

Tesis de Posgrado

Proteínas y ácidos

Modern, Fernando

1927

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Modern, Fernando. (1927). Proteínas y ácidos. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0157_Modern.pdf

Cita tipo Chicago:

Modern, Fernando. "Proteínas y ácidos". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1927.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0157_Modern.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

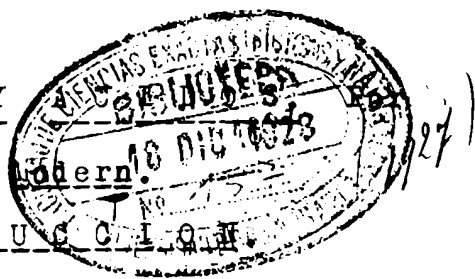


UBA

Universidad de Buenos Aires

Bernardo

INTRODUCCION.



Completando el trabajo anterior, realizado con el Prof. Pauli en Viena, y ya publicado en el Biochemische Zeitschrift y Asociacion Química (1), presento como tesis este estudio, que completa el anterior, agregando nuevas deducciones y nuevos experimentos.

En la primera parte de este trabajo, tratamos el punto isoeléctrico, haciendo remarcar los hechos que nosotros demostramos que aclaran en gran parte esta teoría y la completan.

En la segunda parte estudiamos las combinaciones de las proteínas con los ácidos en concentraciones elevadas, aplicando el método de Pauli, y la nueva teoría de la disociación. Hemos seguido en esta parte el mismo método que el que emplea el autor antes citado, obteniendo resultados que están en todo de acuerdo con los de ese autor.

El estudio de las combinaciones de estas sustancias las hicimos empleando los métodos conductométricos y potenciométricos combinados.

Hallamos por una parte la cantidad de iones hidrógeno y cloro que contiene una mezcla de proteína + HCl; conocemos por otra parte la conductibilidad de ese sistema y podemos por lo tanto calcular (Conociendo los números de transportes de los iones H, Cl y albúmina) la cantidad de HCl libre y la cantidad fijada (adsorbido o combinado).

La combinación de los dos métodos (conductométrico y potenciométrico) ha dado también buenos resultados en el estudio de la constitución de los coloides en general. Llegándose por este procedimiento a estudiar exactamente la micela de distintos coloides metálicos (Ag, Au, Fe etc.) dializados y sin dializar encontrándose en la misma micela parte del metal al estado iónico.

La proporción entre la parte iónica y metálica varía en los distintos coloides, según su grado de pureza.

Vemos, resumiendo que la aplicación de la físico-química, ha hecho adelantar el estudio sobre la constitución de los coloides ya sean estos hidrofobos o hidrófilos.

Antes de terminar debo agradecer a los Prof. Drs. A. Wernicke, A. Sordelli y H. Damianovich por los consejos útiles que me dieron.

Hago extensivo mi agradecimiento a mi amigo y colega Dr. F. Justo.

(1) Véase bibliografía al final del trabajo.

P R O T E I N A S Y A C I D O S

p o r

Fernando Modern

Es de gran importancia el estudio del comportamiento de las proteínas en presencia de los ácidos, porque de ésta manera se puede revelar la constitución y estructura de estas proteínas.

Desde los estudios y trabajos fundamentales de E. Fischer, demostrando que las proteínas estaban formadas por cadenas de amino ácidos y de los publicados por Stransoy, Bergmann, Herzog, Tromsegard, y Abderhalden poco se había adelantado en el conocimiento de estas substancias. También se estudia la estructura de las proteínas (1), por vía enzimática, purificando estos catalizadores por adsorción ($Al(OH)_3$, carbón animal, etc.). Más tarde Sørensen, Leob y Pauli y sus colaboradores, estudian las proteínas desde un punto de vista distinto aplicando conocimientos fisico-químicos y coloidales con los resultados favorables que todos conocemos.

Entrando directamente en materia, (Pauli) (2) podemos dividir a las proteínas en los grandes grupos.

a) Las estables en la zona isoelectrónica y b) las inestables.

Entre las inestables podemos citar entre otras muchas, a la caseína, euglobulina, fibrina perteneciendo a la categoría de coloides liofobos que se pueden obtener en cualquier grado de dispersión y ~~concentración~~ ^{concentración}.

Las albúminas (sero-ovo) la glutina y la hemoglobina podemos citarlas como ejemplo de coloides estables en la zona isoelectrónica. Estas substancias las podemos obtener hoy día, al estado puro, empleando ya sea el método de Sørensen, o bien el método de Pauli.

El método de Sørensen consiste en obtener la proteína al estado cristalizado, pudiéndose recrystalizar varias veces. El de Pauli consiste en electrodializar (E.D) la proteína eliminando todos los electrolitos.

Este último método es indiscutiblemente superior al primero, pues permite obtener una proteína libre en absoluto de sa-

las y de una conductibilidad casi igual a la del agua destilada.

También se pueden combinar estos dos métodos obteniéndose, por ejemplo, una albúmina por cristalización, eliminándose luego los vestigios de sales (SO_4 , Am_2) por E.D. En proteínas obtenidas por éstos métodos se han hecho determinaciones de pesos moleculares. The Svedberg (3) obtiene para la hemoglobina un valor igual a 67,700 y para la ovalbúmina un valor igual a 35,000.

Svedberg emplea para estas determinaciones el método ideado por él, de ultracentrifugación. S.P.L. Sørensen encuentra, para su ovalbúmina cristalizada el mismo valor empleando el método de la presión osmótica. M.P. Lecomte du *Nouy* (4) empleando el método de la balanza de torsión para medidas de tensión superficial, encuentra para la ovalbúmina sin purificar un peso molecular de 28,750, y para las globulinas 27,000. Nosotros (5) hemos hallado para la clutina electrocristalizada un valor igual a 39,700.

Loeb (6) tiene un método propio para purificar las proteínas y consiste sencillamente en llevarlas al punto isoeléctrico. El grado de purificación es menor que el obtenido por los procedimientos anteriores.

Loeb ha basado su método en la observación de Sørensen, que en el punto isoeléctrico las proteínas no se combinan ni con los ácidos, ni con las bases, ni con las sales. Como veremos más adelante esto no es del todo exacto.

Estamos luego en condiciones de afirmar que las soluciones proteicas con las cuales trabajamos tienen un peso molecular determinado y una constitución y concentración definida.

El estudio del comportamiento de las proteínas con los ácidos lo vamos a dividir en dos partes.

1) El comportamiento de las proteínas con los ácidos, en la zona isoeléctrica.

2) El comportamiento de las proteínas con los ácidos, en concentraciones elevadas.

La primera parte que realizamos en Viena, ya fúe objeto de una publicación y solo aquí haremos algunas consideraciones importantes que nos faltaban, recordando nuevas deducciones basadas

das en las experiencias sus efectos y que el profesor Pauli presentó en el congreso de Dusseldorf el año pasado. (2)

La 2ª parte aún no la habíamos publicado y trataba del comportamiento de la ovoalbúmina con el ácido clorhídrico en concentraciones elevadas. (0,01 - 0,05 n).

PRIMERA PARTE
ZONA ISOELECTRICA

Las nuevas investigaciones tienen en cuenta el carácter anfóptico de las proteínas.

