

schen Motilitätsmessung von Spermien. In vollkommener Unabhängigkeit hievon haben wir für einen andern Zweck eine prinzipiell ähnliche Apparatur gebaut, die seit Februar 1951 in Gebrauch ist.

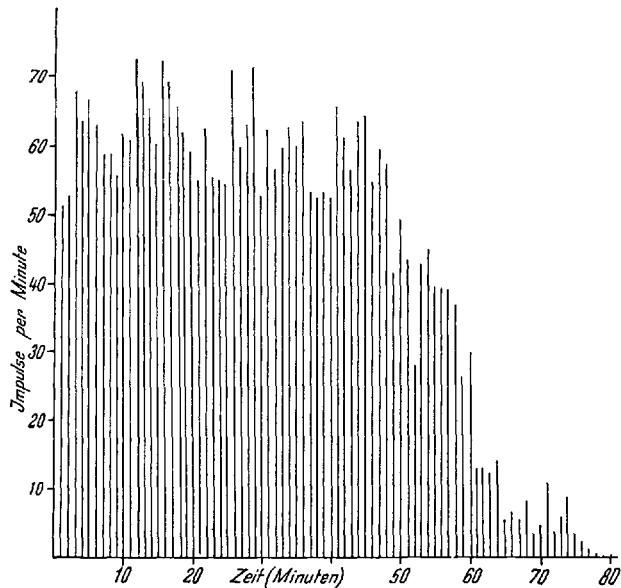


Abb. 1.

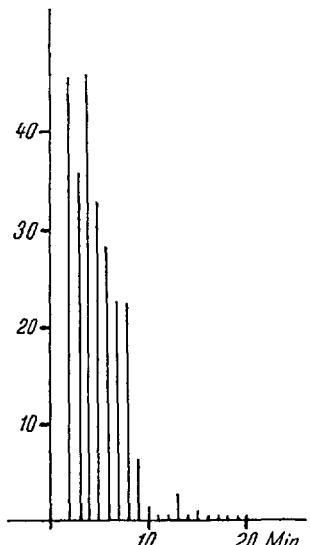


Abb. 2.

Abbildung 1 stellt die Abnahme der Durchschnittsmotilität einer Schar von etwa 20 Paramäzien unter Einfluss von 0,5% Mezcalinhydrochlorid dar; Abbildung 2 zeigt den Einfluss von 0,03% CuSO₄. In entsprechenden Leerkontrollen mit nicht vergifteten Tieren würde sich das Bild der Motilitätsdarstellung, wie es sich in den ersten 40 min der Abbildung zeigt, fast unverändert über mehr als 10 h erhalten.

Bei der Suche nach toxischen Substanzen in Körperflüssigkeiten stellte sich die Aufgabe, allerkleinste Fraktionsmengen vergleichend auf ihre Toxizität gegenüber tierischen Organismen zu prüfen. *Paramecium caudatum* erwies sich als hiezu geeignet, da in kleinen Glasküvetten schon die Einwirkung 50 µl betragender Flüssigkeitsmengen beobachtet werden kann. Um sich von der subjektiven Beurteilung der Motilitätsabnahme unabhängig zu machen, erfolgte die Beobachtung photoelektrisch.

Eine Küvette mit den Innenmassen 0,8 · 7 · 10 mm, die die zu beobachtende Suspension der Paramäzien enthält, wird von einer Lichtquelle konstanter Intensität (Automobilscheinwerfer mit Batterie) schräg beleuchtet. Die Mittelebene der Flüssigkeitsschicht wird in etwa 10facher Vergrößerung auf eine Glasplatte projiziert, auf welche ein schachbrettartiges Raster aus Tuschequadraten von je 2 mm Seitenlänge aufgemalt ist. Die hellen Projektionsbilder der sich bewegenden Paramäzien gelangen also auf ihrer Bahn abwechselnd auf helle und dunkle Rasterfelder. Das durch die Linse auf die Photozelle gesammelte Licht wird bei jedem Eintritt eines Tierchenbildes von einem undurchsichtigen in ein durchsichtiges Rasterfeld eine Zunahme und bei jedem Austritt eine Abnahme an Intensität erfahren. Das den Lichtschwankungen entsprechende Wechselstromsignal der Photozelle wird verstärkt und gleich wie in der Anordnung von BOSSELAAR und SPRONK durch eine Schmittsche Schaltung in Rechteckimpulse verwandelt. Letztere betätigen über eine Leistungsstufe einen Telephongesprächszähler.

Der Unterschied unserer Anordnung gegenüber der eingangs zitierten besteht, abgesehen von verstärker-technischen Einzelheiten, darin, dass wir an Stelle der einfachen Lochblende zur Aufteilung der langsamten Bildbahnen der Paramäzien in Lichtimpulse ein Raster benötigen.

