultaten vindt men in fig. 1 van Plaat IV.

Uit deze waarnemingen blijkt, dat eerst boven 48° C. de temperatuur schadelijk begint te worden en dat dus dan eerst de optimumkromme uiteenvalt in 4 verschillende krommen.

De temperatuurscoëfficiënt voor dit gedeelte blijkt ook hier bij stijging der temperatuur geleidelijk af te nemen, zooals men ziet uit de volgende getallen:

$$V_{30}/V_{20} = 1.75, V_{35}/V_{25} = 1.63, V_{40}/V_{30} = 1.5, V_{45}/V_{35} = 1.46.$$

Bij de grafische voorstelling doet zich echter niet, zooals bij die voor de alcoholgisting, het geval voor, dat de kromme vóór 't bereiken van schadelijke temperaturen concaaf wordt ten opzichte van de temperatuur. Uit de voor schadelijke temperaturen verkregen 4 optimumkrommen leest men ook hier weer af:

$$V_5 > V_{10} > V_{15} > V_{20} \text{ en: } V_5 - V_{10} > V_{10} - V_{15} > V_{15} - V_{20}.$$

### § 3. *Het afsterven bij verhitting.*

Voor de bepaling der afstervingskrommen werd wederom uitgegaan van 50 mgr. invertine, gesuspenseerd in 20 c.M.<sup>3</sup> water, terwijl ook gedurende resp. 5, 10, 15 en 20 minuten op verschillende schadelijke temperaturen werd voorgewarmd. Ook hier werd weer de enzymsuspensie te voren op 48° C. gebracht en kon dus snel op de gewenschte temperatuur komen.

TABEL XX.

## Afsterving en Temperatuur.

| Temp. in graden Celsius. | Voorwarming 5 min.   |   |                                      | Voorwarming 10 min.  |   |                                      | Voorwarming 15 min.  |   |                                      | Voorwarming 20 min.  |   |                                      |
|--------------------------|--|---|--------------------------------------|--|---|--------------------------------------|--|---|--------------------------------------|--|---|--------------------------------------|
|                          | c.M <sup>3</sup> . FEHL. proefvocht voor 5 c.M <sup>3</sup> . geïn. v. vist. | Begin-snelh. in mgr. inv. suiker per sec.: v <sub>0</sub> . | Percentage gist, dat is afgestorven. | c.M <sup>3</sup> . FEHL. proefvocht voor 5 c.M <sup>3</sup> . geïn. v. vist. | Begin-snelh. in mgr. inv. suiker per sec.: v <sub>0</sub> . | Percentage gist, dat is afgestorven. | c.M <sup>3</sup> . FEHL. proefvocht voor 5 c.M <sup>3</sup> . geïn. v. vist. | Begin-snelh. in mgr. inv. suiker per sec.: v <sub>0</sub> . | Percentage gist, dat is afgestorven. | c.M <sup>3</sup> . FEHL. proefvocht voor 5 c.M <sup>3</sup> . geïn. v. vist. | Begin-snelh. in mgr. inv. suiker per sec.: v <sub>0</sub> . | Percentage gist, dat is afgestorven. |
| 50                       | 3 <sup>3</sup> / <sub>8</sub>  | 1.875   | 6.9                                  | 3 <sup>1</sup> / <sub>8</sub>  | 1.736   | 13.6                                 | 3  | 1.667   | 17.2                                 | 2 <sup>7</sup> / <sub>8</sub>  | 1.597   | 2.07                                 |
| 52                       | 2 <sup>7</sup> / <sub>8</sub>  | 1.597   | 20.7                                 | 2 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>  | 1.388   | 31.-                                 | 2 <sup>3</sup> / <sub>8</sub>  | 1.320   | 34.5                                 | —  | —   | —                                    |
| 54                       | 2 <sup>3</sup> / <sub>8</sub>  | 1.320   | 34.5                                 | 1 <sup>7</sup> / <sub>8</sub>  | 1.042   | 48.3                                 | 1 <sup>5</sup> / <sub>8</sub>  | 0.902   | 55.2                                 | 1 <sup>3</sup> / <sub>8</sub>  | 0.763   | 62.1                                 |
| 56                       | 1 <sup>7</sup> / <sub>8</sub>  | 1.042   | 48.3                                 | 1 <sup>5</sup> / <sub>8</sub>  | 0.902   | 55.2                                 | 1 <sup>3</sup> / <sub>8</sub>  | 0.763   | 62.1                                 | 0.9  | 0.500   | 75.2                                 |
| 58                       | 1 <sup>1</sup> / <sub>4</sub>  | 0.692   | 65.5                                 | —  | —   | —                                    | 0.55   | 0.306   | 84.8                                 | 0.45   | 0.250   | 87.6                                 |
| 60                       | 3/ <sub>4</sub>  | 0.416   | 79.3                                 | 3/ <sub>8</sub>  | 0.208   | 89.6                                 | 0.15   | 0.083   | 95.9                                 | —  | —   | —                                    |

Na afloop der voorwarming werd snel afgekoeld door de kolf te schudden onder een kouden waterstraal en vervolgens de inversiesnelheid van deze invertinesuspensie bij 48° C. bepaald.

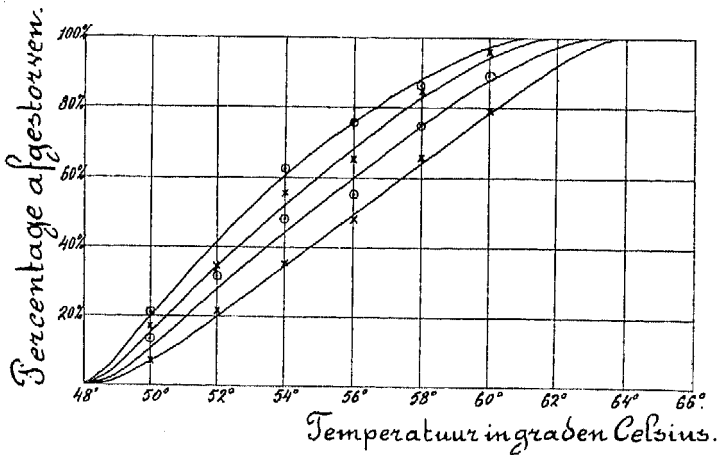


FIG. 20.

Daar nu bij de hier gebruikte concentraties de inversiesnelheid volkomen evenredig was met de invertine-concentratie, zoo geeft de verhouding der op de beschreven wijze bepaalde snelheid tot

die der niet voorgewarmde invertinesuspensie bij 48°, (welke laatste is af te lezen uit tabel XVII) dadelijk het percentage invertine, dat het inversievermogen nog niet heeft verloren.

Tabel XX geeft een overzicht in cijfers van het verloop der afsterving bij de verschillende tijden van voorwarmen, terwijl fig. 20 daarvan de grafische voorstelling geeft.

§ 4. *De bepaling der optimumkromme voor het geval geen afsterven intreedt.*

Door de volkomen evenredigheid der inversiesnelheid met de hoeveelheid enzym, was de berekening der verlangde lijn bij afwezigheid van afsterven veel eenvoudiger dan bij de alcoholgisting.

De theoretische beginsnelheid voor een zekere temperatuur werd n.l. op de volgende wijze gevonden:

Bekend is de inversiesnelheid bij 48° C. van 50 mgr. onbeschadigde invertine. Nu werd ook bij 48° gemeten (zie § 3) de inversiesnelheid van 50 mgr. invertine, die gedurende zekeren tijd op een zekere schadelijke temperatuur is voorgewarmd. Door nu de bij dezelfde schadelijke temperatuur en na denzelfden tijd van voorwarmen direct waargenomen snelheid te deelen door de verhouding der twee bovengenoemde snelheden, verkrijgt men de snelheid, welke zonder afsterving bij die schadelijke temperatuur zou zijn opgetreden.

In tabel XXI vindt men de voor die berekening gebruikte waarden, welke tabel in de 5<sup>e</sup> kolom tevens een overzicht geeft der op deze wijze uit de 4 optimumkrommen berekende snelheden voor het geval geen afsterven plaats had. In de laatste kolom der tabel vindt men de gemiddelden dezer vier waarden voor iedere temperatuur.

De berekende afhankelijkheid der inversiesnelheid van de temperatuur voor het geval afsterven uitblijft, is in de grafische voorstelling fig. 1 Plaat IV aangegeven door een gestreepte lijn, welke ook hier weer beslist een optimum vertoont.



TABEL XXI.

Berekening der kromme zonder afsterven.

| Temperatuur in graden C. | Tijd van voorwarmen in minuten. | Verhouding snelh. bij 48° vóór en na verwarming. | Uit de graf. voorstelling afgelezen snelheid. <sup>1)</sup> | Berekende snelh. voor 0' voorw. <sup>1)</sup> | Gemiddelde snelh. voor 0' voorw. <sup>1)</sup> |
|--------------------------|---------------------------------|--|---|---|--|
| 50°                      | 5                               | 100/93   | 21.2  | 22.6  | 22.5   |
|                          | 10                              | 100/89   | 20.5  | 23.—  |  |
|                          | 15                              | 100/85   | 19.8  | 22.2  |  |
|                          | 20                              | 100/80   | 18.7  | 22.1  |  |
| 52°                      | 5                               | 100/80   | 18.7  | 22.1  | 21.4   |
|                          | 10                              | 100/72   | 16.—  | 22.2  |  |
|                          | 15                              | 100/66   | 13.3  | 21.0  |  |
|                          | 20                              | 100/58   | 11.8  | 20.4  |  |
| 54°                      | 5                               | 100/66   | 11.8  | 18.—  | 17.3   |
|                          | 10                              | 100/56   | 9.6   | 17.1  |  |
|                          | 15                              | 100/48   | 8.2   | 17.1  |  |
|                          | 20                              | 100/40   | 6.9   | 17.2  |  |
| 56°                      | 5                               | 100/50   | 7.1   | 14.2  | 14.1   |
|                          | 10                              | 100/40   | 5.6   | 14.0  |  |
|                          | 15                              | 100/32   | 4.5   | 14.0  |  |
|                          | 20                              | 100/24   | 3.4   | 14.2  |  |
| 58°                      | 5                               | 100/35   | 6.—   | 12.—  | 12.3   |
|                          | 10                              | 100/25   | 3.1   | 12.4  |  |
|                          | 15                              | 100/17   | 2.2   | 13.—  |  |
|                          | 20                              | 100/16   | 1.4   | 11.7  |  |

Ter controle der verkregen berekende lijn en van de onderstelling van BLACKMAN, dat in 0 minuten geen afsterven plaats vindt, kan men hier ook weer grafisch voorstellen het verband tusschen den tijd van voorwarmen en de temperatuur bij constante snelheid en dat tusschen dezen tijd en de snelheid bij constant blijvende temperatuur. In beide gevallen kan voor de verschillende snelheden of de verschillende temperaturen door

<sup>1)</sup> Als eenheid dezer snelheid werd hier genomen: 0.1 mgr. invert-suiker gevormd per sec., omdat dit de aflezing uit de grafische voorstelling vergemakkelijkte.

de 4 experimenteel gevonden punten en 't 5<sup>e</sup>, door berekening bepaalde, een vloeiende kromme getrokken worden, zoodat ook hier weer door „extrapolatie” dezelfde optimumkromme zou kunnen worden verkregen als door berekening. Men zie hiervoor de fig. 21 en 22.

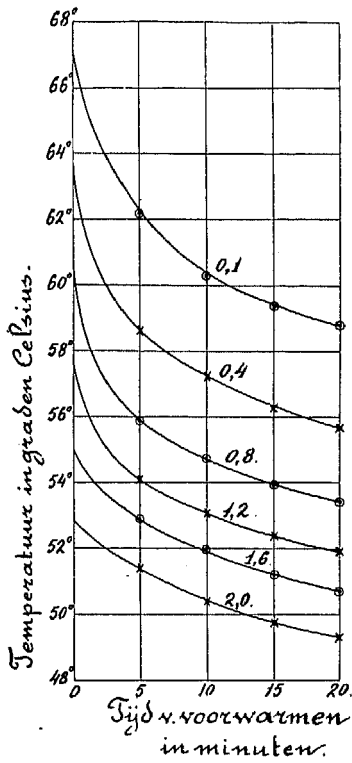


FIG. 21.

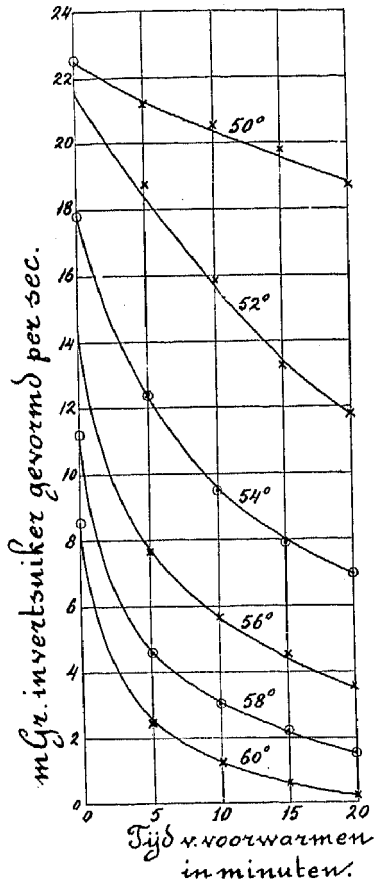


FIG. 22.

Daar de inversiesnelheid evenredig is met de hoeveelheid enzym, stelt de grafische voorstelling van het verband tussen snelheid en tijd van voorwarming tevens voor het verband tussen de hoeveelheid levend enzym en dien tijd van voor-

warming. Ook hier zou 't dus te verwachten zijn, dat op deze lijnen de formule van TAMMANN van toepassing is en dat volgens deze formule uit die lijnen de theoretische waarde is te berekenen van de snelheid, die zou zijn opgetreden, als er niets was afgestorven.

Berekent men  $k$  volgens deze formule, dan vindt men voor een temperatuur van  $56^{\circ}$  C. voor de verschillende tijden ( $t$ ) van voorwarming:

|            |             |             |             |             |
|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| $a = 14.3$ | $t = 5'$    | $t = 10'$   | $t = 15'$   | $t = 20'$   |
|            | $y = 7.7$   | $y = 5.6$   | $y = 4.4$   | $y = 3.5$   |
|            | $k = 0.054$ | $k = 0.041$ | $k = 0.034$ | $k = 0.030$ |

Men ziet dus, dat  $k$  kleiner wordt, naarmate de tijd van voorwarming langer is. Hieraan mag echter geen argument ontleend worden tegen de vroegere toepassing van de formule van TAMMANN bij de ademhaling, omdat, zooals daarvoor is aangetoond, voor deze laatste functie  $k$  wèl practisch constant is gebleken.

---

## HOOFDSTUK VIII.

### Reductie van methyleenblauw.

---

Bij deze proefnemingen was het niet mogelijk, ook slechts benaderend, de beginsnelheid der reactie te meten. Inplaats daarvan moest ik mij tevreden stellen, den tijd te meten, dien een bepaalde hoeveelheid gist noodig heeft om een zekere hoeveelheid methyleenblauw vrijwel volkomen te reduceeren tot een kleurlooze verbinding. Hier werd dus de duur bepaald van het verloop eener „totaalreactie”. De reciproke waarde van dezen waarnemingstijd geeft dus de gemiddelde snelheid van het verloop dier reactie, welke snelheid, zooals in Hoofdstuk IV reeds is betoogd, niet te vergelijken is met een beginsnelheid. Immers doet zich tijdens de ontkleuring de hiermede samengaande concentratievermindering van het methyleenblauw gelden, terwijl ook de hoeveelheid van het reactieproduct toeneemt. Afgescheiden van deze overwegingen moet men bij de reductie van methyleenblauw rekening houden met de mogelijkheid, dat methyleenblauw voor het organisme schadelijk is en wellicht het reduceerend vermogen ook een schadelijke beïnvloeding van deze stof ondervindt.

De omstandigheid, dat hier de duur van een totaalreactie werd gemeten, moet het meest invloed hebben gehad op de uitkomsten der proeven bij de „schadelijke” temperaturen. Door den zeer langen tijd, die de proeven vaak bij die temperaturen moesten duren, vóórdat de blauwe kleur was verdwenen, was de afsterving in deze periode zóó overwegend, dat hier tegenover die afsterving, welke had plaats gehad gedurende de voorwarming (van 5, 10, 15 of 20 minuten) slechts geringen invloed moet hebben kunnen uitoefenen op den duur der reductie.

*Inrichting der proeven.* Van de gebruikte inrichting geeft fig. 23 een schematische voorstelling, terwijl fig. 23a een duidelijker afbeelding geeft van het apparaatje, waarin de reductie plaats had. Dit apparaatje bestond uit twee platte kolfjes, waarvan de stoppen met elkaar waren verbonden door

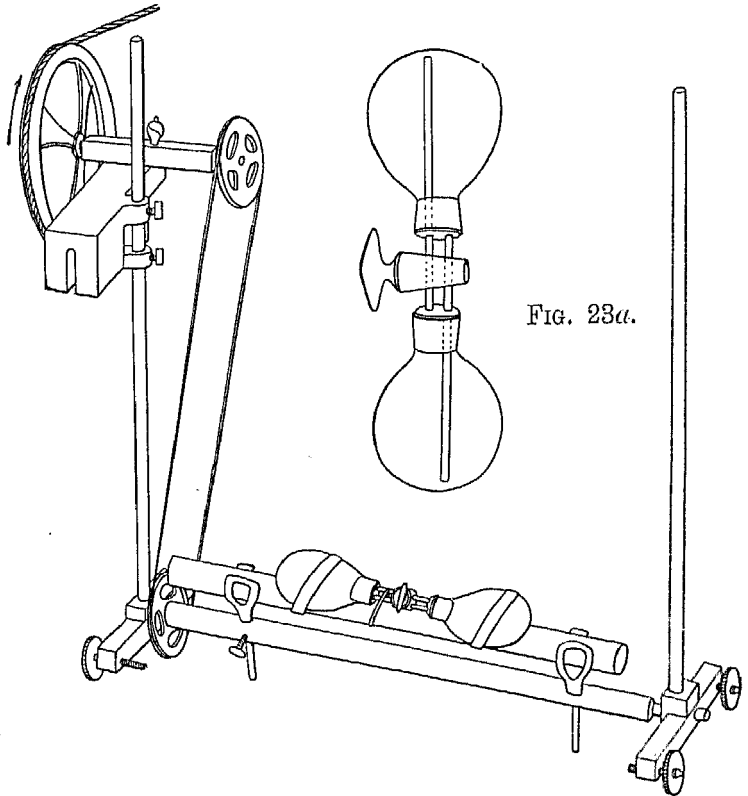


FIG. 23.