Lo que significa es en solución acuosa las proteínas en su mayor grado de pureza contienen ~~gran~~ ^{una buena} cantidad de H en la molécula proteica que reacciona como un ion del tipo amonio, existiendo además grupos carboxilados, que reaccionan analógicamente al ácido carbónico.

Agregando cantidades crecientes de ácidos o de alcali son posibles los nuevos H de carácter amónico y nuevos grupos carboxilados.

Representaremos a las proteínas de manera de hacer bien visible su carácter anfóptico de la siguiente manera: $\text{NH}_2 - \text{R} - \text{COOH}$

Disueltas en agua podremos tener 2 clases de iones proteicos: $\text{COOH} - \text{R} - \text{NH}_3^+$ (A^+) y $\text{NH}_2 - \text{R} - \text{COO}^-$ (A^-). Las proteínas que nosotros hemos estudiado son más bien ácidas, así por ejemplo la ovoalbúmina tiene un $\text{C}_H = 1,67 \cdot 10^{-5}n$ (1,7 %); la seroalbúmina es menos ácida pero aún tiene $\text{C}_H = 3,30 \cdot 10^{-6}n$ (1 %), en cambio la glutina es más o menos neutra teniendo $\text{C}_H = 7,38 \cdot 10^{-6}n$ (1,2 %).

Luego en estas proteínas purísimas obtenidas por E.D. hay mayor cantidad de H que de OH^- ($\text{H}^+ > \text{OH}^-$) y por lo tanto $\text{A}^- > \text{A}^+$.

Esto último lo hemos comprobado experimentalmente, efectuando la electroforesis de la ovoalbúmina y seroalbúmina notando que la proteína se dirige hacia el ánodo.

El exceso de A^- se puede medir prácticamente con el potenciómetro, pues sabemos conocer por este método al C_H , sabiendo por otra parte que el ion recíproco de A^- es H^+ ($\text{A}^- \text{H}^+$).

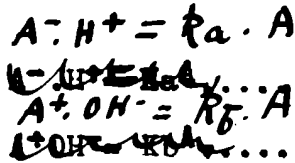
La determinación de la actividad del H^+ se hace fácilmente en estas soluciones proteicas pues se comportan como buffers.

→ Concentración final de ovoalbúmina

La determinación de ion H nos da la diferencia entre A^- y A^+ .

Pauli calculando la concentración de los albuminiones negativos, le asigna a una solución de ovoalbúmina un valor de $3 \cdot 10^{-4}n$, y teniendo en cuenta la concentración proteica total, $1/2^4$ de las partículas proteicas llevarán carga negativa. Se pregunta: Suponiendo que los albuminiones sean monovalentes: En que forma se encuentra el resto de la proteína?

Se puede contestar a esta pregunta estudiando el comportamiento de estas sustancias en la zona isoelectrica ~~(Y)~~ y *es bien conocida la teoria de L. Michaelis* y nosotros lo hemos expuesto en el trabajo anterior, El autor supone que en toda solución proteica además de los iones A^+ y A^- existe una forma neutra A. Los iones albuminicos se comportan como ácidos o bases débiles con sus constantes de disociación respectivas K_a y K_b y tenemos:



teniendo en el punto isoelectrico (Y) $A^- = A^+$ que nos lleva a la formula conocida, que mide en los C_H en dicho punto (Y).

$$Y = \sqrt{\frac{K_a \cdot K_w}{K_b}}$$

siendo K_w la constante de disociación del H_2O .

Esta teoría se basa en ciertas afirmaciones que no se mencionan en general, por ejemplo considera que hay una sola clase de iones proteicos A^+ y A^- y que todo aumento en los H^+ antes del Y actúan disminuyendo la disociación, hasta obtener una igualdad entre los A^+ y A^- , pues disminuyen los albuminiones negativos y esto se basa en el hecho de que al agregar un ácido fuerte, y por lo tanto muy disociado (H^+Cl^-), sobre otro muy débil (A^+H^+), muy poco disociado, se disminuye aún más su disociación, transformándose parte de A^- en moléculas neutras A. L. Michaelis dice: "Un anfótero cuyo P_H Y se comporta como base, *si su $P_H > Y$ como ácido*, y si su $P_H = Y$ el anfótero deja su P_H invariable". Sosteniendo que un anfótero reacciona con un ácido cuando su concentración de ion H es mayor a la del punto isoelectrico.

Con respecto a esto Sörensen ha hecho determinaciones prolijas. Agregaba cantidades crecientes de ácido, en distintas concentraciones proteicas, determinando su P_H ; observaba que el pun-

to isoeléctrico era el mismo en las distintas concentraciones.

Los investigadores del Instituto de Físico-Química de la Universidad de Viena (9) fueron los primeros en estudiar las distintas propiedades de las proteínas ionizadas comparándolas con las neutras.

Hallaron que las proteínas ionizadas tienen una viscosidad mayor y una precipitabilidad menor por el alcohol.

En la teoría de Michaelis se obtiene un retroceso en la disociación de $A^- H^+$, dando A neutra hasta alcanzar el punto isoeléctrico, obteniéndose un mínimo en la viscosidad y un máximo de precipitación alcohólica.

Pauli y Sameo (10) empleando mezclas puffer y concentraciones crecientes de proteínas (0,2 % a 1 %) llega a la conclusión de que no interesa conocer la concentración proteica siempre que el Y se determine con mezclas puffer.

Luego los postulados de la teoría de L. Michaelis son los siguientes:

1°) En el punto isoeléctrico hay un máximo de partículas neutras.

2°) El punto isoeléctrico es independiente de la concentración del anfólitico.

Este último que es exacto cuando se emplea mezclas puffer no pasa en realidad cuando se emplean ácidos.

VISCOSIDAD DE GLUTINA + ACIDO SULFURICO (35° C)

$n_2H_2SO_4$	GLUTINA 1,09 % t/50	GLUTINA 0,66 % t/50	GLUTINA 0,33 % t/50
0	1,458	1,248	1,113
5-10 ⁻⁵	-----	1,241	1,111
1.10 ⁻⁴	1,453	1,237	1,109 *
2.10 ⁻⁴	1,445	1,233 *	1,111
25.10 ⁻⁴	1,443 *	1,234	1,113
4.10 ⁻⁴	1,448	1,241	1,118
5.10 ⁻⁵	1,453	1,245	-----

Por los cuadros anteriores vemos que el Y se desplaza. Nosotros efectuamos una medida directa del comportamiento de las proteínas con los ácidos en concentraciones pequeñas (1.10⁻⁴-1.10⁻²n HCl) y encontramos como se puede ver en el cuadro a continuación, que en la mayor parte de los iones H^+ agregados desaparecen, fijándose a la

proteína.

n HCl agregado	C_H (Glutina)	C_H (Seroalbúmina)
0,0	$7.88.10^{-6}$	$3.30.10^{-6}$
1.10^{-4}	$9.42.10^{-6}$	$6.22.10^{-6}$
3.10^{-4}	$1.06.10^{-5}$	$7.43.10^{-6}$
5.10^{-4}	$1.34.10^{-5}$	$1.17.10^{-5}$
1.10^{-3}	$1.96.10^{-5}$	$2.21.10^{-5}$

La glutina pura tiene una actividad iónica de $7.88.10^{-6}$ nH. Determinamos el punto isoeléctrico de esta substancia por el método de la precipitación alcohólica, hallando un valor comprendido entre $1.06 - 1,34.10^{-5} C_H$.