2 buisjes, die met een kraan konden afgesloten worden. Zooals in de figuur te zien is, eindigt het buisje, dat in het eene kolfje tot bijna op den bodem reikt, in den stop van het andere kolfje.

Vóór de proef werd nu het eene kolfje voorzien van een bepaalde hoeveelheid eener gistsuspensie van bekende concentratie, en wel zóó dat het kolfje hiermede ongeveer half

gevuld was. Het andere kolfje werd gevuld met een methyleenblauw-oplossing van eveneens bekende concentratie; beide vloeistoffen waren voorloopig van elkaar gescheiden doordat de kraan in de 2 buisjes gesloten was. Vervolgens wordt het apparaatje met behulp van 2 stevige elastieke ringen bevestigd aan een met cautchouc omwonden stang. Dit geheel werd met klemmen aan de roerinrichting van het waterbad bevestigd, zooals dit in fig. 23 is aangegeven. Door het roerwerk in beweging te stellen, werden gistsuspensie en methyleenblauwoplossing flink geschud en zij namen dan, ook ten gevolge van de platheid en dunwandigheid der kolfjes, spoedig de temperatuur van het waterbad aan. Eerst wanneer gistsuspensie en methyleenblauw-oplossing op de temperatuur van het waterbad waren gekomen, werd met de proefneming begonnen, althans bij onschadelijke temperaturen. Door het kraantje te openen, werd het kolfje, dat de gistsuspensie bevatte, dan volkomen aangevuld met methyleenblauw-oplossing uit het andere kolfje, waartoe het apparaat een kort moment uit de roerinrichting werd genomen, die daartoe even werd stop gezet. Een chronometer werd aangezet en het apparaat weer aan de roerinrichting bevestigd, welke vervolgens weer in gang werd gebracht. Nu werd bepaald de tijd, die verloopt tot de blauwe kleur onzichtbaar is geworden.

Voor de berekening van de concentraties van de gist en die van het methyleenblauw was het noodig dat de inhoud van het kolfje, waarin de reductie plaats had, bekend was. Deze werd bepaald door het apparaat, wanneer het kolfje met water gevuld was en daarna leeg te wegen; die inhoud bleek te bedragen 22.85 c.M.<sup>3</sup>, in welk getal ook was begrepen de inhoud van het toevoerbuisje voor het methyleenblauw. Van dit buisje was de inhoud 1.25 c.M.<sup>3</sup> (door meting van lengte en van inwendigen diameter bepaald). Dit buisje bleef, na toevloeiing van de blauwoplossing, steeds hiermede gevuld, en het daarin aanwezige blauw werd niet aangetast door de gist, daar geen menging met de gistsuspensie tot stand kwam. Van den totalen inhoud

van het kolfje moest dus de inhoud van dat toevloeibuisje afgetrokken worden om den werkzamen inhoud van het reactiekolfje te bepalen, deze bedroeg dus 21.6 c.M<sup>3</sup>.

*Invloed van de gistconcentratie op de reductiesnelheid.* Bij deze proeven zou, om volkomen juiste cijfers te krijgen, evenals bij de alcoholgisting geschiedde, voor de bepaling der gistconcentratie ook de hoeveelheid water, die in de celwanden of tusschen de cellen der van de fabriek ontvangen gist aanwezig was en die aan de verdunning van het blauw mee doet, in rekening moeten gebracht worden. Daar echter de gebruikte hoeveelheden gist maar zeer gering waren tegenover de gebruikte hoeveelheid water, konden deze zoeven genoemde hoeveelheden water verwaarloosd worden.

Wel moest hier in aanmerking genomen worden, dat voor het mengsel van gistsuspensie en methyleenblauwoplossing slechts een bepaalde ruimte beschikbaar was, nl. de inhoud van het reactiekolfje, d. i. 21.6 c.M<sup>3</sup>. Bij de verschillende afgewogen hoeveelheden gist moest dus, om ook het volume der methyleenblauwoplossing en dus ook de absolute hoeveelheid blauw, constant te doen blijven, telkens zooveel water worden toegevoegd, dat het volume der gistsuspensie steeds hetzelfde was. Om dit tot stand te kunnen brengen moest het soortelijk gewicht van de ontvangen gist worden bepaald. Dit geschiedde op de volgende wijze: een afgewogen hoeveelheid gist werd in een maatglas gebracht en nu een afgemeten hoeveelheid water toegevoegd, zoodat ook het volume der gist was af te lezen.

Het bleek, dat de S. G. der door ons gebruikte gist ongeveer 1 bedroeg, hetgeen de berekeningen van de te gebruiken hoeveelheden water zeer eenvoudig maakte: a gram gist werd steeds aangemengd met (14 - a) c.M<sup>3</sup>. water, terwijl de hoeveelheid toegevloeide methyleenblauwoplossing steeds 7.6 c.M<sup>3</sup>. bedroeg.

Toch bleef ook op deze wijze de concentratie van het methyleenblauw bij de verschillende gisthoeveelheden niet „volkomen” constant, zij steeg nl. iets bij toenemende gistconcentratie, omdat de gistcellen een zekere ruimte innamen, maar deze stijging

was zoo gering, dat zij, ook blijkens de uitkomsten der onderzoekingen omtrent het verband tusschen snelheid en blauwconcentratie, geen merkbaaren invloed zal hebben uitgeoefend op de waargenomen reductietijden. De concentratie van de toegelaten methyleenblauwoplossing was  $\frac{1}{40}$  0/0, terwijl de waarnemingen werden verricht bij 48° C.

De resultaten vindt men in cijfers in tabel XXII, terwijl fig. 24 daarvan de grafische voorstelling geeft.

TABEL XXII.

## Gemiddelde snelheid en Gistconcentratie.

| Hoeveelheid gebruikte gist in grammen. | c.M <sup>3</sup> . water toegevoegd aan de gist. | Conc. der gist in 0/0 van het tot. vol. der vloeistof. | Conc. v. h. methyleenbl. in 0/0 van tot. vol. vlst. | Tijd, noodig voor totale reductie in sec. (t). | Gemiddelde snelheid $v = 1/t$ . |
|--|--|--|---|--|---------------------------------|
| $\frac{1}{4}$                          | $13\frac{3}{4}$                                  | 1.16   | 0.0088  | 695  | 0.00144                         |
| $\frac{1}{2}$                          | $13\frac{1}{2}$                                  | 2.32   | 0.0088  | 490  | 204                             |
| $\frac{3}{4}$                          | $13\frac{1}{4}$                                  | 3.48   | 0.0088  | 435  | 230                             |
| 1                                      | 13.—   | 4.63   | 0.0091  | 371  | 270                             |
| 2                                      | 12.—   | 9.26   | 0.0093  | 260  | 385                             |
| 3                                      | 11.—   | 13.89  | 0.0097  | 210  | 476                             |
| 4                                      | 10.—   | 18.52  | 0.0108  | 188  | 532                             |
| 5                                      | 9.—  | 23.15  | 0.0114  | 185  | 540                             |

Men ziet en wel het duidelijkst uit de grafische voorstelling, dat een lineair verband tusschen de gistconcentratie en reductiesnelheid slechts bestaat bij gistconcentraties van ongeveer  $2\frac{1}{2}$  tot 15.5 0/0 der totale vloeistof. Beneden  $2\frac{1}{2}$  0/0 neemt de gemiddelde reductiesnelheid veel sneller toe met toename der gistconcentratie, boven  $15\frac{1}{2}$  0/0 is zij daar nagenoeg onafhankelijk van.

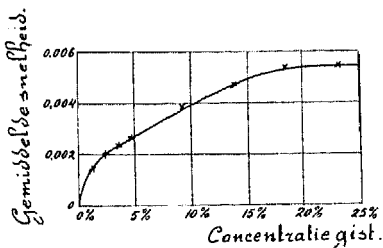


FIG. 24.

*Gemiddelde reductiesnelheid en methyleenblauwconcentratie.*  
Deze proeven werden verricht met 3 gram gist, aangemengd



met 11 c.M.<sup>3</sup> water en bij een temperatuur van 48° C., terwijl telkens een methyleenblauwoplossing van andere concentratie werd toegelaten, waarvan het volume steeds 7.6 c.M.<sup>3</sup> was. Door de reciproke waarden te nemen der reductietijden werd weer een gemiddelde snelheid van het proces gevonden.

De uitkomsten dezer proefnemingen vindt men bijeen in de 3<sup>e</sup> en 4<sup>e</sup> kolom van tabel XXIII en grafisch voorgesteld in fig. 25. Zooals men ziet, verkrijgt men bij grafische voorstelling een hyperboolvormige kromme, welke zoowel de X- als de Y-as asymptotisch nadert.

TABEL XXIII.

Gemiddelde snelheid en Methyleenblauwconcentratie.

| Concentratie c der toegev. methyl. bl. opl. in 0.001 %. | Concentratie methyl. bl. in de tot. vist. in 0.001 %. | Tijd t, noodig voor totale red. in sec. | Gemiddelde snelheid $\frac{1}{t}$ . | Snelheid v in hoev. meth. bl. per tijds-eenheid gereduceerd. | Snelheid volgens de formule: $v = 0.55 c^{0.59}$ . |
|---|---|---|-------------------------------------|--|--|
| 2.5   | 1.03  | 85                                      | 0.01177                             | 1.--   | 0.9  |
| 5.—   | 2.05  | 120                                     | 0.00833                             | 1.4  | 1.4  |
| 10.—  | 4.10  | 160                                     | 0.00625                             | 2.1  | 2.1  |
| 12.5  | 5.13  | 134                                     | 0.00543                             | 2.3  | 2.4  |
| 20.—  | 8.20  | 215                                     | 0.00465                             | 3.2  | 3.2  |
| 25.—  | 10.25   | 235                                     | 0.00426                             | 3.6  | 3.7  |
| 33.3  | 13.65   | 254                                     | 0.00390                             | 4.5  | 4.4  |
| 50.—  | 20.50   | 306                                     | 0.00327                             | 5.6  | 5.5  |

De gemiddelde snelheid, die in het voorafgaande bedoeld werd, is die van het geheele reductieproces. Nu kan echter ook op andere en „juistere” wijze een gemiddelde snelheid berekend worden.

Zooals gezegd is, werd steeds aan de gistsuspensie toegevoegd 7.6 c.M.<sup>3</sup> eener methyleenblauwoplossing, die voor elke proef van een andere concentratie was. Ook de absolute hoeveelheid te reduceeren methyleenblauw was dus voor iedere proef anders en evenredig met de concentratie van de toegevoegde methyleenblauwoplossing. Neemt men nu als gemiddelde

snelheid, de hoeveelheid methyleenblauw, die per tijdseenheid wordt gereduceerd, dan vindt men een geheel ander verband tusschen snelheid en concentratie.

Vergelijken wij bijv. de tijden, waarin  $7.6 \text{ cM}^3$ . methyleenblauwoplossing van  $\frac{1}{20} \text{ ‰}$  en van  $\frac{1}{400} \text{ ‰}$  worden gereduceerd. In het eerste geval bevat de toegevoegde oplossing  $3.8 \text{ mgr.}$  methyleenblauw en in het tweede geval  $0.19 \text{ mgr.}$  De eerste hoeveelheid wordt gereduceerd in  $306''$ , de laatste in  $851''$ . Met de gemiddelde snelheid van het eerste geval zou dus  $0.19 \text{ mgr.}$  methyleenblauw gereduceerd worden in:  $\frac{0.19}{3.8} \cdot 306'' = 15.3''$ .

De „snelheden” der reductie voor  $7.6 \text{ cM}^3$ . van  $\frac{1}{400} \text{ ‰}$  en van  $7.6 \text{ cM}^3$ . van  $\frac{1}{20} \text{ ‰}$  verhouden zich dus als  $15.3 : 85 = 1 : 5.6$ .

Op deze wijze werden alle andere snelheden omgerekend, waarbij de snelheid der reductie van  $7.6 \text{ cM}^3$ .  $\frac{1}{400} \text{ ‰}$ -ige methyleenblauwoplossing als eenheid werd aangenomen.

De aldus berekende snelheden vindt men in de 5<sup>e</sup> kolom van tabel XXIII, terwijl de 6<sup>e</sup> kolom de snelheden geeft, berekend volgens de uit de adsorptie-formule gevonden betrekking (zie blz. 124), welke hier overging in:

$$v = 0.55 c^{0.59}$$

Ook hier is een goede overeenkomst tusschen de waargenomen en de berekende snelheden zichtbaar, welke nog bevestigd wordt door het feit, dat de grafische voorstelling van het verband tusschen de logaritmen der concentraties en de waargenomen snelheden practisch een rechte lijn is.

*De optimumkrommen.* De proeven ter bepaling der optimumkrommen werden wederom verricht met  $3 \text{ gram}$  gist, aangemengd met  $11 \text{ c.M}^3$ . water. De concentratie van de methyleen-

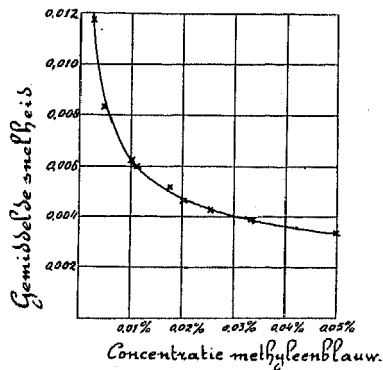


FIG. 25.

blauwoplossing, die werd toegevoegd was  $\frac{1}{40}$  0/0, de concentratie van het blauw in de totale vloeistof dus telkens ongeveer 0.01 0/0.

TABEL XXIV.

## Gemiddelde snelheid en Temperatuur.

| Temp. in graden Celsius. | Voorwarming 5 m.                            |                                     | Voorwarming 10 m.                           |                                     | Voorwarming 15 m.                           |                                     | Voorwarming 20 m.                           |                                     |
|--------------------------|---|-------------------------------------|---|-------------------------------------|---|-------------------------------------|---|-------------------------------------|
|                          | Tijd t, noodig voor totale reductie in sec. | Gemiddelde snelheid $v=\frac{1}{t}$ | Tijd t, noodig voor totale reductie in sec. | Gemiddelde snelheid $v=\frac{1}{t}$ | Tijd t, noodig voor totale reductie in sec. | Gemiddelde snelheid $v=\frac{1}{t}$ | Tijd t, noodig voor totale reductie in sec. | Gemiddelde snelheid $v=\frac{1}{t}$ |
| 30°                      | 2720"                                       | 0.00037                             | —   | —                                   | —   | —                                   | —   | —                                   |
| 35°                      | 1350"                                       | 074                                 | —   | —                                   | —   | —                                   | —   | —                                   |
| 40°                      | 780"  | 128                                 | —   | —                                   | —   | —                                   | —   | —                                   |
| 45°                      | 335"  | 300                                 | —   | —                                   | —   | —                                   | —   | —                                   |
| 48°                      | 210"  | 476                                 | —   | —                                   | —   | —                                   | —   | —                                   |
| 50°                      | 182"  | 550                                 | —   | —                                   | —   | —                                   | —   | —                                   |
| 52°                      | 143"  | 699                                 | 140"  | 0.00714                             | 154"  | 0.00650                             | 176"  | 0.00569                             |
| 54°                      | 125"  | 800                                 | 155"  | 650                                 | 240"  | 417                                 | 315"  | 317                                 |
| 56°                      | 138"  | 724                                 | 334"  | 291                                 | 475"  | 211                                 | 590"  | 170                                 |
| 58°                      | 255"  | 426                                 | 540"  | 185                                 | 669"  | 149                                 | —   | —                                   |
| 60°                      | 540"  | 185                                 | 740"  | 135                                 | 1010"                                       | 099                                 | ∞   | 0                                   |
| 62°                      | —   | —                                   | —   | —                                   | ∞   | 0                                   | —   | —                                   |
| 63°                      | 920"  | 107                                 | ∞   | 0                                   | —   | —                                   | —   | —                                   |
| 65°                      | 1560"                                       | 064                                 | —   | —                                   | —   | —                                   | —   | —                                   |

Voordat nu met deze proefnemingen begonnen kon worden, moest eerst worden uitgemaakt of gedooide gist <sup>1)</sup> van deze hoeveelheid methyleenblauw tijdens onze proeven een noemenswaard percentage reduceert. Daartoe werd 3 gr. gist gedurende 20 minuten op 90° C. in het kolfje verhit, afgekoeld, methyleenblauwoplossing van 0.01 0/0 toegevoegd en een proef gedaan bij 48° C. Na 45 minuten roeren was de vloeistof nog intensief blauw gekleurd. Wanneer een methyleenblauwoplossing van  $\frac{1}{400}$  0/0 werd toegevoegd, zoodat de concentratie in de totale vloeistof ongeveer 0.001 0/0 bedroeg, was de blauwe kleur na 35 minuten bij 48° verdwenen. Dit reductievermogen van ge-

<sup>1)</sup> Bedoeld wordt hier gist, waarvan de eigenlijke reduceerende functie door verhitting is vernietigd, maar die dan nog chemische stoffen (vermoedelijk zwavelwaterstof) bevat, welke reductie kunnen veroorzaken.

doode gist is bij de door ons bij deze proeven gebruikte hoeveelheden methyleenblauw, vooral als men rekening houdt met den langen duur noodig voor deze reductie, doorgaans te verwaarloozen, maar zeker niet geheel, zooals nog nader zal blijken.