Para obtener esta concentración de ion H, en otras palabras para aumentarle $2,10^{-6} nH^+$ hemos tenido que agregarle 150 veces más cantidad de ácido que lo que teóricamente hubiera sido necesario. Se le agregó algo más de $3.10^{-4} nHCl$. Empleando mezclas buffer (ácido-acético-acetato de sodio) hemos encontrado un Y para la seroalbúmina (1 %) comprendido entre 8.10^{-6} y $1.01.10^{-5} C_H$. La misma seroalbúmina en HCl nos dió un Y comprendido entre $C_H = 6,22.10^{-6}$ y $7.43.10^{-6}$. La actividad del ion H en la seroalbúmina pura (1 %) es igual a $3.30.10^{-6}$, teóricamente necesitamos para llevarla al Y más o menos $4.10^{-6} C_H$, en cambio prácticamente le hemos tenido que agregar una cantidad de HCl. Comprendido entre $1.-3.10^{-4} nHCl$.

Por estos experimentos vemos que cuando el sistema HCl-proteína tiene una concentración ^(de ion H) igual o menor al ^{del} punto isoeléctrico el ácido se halla en su totalidad fijado a la proteína.

La fijación del ácido a la proteína también la hemos estudiado combinando las medidas potenciométricas de ~~la~~ ion H^+ , con las de conductibilidad. Por la medida de C_H se conoce la conductibilidad que le corresponde al HCl libre.

Ahora bien si restamos a la conductibilidad hallada experimentalmente (K) la conductibilidad que le corresponde al HCl tenemos un resto de conductibilidad que solo puede ser debido a las sales proteicas. Estas aumentan a medida que agregamos cantidades crecientes de ácido. En el siguiente cuadro exponemos parte de los resultados obtenidos.

Glutina 1,2 % + HCl

N HCl	K - K HCl
$1 \cdot 10^{-4}$	$1,92 \cdot 10^{-5}$
$3 \cdot 10^{-4}$	$3,75 \cdot 10^{-5}$
$5 \cdot 10^{-4}$	$4,96 \cdot 10^{-5}$

Con la seroalbúmina y con la ovoalbúmina pasa lo mismo: a medida que agregamos cantidades crecientes de HCl, aumenta la conductibilidad debido a las sales proteícas.

SEROALBUMINA 1 % + HCl

OVOALBUMINA 1.57 % + HCl

n HCl	K-K HCl	n HCl	K-K HCl
$1 \cdot 10^{-4}$	$2,1 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$2,9 \cdot 10^{-5}$
$3 \cdot 10^{-4}$	$3,0 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-4}$	$3,94 \cdot 10^{-5}$
$5 \cdot 10^{-4}$	$4,1 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-4}$	$5,44 \cdot 10^{-5}$

Vemos pues, que en la misma zona isoelectrica, es decir en la región que hay un aumento de proteínas neutras (máximo de precipitación alcohólica, mínimo de viscosidad) hay también un crecimiento en la conductibilidad debido al aumento de los iones proteicos. Este hecho es a primera vista paradójico. ¿Como es posible que el crecimiento de partículas neutras vaya ligado a un aumento en la conductibilidad?. Más adelante explicaremos este fenómeno teniendo en cuenta las teorías de Wo Pe li, basadas en hechos experimentales.

Por de pronto toda teoría del punto isoelectrico deberá contener los hechos que nosotros prácticamente hemos demostrado:

- a)- Elevación mínima en la concentración de ion-H y una completa descomposición de los iones H^+ del ácido agregado.
- b)- Debemos emplear una cantidad mucho mayor de ácido (entre 100 y 150 veces más) que la que necesitaríamos teóricamente para llevarla al punto isoelectrico.
- c)- Esta fijación de ácido debe ser de una manera paralela a los crecimientos de las partículas neutras y con el conocido crecimiento de la fluidez y hacia un máximo de precipitación alcohólica.
- d)- El punto de fluidez y máximo de precipitación alcohólica se desplaza con cantidades crecientes de proteínas (considerando, naturalmente, las mismas concentraciones finales de los ácidos).

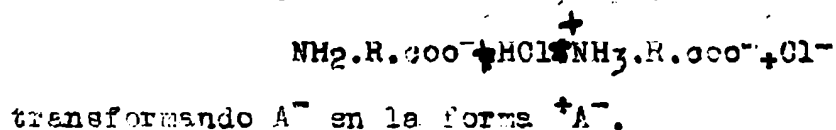
e)- En la región del mínimo de viscosidad y máximo de precipitación alcohólica, la proteína colocada en un campo eléctrico sufre un pequeño transporte hacia el cátodo (Wo Pauli y Sameo).

Bjerrum (11) publica un interesante trabajo que se relaciona a la fisico-química de los aminoácidos, y llega a la conclusión de que la parte que se consideraba como no disociada, de esas substancias, en realidad es portadora de 2 cargas una positiva y otra negativa en la misma molécula, neutralizándose mutuamente y no siendo conductora de la electricidad.

Podemos representarla de la siguiente manera ($+NH_3.R.CO^-A^-$). Las constantes de disociación (K_a, K_b) halladas por este autor, están más de acuerdo con los valores considerados hasta ahora.

Habiendo dado esta teoría valores que concuerdan con la realidad y siendo admitido por la mayoría de los físicos teóricos, Pauli creyó poder aplicarlo a las proteínas las cuales, en realidad, no son más que cadenas de amino-ácidos y vemos como así explicamos en gran parte muchos puntos oscuros de la teoría de Michaelis.

En una solución proteica tenemos iones de la forma A^- , $H^+ A^- A^+$ y A^+ (Pauli) y proteínas sin ionizar. Tratando esta solución con HCl en concentraciones pequeñas la reacción de cloruración no puede efectuarse, hallándose igual que iones H, con las albúminas que tengan el grupo amino es decir ni con A^+ ni con A^- . Solamente los albuminiones de la forma A^- pueden reaccionar.



Esta reacción no sufriría cambios fundamentales si en vez de considerar la forma anfiónica, consideráramos cualquier otra forma neutra.

Para cada ion H^+ reaccionante aparece un Cl^- , no variando los iones H.

Este mecanismo de reacción da por resultado una constancia en los iones H, o más bien un aumento pequeñísimo por formación de A^- y H^+ de las partículas neutras A. Por lo tanto la mayor parte del ácido agregado es empleado en transformar los A^- en H^+ y el aumento de los iones H solo corresponde a 1/100 parte del ácido agregado.

La migración 10 veces mayor de los iones Cl^- que de los iones albumínicos dan por resultado un aumento en la conductibilidad pudiendo dejar de tomarse en cuenta los iones H^+ , que no influyen. En otras palabras el aumento de la conductibilidad en la zona isoelectrica es debida al ion Cl (en nuestro caso). Vemos pues, que se forma A^+ a expensas de A^- es decir que hay una disminución de los albuminiones negativos y más o menos anfi-iones, que desde el punto de vista de la conductibilidad son neutros.