De temperatuur bleek eerst bij 50° C. schadelijk te worden, beneden die temperatuur vielen de 4 optimumkrommen voor de verschillende tijden van voorwarmen dus weer samen.

Bij dit onderzoek bleek verder, dat de afsterving, die optreedt vóórdat het optimum wordt bereikt hier sterk is, dit is zoowel uit tabel XXIV als uit de grafische voorstelling (Plaat IV, fig. 2), waarin onze resultaten zijn vereenigd, te zien.

Ook hier was weer:  $V_5 - V_{10} > V_{10} - V_{15} > V_{15} - V_{20}$ , geheel overeenkomstig met hetgeen bij de andere bestudeerde functies was gevonden.

Boven 52° dalen de krommen snel; vanaf  $\pm 61^\circ$  C. buigen zij echter weer sterk om en loopen dan verder langzaam af. De oorzaak van dit afwijkend verloop moet ongetwijfeld gezocht worden in een reductie van blauw door doode gist, waardoor een ontkleuring te voorschijn kan worden geroepen, nadat de reductie door de levende gist reeds heeft opgehouden. Bij de hogere schadelijke temperaturen heeft immers van 't begin af doode gist medegewerkt tot de reductie en wel in toenemende mate, daar de afsterving gedurende de proef steeds doorgaat. Al komt nu dit reduceerend vermogen aanvankelijk in het geheel niet in aanmerking tegenover dat der levende gist, toch kan wanneer door deze gist het grootste percentage gereduceerd is vóór ze geheel is afgestorven, de doode gist het overige deel wegnemen, vooral daar ook hare werking door de hogere temperatuur versneld zal zijn. Bij temperaturen, waar dus feitelijk geen volledige reductie meer zou behooren te worden waargenomen, dus de reductiesnelheid 0 zou moeten genoemd worden, kan ze als een gevolg van deze omstandigheid nog een zekere waarde krijgen. Dit bezwaar is dus een gevolg van het feit, dat men hier de gemiddelde snelheid eener totaal verloopende reductie meet. Was de „beginsnelheid” te meten,



Na de verwarming, welke in een afzonderlijk waterbad geschiedde, werd de gist snel afgekoeld, het methyleenblauw toegelaten en de reductietijd bepaald bij 48° C., waardoor dan weer de gemiddelde snelheid was gegeven. Op geheel dezelfde wijze als bij de alcoholgisting, werd uit de waarde van deze snelheid en met behulp van het gevonden verband tusschen gistconcentraties en snelheid, becijferd welk deel van de gist haar vermogen om methyleenblauw te reduceeren, had verloren.

De bepaalde cijfers vindt men bijeen in tabel XXV, en de grafische voorstelling daarvan is fig. 26.

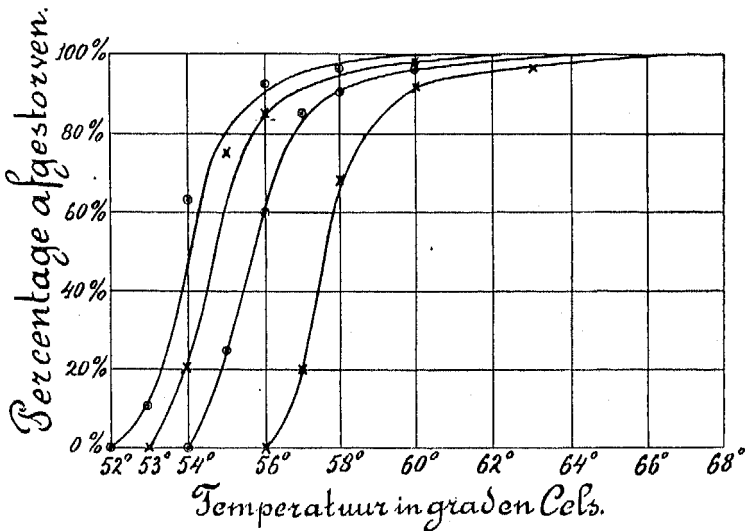


FIG. 26.

De afstervingskrommen vertoonen bij de hoogere temperaturen een soortgelijke eigenaardigheid als de optimumkrommen, de afsterving neemt nl. slechts zeer langzaam toe met de temperatuurstijging. Ook dit verloop is waarschijnlijk aan dezelfde reden toe te schrijven als voor het bijzondere verloop der optimumkrommen werd aangewezen, nl. aan reductie door doode gist.

*De theoretische kromme voor 0 minuten voorwarmen.* Ook hier was oorspronkelijk de bedoeling, uit de gevonden optimum-

krommen voor de verschillende tijden van voorwarming de theoretische optimumkromme te berekenen met behulp van de afstervingskrommen.

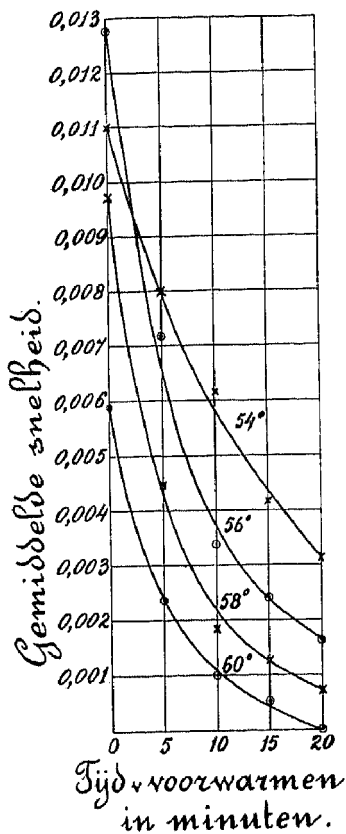


FIG. 27.

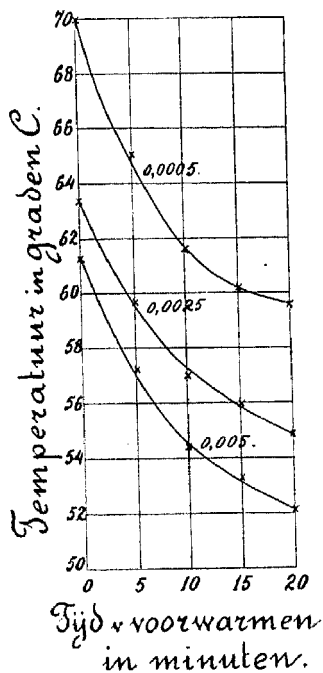


FIG. 28.

Daar echter bij de bepaling der optimumkrommen geen beginsnelheid werd gemeten, doch een veel te kleine gemiddelde snelheid, zoo was *a priori* te verwachten, dat hier de berekening geen betrouwbare resultaten zou opleveren. Inderdaad bleek dan ook, dat de berekening voor een zekere temperatuur met de vier verschillende tijden van voorwarming

zulke uiteenlopende cijfers gaf, dat uit deze cijfers niets met zekerheid was te concludeeren.

Evenmin had het om dien reden zin uit de 4 verschillende snelheden, voor een bepaalde temperatuur gevonden, de snelheid na 0 minuten voorwarmen te berekenen met den regel van TAMMANN, zooals dat werd uitgevoerd voor de ademhaling.

De eenige methode, die nu overbleef om de theoretische lijn te benaderen, was die door extrapolatie uit de 4 experimenteel gevonden krommen. Door deze methode vindt men dan de gemiddelde snelheid der reductie na 0 minuten voorwarmen.

De extrapolatie kan ook hier weer op twee wijzen worden uitgevoerd, n.l. voor constante snelheden en voor constante temperaturen. Beide methoden zijn toegepast, fig. 27 geeft die voor constante temperaturen en fig. 28 die voor constante snelheden. Hoe willekeurig extrapolatie nu ook overigens moge zijn, uit deze figuren blijkt toch duidelijk, dat bij de hoogere schadelijke temperaturen door extrapolatie een kleiner snelheid wordt gevonden dan bij de lagere.

Voor het verband tusschen de gemiddelde snelheid na 0 minuten en de temperatuur werd dus ook hier een kromme gevonden, die een optimum vertoont en deze is in Plaat III, fig. 2 gestreept weergegeven.

---



## HOOFDSTUK IX.

### Het afsterven van verschillende functies der gist bij schadelijke temperatuur.

---

#### § 1. *De regel van TAMMANN voor het afsterven van enzymen bij verhitting.*

Bij zijne onderzoekingen over de werking van ongevormde fermenten nam TAMMANN <sup>1)</sup> waar, dat de onvolledigheid der omzetting, welke hij als kenmerkend voor enzymreacties aannam, bij schadelijke temperaturen moest worden toegeschreven aan een splitsing van het ferment in meerdere producten, waaruit het zich niet meer kon terug vormen.

Deze vernietiging van het enzym bij hooge temperaturen werd door TAMMANN <sup>2)</sup> nader onderzocht en wel voornamelijk de invloed van den tijd, gedurende welken het enzym op de hooge temperatuur blijft. De enzymprocessen, waarop deze onderzoekingen betrekking hadden, waren: de werking van emulsine op amygdaline en salicine en de werking van invertine op rietsuiker.

Bij deze onderzoekingen kwam TAMMANN tot het resultaat, waarvan wij reeds meermalen melding maakten en dat wij ook reeds hebben getoetst aan onze uitkomsten, n.l. dat het afsterven van het enzym bij voortgezette verwarming op een zelfde temperatuur geschiedt volgens de vergelijking, welke geldt voor monomoleculaire reacties.

---

<sup>1)</sup> Z. f. physik. Ch. **3**, 1889, S. 25.  
Z. f. physiol. Ch. **16**, 1892, S. 271.  
<sup>2)</sup> Z. f. physik. Ch. **18**, 1895, S. 426.

In 1908 werd nu door EYKMAN<sup>1)</sup> een dergelijk onderzoek verricht voor de reproductiefunctie van *Bacillus coli communis*.

Een suspensie van deze bacteriën werd op een constante temperatuur verwarmd en na bepaalde tijden een zekere hoeveelheid uitgepipetteerd en uitgezaaid op een gelatineplaat. Na verloop van 8—16 dagen werd het aantal gevormde koloniën geteld. Dit werd voor eenige temperaturen tusschen 47° en 52.°2 C. uitgevoerd.

De grafische voorstelling der uitkomsten werd geteekend voor iedere temperatuur afzonderlijk en wel door op den Y-as af te zetten het aantal opgekomen koloniën en op den X-as de tijd van verwarming. Op deze wijze verkreeg EYKMAN voor elk dier temperaturen de z.g. „Ueberlebungskurve”. Van den vorm der verkregen krommen zegt EYKMAN, dat, voor zoover het afsterven niet te snel ging, duidelijk een S-vorm is te zien, die herinnert aan de zoogenaamde waarschijnlijkheidskromme (in de gedaante der distributieschema's voorgesteld).

Bij snelle afsterving buigt zich de kromme volgens EYKMAN reeds dadelijk omlaag. Waar het verloop der afsterving langzaam is, n.l. bij de lagere temperaturen, daar heeft de overlevingskromme voor de kortste tijden van verwarming een zeer merkbaar bijna horizontaal gedeelte. EYKMAN beschouwt dit laatste verschijnsel als een gevolg van *incubatie*, die zou noodig zijn vóór de inwerking der temperatuur merkbaar wordt en welke bij de hogere temperaturen slechts van korten duur zou zijn.

De uitkomst van EYKMAN is in strijd met de opvatting van TAMMANN, immers de logaritmische afstervingskrommen, die volgens dezen laatsten onderzoeker zoowel voor de lage als de hoge schadelijke temperaturen zouden gelden, beginnen onmiddellijk steil naar omlaag te loopen en vertoonen zeker geen S-vorm.

Berekent men dan ook uit de door EYKMAN gevonden krommen de konstante  $k$  der formule van TAMMANN, dan bemerkt men

---

<sup>1)</sup> Bioch. Zeitschr. 1908, S. 12.

dat  $k$  toeneemt met den verwarmingstijd. Die „toename” neemt echter af bij toename van den verwarmingstijd.

Nu is bij eenige onzer voorafgaande beschouwingen, waar dit door de omstandigheden werd meegebracht, de 0-kromme berekend volgens de formule van TAMMANN, en hoewel wij nog in hetgeen volgt de nadere rechtvaardiging van deze berekeningswijze willen toelichten, zij er reeds dadelijk op gewezen, dat zoo wij de opvattingwijze van EIJKMAN ook voor onze functies als de juiste erkenden, dit in de hoofdconclusie, die wij uit onze uitkomsten trokken, n.l. het ombuigen van de kromme voor 0 minuten voorwarmen, geen wijziging zou hebben gebracht. Bij toepassing van de formule van TAMMANN verkrijgt men namelijk de hoogste waarde voor de berekende snelheid na een voorwarmingstijd 0. Zou men deze berekenen volgens de opvatting van EIJKMAN, dan zou dus de kromme voor 0 minuten voorwarmen voorbij het optimum zeker nog lager vallen dan de door ons berekende, dus een nog meer geprononceerd optimum vertoonen.

Nu willen wij er echter op wijzen, dat de door ons bestudeerde functies geen verloop van de afsterving vertoonen, zooals dit door EIJKMAN is geconstateerd: wij zagen reeds hoe zoowel de afsterving der gistingsfunctie als die der ademhaling, der inversie en der methyleenblauwreductie op voldoende wijze overeen kwam met de formule van TAMMANN, de afwijking viel binnen de (tamelijk belangrijke) waarnemingsfouten.

Wij kunnen hier nog aan toevoegen, dat ons bleek, dat de *reproductiefunctie* van de gist voor lage schadelijke temperaturen wordt vernietigd volgens de formule van TAMMANN. Bij de hogere traden echter zeer belangrijke afwijkingen daarvan op, vermoedelijk zijn hier nog onbekende oorzaken mede in het spel. Ter toelichting van deze uitspraak vindt men in onderstaande tabel XXVI de aantallen gistkoloniën, die na 5, 10, 15 en 20 minuten verwarmen van een gistsuspensie op een bepaalde temperatuur, uitpipeteeren van een bepaalde hoeveelheid in koud water, uitzaaien op moutgelatine en tellen na een cultuur gedurende

3 à 4 dagen werden waargenomen. <sup>1)</sup> De laatste kolom geeft de volgens de formule van TAMMANN berekende, gemiddelde aantallen zonder afsterving, welke cijfers alle 483 zouden moeten geweest zijn.

Wij meenen uit het voorafgaande te mogen besluiten, dat de door TAMMANN opgestelde betrekking bij de door ons bestudeerde functies als een vrij goede benadering mag toegepast worden voor de blijvende vernietiging van het werkzame agens.

Nu wezen wij er in Hoofdstuk II § 2 op, hoe reeds meer-malen het afsterven van functies door verhitting als samenhangend met het optreden van coagulatie van eiwitstoffen is beschouwd. Merkwaardiger wijze heeft men bij dit laatste proces nu echter steeds van het bestaan van een bepaalde coagulatietemperatuur gesproken en die zelfs als karakteristiek voor eiwitstoffen aangenomen. Deze opvattingwijzen zijn dus met elkander in lijnrechten strijd.

Bijzonder belangrijk is het dan ook, dat Miss CHICK en MARTIN <sup>2)</sup> hebben aangetoond, dat men bij de coagulatie van eiwitstoffen

TABEL XXVI.

Aantal opgekomen koloniën en Temperatuur.

| Temperatuur in graden Celsius. | Voorw. 5'.                      | Voorw. 10'.                     | Voorw. 15'.                     | Aantal oorspr. aanw. gistcellen berekend volgens TAMMANN. |
|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---|
|                                | Aantal levend gebl. gistcellen. | Aantal levend gebl. gistcellen. | Aantal levend gebl. gistcellen. |   |
| 36°                            | 485                             | 444                             | 434                             | 499   |
| 38°                            | 460                             | 428                             | 403                             | 489   |
| 40°                            | 437                             | 436 <sup>3)</sup>               | 325                             | 507   |
| 42°                            | 350                             | 326                             | 269                             | 418   |
| 44°                            | 275                             | 222                             | —                               | 341   |
| 46°                            | 216                             | 192                             | 71                              | 310   |
| 48°                            | 80                              | 30                              | 11                              | 237   |
| 50°                            | 40                              | —                               | —                               | —   |

<sup>1)</sup> De nadere beschrijving der proeven vindt men in de volgende paragraaf.

<sup>2)</sup> Journ. of Physiology, 10, 1910, p. 404.

<sup>3)</sup> Dit getal is hoogstwaarschijnlijk foutief en werd ook niet gebruikt voor de berekening met de formule van TAMMANN.

wel degelijk met een tijdreactie te maken heeft en voor een der door hen bestudeerde proteïnen (gekristalliseerd haemoglobine) vonden, dat de snelheid van het proces bij een bepaalde temperatuur verandert op een wijze, die door de vergelijking, welke voor eene mono-moleculaire reactie geldt, wordt weergegeven. Voor een tweede door hen onderzocht proteïen (gekristalliseerd ei-albumin) vonden zij de reactie van een hooger orde, maar dit verklaarden zij uit een afname van de aciditeit der oplossing tijdens de coagulatie.

Miss CHICK en MARTIN verhitten de eiwitoplossingen op een bepaalde temperatuur, nemen met geregelde tusschenpoozen monsters, die afgekoeld en gefiltreerd worden, waarna de teruggebleven proteïen wordt bepaald. Wij komen naderhand op hunne proeven nog terug, maar wijzen er hier reeds op, dat hunne bepalingwijze dus de grootste overeenkomst heeft met die, welke wij voor het onderzoek naar de *blijvende* beschadiging van functies toepasten.

Ongetwijfeld geeft dus het onderzoek van Miss CHICK en MARTIN een interessante bevestiging van de juistheid der formule van TAMMANN en de opvatting, dat afsterving van functies wordt teweeggebracht door coagulatie en het moet zeker merkwaardig worden genoemd, dat deze omstandigheid aan de genoemde onderzoekers is ontgaan.

## § 2. *De vorm der afstervingskrommen.*

Zooals uit de Hoofdstukken V, VI, VII en VIII is gebleken, werd voor de bestudeerde functies het verloop der afsterving met de temperatuur vastgesteld, waarvan de z.g. *afstervingskrommen* het resultaat waren. Alvorens den vorm dezer krommen aan een nadere beschouwing te onderwerpen, zij hier medegedeeld, dat als vijfde functie in dit opzicht nog de reproductiefunctie werd bestudeerd. De proeven hieromtrent werden op de volgende wijze ingericht: 5 gram gist werd aangemengd met 500 c.M<sup>3</sup>. duinwater; van deze suspensie werd 5 c.M<sup>3</sup>. door toevoeging van duinwater gebracht op 100 c.M<sup>3</sup>.

Tevoren werd nu in een waterbad in een kolf 100 c.M<sup>3</sup>. steriel water op de gewenschte temperatuur gebracht. Na afloop hiervan werd 1 c.M<sup>3</sup>. der bovengenoemde gistsuspensie met een steriele pipet toegevoegd, waarna nog gedurende 5', 10' en 15' werd verwarmd. Hierbij werd gebruik gemaakt van de schudinrichting, die ook bij de alcoholgistingproeven dienst deed.

Na afloop van elken verwarmingstijd werd met een sterielen pipet 1 c.M<sup>3</sup>. uit de kolf genomen en gedaan in een kolfje met 50 c.M<sup>3</sup>. koud steriel water. Na flink doorschudden werd 1 c.M<sup>3</sup>. van deze suspensie, bevattend 0.0001 mgr. gist, uitgezaaid op een steriele moutgelatine-plaat, welke daarna in een cultuurkast bij 22° C. werd geplaatst.

Na 4 dagen werden de opgekomen koloniën geteld, wier aantal een maatstaf was voor het percentage gistcellen, dat de reproductiefunctie had behouden.

Dit werd voor een reeks van schadelijke temperaturen uitgevoerd, terwijl ook een proef werd gedaan bij een volkomen onschadelijke temperatuur, nl. 22°, om het percentage der afsterving te kunnen berekenen.

De uitkomsten in cijfers vindt men bijeen in tabel XXVII en de verkregen afstervingskrommen in fig. 29.

TABEL XXVII.  
Graad van afsterving en Temperatuur.

| Temperatuur<br>in graden<br>Celsius. | Verw. 5'.                  | Verw. 10'.                 | Verw. 15'.                 |
|--------------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|                                      | Percentage<br>afgestorven. | Percentage<br>afgestorven. | Percentage<br>afgestorven. |
| 36°                                  | 0.0                        | 8.0                        | 9.4                        |
| 38°                                  | 4.8                        | 11.4                       | 16.6                       |
| 40°                                  | 9.5                        | 9.5                        | 32.5                       |
| 42°                                  | 27.0                       | 32.5                       | 44.0                       |
| 44°                                  | 43.8                       | 53.6                       | —                          |
| 46°                                  | 55.3                       | 59.7                       | 84.4                       |
| 48°                                  | 83.0                       | 93.3                       | 97.7                       |
| 50°                                  | 92.0                       | —                          | —                          |

De functies waarvoor nu de afstervingskrommen in teekening gebracht zijn, zijn de volgende:

- 1°. de alcoholgisting, (fig. 5),
- 2°. de inversie van rietsuiker, (fig. 20),
- 3°. de reductie van methyleenblauw, (fig. 26),
- 4°. de reproductie. (fig. 29).

Voor de 3 eerstgenoemde functies werden 4 krommen bepaald, nl. voor 5, 10, 15 en 20', voor de reproductie alleen die voor 5, 10 en 15' verwarmen.

Zooals uit de grafische voorstellingen is te zien, vertoonen deze krommen, vooral die voor de reproductiefunctie, overeenkomst met waarschijnlijkheidskrommen, nl. met de distributieschema's van GALTON.

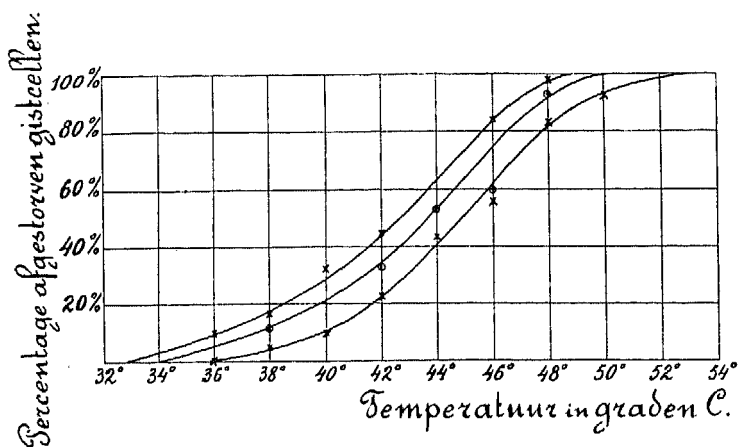


FIG. 29.

Dit verschijnsel zou men nu bijvoorbeeld voor de reproductiefunctie op de volgende wijze kunnen verklaren:

Bij verwarming op een weinig schadelijke temperatuur sterven (in dit opzicht) gedurende een bepaalden tijd alleen af de individuen, die ten opzichte van de temperatuur het zwakst zijn, terwijl bij een iets hogere verwarming deze cellen met de daarop in sterkte volgende te samen hun functie verliezen.

Bij iedere hoogere verwarming komen daar nieuwe individuen bij, tot ten slotte een zekere temperatuur wordt bereikt, waarbij in dien bepaalden tijd allen zijn afgestorven.

Was nu de weerstand der reproductiefunctie tegen verwarming gedurende zekeren tijd over de gistcellen verdeeld op de wijze als een normale „frequentiekromme” dit aangeeft, dan zou ook de afstervingskromme een normaal „distributieschema” vertoonen.

Op de volgende wijze kan men nu omgekeerd uit de afstervingskromme (bijv. voor 5') het werkelijk bestaande frequentieschema benaderen. Op de horizontale as wordt afgezet de temperatuur in graden C. en op de vertikale de verschillen tusschen de percentages der gist, die gedurende dien verwarmingstijd van 5 minuten afsterft bij twee opeenvolgende temperatuursintervallen van 1°, welke cijfers zijn af te lezen uit de afstervingskromme. De meest geschikte kromme, die aan de uit de afgelezen cijfers berekende waarden beantwoordt, zou door berekening moeten gevonden worden, dit is hier echter niet gedaan. Uit de grootte der rechtehoekjes en de rangschikking hiervan is echter reeds te zien, dat de meest geschikte kromme afwijkt van een normale frequentiekromme en wel in dien zin, dat de top meer naar de zijde der hoogere temperatuur ligt.

Deze afwijking van het midden is des te grooter naarmate gedurende langeren tijd is voorverwarmd.

Construeert men uit de afstervingskrommen voor de alcoholgisting en de invertinewerking op overeenkomstige wijze frequentiekrommen, dan bemerkt men onmiddellijk, dat deze een zeer vlakken top hebben. Dit is trouwens uit de afstervingskrommen zelf te zien, zij vertoonen toch een tamelijk groot vrijwel recht middenstuk. Dit wil zeggen, dat bij die temperatuursintervallen telkens evenveel afsterft. Het percentage, dat afsterft bij zeer lage temperatuur en bij zeer hooge temperatuur is zeer gering.

Een geheel afwijkende vorm heeft de afstervingskromme voor de methyleenblauwreductie. Deze stijgt bij lagere temperaturen



zeer snel, terwijl zij bij hooger temperaturen, waarbij meer dan 80 % gedurende den verwarmingstijd is afgestorven, zich ombuigt en nog maar heel zwak stijgt tot ten slotte bij een hooge temperatuur alles is afgestorven. Zooals reeds in het hoofdstuk over de methyleenblauwproeven is gezegd, is dit verschijnsel waarschijnlijk toe te schrijven aan een reductie door doode gist.

Construeert men uit deze kromme de frequentiekromme, dan ziet men, dat hierbij de top juist dichter bij de lagere temperaturen zal liggen en het naar hooger temperaturen dalende been een lang verlengstuk heeft.

Men hechte nu evenwel aan de hier gegeven beschouwingwijze niet te veel waarde. Waar toch voor de afsterving der reproductiefunctie bij een zelfden tijd van verwarming een distributie over de diverse cellen, die niet zeer veel afwijkt van een normaal schema *a priori* niet onwaarschijnlijk te achten is, bestaat voor een zelfde aanname bij de andere functies geen voldoende grond. Immers daar behoeft men nog niet aan elementair-quanta van deze functies te denken, die met de diverse cellen samenvallen. <sup>1)</sup>

Bovendien liet zich een zelfde redeneering ook op de afsterving door voortgezette verwarming bij constante temperatuur toepassen en deze kon door de formule van TAMMANN voorgesteld worden, zoodat de distributieschema's daarvoor overgaan in logaritmische krommen.

Eindelijk moet nog opgemerkt worden, dat indien op de afsterving de formule van VAN 'T HOFF of die van ARRHENIUS toepasselijk is, <sup>2)</sup> de vorm van de schema's volkomen bepaald is, wanneer de formule van TAMMANN voor constante temperaturen als de juiste wordt erkend. Immers door in de formule

---

<sup>1)</sup> Men vergelijkte speciaal hetgeen hieromtrent nog in Hoofdstuk X § 2 zal worden opgemerkt.

<sup>2)</sup> Onze waarnemingen waren niet op de controleering hiervan gericht, uit de uitkomsten liet zich dan ook omtrent de toepasselijkheid niets besluiten.

$\frac{d \lg k}{d T} = \frac{q}{2 T^2}$  te substitueeren:  $\lg \frac{X_0}{X} = t k$ , moet het verband tusschen  $\frac{X}{X_0}$  en de absolute temperatuur voor een bepaalden verwarmingstijd  $t$  gevonden worden, d. i. de formule van een afstervingskromme.

Daar wij van den vorm dier afstervingskrommen echter geen gebruik hebben gemaakt, is van een verdere controle der aldus te verkrijgen betrekking afgezien.

### § 3. *Het verschillend gedrag der functies bij verhitting.*

Wil men voor de verschillende functies het gedrag bij verhitting vergelijken, dan geschiedt dit op de meest overzichtelijke wijze door de afstervingskrommen voor een bepaalden verwarmingstijd naast elkaar in een zelfde figuur te teekenen. Dit als voorbeeld in fig. 30 voor een voorwarmingstijd van 5 minuten gedaan.

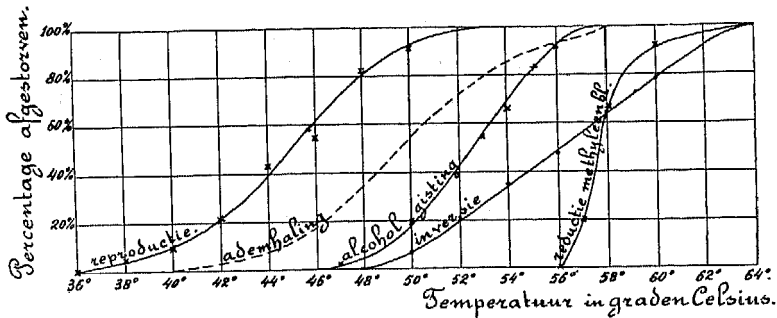


FIG. 30.

Bij deze vergelijking moet echter wel in aanmerking worden genomen, dat de afsterving der verschillende functies plaats had onder verschillende omstandigheden. Zoo werd de ademhaling bestudeerd aan gist, liggend op de oppervlakte van een moutagar-plaat, de alcoholgisting, methyleenblauwreductie en reproductie aan gist, in waterige suspensie van zeer verschil-

lende concentratie, terwijl de afsterving der inversie werd bestudeerd aan een in water gesuspendeerd praeparaat, uit de gist bereid. De hier bedoelde vergelijking geldt dan ook slechts voor de functies in deze omstandigheden.

Daarenboven waren, zooals reeds in Hoofdstuk VI is gezegd, de waarnemingen omtrent de afsterving der ademhaling niet nauwkeurig genoeg om eenigszins betrouwbare afstervingskrommen te teekenen. De in de figuur voor deze functie geteekende kromme geeft dan ook slechts bij benadering de afsterving der ademhaling weer voor 5' verwarmen. Om die reden is zij in de figuur gestreept.

Vergelijkt men nu, onder het bovenstaand voorbehoud, de afstervingskrommen, in fig. 30 geteekend, dan ziet men onmiddellijk eenige verschillen in het verloop dier krommen:

1e. Voor elke functie heeft de kromme andere temperatuurgrenzen.

2e. Het verschil tusschen de laagste en hoogste temperatuurgrens is verschillend voor de diverse functies, waardoor de afwijkende steilheid der krommen wordt veroorzaakt.

Dit is o. a. duidelijk te zien bij de vrijwel evenwijdig loopende afstervingskrommen voor de reproductiefunctie en de invertinewerking eenerzijds, waar het verschil tusschen de temperatuurgrenzen is 15 à 16 $\frac{1}{2}$ ° C., en de alcoholgisting anderzijds, waar dit bedraagt  $\pm$  11° C. De alcoholgistingfunctie sterft dus bij verhooging van temperatuur binnen een kleiner temperatuursinterval af dan de inversiewerking.

Dat de afstervingskrommen der ademhaling en der alcoholgisting elkaar bij 52° C. snijden, is waarschijnlijk te wijten aan waarnemingsfouten in de bepaling der ademhalingsafstervingskromme bij hogere temperaturen. Waarschijnlijk moet nl. de kromme voor de ademhaling iets steiler verlopen dan zij hier werd geteekend, en geheel gelegen zijn tusschen die voor de reproductiefunctie en die voor de alcoholgisting. Over het verloop van de kromme voor de methyleenblauwreductie is reeds in de vorige paragraaf een en ander opgemerkt. Het

behoeft dan ook niet te verwonderen, dat deze de kromme voor de inversie snijdt.

Teekent men nu den ordinaat voor een bepaalde temperatuur, dan is uit de figuur af te lezen, in welke mate de gist, gedurende 5 minuten verwarmd op die temperaturen, de verschillende functies heeft verloren. Hierbij moet echter weer vooropgesteld worden, dat deze verwarming voor de diverse functies moest geschieden onder de bovengenoemde, verschillende omstandigheden.

De verschillende afgestorven percentages bedragen bijvoorbeeld bij 50° C. en 5 minuten verwarmen voor de:

|                           |      |
|---------------------------|------|
| inversie.....             | 7 %  |
| alcoholgisting.....       | 18 % |
| (ademhaling.....)         | 55 % |
| reproductie.....          | 93 % |
| methyleenblauwreductie... | 0 %  |

Verwarmt men gedurende 5 minuten op 53° C., dan is het reproductievermogen geheel vernietigd, terwijl de invertinewerking slechts voor 26 % is verminderd en de alcoholgistingsfunctie slechts voor 55 %.

Ofschoon de verhitting bij onze proeven niet immer onder gelijke omstandigheden geschiedde, zijn deze cijfers zoo uiteenlopend, dat wij toch wel mogen concludeeren, dat het mogelijk is door verwarming gedurende een bepaalden tijd op een bepaalde temperatuur een hoeveelheid gist van een of meer harer functies te ontdoen, zonder dat de andere geheel verloren gaan.

Ditzelfde werd reeds in 1873 bij een hooger organisme toegepast door SCHÜTZENBERGER en QUINQUAUD <sup>1)</sup> nl. bij *Elodea canadensis*. Zij wilden nl. de ademhaling van deze plant bestudeeren geheel onafhankelijk van de assimilatie. Deze laatste functie werd nu geheel vernietigd door de plant gedurende 10 minuten in water op 45° à 50° C. te verwarmen, terwijl bepaalde andere functies, waaronder de ademhaling, niet werden vernietigd. Zij drukten dit uit met de woorden: „La plante

<sup>1)</sup> l. c.

est morte comme partie verte, mais elle est encore susceptible de remplir certaines fonctions biologiques”.

Wij willen er thans nog op wijzen, dat onder de hier bestudeerde functies zijn zoowel zulke, die men gewoonlijk beschouwt als typische levensfuncties, n.l. de reproductiefunctie en de ademhaling, als zulke, die men meestal rekent tot de typische enzymprocessen, n.l. de alcoholgisting en de inversie van riet-suiker. <sup>1)</sup> De afstervingskrommen vertoonden voor al deze functies echter een analoog verloop, in dit opzicht is er dus geen uitgesproken verschil tusschen een typisch levensproces en een typisch enzymproces. Integendeel zou men uit dat verloop kunnen afleiden, dat er een geleidelijke overgang is tusschen levensprocessen en zoogenaamde enzymprocessen. Of moet men aannemen, dat zelfs de meest typische levensprocessen, zooals de reproductiefunctie en de ademhaling, eigenlijk ook enzymprocessen zijn?

Met nadruk zij er hier echter nogmaals op gewezen, dat het feitelijk geen zin heeft een onderscheid te maken tusschen levensprocessen en enzymprocessen. Er is n.l. nooit, zooals wij in Hoofdstuk III § 1 reeds zeiden, een scherpe definitie van een enzym gegeven.