Así se explica el mínimo de viscosidad y el máximo de precipitación alcohólica pues neutralizamos los iones A^- por el agregado del HCl , lo cual además nos explica claramente la importancia de la concentración proteica en la determinación del punto isoelectrico con ácidos.

Podemos afirmar que el ácido (antes y en la zona isoelectrica) no reacciona ni con A ($\text{NH}_2.\text{R}.\text{COOH}$) ni con A^- , pues si así lo hiciera darían aún más iones proteicos, habiendo en realidad una disminución de iones proteicos y un máximo de partículas neutras en el punto isoelectrico.

Explicamos, luego, esta reacción admitiendo que los iones A^- reaccionan con el H^+ del ácido dando A^+ .

A esto se debe el aumento de albuminiones neutros por el agregado HCl , hasta alcanzar el Y.

Resumiendo, tenemos que, en el punto isoelectrico han desaparecido los albuminiones negativos A^- , encontrándose solamente A^+ y A^- , existiendo por lo tanto mayor cantidad de A^+ . Además habrá iones H^+ y el anión del ácido, en nuestro caso Cl^- encontrándose en la siguiente relación $\text{A}^+ + \text{H}^+ = \text{Cl}^-$.

Esto también estaría de acuerdo con el hecho observado por Pauli y Sorensen de que en la zona del mínimo de viscosidad y máximo de precipitación alcohólica en un campo eléctrico existe un transporte de la proteína hacia el cátodo.

Haciendo un examen atento de las experiencias de Sorensen sobre el Y, Pauli (2) demuestra que en realidad el mismo autor encuentra que el punto isoelectrico se desplaza en concentraciones crecientes de proteína, admitiendo Sorensen que este pequeño desplazamiento

es debido a la poca exactitud de estas determinaciones.

Este autor cree que siendo la concentración de ácido tan pequeña no hay exactitud en las mismas. Nosotros hemos operado en concentraciones bajas de ácido haciendo las determinaciones por duplicado y a veces por triplicado encontrando siempre, practicamente, los mismos valores.

Están pues, explicados de una manera teórica experimental, los puntos oscuros de la teoría de L. Michaelis, viendo pues lo difícil que es hoy día el dar una teoría que no esté basada en experiencias minuciosas, como sería en el caso presente.

S E G U N D A P A R T E .

PROTEINAS EN CONCENTRACIONES ELEVADAS EN ACIDOS.

Preparación de la ovoalbúmina pura.

Una vez separada la yema agitamos la clara hasta formación de espuma consistente obteniéndose así un líquido de viscosidad homogénea, al cual se le agregó igual cantidad de agua y algunas gotas de toluol.

Pasamos a la diálisis, para eliminar por este método la mayor parte de los electrolitos y separar también gran parte de las globulinas.

Conductibilidad de la ovoalbúmina durante la diálisis.

DURACION DE LA DIALISIS (en días)	K (CONDUCTIBILIDAD)
0	$5 \cdot 10^{-3}$
2	$7.5 \cdot 10^{-4}$
3	$4.58 \cdot 10^{-4}$
5	$4.58 \cdot 10^{-4}$

Llegamos a obtener al quinto día un valor constante que seguramente se hubiera podido hacer descer aún más, por una diálisis más prolongada.

A nosotros sólo nos interesaba eliminar una parte

de las sales y continuar luego con la electro-diálisis hasta la eliminación total.

Pasamos a electrodiálizarlo con \star 220 V (intercalando lámparas) en el aparato grande (capacidad 1.000 cm³.) y observamos enseguida el interesante fenómeno de la separación en capas y de la precipitación del colorante de la ovalbúmina. La conductibilidad de la capa superior es diferente de la inferior. Esta diferencia se hace cada vez menor a medida que avanza la electrodiálisis.

Conductibilidad de la ovalbúmina durante la electrodiálisis
en el aparato grande

DURACION DE LA ELECTRODIÁLISIS (en días)	K (CAPA SUPERIOR)	K (CAPA INFERIOR)
1	$4.35.10^{-5}$	$2.13.10^{-5}$
2	$3.47.10^{-5}$	$2.06.10^{-5}$
3	$2.34.10^{-5}$	$1.60.10^{-5}$

Obtenemos así una albúmina de color amarillo verdoso completamente transparente y cuya globulina se precipita casi en su totalidad. Mezcladas las dos capas nos dieron por conductibilidad $K = 2,23.10^{-5}$. Como aún contenían vestigios de globulinas pasamos a electrodiálizarlo en el aparato mediano, por partidas (capacidad 300 cm³. , electrodos de platino) previo el agregado de sales.

La Dra. M. Adolf del Instituto de Viena demostró: que electrodiálizano mezclas de albúminas y globulinas en presencia de sales (concentración final entre N/100 - N/1000) se obtiene la precipitación total de estas últimas.

Siguiendo estas indicaciones colocamos 300 cm³. de la ovalbúmina electrodiálizada en el aparato mediano, previo el agregado de 3 cm³. de $SO_4K_2N/1$.

Conductibilidad de la ovalbúmina en el aparato mediano
(P-revio agregado de SO_4K_2).

DURACION DE LA E.D.(en días)	(K) CAPA SUPERIOR	(K) CAPA INFERIOR	REACCION GLOBULINAS
1	$1,93.10^{-4}$	$2,45.10^{-5}$	Negativa
3	$1,72.10^{-5}$	$1,65.10^{-5}$	Debil positiva

Como la capa inferior aún contenía vestigios de globulina (reacción con SO_4Am_2) lo volvimos a ~~agregar~~ *la* misma cantidad de sal continuando la electrodiálisis, repetimos nuevamente esta operación y así obtuvimos una ovoalbúmina libre de globulinas que tenía una conductibilidad de $K = 2,63 \cdot 10^{-5}$. Como esta era algo alta, volvimos a electrodiálizar aplicando 440 V y así obtuvimos una ovoalbúmina de una conductibilidad: $K = 1,63 \cdot 10^{-5}$. Procedimos de la misma manera con las otras partidas obteniendo conductibilidades finales parecidas a esta última. Mezcladas las diferentes partidas nos dió una conductibilidad media: $K = 1,625 \cdot 10^{-5}$ y un contenido de ovoalbúmine igual a 3,16 %. (Ensayo gravimétrico).

Esta ovoalbúmina hay que conservarla en frascos cerrados pues de otra manera aumenta su conductibilidad, pues parte se combina con el CO_2 del aire.

MEDIDA DE P_H , P_a y K

En las concentraciones de ácido que operamos (0,01n - 0,05n) ~~se~~ llevaron a cabo las medidas sin ningún inconveniente no siendo necesario hacer corrección alguna por la combinación del calomel. Las medidas de P_{Cl} se hicieron como en el trabajo anterior electrométricamente.

Las medidas P_H , se hicieron en el electrodo rotativo de Pauli y el H puro, se obtenía por electrólisis de una solución de NaOH al 10 % (12).

Las medidas de conductibilidad se hicieron en un termostato a 25° C. Todas las operaciones como en el trabajo anterior se hicieron por triplicado.

Completando experiencias anteriores hicimos medidas de conductibilidad y P_H de mezclas de ovoalbúmina + H_2SO_4 , con los siguientes resultados:

Ovoalbúmina (concentración final 1,57 n) + H₂SO₄ PH y K.

H ₂ SO ₄ n	K	PH	C _H	Pol + calomel	Col + calomel
0	1,73.10 ⁻⁵	4,7762	1,67.10 ⁻⁵	3,4992	3,17.10 ⁻⁴
0,0001	3,30.10 ⁻⁵	4,7418	1,81.10 ⁻⁵	-	-
0,0003	4,44.10 ⁻⁵	4,6816	2,08.10 ⁻⁵	3,4217	3,79.10 ⁻⁴
0,0005	5,68.10 ⁻⁵	4,5869	2,64.10 ⁻⁵	3,5077	3,11.10 ⁻⁴
0,001	9,51.10 ⁻⁵	4,5009	3,16.10 ⁻⁵	3,5766	2,65.10 ⁻⁴

Las medidas de C_H se hicieron en el sistema proteína + H₂SO₄, las de C_{Cl}, en el sistema proteína + H₂SO₄ + Hg₂Cl₂.

La ovoalbúmina inicial tenía un C_H=1,67.10⁻⁵ y por el agregado de 1.10⁻³n H₂SO₄ sólo aumenta 1,49.10⁻⁵CH. Luego casi el total el ácido (1/100 litro del ácido agregado) se halla fijado.

Por las medidas de C_{Cl} en el sistema proteína + H₂SO₄ + ^{α₂Hg₂}Cl₂ vemos que gran parte del calomel (3,17.10⁻⁴) se halla combinado con la albúmina disminuyendo sólo una parte de esta combinación por el agregado del ácido sulfúrico. (2,65.10⁻⁴) agregando ahora cantidades aún mayores de ácido este valor permanece constante.

Como se vé este valor constante 2,60.10⁻⁴n C_{Cl} no influye en las medidas en concentraciones elevadas, pues éstas oscilan entre 10⁻³n. y 10⁻²n C_{Cl}.

La F.E.M. (1) encontrada en nuestra celda electroquímica, calculando según la clásica teoría de la disociación (grado de disociación) no nos da la repartición verdadera de los iones libres en solución, principalmente en las concentraciones en que operamos (0,01n - 0,05n HCl).

En el trabajo anterior que hicimos con el Prof. Pauli operábamos en concentraciones pequeñas de ácido y aplicábamos la teoría clásica de la disociación, cuyas diferencias experimentales con la actual son insignificantes.

Pero ya no debemos calcular $\alpha = \frac{h}{h_{oc}}$ (grado de disocia-

ción) sino que todos los valores deberán ser referidos a la actividad.

• •
•

La actividad se obtiene del producto a_{\pm} , en donde C , es la concentración y f_{\pm} representa el coeficiente de actividad en reemplazo del grado de disociación. Por lo tanto los valores P_H y C_H de la antigua nomenclatura Sørensen, pasan modificados según una nueva concepción de S.P.L. Sørensen y K. Linderström-Lang (13) a sus valores de actividades correspondientes a π_0 (para $18^{\circ} C = 0,3357$ (14)) P_{aH} y a_H . Todo esto sería con respecto a la actividad del ion H. Con respecto a la actividad de ion Cl. también es necesario hacer una pequeña corrección de acuerdo con los nuevos valores de actividad del ClK; al valor π_0 hay que agregarle 45 milivolts y corresponde en el P_{Cl} un aumento de 0,086.

En las tablas de este trabajo se ha empleado el índice I para los valores del HCl (14) el índice II para la mezcla HCl- proteínas y el índice III está reservado para los valores de la sal proteica pura. (1)*

$\gamma_{HCl}^I = \gamma_H^I = \gamma_{Cl}^I$, por la teoría de la disociación completa de los electrolitos fuertes (N. Bjerrum) es la normalidad del HCl puro. $a_H^I = a_{Cl}^I$ es la actividad iónica del HCl puro, considerando prácticamente que no existe ninguna diferencia entre los iones H y Cl. $f_{aH}^I = f_{aCl}^I$ son coeficientes de actividad en las mismas condiciones anteriores.

En la tabla adjunta damos los valores anteriores que al mismo tiempo f_{\pm} coeficiente de conductibilidad (14).

(1)* En esta parte del trabajo hemos empleado el mismo método que el que ha publicado J. Frisch, Wo. Pauli y Valko. Bioch. Zeit. t.164, p.4/5, año 1925.

(Este tabla de datos tomados trabajo antes citado)

a_{HCl}^I	0,005	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05
f_{aH}^I según Noyes y Mac Innes	0,965	0,952	0,902	0,880	0,866	0,855
f_{uH}^I según Kohlrausch	0,9762	0,9661	0,9502	0,9504	0,9440	0,9399
$a_H^I = a_{Cl}^I$	$4,748 \cdot 10^{-3}$	$9,471 \cdot 10^{-3}$	$1,890 \cdot 10^{-2}$	$2,896 \cdot 10^{-2}$	$3,409 \cdot 10^{-2}$	$4,207 \cdot 10^{-2}$

Para las mezclas proteína-ácido, empleamos los siguientes valo-

$$f_{aH}^{II}, f_{aCl}^{II}, a_H^{II}, a_{Cl}^{II}. \quad (14)$$

En nuestros cálculos podemos primero separar los C_H fijados) los que son iguales a n_{Clalb} . C_H (fijado) = n_{Clalb} . Naturalmente que la actividad -H es menor en el sistema proteína ~~que~~ que en el HCl puro luego $a_H^{II} < a_H^I$ nos da la concentración del HCl libre siempre que dividamos a_H^{II} por el coeficiente de actividad f_{aH}^{II} . Se considera además que $f_{aH}^{II} = f_{aH}^I$ es decir que el coeficiente de actividad de la proteína + HCl es igual al coeficiente de actividad HCl. La diferencia real es pequeña, y sin ningún valor pues no influye en los resultados finales. Se funda en que la presencia del cloruro de proteína con su ion proteico positivo, tiene una acción inactivante directa sobre su ion Cl opuesto, pero no tiene ningún poder para disminuir la actividad del ion H, que tiene la misma carga positiva. Esta suposición es además admitida por Bönstedt y N. Bjerrum.

Por lo tanto debemos considerar

$$C_H(\text{fijado}) = n_{Clalb} = n_{HCl} \cdot \frac{a_H^{II}}{f_{aH}^{II}} = \frac{a_H^I}{f_{aH}^I} - \frac{a_H^{II}}{f_{aH}^{II}} \text{ por ser } n_{HCl} = \frac{a_H^I}{f_{aH}^I}$$

Debemos considerar la proteína en presencia del ácido como un electrolito fuerte; por ejemplo el cloruro de proteína, tiene que tener todos los Cl y el sal proteica disociados, de donde en la mezcla proteína-ácido n_{HCl} es igual a la concentración de los iones Cl y por lo tanto su valor en los coeficientes de actividad f_{aCl}^{II} es igual a la actividad Cl a_{Cl}^{II} con lo tanto $f_{aCl}^{II} = \frac{a_{Cl}^{II}}{n_{HCl}}$

Por este camino se puede llegar al conocimiento de los coeficientes de actividad de los iones Cl, en la mezcla ácido-proteína.