Wel wijst de verschillende ligging der afstervingskrommen daarop, dat de functies van het protoplasma onafhankelijk van elkaar kunnen afsterven. De bereiding van zoogenaamde enzympraeparaten zou men dan ook kunnen beschouwen als hierop te zijn gebaseerd. Wel is waar geschiedt bij die bereiding het afdooden der niet gewenschte functies doorgaans door vergiften, maar er werd ook wel verhitting toegepast, o.a. door BARTH bij de bereiding van invertine.

---

<sup>1)</sup> De methyleenblauwreductie geschiedt niet met gist, die met chloroform is behandeld, wel met zoogenaamde „Dauerhefe”; de vraag of men hier met een enzym- of een protoplasmawerking te maken heeft, blijve hier in 't midden.

---

## HOOFDSTUK X.

### Slotbeschouwingen.

---

#### § 1. *Samenvatting der verkregen uitkomsten en conclusiën.*

Wij meenen ons in deze paragraaf te moeten beperken tot het geven van een kort résumé van de resultaten, waartoe onze eigen proefnemingen hebben geleid om daaraan de eindconclusies vast te knopen, die uit deze uitkomsten mogen worden getrokken. Daarbij zij dan echter verwezen naar de Hoofdstukken I, II III, en IV waarin wij de vroegere onderzoeken over den temperatuursinvloed op chemische en physiologische processen hebben besproken en de stand van de hier besproken vraagstukken is toegelicht.

Door speciale inrichting der proefnemingen zijn wij er in geslaagd voor verschillende *onschadelijke temperaturen*, zoowel voor de alcoholgisting, de ademhaling als voor de inversiewerking van alcoholgist de *beginsnelheid* <sup>1)</sup> van het proces bij bepaalde glucose-, zuurstof- en rietsuikerconcentratie en bij bepaalde gistconcentratie met voldoende nauwkeurigheid te bepalen.

Voor *schadelijke temperaturen* kon voor dezelfde processen die beginsnelheid na bepaalde tijden van verwarming (voor de alcoholgisting en de inversie na 5, 10, 15 en 20 minuten, voor de zuurstofademhaling na 5, 10 en 15 minuten) vrij nauwkeurig worden benaderd.

De reductie van methyleenblauw door gist liet de bepaling der beginsnelheden bij verschillende temperaturen niet toe, hier moest worden volstaan met de waarneming der gemiddelde

---

<sup>1)</sup> Zie over hetgeen onder „beginsnelheid” moet verstaan worden, behalve hetgeen op bl. 111 en 178 is opgemerkt, ook § 2 van dit Hoofdstuk.

snelheid van de totaal verlopen reactie. Deze werd voor verschillende onschadelijke temperaturen en na 5, 10, 15 en 20 minuten voorwarmen ook voor schadelijke bepaald.

De grafische voorstelling van het verband tusschen de bedoelde snelheden en de temperatuur geeft voor onschadelijke temperaturen een enkele kromme, waarvan zich de verschillende krommen, die op de bepaalde verwarmingstijden op schadelijke temperatuur betrekking hebben, afsplitsen. Deze laatste krommen vertoonen een optimum, dat voor de langere voorwarmingstijden lager ligt dan voor de kortere.

De waargenomen snelheden voor onschadelijke temperaturen voldoen voor de methyleenblauw-reductie en voor de ademhaling in zooverre aan den regel van VAN 'T HOFF, dat de temperatuurs-coëfficiënten constant blijven, maar wijken daarvan af doordat die coëfficiënten aanmerkelijk van 2 en 3 verschillen. Van de andere functies, blijven die coëfficiënten niet constant, terwijl die afwijking sterker is dan de formule van ARRHENIUS zou doen verwachten.

Door verhitting van gist gedurende de bovengenoemde verwarmingstijden op schadelijke temperaturen, gevolgd door zeer snelle afkoeling tot een onschadelijke temperatuur en bepaling der beginsnelheid der functies zonder dat die bewerking voorafging en daarna, kon worden vastgesteld, welk gedeelte der functie door de schadelijke verhitting blijvend was vernietigd.

De krommen, die voor de verschillende verwarmingstijden het verband tusschen de percentages vernietigde functie en de temperatuur weergeven, de *afstervingskrommen*, konden voor de alcoholgisting en de inversie met voldoende scherpte worden bepaald. Voor de methyleenblauwreductie konden (door de meting eener gemiddelde snelheid) uit het verloop geen conclusies getrokken worden. De bepaling voor de ademhaling was met vrij groote waarnemingsfouten behept en kon slechts benaderend geschieden. Daarentegen werd voor een functie, die niet voor de bepaling van optimum-krommen werd benut, n.l. voor de reproductiefunctie van gist, met voldoende scherpte een afstervingskromme geconstrueerd.

Eene vergelijking van het verloop der diverse afstervingskrommen voor eenzelfde verwarmingstijd toont eensdeels de overeenkomst tusschen den vorm dezer kromme voor typische levensprocessen en typische enzymwerkingen en leert anderdeels hoe door verhitting een successievelijke afsterving der diverse functies optreedt en wel in de volgorde: reproductie, ademhaling, alcoholgisting, inversie, methyleenblauwreductie. <sup>1)</sup>

Voor alle bestudeerde functies (uitgezonderd de reproductie) werd verder bestudeerd het verband tusschen de beginsnelheid en de concentratie der gist. Voor de alcoholgisting werd bij gistconcentraties lager dan  $\pm 20\%$  lineaire evenredigheid geconstateerd, daarboven trad afwijking hiervan op. De ademhaling gaf voor hoeveelheden kleiner dan de maximaal door ons gebruikte een verband, dat niet heel veel van evenredigheid afwijkt, en waarvoor ook om andere redenen evenredigheid werd aangenomen. Bij de inversiewerking bestond voor alle concentraties, waarin ons invertinepraeparaat werd gebruikt, volkomen evenredigheid. Voor de methyleenblauwreductie is de gemiddelde snelheid evenredig met de gistconcentraties tusschen  $2\frac{1}{2}\%$  en  $15\%$ . Beneden  $2\frac{1}{2}\%$  neemt de snelheid veel sneller toe dan volgens evenredigheid is te verwachten, terwijl zij boven  $15\%$  nagenoeg onafhankelijk wordt van de gistconcentratie.

Uit de percentages bij bepaalde temperaturen en bepaalde verwarmingstijden afgestorven functie werd nu voor de alcoholgisting en voor de inversie, onder gebruikmaking van het zoeven genoemde verband tusschen snelheid en concentratie gist, *berekend* welke de snelheid zou geweest zijn, indien door verhitting geen afsterving had plaats gevonden. Uit de waarden van ieder der 4 optimumkrommen kon aldus een theoretische kromme worden becijferd; de gemiddelden der voor bepaalde temperaturen gevonden punten, die onderling niet meer

---

<sup>1)</sup> Men zie voor het voorbehoud betreffende de omstandigheden, waaronder de verhitting heeft te geschieden: bl. 214.



uiteenvielen dan de waarnemingsfouten zouden doen verwachten, werden als de juiste waarden beschouwd en daarmee de theoretische kromme geteekend.

Deze kromme vertoont voor beide functies een optimum.

Op de afsterving van beide functies bij verhitting gedurende verschillende tijden op constante schadelijke temperatuur (afgelezen uit de afstervingskrommen) liet zich de formule van TAMMANN toepassen. Ook het theoretisch gevonden punt voor de snelheid zonder afsterving bij die temperatuur beantwoordde aan die formule. Hieruit volgt eenerzijds, dat zich de theoretische kromme ook door extrapolatie zou laten vinden, anderzijds, dat men daarvan als de „kromme voor 0 minuten voorwarmen” mag spreken.

De afstervingskrommen voor de ademhaling konden niet met voldoende scherpthe worden bepaald om hierop dezelfde becijfering toe te passen. Daarentegen bleken de (uit de optimumkrommen afgelezen) waarden der snelheden voor voortgezette verwarmingen bij een zelfde schadelijke temperatuur goed te beantwoorden aan de formule van TAMMANN. Daarvan gebruikmakend kon dan de optimumkromme voor 0 minuten verwarmen worden *berekend*. Deze zou dus ook door extrapolatie te vinden zijn geweest. Ook deze kromme toonde een optimum.

Voor de methyleenblauwreductie kon de formule van TAMMANN niet worden toegepast, hier werd de kromme voor 0 minuten voorwarmen door extrapolatie benaderd, ook die kromme gaf een optimum te zien.

In verband met het zoeken naar eene verklaring voor de waargenomen verschijnselen, werd voor de alcoholgisting, de ademhaling, de inversie en de methyleenblauwreductie nog bepaald het verband tusschen de beginsnelheid der functie en de concentratie der omgezette substantie bij een bepaalde onschadelijke temperatuur. Dit verband werd voor de vier functies door een kromme weergegeven, die sterk concaaf gebogen is ten opzichte van de concentratie-as. Voor de zuurstofademhaling en de methyleenblauwreductie was ze zeer goed

voor te stellen door de zoogen. adsorptieformule, voor de alcoholgisting vrij goed, voor de inversiewerking niet zeer bevredigend.

Ten slotte werd ook aan *tarwekiemplantjes* het verband tusschen de ademhaling en de temperatuur op analoge wijze bestudeerd als voor gist, alleen werden hier verwarmingstijden van  $12\frac{1}{2}$ ,  $17\frac{1}{2}$  en  $22\frac{1}{2}$  minuut gebezigd. De optimumkromme voor 0 minuten verwarmen werd eveneens met behulp van de formule van TAMMANN becijferd en vertoonde een optimum.

#### *Conclusiën.*

1. Indien het mogelijk zou zijn de beginsnelheid <sup>1)</sup> voor de alcoholgisting, de ademhaling, de inversie en de gemiddelde snelheid der methyleenblauwreductie door gist ook bij hogere temperaturen te meten, en wel *onmiddellijk* nadat die temperatuur was bereikt, terwijl de blijvende vernietiging van die functies werd voorkomen, zou de daarvoor verkregen temperatuursnelheid-kromme een *optimum* vertoonen. Ditzelfde geldt ook voor de ademhaling van tarwekiemplantjes.

2. Uit onze proeven volgt verder, dat voor de alcoholgisting en de inversie door gist in de onderstelling, dat de beschadiging uitbleef, nog na *minstens* 20 minuten verwarmen op die hogere temperaturen dezelfde optimumkromme voor de beginsnelheid zou worden gevonden. Voor de overige functies kon dit niet uit onze uitkomsten worden geconcludeerd, maar er is geen reden om niet te mogen aannemen, dat het ook daarvoor zou gelden.

3. De theorie van DUCLAUX-BLACKMAN voor de verklaring van het optreden van een optimum in de snelheid-temperatuurlijn moet dus voor de door ons onderzochte *physiologische* proeven verworpen worden, voor zoover daarbij dit optreden uitsluitend aan de bij hooger temperatuur intredende blijvende beschadiging van de functies wordt toegeschreven.

4. Zelfs geldt dit, indien men de voor de toetsing der

---

<sup>1)</sup> Zie voor de beteekenis, die aan deze uitdrukking is te hechten, de opmerking in de noot op bl. 215.

theorie door BLACKMAN ingevoerde onderstelling, als zou na 0 minuten verwarmen niets zijn afgestorven, laten varen (hoewel onze proeven de juistheid daarvan wel bevestigen) en de theorie in den algemeenen vorm geeft als dit onder 3 is geschied.

5. De uitkomsten van vroegere onderzoekingen omtrent den temperatuursinvloed op physiologische processen zijn in verband met de inrichting dier proeven niet in strijd met de onderstelling, dat de door ons gevonden uitkomst zich algemeen tot dergelijke processen laat uitbreiden.

6. De afsterving van ieder der door mij onderzochte levensfuncties bij voortgezette verhitting op constante schadelijke temperatuur geschiedt bij vrij groote benadering volgens de door TAMMANN opgestelde formule.

7. De afsterving van de verschillende functies van de alcoholgist bij een bepaalde schadelijke temperatuur en bepaalden tijd van voorwarmen geschiedt voor ieder dier functies tot een bepaald en verschillend percentage.

8. Bij de alcoholgisting, de zuurstofademhaling, de inversie en de methyleenblauwreductie treden adsorptieverschijnselen van de zich omzettende stof op.

9. Uit het optreden van een primair-optimum in de snelheid-temperatuur-lijn mag niet geconcludeerd worden, dat de functie niet is toe te schrijven aan een „chemisch proces” in het levend protoplasma, evenmin volgt dit uit eene afwijking van den regel van VAN 'T HOFF of de formule van ARRHENIUS, die voor sommige der processen, reeds bij onschadelijke temperaturen werd gevonden.

## § 2. *Punten van verschil met vroegere onderzoekers.*

Na het uitkomen van een voorloopige mededeeling <sup>1)</sup> over het temperatuur-optimum van physiologische processen verscheen in October 1910 de vroeger reeds geciteerde dissertatie

<sup>1)</sup> VAN AMSTEL en VAN ITERSON. Versl. Kon. Ak. v. Wetensch. te Amsterdam, Juni 1910.

van RUTGERS, waarin een paragraaf besteed werd aan de bestrijding der conclusiën, vermeld in bovengenoemde voorloopige mededeeling. In een tweede mededeeling<sup>1)</sup> werden de argumenten van RUTGERS aan kritiek onderworpen, maar ik meen toch ook hier nog in 't kort de bezwaren van RUTGERS te moeten nagaan en aan de uitkomsten mijner waarnemingen te toetsen.

In de *eerste* plaats wijst RUTGERS er op, dat ook bij chemische processen daling van den temperatuurscoëfficiënt bij stijgende temperatuur werd geconstateerd en dat dit dus niet kenmerkend is, voor de door ons bestudeerde processen. Inderdaad is dit juist en is ook op grond van de formule van ARRHENIUS te verwachten, dat indien het physiologische proces een chemische omzetting is, een daling zal zichtbaar zijn.

Zooals echter reeds vroeger is gezegd, neemt de temperatuurscoëfficiënt voor physiologische processen vaak bij onschadelijke temperaturen sneller af dan volgens die formule zou zijn te verwachten.

RUTGERS vergelijkt verder onze temperatuurscoëfficiënten, gevonden bij de alcoholgisting, met de door TRAUTZ en VOLKMANN gegeven coëfficiënten voor de verzeeping van acetyl- en propylacetaat. Hij vond, dat de onze niet veel meer afweken van den regel van VAN 'T HOFF dan die voor de verzeeping; de onze daalden nl. van 2.3 op 1.5, die voor de verzeeping van 2.04 op 1.46. Deze laatste daling was echter verdeeld over een temperatuurs-interval van 50°, terwijl de daling van onze coëfficiënten verdeeld was over een interval van 25°, hetgeen door RUTGERS over het hoofd werd gezien; onze daling was dus ruim 2 maal zoo snel.

De afname van den temperatuurscoëfficiënt mag nu volgens RUTGERS niet een reden zijn om de opvatting te verlaten, dat bij de verklaring van reactiesnelheden op botanisch gebied uit gegaan moet worden van de wetten der physische chemie. Dit is

---

<sup>1)</sup> Versl. Kon. Ak. v. Wet. November 1910.

volkomen juist, het lag dan ook volstrekt niet in onze bedoeling dit te betwisten. Wij willen slechts betoogen, dat het ombuigen van de snelheid-temperatuur-kromme bij hogere temperaturen niet *alleen* uit afsterving kan worden verklaard, zooals BLACKMAN dit aanneemt, doch dat zich daarbij nog andere oorzaken doen gelden.

Dit laatste wordt nu ook door RUTGERS erkend, waar hij zegt: „Bovendien zullen zich bij toepassing van den regel van VAN 't HOFF op biologisch gebied nog andere afwijkingen kunnen doen gelden, omdat wij hier niet te doen hebben met homogene systemen”. Wij kunnen ons met deze uitspraak volkomen vereenigen, slechts zullen de consequenties daarvan te aanvaarden zijn, nl. dat *a priori* de mogelijkheid moet worden toegegeven, dat zelfs wanneer men de biologische processen als het resultaat van chemische werkingen beschouwt, een „primair” optimum kan bestaan.

In de *tweede* plaats oppert RUTGERS de onderstelling, dat bij onze proefnemingen over de alcoholgisting een diffusie op kan treden als beperkende factor in den zin van BLACKMAN. Deze diffusie zou zijn die van de glucose-oplossing door den celwand naar de zymase en die van de afvoerproducten der gisting in tegengestelde richting. De volgende berekening leert echter, dat men moet aannemen, dat in 1 minuut reeds veel meer glucose naar binnen kan diffundeeren dan gedurende de geheele proef, die steeds langer duurde dan 2 minuten, maximaal werd vergist.

Deze berekening is gebaseerd op de formule, die WÜLLNER in zijn „Lehrbuch der Experimental physik” (S. 447) geeft voor de volgende diffusieproef:

Op den bodem van een cylinder met de lengte  $l$  is gebracht een zoodanige hoeveelheid vast zout, dat daar ter plaatse, hoe lang de proef ook duurt, steeds een verzadigde zoutoplossing blijft. Dan wordt de cylinder in zulk een groot vat met water gezet, dat zelfs wanneer al het zout in dat water was gediffundeerd, de concentratie daar toch zóó klein zou zijn, dat ze practisch 0 is te stellen. De concentratie is nu aan het onderste

eind van den cylinder gedurende de geheele proef constant en bijvoorbeeld gelijk  $c_0$ , aan het bovineinde daarentegen gelijk 0. Laat men de diffusie lang genoeg plaats vinden, dan moet ten slotte een stationnaire toestand intreden, zoodra n.l. de laatste doorsnede van den cylinder in gelijken tijd evenveel aan de omgeving afstaat als zij van de daaronder liggende doorsnede ontvangt.

In dit geval mag men voor de diffundeerende hoeveelheid zout de formule toepassen  $s = kq \frac{c_0}{l} t$ .

In deze formule is  $k$  de diffusie-coëfficiënt,  $q$  de oppervlakte van den cylinder,  $l$  de lengte van den cylinder en  $c_0$  het concentratie-verval,  $t$  de diffusietijd.

De waarde van den diffusie-coëfficiënt voor een zekere stof vindt men uit deze formule, wanneer daarin voor  $s$  genomen wordt de hoeveelheid zout in grammen, die per dag door een doorsnede van 1 c.M<sup>2</sup>. gaat, wanneer twee op 1 c.M. afstand van elkaar verwijderde lagen een concentratie-verval van 1 gram per c.M<sup>3</sup>. hebben.

Wanneer nu werkelijk de diffusiesnelheid der glucose de beperkende factor was, dan moet men aannemen, dat men bij de diffusie van de glucose-oplossing door den celwand een analoog geval heeft.

Aan den eenen kant van den celwand zou n.l. de concentratie der glucose steeds gelijk 0 zijn, daar zij daar voortdurend weggegist zou worden, terwijl ze aan den buitenkant practisch constant zou blijven. <sup>1)</sup>

Nu zal de diffusiesnelheid door den wand misschien wel iets kleiner zijn dan die door water, maar zeer groot zal dit verschil toch waarschijnlijk niet wezen.

De celwand is dan te beschouwen als een met water gevulden cylinder, waarin zich aan den eenen kant een suiker-

---

<sup>1)</sup> Bij deze becijfering werd in 't geheel geen adsorptie aangenomen; deze treedt in werkelijkheid wel op en zal de snelheid van diffusie aanmerkelijk grooter maken dan de hier berekende.

oplossing van practisch constante concentratie bevindt en waarin aan den anderen kant de concentratie 0 is.

De doorsnede van dezen cylinder is nu het totaal oppervlak van den celwand van al de gistcellen in de gebruikte hoeveelheid gist, en de lengte van den cylinder de wanddikte. De berekening der oppervlakte van de gist werd als volgt uitgevoerd: Eenvoudigheidshalve beschouwden wij de gist als te bestaan uit bolletjes met een middellijn van  $6 \mu$ . De oppervlakte van 1 cel is dan:  $4 \pi R^2 = \frac{22}{7} \times 36 \mu^2 = 113 \mu^2$ . In 1 gram gist bevonden zich ongeveer  $9600 \times 10^6$  cellen, en dus in de gebruikte 16 gram  $16 \times 96 \times 10^8 = 1536 \times 10^8$ . Het totaal oppervlak der gebruikte gist is dus:

$$1536 \times 10^8 \times 113 \mu^2 = 173568 \times 10^8 \mu^2 = 173568 \text{ c.M}^2.$$

Voor de diffusieconstante werd genomen de waarde, die deze heeft voor rietsuiker in water bij  $18^\circ$  n.l. 0.33, voor glucose en bij  $45^\circ$  is die waarde zeker grooter, dat wil dus zeggen dat, wanneer men de juiste waarde toepast, de hoeveelheid glucose, die zou diffundeeren nog grooter zou zijn, dan die met onze aanname werd gevonden.

Het verschil in concentratie is 0.06 gr. per c.M<sup>3</sup>, zoodat  $c_0 = 0.06$ ; de dikte van den celwand is  $\pm 0.1 \mu$ , dus in onze formule  $l = 0.00001$  c.M.; de tijdsduur is 1 minuut, dus  $t = \frac{1}{24 \times 60}$  dag. Deze waarden substitueerende in de formule verkrijgt men:

$$s = 0.33 \times 173568 \times \frac{0.06}{0.00001} \times \frac{1}{24 \times 60} = 2386.56 \text{ mgr.}$$

Per minuut kan dus door den celwand diffundeeren 2.39 gram glucose, terwijl totaal gedurende de geheele proef hoogstens slechts  $\frac{1}{2}$  gram werd vergist.

Uit deze berekening volgt dus, dat steeds de glucose in meer dan voldoende hoeveelheid door den celwand kan diffundeeren.

Ook is trouwens de vorm der snelheid-temperatuur-kromme voor onschadelijke temperatuur, niet van dien aard, dat men als waarschijnlijk moet beschouwen, dat diffusie door den celwand

beperkende factor is. De diffusiesnelheid heeft nl. een veel geringer temperatuurscoëfficiënt dan de genoemde kromme aan- geeft. De temperatuurscoëfficiënt voor de diffusiesnelheid bedraagt nl. ongeveer 1.1 à 1.2, terwijl uit de kromme waarden werden afgelezen, loopende van 1.5 tot 2.3.

In de *derde* plaats meent RUTGERS, zooals reeds op blz. 103 is opgemerkt en voorloopig besproken, een gunstige invloed van de voortgezette verwarming te mogen aannemen.

De tabel I, blz. 114 gaf nu een overzicht van het verloop der snelheid tijdens den „Antrieb“; hieruit bleek, dat inderdaad de snelheid onmiddellijk na de menging der glucose-oplossingen gistsuspensie lager was dan die tijdens het verder verloop der gisting. De snelheid bleef echter dan veel langer constant dan de Antrieb duurde. Op die constant geworden snelheid is de invloed van de temperatuur door mij nagegaan.

Tabel I gaf ook slechts een uit den aard der zaak onvolledige voorstelling van de snelheid tijdens den Antrieb, de cijfers wijzen er echter eenigszins op, dat de allereerste beginsnelheid 0 was. Nemen wij dit aan, of onderstellen wij, dat zij bij een andere inrichting der proeven voor alle temperaturen constant was, bijv. gelijk aan die bij 20° C., dan bleef er immers niets over van de bepaling eener temperatuurkromme voor *die* beginsnelheid.

Onderstellen wij met RUTGERS, dat werkelijk een begunstige- nende invloed aanwezig was, dan zou volgens deze opvatting bij de alcoholgisting ook bij temperaturen beneden 45° een beschadiging plaats hebben, welke echter juist door den gun- stigen invloed zou worden opgeheven, en wel voor al de 4 voorwarmingstijden.

Een *blijvende* beschadiging werd echter bij temperaturen be- neden 45° C. gedurende die voorwarmingstijden, zooals duidelijk blijkt uit de proeven, vermeld op blz. 135, niet waargenomen.

Was de theorie van BLACKMAN wel van toepassing en nam- men aan, dat de temperatuurscoëfficiënt zonder afsterving con- stant bleef op die voor de temperaturen 35° en 25° ( $Q_{10} = 2$ ),



dan leert een eenvoudige becijfering, dat bij  $45^{\circ}$  C.  $\pm 35\%$  der gist hare activiteit zou hebben verloren. Breidde men de theorie van BLACKMAN uit door in plaats van den regel van VAN 'T HOFF de formule van ARRHENIUS te nemen, dan nog zou men tot een afsterving van  $\pm 20\%$  komen.

Men zou nu kunnen aannemen, dat de beschadiging hier *omkeerbaar* plaats had, en inderdaad zullen wij in § 3 van dit Hoofdstuk een dergelijke onderstelling nader uitwerken, doch al blijkt die opvatting juist, dan mag men daarin toch geen bevestiging van de theorie van BLACKMAN zien, immers een dergelijke beschadiging mag men geen *afsterving* noemen.

Zeer opvallend zou verder bij aanneme van RUTGERS' onderstelling, de toevalligheid zijn, dat bij berekening der O-kromme uit de 4 gevonden krommen, alleen den blijvend schadelijken invloed in aanmerking nemend, 4 krommen worden gevonden, die practisch samenvallen.

Ten slotte zij nog opgemerkt, dat al namen wij een even sterken gunstigen invloed aan als RUTGERS uit zijne waarnemingen met tarwekiemplantjes die voor de geotropische prikkeling meent te mogen afleiden, dit nog geen merkbaaren invloed zou kunnen hebben op onze uitkomsten. Immers de langste tijd van voorwarmen was bij ons 20 minuten. RUTGERS nam nu als maximale begunstiging in 2 uur na 2 uur van verwarmen een daling van den praesentatietijd van  $190''$  op  $130''$  waar. Bij de proeven van RUTGERS zou dus in een tijdsverloop van 20' volgend op het tweede uur der verwarming tengevolge van de „begunstiging”, de praesentatietijd slechts veranderen van  $190''$  op  $180''$ , welke verandering valt binnen de waarnemingsfouten. Men mag dus aannemen, dat dit dus ook het geval zou zijn bij onze proefnemingen.

Door RUTGERS is dus niet aangetoond, dat de theorie van BLACKMAN van toepassing is op onze uitkomsten ook al brengt men in die theorie door hem voorgeslagen wijzigingen aan.

KUYPER sluit zich in zijne vroeger aangehaalde tweede mede-

deeling over den temperatuursinvloed op de ademhaling geheel aan .bij de opvattingen van RUTGERS. Ook KUYPER wil de afwijking beneden de schadelijke temperaturen wijten aan den invloed van het groote aantal factoren, die het proces beïnvloeden kunnen: verandering in de diffusiesnelheid der verschillende werkzame stoffen, in vormingssnelheid van een enzym of enzymen, enz. Ook hij stelt zich dus niet meer zonder wijziging op het standpunt van BLACKMAN, want KUYPER zal bovengenoemde veranderingen toch niet opvatten als *afsterven*.

Dat wij beneden 45° C. geen beschadiging „waarnamen”, schrijft ook KUYPER toe aan de overheersching van een gunstigen invloed. Welke de consequenties van een dergelijke aanname zijn, is reeds op bl. 226 uiteengezet.

Ook schijnt het KUYPER mogelijk, dat na *langeren* duur der proefnemingen wel een achteruitgang zou waar te nemen zijn, daar deze zeer langzaam zou optreden. Dat bij langer verwarmen, bijv. gedurende 1 uur op 45°, de gistingssnelheid wel zou achteruitgaan, lijkt ook mij zeer waarschijnlijk, maar dit doet hier niet ter zake. Onze proefnemingen, *soowel* voor de bepaling der afstervingskrommen als voor de bepaling der optimumkrommen zijn verricht voor *dezelfde* tijden van verwarming en de becijfering had alleen op *die* tijden betrekking. De redenen, waarom die tijden door mij kort werden genomen, zijn uiteengezet in Hoofdstuk IV.

Verder heeft KUYPER bezwaar tegen de gevolgde wijze van berekenen en onze opvatting van de zoogenaamde „afsterving”. Men zou n.l. volgens KUYPER te doen hebben met een kwalitatieve vermindering van het gistingsvermogen van alle gistcellen.

Hoe *wij* ons die afsterving voorstellen, werd door ons in het midden gelaten. Met KUYPER'S opvatting kunnen wij ons echter gedeeltelijk wel vereenigen, in zooverre als toegegeven moet worden, dat het mogelijk is, dat althans voor een deel der gist, de functie partieel vernietigd is <sup>1)</sup> en het is dan ook onze bedoeling

<sup>1)</sup> Voor een „partieele” afsterving pleit bijv. de omstandigheid, dat gistcellen, die verhit zijn geworden op een schadelijke temperatuur en

geweest, dat, wanneer wij spraken van een gedeeltelijk afgestorven functie van een zekere hoeveelheid gist, niet de afzonderlijke cellen als zoodanig zouden worden in het oog genomen, maar de gezamenlijke functie als één geheel beschouwd. Inderdaad heeft nu KUYPER in zooverre gelijk, dat wanneer men een partieele vernietiging van de functie onderstelt, mits men deze dan gelijkmatig in alle cellen denkt opgetreden (waartoe zeker geen voldoende grond bestaat), bij de berekening van de hoeveelheid afgestorven functie niet mag gebruik gemaakt worden van de gistconcentratie-snelheid-lijn; tenzij deze een evenredigheid tusschen de snelheid en de concentratie van het werkzame agens aangaf. Dat wij dit voor de alcoholgisting, waarbij een kromme werd gevonden, die belangrijk van een rechte lijn afweek, toch hebben meenen te moeten doen, vindt zijn oorzaak, vooreerst in de omstandigheid, dat de afsterving volstrekt niet voor alle afzonderlijke cellen in den zelfden graad intreedt, maar verder in de overweging, dat bij onze wijze van becijfering nog zelfs de minst gebogen temperatuur-snelheid-lijn wordt verkregen. Hadden wij toch aangenomen, dat de afsterving voor alle cellen in een zelfde verhouding geschiedde, dan zou men een evenredigheid tusschen de gistingssnelheid en het percentage nog levende functie moeten aannemen en in plaats van onze empirische kromme een rechte lijn hebben moeten gebruiken. Zodoende zou men tot het resultaat komen, dat de na een zekeren tijd van verhitting op een schadelijke temperatuur waargenomen gistingssnelheid veroorzaakt werd door een grootere hoeveelheid van de gistingfunctie dan wij bij gebruik der empirisch gevonden kromme aannamen. Gebruikt men dus deze waarde voor de becijfering der nul-kromme, dan zou het op die temperatuur betrekking hebbende punt daarvan lager komen te liggen dan dat, hetwelk wij vonden. Men ziet dus hieruit, dat

---

daarna behandeld met een methyleenblauw-oplossing bij juiste keuze der temperatuur, voor een deel kleurloos blijven, voor een ander (afgestorven) deel intensief blauw worden en voor een derde, kleiner gedeelte tusschen-nuancen vertoonen, (waarneming van Prof. BEIJERINCK).

wij de voor BLACKMAN'S theorie meest gunstige opvatting hebben gevolgd.

Ten slotte vervormt KUYPER onze grafische voorstelling der optimum-kromme voor de alcoholgisting in het geval geen afsterfing plaats vond, tot een kromme zonder optimum. Hierbij laat KUYPER reeds van af  $30^\circ$  de nul-kromme afwijken van de door ons voor de verschillende tijden van voorwarming enkelvoudig gevonden kromme. Hiermede duidt KUYPER dus aan, dat ook bij de ons toegepaste tijden van voorwarming reeds bij die temperaturen beschadiging der gist zou optreden.

Uitdrukkelijk zij echter nogmaals geconstateerd, dat bij onze proeven een *blijvende beschadiging* daarbij niet werd gevonden (zie tabel VI en VII) en alleen daarmede mag voor de becijfering der nul-kromme worden rekening gehouden. De theoretische kromme kan dus eerst van af  $45^\circ$  C. van de waargenomen (enkelvoudige) temperatuur-snelheid-kromme merkbaar <sup>1)</sup> gaan afwijken.

Ook is de extrapolatie voor  $46^\circ$  C. door KUYPER eenigszins eigenaardig uitgevoerd. De door hem als  $A_4$ ,  $A_3$ ,  $A_2$  en  $A_1$  aangeduide punten liggen nagenoeg op een rechte lijn, het heeft dus geen zin, vooral voor zulke korte verwarmingstijden als hier werden gebruikt, het stuk  $A_1$   $A_0$  plotseling een grooten hoek te laten maken met de genoemde rechte. Omtrent de extrapolatie uit de waarnemingen bij de hoogere temperaturen, die KUYPER als een goede bevestiging van zijn opvatting beschouwt, valt weinig te concludeeren, daar hierbij de waarnemingsfouten zooveel grooter worden.

De oorzaken, waaraan wij het verschil tusschen de conclusiën, waartoe onze proefnemingen leiden en die, waartoe de bovengenoemde onderzoekers zijn gekomen, toeschrijven, vindt men uitvoerig uiteengezet in Hoofdstuk IV § 2 en, wij meenen hier te kunnen volstaan met daarheen te verwijzen.

---

<sup>1)</sup> Natuurlijk zou, indien bij lang voortgezette voorwarming beneden  $45^\circ$  C. beschadiging werd geconstateerd, de afwijking vroeger moeten beginnen; dit is ook inderdaad waarschijnlijk, maar die afwijking moet dan op onze schaal van tekening „onmerkbaar” zijn.

Wel moge hier nog eene opmerking weerlegd worden, die tegen onze beschouwingen is aangevoerd. Men zou n.l. kunnen onderstellen, dat de door ons na de verwarming toegepaste „plotselinge afkoeling” een blijvende beschadiging van de onderzochte functie meebracht. Die onderstelling zou nu echter tot de conclusie leiden, dat de theoretische optimum-kromme voorbij het optimum nog sterker daalt dan wij dit teekenden. In dit geval zou n.l. in werkelijkheid een grooter gedeelte der functie onbeschadigd zijn gebleven dan wij aannamen en het getal, waarmede de na de verwarming gevonden snelheid zou moeten worden vermenigvuldigd, om de juiste nulwaarde te vinden, zou dus kleiner zijn dan dat, hetwelk wij aannamen.

Eindelijk zij nogmaals met nadruk betoogd, dat onze argumenten slechts tegen de verklaring, die DUCLAUX en BLACKMAN voor het ombuigen van de snelheid-temperatuur-lijn gaven, gericht zijn en niet tegen de door den laatsten onderzoeker gegeven theorie der beperkende factoren.

### § 3. *Nieuwe gezichtspunten.*

Wij hebben in het voorafgaande vermeden eene verklaring te geven voor het optreden van een temperatuur-optimum, dat de lijn, die zonder afsterven het verband tusschen snelheid en temperatuur weergeeft, blijkt te vertoonen.

Vóórdat wij thans over eene mogelijke verklaringswijze eenige beschouwingen geven, zij nogmaals vooropgesteld, dat al gaat men uit van de onderstelling, dat physiologische processen veroorzaakt worden door chemische omzettingen, die zich in het organisme of onder den invloed van een enzym afspelen en al neemt men aan, dat voor ieder dezer de regel van VAN 'T HOFF, de formule van dezen onderzoeker of die van ARRHENIUS geldt, het toch onmogelijk is met zekerheid te voorspellen, welke de vorm van de hier bedoelde kromme zal wezen.