También debemos conocer las actividades y coeficientes de actividad a_{Cl}^{III} y f_aCl^{III} de la sal proteica formada.

La diferencia del total de los iones Cl del cloruro de proteína de la actividad Cl de la sal proteica a_{Cl}^{III}

$$a_{Cl}^{III} = n u_{alt} - [(a_H^{II} + n u_{alt}) - a_{Cl}^{II}] = a_{Cl}^{II} - a_H^{II} \text{ o explicando de otra manera:}$$

Si hubiera sólo HCl, la actividad del Cl debiera ser igual a la actividad del H.

Por lo tanto podemos decir que el exceso de la actividad Cl medida (sobre actividad H) $a_{Cl}^{II} - a_H^{II}$ corresponde a la sal proteica.

Dividiendo la actividad de la sal proteica por su correspondiente ion Cl, tenemos el coeficiente de actividad de la sal proteica

$$f_{a_{Cl}^{III}} = \frac{a_{Cl}^{III}}{n u_{alt}} \quad (14)$$

Se puede, por último, llegar a conocer el valor medio de los coeficientes de conductibilidad f_u^{II} , de una combinación dada proteína HCl, siempre que dividamos k^{II} , por cada conductibilidad. Por lo tanto la normalidad de los iones del cloruro de proteína se multiplica por la suma de sus equivalentes números de transportes en dilución infinita y la conductibilidad del HCl que está libre. Los valores n y v se toman a 25°. Para el ion proteico se toma un valor u=50 R (15 (Adol°))

$$f_u^{II} = \frac{k^{II}}{[(n' HCl - n u_{alt}) 426 + 4 u_{alt} \cdot 126] \cdot 10^{-3}}$$

La diferencia $n' HCl - 4 u_{alt}$ es igual a $\frac{a_H^{II}}{f_{aH}^{II}}$ y de la concentración del HCl que se encuentra al lado de la sal proteica. Suponien que $f_{aH}^I = f_{aH}^{II}$.

Por último es de interés tener un cuadro de las conductibilidades de la sal proteica k^{III} , en la mezcla ácido-proteína.

Se puede con la ayuda de la actividad ionica H medida a $\frac{II}{H}$, por el empleo del coeficiente de actividad invariable f_{aH}^I conocer la cantidad de HCl libre al lado de la sal proteica $\frac{f_{aH}^{II}}{f_{aH}^I}$

esta concentración con los coeficientes de conductibilidad $f(u)$ y con $u + v = 426$ dando la conductibilidad k_{HCl}^{II} .

$$R_{HCl}^{II} = 426 \cdot \frac{a^{II}}{f_{a^{II}} \cdot 10^{-3}}$$

Si substraemos este valor R_{HCl}^{II} de la conductibilidad medida de la mezcla de la sal proteica k^{III} .

$$R^{III} = R^{II} - R_{HCl}^{II}$$

El cociente entre la conductibilidad de la sal proteica, por su conductibilidad en dilución infinita nos da el coeficiente de conductibilidad de la sal proteica

$$f_{HCl}^{III} = \frac{R^{III}}{n_{clalb} \cdot 126 \cdot 10^{-3}}$$

Este valor va a depender en alto grado del número que se tome como correspondiente al transporte de la proteína.

De acuerdo con este sistema seguido por Pauli; nosotros hemos calculado las combinaciones de la ovoalbúmina pura con el ácido clorhídrico en concentraciones elevadas. Sólo hemos llegado a trabajar con la ovoalbúmina. interesante hubiera sido también hacer las experiencias en la seroalbúmina y glutina, aunque esto ya ha sido hecho en parte por Pauli y su escuela. Nosotros hemos operado en distintas concentraciones de ovoalbúmina, que, en las que operaron Frisch-Pauli-Valcow y por eso publicamos el presente artículo, que creemos pueda aportar algún dato y completar esas experiencias. En general nuestras experiencias como se podrá ver por las tablas a continuación, están de acuerdo con las hechas por los autores ya citados, habiendo sólo pequeñas diferencias como se podrá ver comparando ambos trabajos.

Ovalbúmina (Concentración final 1,57 %) + HCl, Medida de C_H .

nHCl	= FEM (en volts)	ρ_{aH}^{II}	a_H^{II}	C_H (fijado) = nClalb
0,01	0,4455	2,7122	$1,67 \cdot 10^{-3}$	$7,48 \cdot 10^{-3}$
0,02	0,4095	2,1687	$6,76 \cdot 10^{-3}$	$10,73 \cdot 10^{-3}$
0,03	0,3910	1,8503	$1,41 \cdot 10^{-2}$	$11,13 \cdot 10^{-3}$
0,05	0,3730	1,5405	$2,88 \cdot 10^{-2}$	$11,43 \cdot 10^{-3}$

Estas medidas se hicieron por triplicado, obteniéndose siempre valores que no diferían más de 1 - 2 milivolts.

Los valores a_H^{II} se encuentran en el gráfico de la figura N° 1.

Ovalbúmina (Concentración final 1,57 %) + HCl Medidas de P_{Cl} .

nHCl	= FEM (en volts)	ρ_{aCl}^{II}	a_{Cl}^{II}
0,005	0,1355	2,4579	$3,48 \cdot 10^{-3}$
0,01	0,115	2,1910	$6,40 \cdot 10^{-3}$
0,02	0,1015	1,9587	$1,10 \cdot 10^{-2}$
0,03	0,0910	1,7779	$1,67 \cdot 10^{-2}$
0,05	0,0760	1,5197	$3,02 \cdot 10^{-2}$

Antes de hacer las medidas de C_{Cl} se ensayó la pureza del celomel y una vez comprobada esta, se mezcló bien en un mortero con mercurio para evitar su descomposición.

Ovalbúmina (1,57 %) + HCl coeficientes de conductibilidad

nHCl	R^{II}	R_{HCl}^{II}	R^{III}	f_u^{II}	f_u^{III}
0,01	$1,356 \cdot 10^{-3}$	$7,19 \cdot 10^{-4}$	$6,37 \cdot 10^{-4}$	0,6726	0,6762
0,02	$4,07 \cdot 10^{-3}$	$3,06 \cdot 10^{-3}$	$1,01 \cdot 10^{-3}$	0,7678	0,748
0,03	$8,42 \cdot 10^{-3}$	$6,42 \cdot 10^{-3}$	$1,94 \cdot 10^{-3}$	0,891	1,386
0,05	$1,63 \cdot 10^{-2}$	$1,35 \cdot 10^{-2}$	$2,8 \cdot 10^{-3}$	0,912	1,944

En la primera columna (nHCl) tenemos indicadas las concentraciones finales de HCl de la mezcla proteína+HCl.

R^{II} Índice de conductibilidad, hallado experimentalmente, sistema proteína + HCl.

R^{III} La conductibilidad que le corresponde a la sal proteica f_u^{II} y f_u^{III} como sabemos son coeficientes de conductibilidad,

calculados por fórmulas que ya hemos dado en este trabajo.