Immers de heterogeniteit van het medium, waarin physiolo-

gische processen verlopen, maakt dat men omtrent het snelheid-temperatuur-verband geen zekerheid heeft, terwijl men, *apriori* omdat physiologische reacties zeker doorgaans complexe reacties zullen wezen, zelfs ook al verliep het proces in een volkomen homogeen medium, in bovengenoemde onderstellingen, toch nog zoowel een positieven als een negatieven temperatuurs-coëfficiënt of zelfs een optimum kan verwachten. <sup>1)</sup>

Bij de verklaring, die ERNST (zie bl. 31) geeft van het optreden van een primair optimum bij de knalgaskatalyse door platina-suspensie wordt de oorzaak van het ombuigen gezocht in wijzigingen in de adsorptie en dit dus geheel toegeschreven aan de heterogeniteit van het systeem, waarin de reactie plaats vindt. Stilzweigend wordt daarbij aangenomen, dat de snelheid van het chemisme zelf door de temperatuur volgens een steeds stijgende lijn wordt beïnvloed. Reeds vroeger hebben wij er op gewezen, dat men een zelfde verklaringswijze, onder aanname dezer zelfde onderstelling, ook voor het optreden van het temperatuur-optimum in de lijn, die zonder afsterven bij physiologische processen geldt, zou kunnen toepassen. Juist het feit, dat wij bij de door ons bestudeerde reacties adsorptiever-schijnselen hebben waargenomen, zou tot eene dergelijke op-vattingswijze aanleiding kunnen geven.

Toch meenen wij eene andere te moeten uitwerken, waarbij trouwens eveneens wordt uitgegaan van de onderstelling, dat de snelheid van de bestudeerde omzetting zelve binnen het beschouwde temperatuursgebied wél een voortdurende stijging met de temperatuur zou vertoonen. Nu wordt echter de verklaring voor de ombuiging, die de primaire snelheid-temperatuur-lijn vertoont, niet gezocht in de heterogeniteit van het medium, maar in het optreden van een nevenreactie, waardoor het werkzame agens *omkeerbaar* wordt geïnactiveerd.

De overwegingen, die ons tot het opstellen dezer verklaringswijze hebben geleid, zijn te zoeken in eene nadere beschouwing van de zoogenaamde „warmteverlamming”.

<sup>1)</sup> Zie hetgeen hieromtrent op bl. 6 van dit Proefschrift werd opgemerkt.

Bij processen, waarvoor dit verschijnsel optreedt, wordt namelijk eveneens een temperatuur-optimum waargenomen, maar hier zal ieder toegeven, dat dit intreedt zonder dat er van afsterven sprake is. Dit optimum kan nu *als gevolg van hetzelfde proces, dat bij hooger temperatuur de totale verlamming veroorzaakt*, beschouwd worden. Het ligt dus voor de hand ook het door ons gevonden primair optimum voor processen, waarbij warmteverlamming niet wordt waargenomen, op te vatten als veroorzaakt door de inleiding van een warmteverlamming.

*Aldus opgevat zou het verschil tusschen processen met en zonder waarneembare warmteverlamming dit zijn, dat bij de eerste dit verschijnsel reeds volledig is bij temperaturen lager dan die, waarbij afsterving intreedt, bij de laatste eerst daarboven.* Bij deze laatste processen zou zich dan toch, nog vóór de afsterving begint, het proces, dat tot de verlamming leidt, kunnen doen gelden, waardoor de aanmerkelijke afwijking van den regel VAN 'T HOFF en de formule van ARRHENIUS beneden schadelijke temperaturen, die wij voor verschillende processen constateerden, zou verklaard zijn. Het bedoelde proces zou echter bij onschadelijke temperaturen niet noodzakelijk merkbaar *moeten* zijn en dit zou bijvoorbeeld gelden voor de ademhaling en de metbyleenblauwreductie.

Het is nu voor onze beschouwingen van een bijzondere beteekenis, dat reeds in 1891 door CORIN en ANSIAUX<sup>1)</sup> is waargenomen, dat het mogelijk is een oplossing van eiwitstof (serumalbumine) door verwarming vlokken te doen afzetten, die zich na afkoelen weer kunnen oplossen.

Het is zeker merkwaardig, dat deze voor de studie van physiologische processen zoo belangrijke waarneming, waarvan overigens door CORIN en ANSIAUX de groote beteekenis niet voldoende schijnt te zijn ingezien, in de vergetelheid is geraakt en nimmer door anderen is gecontrôleerd.

Bij dit onderzoek, dat met veel zorg is uitgevoerd, bleek

---

1. Bull. Acad. Roy. d. Belg. 21, 1891.

verder, dat indien de verhitting bij hooger temperatuur geschiedde een neerslag ontstond, dat na afkoeling niet meer kon worden opgelost. CORIN en ANSIAUX onderscheiden daarom:

1°. *Praecipitatie*, waarbij het neergeslagen eiwit weer kan worden opgelost en men dus te doen heeft met een omkeerbaar proces.

2°. *Coagulatie*, waarbij het albumine in onoplosbaren vorm wordt neergeslagen en waarbij dus een onomkeerbaar proces in het spel is.

Verder werd door hen waargenomen, dat de oplossingsnelheid van de vlokken in het 1° geval verkregen, omgekeerd evenredig was met den duur der verwarming op de praecipitatie veroorzakende temperatuur.

Bedenkt men nu, dat het protoplasma zeker tal van eiwitstoffen bevat, dan moet de mogelijkheid van een praecipitatie worden toegegeven en is daarmede, in de onderstelling, dat het gepraecipiteerde deel van het protoplasma inactief is geworden, het optreden van een warmteverlamming zoowel als de daaraan voorafgaande afname der intensiteit van de bestudeerde functie en dus ook het optreden van het primaire optimum verklaard.

Een proces zal dan warmteverlamming vertoonen, wanneer nog vóór de coagulatie begint, de praecipitatie van het actieve deel zoover is voortgeschreden, dat de bestudeerde functie reeds geheel tot stilstand is gekomen.

Bij deze beschouwingwijze wordt dus de afsterving als de „coagulatie” in den zin van CORIN en ANSIAUX opgevat en aangezien wij vroeger gezien hebben (zie Hoofdstuk IX § 2), dat voor die afsterving de formule van TAMMANN gold en anderzijds door MISS CHICK en MARTIN het verloop der coagulatie bij verhitting van eiwitstoffen als dat van een monomoleculaire reactie werd gegeven, is het van zeer veel belang, dat deze laatste onderzoekers ook inderdaad alleen de onomkeerbare stolling hebben gemeten. Immers vóór zij de bepaling deden van het bij verhitting neergeslagen deel der eiwitstof werd de oplossing afgekoeld.



Of het optreden van koudeverlamming en het waarschijnlijk daarmee samenhangend abnormaal verloop, dat de temperatuurs-coëfficiënten in de nabijheid van het beginpunt daarvan of zoo het proces zonder koudeverlamming verloopt, nabij het minimum vertoonen, dezelfde verklaringwijze toelaten, is bij gebrek aan voldoende gegevens omtrent de praecipitatie en coagulatie van eiwitstoffen door lage temperaturen niet met zekerheid te zeggen. Wel weten wij, door MOLISCH,<sup>1)</sup> dat kippeneiwit en gelatine bij bevrozen omkeerbaar worden gepraecipiteerd, maar een eigenlijke coagulatie door afkoelen werd door MOLISCH voor eiwitstoffen niet gevonden. Ook is de praecipitatie bij het bevrozen waarschijnlijk uitsluitend een wateronttrekking tengevolge van ijsvorming en een geheel andere als de bovenbedoelde. Maar ook het afsterven door bevrozen, wordt zeker vaak alleen door wateronttrekking veroorzaakt en is dan niet met een coagulatie te vergelijken.

Wij zijn er ons trouwens van bewust, dat de hier gegeven verklaringwijze ook tot het stellen van tal van andere vragen aanleiding geeft. Twee daarvan mogen hier gereleveerd worden, omdat men daaraan argumenten tegen deze opvattingwijze zou kunnen ontleenen.

In de eerste plaats blijken de gepraecipiteerde vlokken moeilijker oplosbaar te worden, wanneer de verwarming langer duurt, hetgeen in overeenstemming is met de waarneming, dat de warmteverlamming zich bij voortgezette verwarming langzamer herstelt. Men mag dus mogelijk achten, dat ook bij de door ons bestudeerde processen een herstel zal zijn te observeeren, wanneer na de verhitting op schadelijke temperatuur tot een onschadelijke wordt afgekoeld. Wij hebben zulk een herstel niet waargenomen, maar onze proeven zijn niet met het oog daarop verricht en steeds verliep er een geruime tijd tusschen de verwarming en de eerste waarneming. Er zij echter op gewezen, dat indien men onderstelt, dat een dergelijk herstel

---

<sup>1)</sup> Unters. ü. d. Erfrieren d. Pfl. I. c. S. 8 u. 11.

nog ná onze proeven zou intreden, dit in onze conclusie geen wijziging zou brengen: de ombuiging der theoretische optimumkromme zou dan nog sterker moeten zijn dan wij ze aannamen. In de tweede plaats zou men het waarschijnlijk moeten achten, dat de *praecipitatie* een tijdreactie is even goed als dit voor de *coagulatie* het geval is gebleken. Daardoor zou dan echter niet van een bepaalde praecipitatie-temperatuur kunnen gesproken worden evenmin als men dit doen mag voor een coagulatie-temperatuur. <sup>1)</sup>

Dan moet echter de optimum-lijn, die geldt voor de processen met warmteverlamming, ook afhankelijk zijn van den tijd van verwarmen. Inderdaad zagen wij nu ook op bl. 38, dat EWART voor de protoplasmastrooming een dergelijke afhankelijkheid vond.

Is nu de *praecipitatie* op dezelfde wijze van den tijd afhankelijk als de coagulatie, dan moet men door extrapolatie uit de diverse optimumkrommen voor een dergelijk proces met warmteverlamming, de kromme voor 0 minuten verwarmen bepalende, een steeds stijgende lijn verkrijgen. Dit geldt althans, wanneer men vasthoudt aan de oorspronkelijke onderstelling, dat het physiologisch proces zelve een dergelijk temperatuursnelheid-verloop vertoont.

Wij vermeldden op bl. 38, dat de extrapolatie uitgevoerd met de cijfers van EWART niet op een dergelijke kromme, maar wel op het bestaan van een primair optimum wijst.

Nu heeft men daarbij echter eensdeels te bedenken, dat extrapolatie onbetrouwbaar is, anderdeels dat het volstrekt niet vaststaat, dat EWART inderdaad vergelijkbare *beginsnelheden* heeft gemeten, aangezien toch bij voortgezette waarneming van protoplasmastrooming bij hoge temperaturen concentratieveranderingen en stofwisselproducten kunnen optreden, die op de snelheid invloed gaan uitoefenen.

Van meer belang is nu echter de opmerking, die men zou kunnen maken, dat indien de *praecipitatie* een tijdreactie is,

---

<sup>1)</sup> Men vergelijkte CHICK en MARTIN l. c.

ook onze theoretische optimumkromme geen standvastige zou zijn en de vorm daarvan afhankelijk zou wezen van den tijd. Ja zelfs zou men dan kunnen verwachten, dat ook bij de onschadelijke temperaturen, waarvoor wij de praecipitatie als (onvolledig) ingetreden onderstelden, verschillende temperatuursnelheid-lijnen verschillende verwarmingstijden zouden worden gevonden.

Het is dan ook van zeer veel belang, dat onze proeven voor de alcoholgisting en de invertinewerking de conclusie wettigen, dat indien de snelheid-temperatuur-lijn na 5, 10, 15 en 20 minuten voorwarmen kon worden bepaald onder uitsluiting van afsterven, practisch steeds dezelfde theoretische kromme zou worden gevonden. Dat wij voor al de onderzochte functies bij onschadelijke temperaturen na die tijden van voorwarmen slechts één kromme vonden, is reeds herhaaldelijk betoogd.

Men moet het dan ook als waarschijnlijk achten, dat indien de praecipitatie al een tijdreactie moge zijn, de snelheid waarmee zij verloopt, zeer veel grooter is dan die, welke onze physiologische processen bezaten, zóódat na 5 minuten reeds het evenwicht practisch bereikt was.

Waarschijnlijk zal een onderzoek van de eiwitpraecipitatie *in vitro*, onder in aanmerking nemen van de hier aangeroeerde vraagstukken op onze uitkomsten nieuw licht kunnen werpen; slechts dient daarbij bedacht, dat de inactivering van het protoplasma volstrekt niet behoeft samen te vallen met het „zichtbare samenballen” van de „gepraecipiteerde” eiwitstoffen; dit samenballen zou zeer goed een secundair proces kunnen wezen, misschien van physischen aard, dat de primaire praecipitatie opvolgde.

In ieder geval meenen wij, dat de hier opgestelde hypothese voldoet aan den eersten eisch, die men daaraan moet stellen: zij wijst den weg naar nieuwe onderzoekingen.

---

## PLATENVERKLARING.

---

### PLAAT I.

De inrichting van de proeven over de alcoholgisting (voor de beschrijving zie men bl. 114).

### PLAAT II.

De inrichting der proeven over de ademhaling (voor de beschrijving zie men bl. 148).

### PLAAT III.

FIG. 1. Het verband tusschen de beginsnelheid en de temperatuur voor de alcoholgisting bij 0, 5, 10, 15 en 20 minuten voorwarmen. (Zie bl. 134).

FIG. 2. Hetzelfde verband voor de ademhaling van gist bij 0, 5, 10 en 15 min. verwarmen. (Zie bl. 162 en 169).

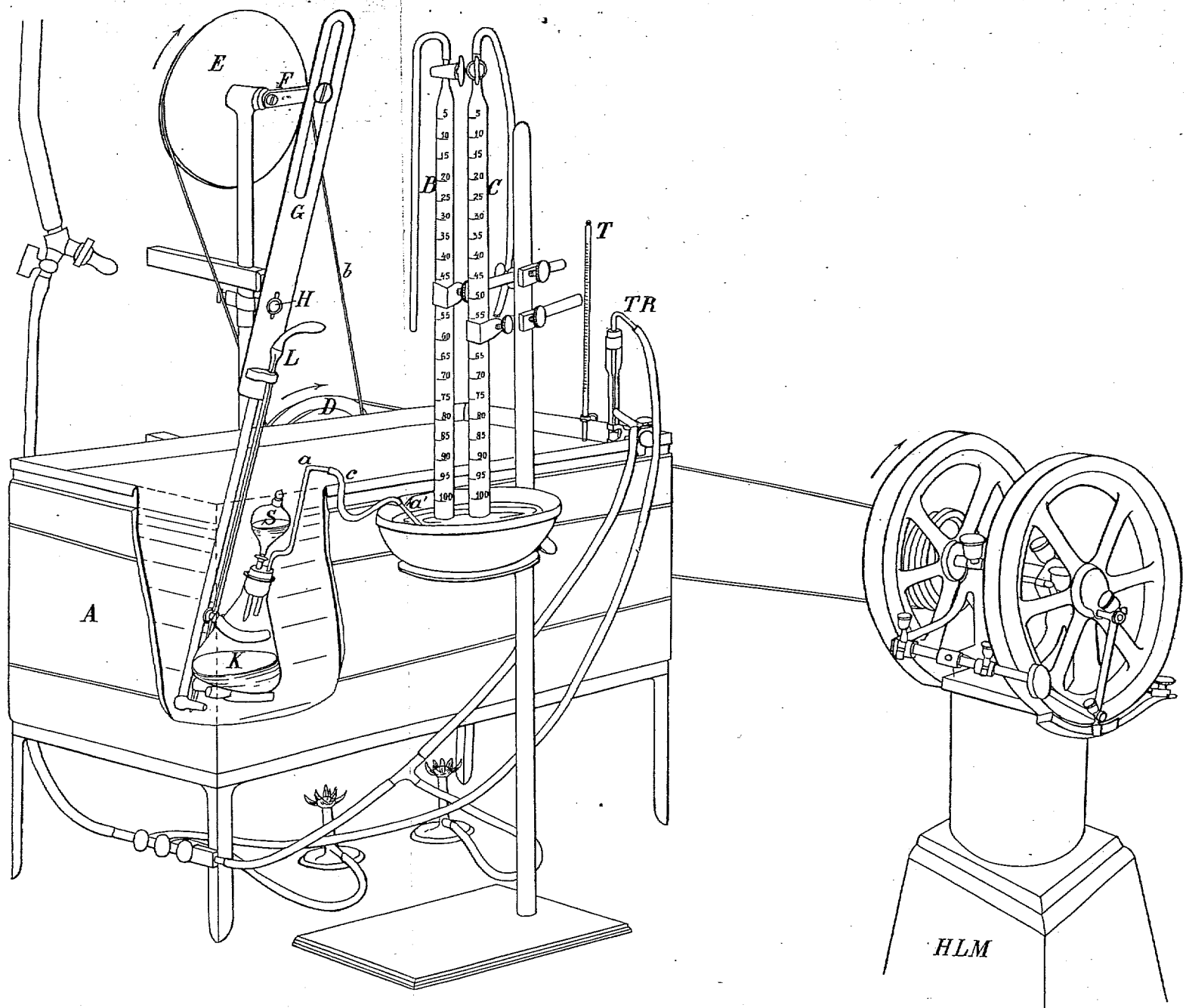
FIG. 3. Hetzelfde verband voor de ademhaling van tarwekiemplantjes voor 0,  $12\frac{1}{2}$ ,  $17\frac{1}{2}$  en  $22\frac{1}{2}$  min. verwarmen. (Zie bl. 170 en 172).

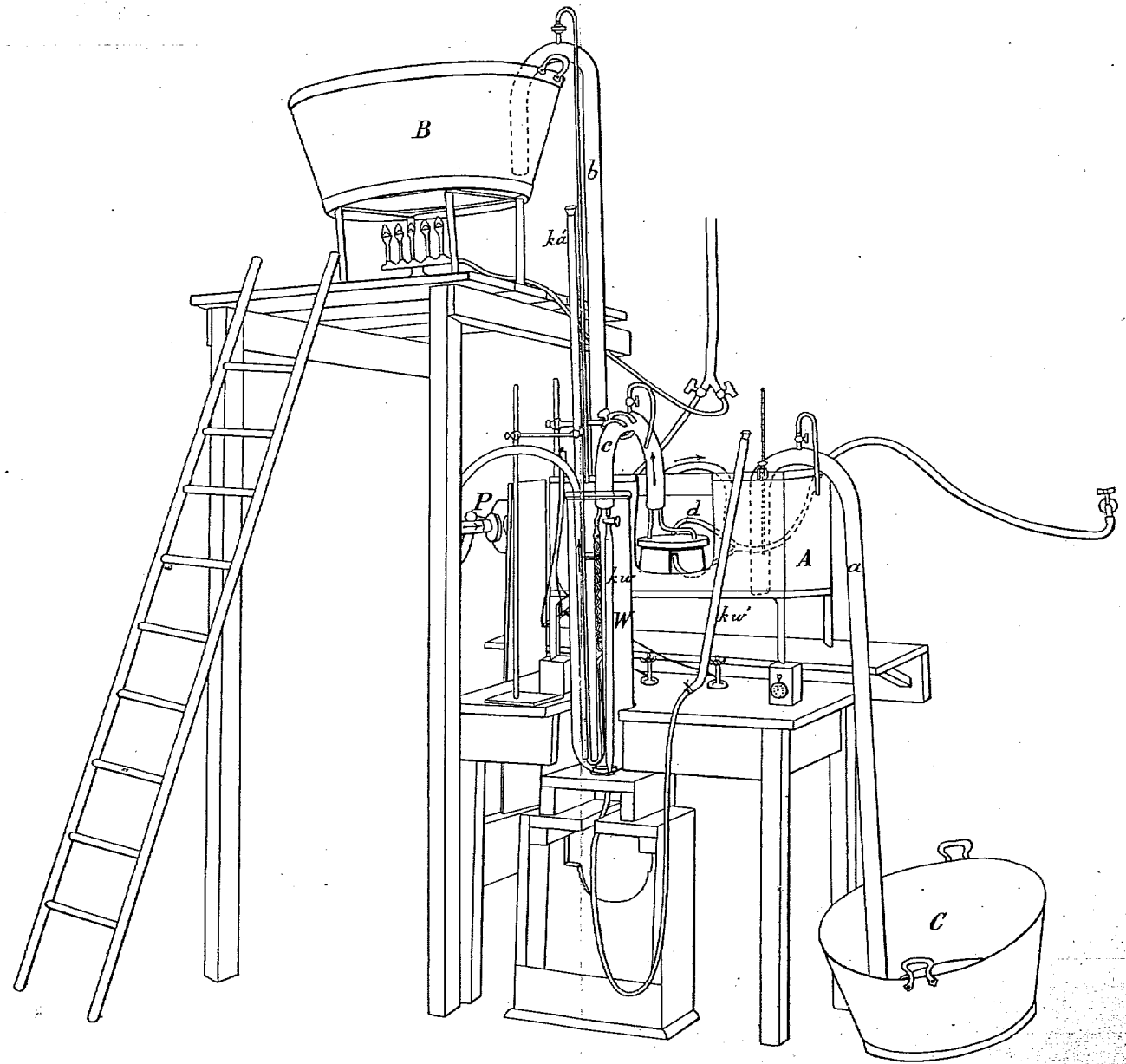
### PLAAT IV.

FIG. 1. Het verband tusschen de beginsnelheid en de temperatuur voor de inversie door gistinvertine voor 0, 5, 10, 15 en 20 min. voorwarmen. (Zie bl. 183 en 185).

FIG. 2. Hetzelfde verband voor de reductie van methyleenblauw voor 0, 5, 10, 15 en 20 min. voorwarmen. (Zie bl. 197 en 201).

---





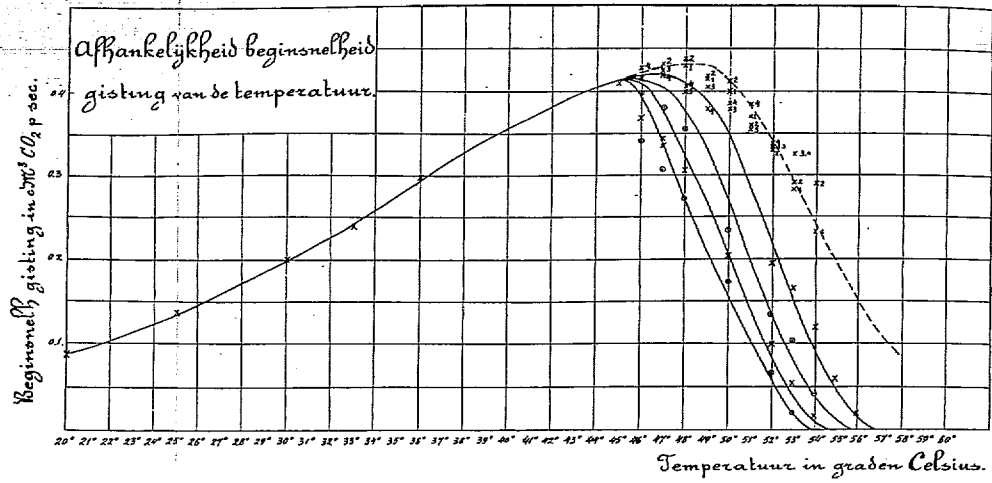


FIG. 1.

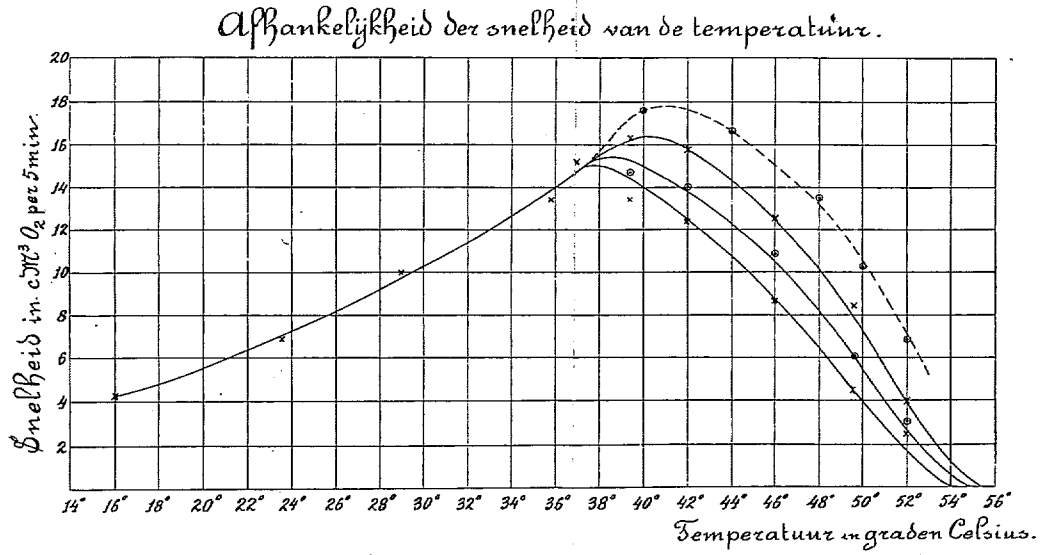


FIG. 2.

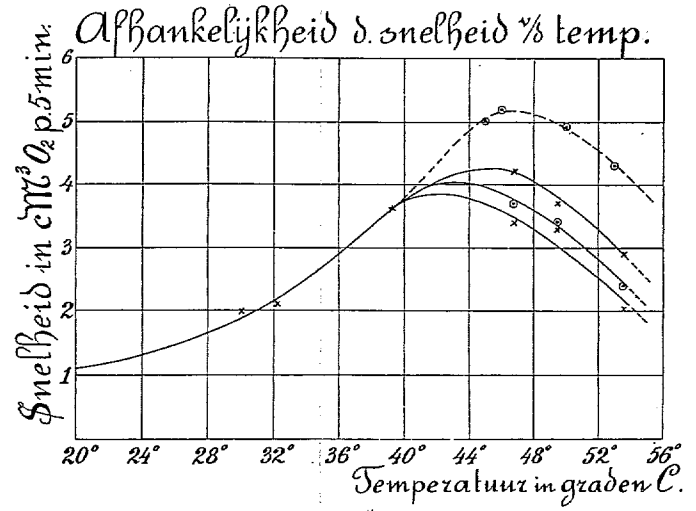


FIG. 3.

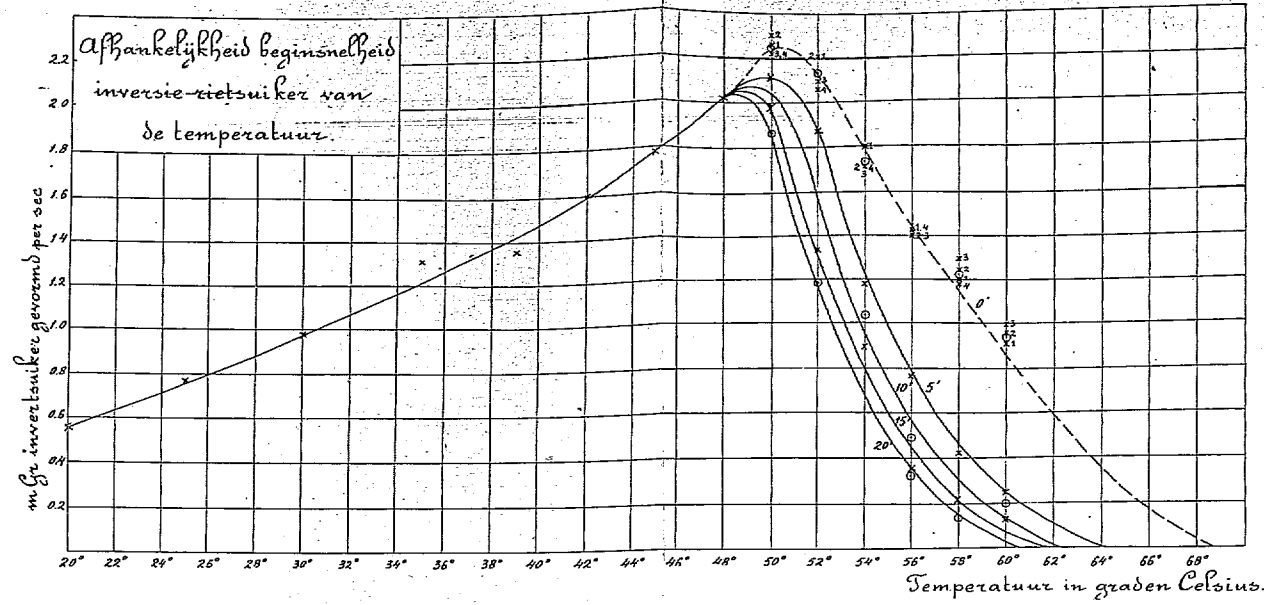
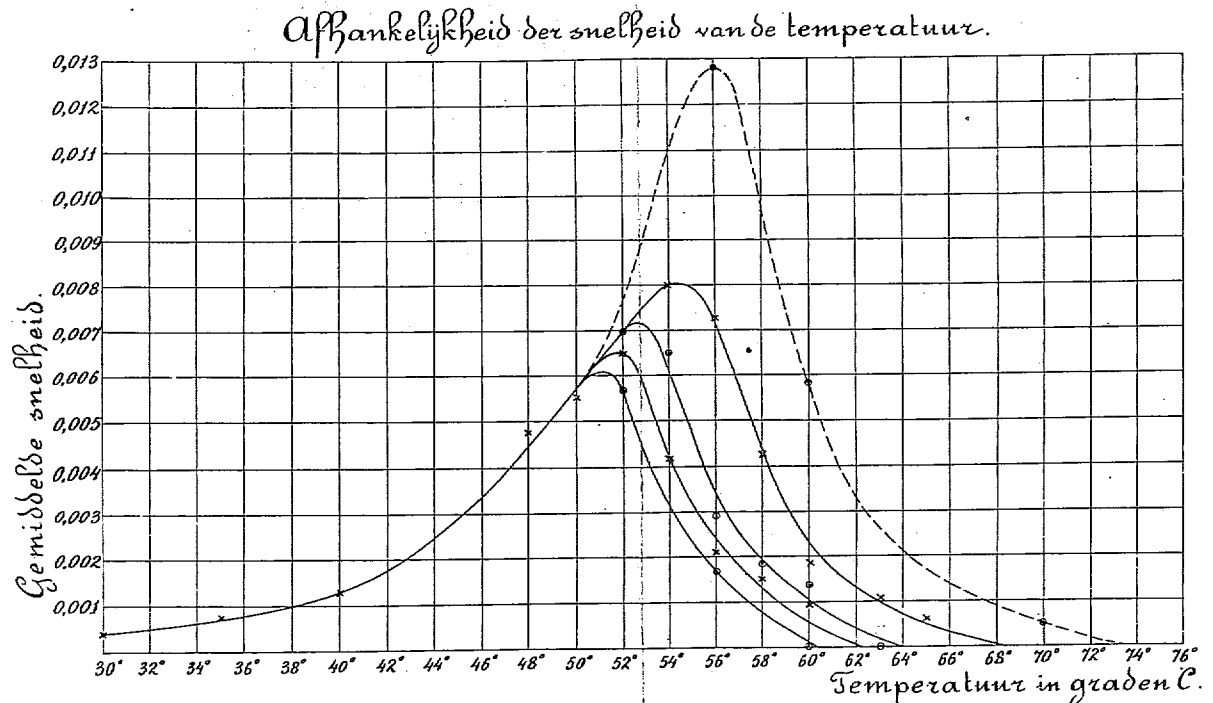


FIG. 1.





# STELLINGEN.

---

---

## I.

Voorloopig zijn er geen voldoende gronden om aan te nemen, dat bij de „theefermentatie” een rol gespeeld wordt door op het theeblad aanwezige organismen.

## II.

Plantenmelksappen bevatten naast excretieproducten ook secretieproducten.

## III.

De theoretische beschouwingen van BROWN en ESCOMBE (Phil. Trans. **193** B, 1900, p. 223) over de gasdiffusie door huidmondjes zijn onvolledig in zoverre zij bij consequente toepassing tot ongerijmdheid leiden.

## IV.

Zoolang er geen nieuwe toepassingen voor de „ramehvezel” gevonden worden, kan deze vezel in onze koloniën niet met kans op succes worden gecultiveerd.

## V.

De onderzoekingen van Mme GATIN-GRUZEWSKA (C. R. d. l. Soc. Biol. **64**, 1908, p. 178; C. R. **146**, 1908, p. 540) hebben afdoende bewezen, dat de zetmeelkorrel is samengesteld uit *amylopectine* en *amylose*.

## VI.

De verschillen in diastase-soorten zijn te verklaren uit de aanname van verschillen in den graad van peptisatie.

## VII.

Uit de waarnemingen van BILTZ en VEGESACK (Z. f. physik. Ch. **68**, 1910, S. 357) en die van J. DUCLAUX (C. R. 1905, p. 1468 en 1545; Journ. de Ch. et de Ph. **5**, 1907, p. 40; Koll. Ztschr. **3**, 1908, S. 126) volgt, dat het geen zin heeft van een bepaald moleculair-gewicht van colloïdale stoffen te spreken.

## VIII.

De conclusie, waartoe VON WEIMARN (Koll. Ztschr. **3**, 1908, S. 167), komt: dass der kristallinische Zustand der einzige innere Zustand der Materie in allen drei Zustandsarten ist', wordt niet voldoende door de uitkomsten zijner proefnemingen gerechtvaardigd. Zij voert bovendien tot niet te verdedigen consequenties.

## IX.

Voor de aannname van een stereoïsomerie der beide citralen (zie o. a. SEMMLER, Die ätherische Öle, 1906, S. 637) bestaat geen voldoende grond.

## X.

Bij de synthese van salicylzuur volgens KOLBE moet men de vorming van natriumphenylcarbonaat als tusschenproduct aannemen.

## XI.

De lipoidtheorie moet stellig wijzigingen ondergaan om alle verschijnselen, waargenomen betreffende de permeabiliteit van den protoplasma-wand te kunnen verklaren.

## XII.

Mierenzuur verdient voor de coagulatie van hevea-latex de voorkeur boven azijnzuur.

## XIII.

De teleologische verklaringswijze heeft haar recht van bestaan bewezen en mag ook verder bij biologisch onderzoek niet worden versmaad.

#### XIV.

De oude hypothese van BAEYER (B. d. d. Chem. Ges. **3**, 1870, S. 67), volgens welke formaldehyd zou optreden als tusschenproduct bij de koolzuur-assimilatie door groene plantendeelen, heeft door de onderzoekingen van GRAFE (Bioch. Ztschr. **32**, 1911, S. 114) meerdere beteekenis gekregen.

#### XV.

De onderzoekingen van WIESNER (Sitzungsber. der Kais. Akad. Wiss., Philos. hist. Kl., Wien, 1911) toonen aan, dat in strijd met de veelal nog heerschende meening, volgens welke de beëiding van papier uit lompen eerst in de 13<sup>de</sup> eeuw in Europa zou zijn gevonden, deze uitvinding ongetwijfeld aan de Chineezzen moet worden toegeschreven.

#### XVI.

Waar de microscoop reeds in enkele gevallen goede diensten bewezen heeft voor onderzoekingen van historischen aard, daar is het wenschelijk, dat kunsthistorici ook bekend zijn met eenvoudige microscopische onderzoekingsmethoden.

---