Ovalbúmina (1,57 %) + HCl . Coeficiente de actividad.

n^{HCl}	n_{albCl}	$a_{\text{Cl}}^{\text{III}}$	$f a_{\text{Cl}}^{\text{II}}$	$f a_{\text{Cl}}^{\text{III}}$
0,01	$7,48 \cdot 10^{-3}$	$4,21 \cdot 10^{-3}$	0,544	0,4130
0,02	$10,73 \cdot 10^{-3}$	$4,22 \cdot 10^{-3}$	0,550	0,400
0,03	$11,13 \cdot 10^{-3}$	$2,6 \cdot 10^{-3}$	0,556	0,233
0,05	$11,43 \cdot 10^{-3}$	$1,4 \cdot 10^{-3}$	0,564	0,122

La segunda columna indica la normalidad del cloruro de albúmina cuando.

$a_{\text{Cl}}^{\text{III}}$ es la actividad del ion Cl de la sal proteica y se halla practicamente idéntico a $a_{\text{Cl}}^{\text{II}}$ el valor de a_{H}^{II} como hemos visto anteriormente.

Sabemos por otra parte que $f a_{\text{Cl}}^{\text{III}} = \frac{a_{\text{Cl}}^{\text{III}}}{n_{\text{albCl}}}$ y que $f a_{\text{Cl}}^{\text{II}} =$

$$\frac{a_{\text{Cl}}^{\text{II}}}{n^{\text{HCl}}}$$

En los cuadros anteriores las determinaciones de H y Cl se hicieron simultáneamente en la ovalbúmina de concentración final 1,57 %.

Pauli, Frisch y Volko (loc. Cit.) obtienen como fijación máxima en su ovalbúmina (2 %) para una molécula proteica 35 Mol. HCl.

Nosotros calculando en nuestras concentraciones (1,57 %) obtenemos para una molécula de ovalbúmina 25 Mol. de HCl.

Consideremos que el peso molecular de la ovalbúmina era igual a 27.000. (Sørensen).

Este es nuestro máximo y se sería ya prácticamente alcanzado en concentraciones 0,04 - 0,05 n HCl.

En la Fig. N° 2 están representados gráficamente $a_{\text{Cl}}^{\text{II}}$ y a_{H}^{II} , es decir la actividad del ion Cl y H en la mezcla ovalbúmina + HCl. Estas líneas marchan casi paralelamente, acercándose en concentraciones elevadas ($5 \cdot 10^{-2}$ HCl).

En la misma figura está representada κ que es la conduc-

tibilidad total de la mezcla proteina-ácido, hallada experimentalmente.

En la figura N° 2 vemos representada la actividad del cloruro de albúmina formado, al aumentar cantidades crecientes de ácido (0,01n-0,05n HCl) viendo que al principio aumenta más o menos rápidamente (entre concentraciones) (0,005n-0,03) tomando luego una dirección casi paralela *al eje de las abscisas*. Como sabemos la cantidad de cloruro de albúmina tomado es igual a los C_H fijos.

a_{Cl}^{III} representa la actividad de la sal proteica observando el intermedio función se pasará por un máximo en concentraciones $1 \cdot 10^{-2}n$ HCl.

a_{Cl}^{II} representa los Cl- totales hallados en la mezcla ácido proteico, es decir los Cl- correspondientes al cloruro de albúmina más los Cl- del HCl que se encuentra libre. Si a estos Cl- (a_{Cl}^{II}) hallados experimentalmente y que representan el total, le restamos los a_H^{II} hallados experimentalmente tendremos los a_{Cl}^{III} correspondiente también exclusivamente al cloruro de ovoalbúmina, pues sabemos nosotros que $a_H^I = a_{Cl}^I$. En otras palabras el HCl tiene la misma cantidad de de ion H que Cl, pues se halla completamente disociado, (nueva teoría de la disociación de los electrolitos fuertes); si al total de Cl- hallados experimentalmente ($a_{Cl}^{II} + a_H^{II}$) le restamos los H^+ (que son los correspondientes al HCl) nos quedan los de la sal proteica.

Podemos decir estando de acuerdo con las experiencias de Pauli y su escuela, que en las concentraciones que hemos considerado nosotros (1,57 %) también la actividad de la sal proteica, en concentraciones crecientes de ácido pasará por un máximo descendiendo luego rápidamente.

Las medidas de viscosidad hechas por los autores ya citados en las mezclas ácido-proteicas (1,0% y 2,32 %) dan también un máximo (viscosidad) que corresponde al máximo hallado por ellos y nosotros de a_{Cl}^{III} .

En la tabla IV damos los valores f_{Cl}^{II} y f_{Cl}^{III} que son los coeficientes de actividad de la mezcla proteina-ácido y de la sal respectivamente habiendo sido calculado según la fórmula:

$$f_{Cl}^{II} = \frac{a_{Cl}^{II}}{n' \text{ HCl}} \quad \text{y} \quad f_{Cl}^{III} = \frac{a_{Cl}^{III}}{n \text{ Clal}b}$$

Pauli encuentra una relación entre la conductibilidad y el máximo actividad de la sal proteica, obteniéndose también un mínimo en esta primera medida, siendo a Cl^{III} y K^{III} más o menos paralelas.

Como se puede ver comparando los trabajos nosotros no obtenemos para K^{III} un máximo y esta diferencia es debida con seguridad a que nosotros hemos empleado un recipiente de capacidad pequeña ($\alpha=0,244$) para conductibilidades ya muy grandes, pudiendo solo obtener así una conductibilidad aproximada sin tanta exactitud.

La teoría de Donnan en nuestro caso no se aplica pues todos iones presentes son difusibles.

CONCLUSIONES

- 1)- El comportamiento de las proteínas con los ácidos en la zona isoelectrica.
 - a)- El sistema HCl-proteína, cuando tiene una concentración igual o menor al punto isoelectrico (S) el ácido se halla en su totalidad fijado a la proteína.
 - b)- Hemos empleado mucho mayor cantidad de ácido (alrededor de 150 veces más) que la que necesitamos teóricamente para llevarlo al punto isoelectrico (S).
 - c)- Esta fijación de ácido crece paralelamente al aumento de partículas neutras.
 - d)- El óptimo de fluidez y máximo de precipitación alcohólica se desplaza con cantidades crecientes de proteína.
 - e)- Al aumentar las albúminas neutras (A) hasta el punto isoelectrico aumenta también la conductibilidad, y éste hecho a primera vista paradójico se explica, admitiendo que esta conductibilidad es debida al in Cl disociado, que tiene un número de transporte elevado.
 - f)- Las iones A^- , reaccionan con el ácido clorhídrico, dando la forma neutra A^+ : $\text{NH}_2.\text{R}.\text{Coo}^- + \text{HCl} \rightleftharpoons \text{NH}_3^+.\text{R}.\text{Coo}^- + \text{Cl}^-$.
- 2)- El comportamiento de las proteínas los ácidos en concentraciones elevadas:
 - a)- Trabajábase con ovalbúmina pura, obtenida por electrodiálisis, y

estudiamos sus combinación con HCl (0,01_n-0,05_n) midiendo los iones H⁺, los Cl y la conductibilidad del sistema proteína + HCl.-

- b)- No se calculó según la teoría clásica de la disociación ($\alpha = \frac{h}{h\alpha}$) si no que todos los valores se refirieron a la actividad, siguiendo el método de Pauli. Este autor a su vez los calculó, según la nueva concepción de S.P.L. Sørensen y K Linderström-Lang.
- c)- En las concentraciones en que hemos operado (1,57 %, ver figuras) la actividad de la sal proteica, en concentraciones crecientes del ácido pasa por un máximo, decendiendo luego rápidamente.
- d)- Este máximo está a 1.10^{-2} n HCl.

Linderström-Lang 12/3

B I B L I O G R A F I A.

- 1.-Kaldschmidt-Leitz, "Zur Struktur der Proteine", Koll. Zeitz.t.XL
Diciembre de 1926.
- 2.-No Pauli, "Eiweiskörper und Säuren", Koll, Zeitz.t.XL, Nov.1926
- 3.-The Svedberg, Zeitz.f.Physik.Chem.121,65 (1926)
- 4.-Lecapote du Nöy, "Dimensions des molecules et poids moleculaire
des proteines du serum".C.R.d.l'Acad.des
Sciences,t.178,Nº 23,año 1924.pag.1904.
- 5.-F.Modern y No Pauli, Bioch.Zeitz.196,482,(1925).
- 6.-J.Loeb "Les Proteines".
- 7.-L.Michaelis "Die Wasserstoffionenkonzentration".
- 8.-S.P.L.Sörensen Zeitz...Physiol.Chem.,106-1-129,año 1919
- 9.-Pauli "Kolloidchemie des Eiweisskörper"
- 10.-Pauli y Samco.Bioch.Zeitz.62,245,1914.
- 11.-E.Bjerrum, Zeitz.f.Physik.Chem.104,147 (1923)
- 12.-Pauli, Kolloid Zeitz.
- 13.-S.P.L.Sörensen y K.Linderström-Lang,C.R.des travaux du Lab.
Carlberg,15,Nº 6 (1924)
- 14.-Eriech, No Pauli y N.Valcow, Bioch. Zeitz.t.164,Nº 4.6,1923,p.401
- 15.-A.Adolf, "Physikalische Chemie del globuline", Koll.Beihefte
t.13,año 1924,pag.563.

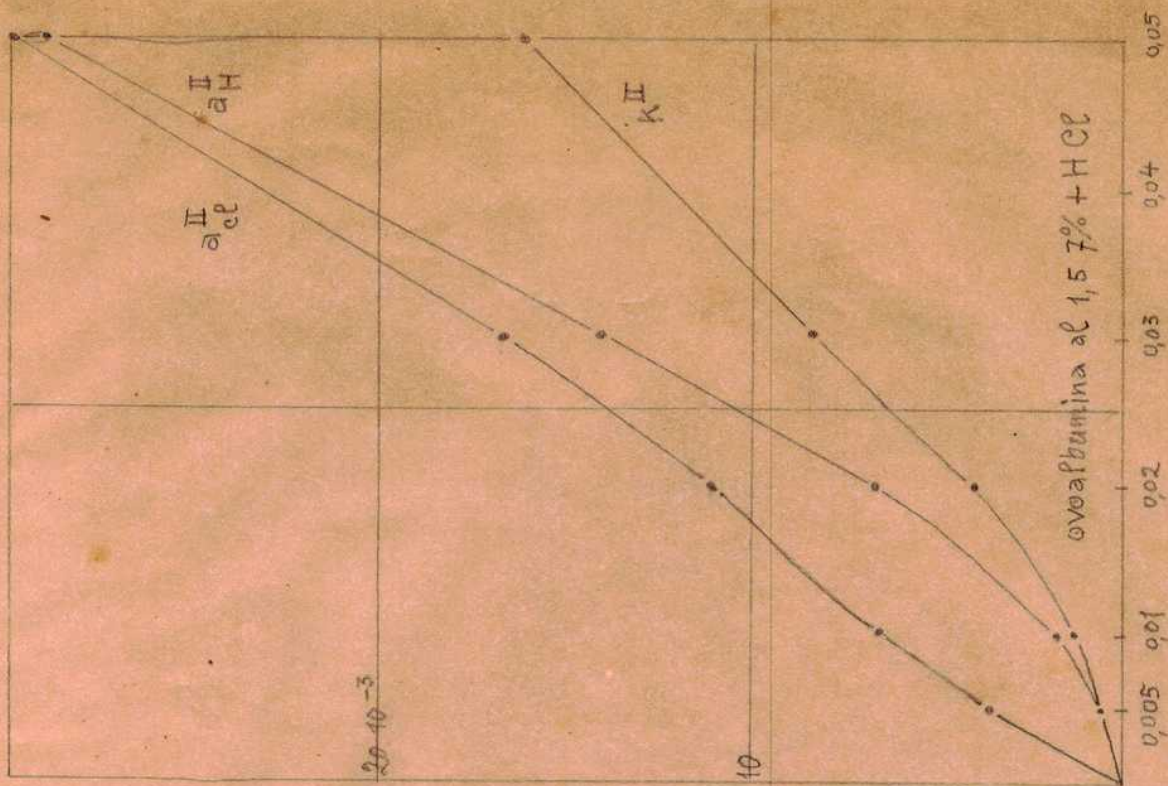


Fig. I.

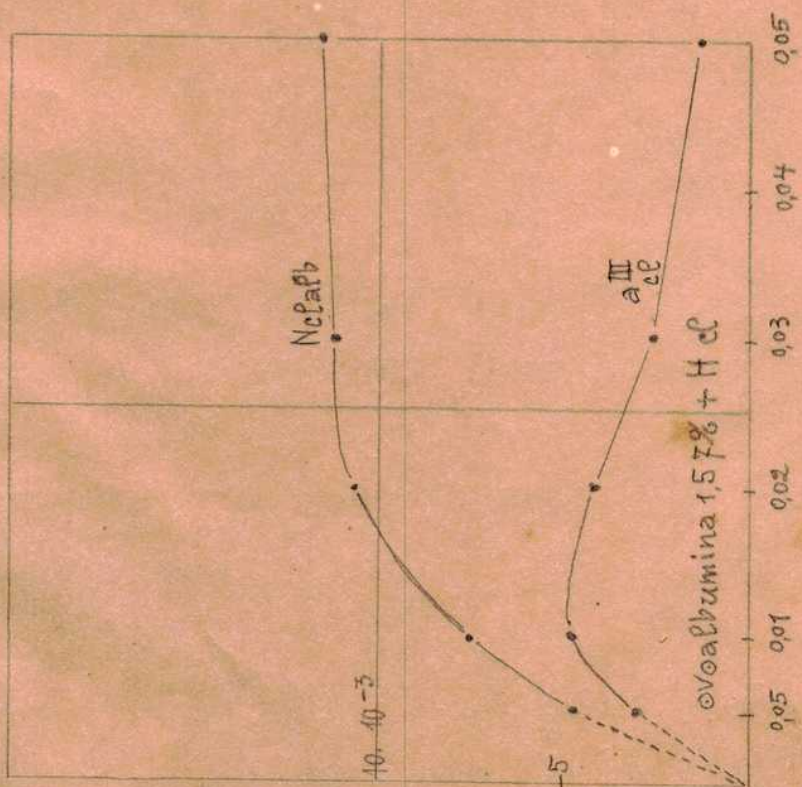


Fig. II.