Die Anzahl der in der Zeiteinheit zu erwartenden Impulse stellt eine Funktion aus der Zahl und der mittleren Geschwindigkeit der Tiere dar. Angesichts der Möglichkeit von Koinzidenzen je zweier Bildbahnen mit zufälliger gegenseitiger Aufhebung der Lichtschwankungen sowie von optisch unwirksamen Bahnen hat die Messung statistischen Charakter. Mit unserer Vorrichtung zeigt der Zähler, wenn die Küvette mit etwa 10–20 frischen Tieren beschickt ist, größenordnungsmässig etwa 50 Impulse je Minute an.

Über die Reproduzierbarkeit von Toxizitätsmessungen in Abhängigkeit von der Aufzucht der Versuchstiere sowie über Resultate an Fraktionen pathologischer Körperflüssigkeiten soll später berichtet werden.

R. WEBER und W. HÜGIN

Wissenschaftliches Laboratorium der psychiatrischen Universitätsklinik «Friedmatt», Basel, den 28. Januar 1952.

Summary

Toxicity of solutions is estimated by observing the decrease in motility of *Paramecium caudatum*. The motility is measured by means of an electro-optical device as follows: the paramaecia are dark-field illuminated and projected on a glass disk painted with a chess-board-like "Raster" pattern. The variations of light intensity induced thereby are counted by a photocell and a suitable amplifier-discriminator circuit.

D I S P U T A N D A

On the Binding of Dyes by Monomolecular Protein Layers

An article by CH. WUNDERLY: *Über die Farbstoffbindung durch monomolekulare Proteinschichten*, Exper. 7, 296 (1951), claims to show in the words of the author "dass nicht so sehr die chemische Struktur des Farbstoffes für die Affinität verantwortlich ist als die Disper-

sion des Farbstoffsoles". As evidence for this, the author gives the results of measurements of the binding capacity of albumin and fibrinogen for five dyes. However, a close critical examination of the method followed and of the results fails to substantiate the claim made by the author. In the first place, it is difficult to see how some of the dye in the Gibbs' adsorption layer could be prevented from adhering to the protein when the latter is transferred to the glass slide. The removal of the adhering solution by means of filter paper does not diminish the uncertainty introduced by the method of removing the protein film. On the contrary it introduces a further complication since the equilibrium between solution and protein may be disturbed by the presence of the cellulose of the paper. But even if we neglect these shortcomings in the method, the results themselves are inconclusive. The author seems to base his claim merely on the fact that Congo Red, known to be associated in solution, shows the highest binding power of the dyes tested when expressed as molecules of dye bound per molecule of protein whereas the highly dispersed Naphthol Yellow shows so little affinity that it was not measurable.

Since the structure of Naphthol Yellow is very different from that of Congo Red, the claim that the association of the molecules of Congo Red rather than its structure is responsible for its higher affinity is certainly not justifiable. As to the other dyes tested, the author fails to quote any data on their degree of dispersion and his argument is therefore not very forceful. Moreover he is not on very safe ground when he bases his conclusions on the number of molecules of dye bound by one molecule of protein. The binding of the dyes tested takes place in all probability through the sulphonate groups; that is the dyes are bound to the protein in the form of anions. Therefore the number of equivalents rather than the number of molecules of the dye bound by a given weight of the protein should be the criterion used in comparing affinities. If the data in the article under discussion is recalculated on that basis one obtains the following:

	Milliequivalents of dye bound by 1 g of protein	
	Albumin	Fibrinogen
Evans Blue	0.068	0.110
Trypan Red	0.173	0.255
Trypan Blue.	0.228	0.298
Congo Red	0.130	0.191

When expressed in this way, Congo Red does not give the highest result but it is second in order of increasing affinity. Of the dyes mentioned in the article, two have been studied by RAWSON¹ and it may be noted that she obtained results at variance with those of WUNDERLY. By other methods, RAWSON found that the affinity of Evans Blue for plasma albumin was appreciably higher than that of Trypan Blue. WUNDERLY also remarks that as the acidity of the solution is increased, the binding capacity of the protein for the dye increases. He advances this as another indication that the affinity is determined mainly by the degree of dispersion of the dye. However, it is well known that increasing the acidity of solutions containing anions capable of being bound by the protein will increase the amount of anions so

bound. It is not surprising, therefore, that WUNDERLY noted an increased affinity as the pH of the solution was lowered.

P. LAROSE

Division of Chemistry, National Research Council,
Ottawa, Canada, October 18, 1951.

Über die Farbstoffbindung durch monomolekulare Proteinschichten¹

Erwiderung auf die vorstehenden Bemerkungen

Von P. LAROSE

Wir bedauern, wenn unsere Mitteilung den Eindruck erweckte, wir wollten mit den paar Messungen die komplexe Frage nach der Eiweiß-Farbstoffbindung abschliessend behandeln. Unsere Absicht war, einen Weg zu zeigen, wie man die Farbstoffbindung an gespreizte Proteinfilme messen kann. Vier der verwendeten sauren Azofarbstoffe gehen als Kolloidelektrolyte in Lösung und zeigen in derselben eine zunehmende Dispersion in der Reihenfolge Kongorot < Trypanblau < Trypanrot < Evans-Blue, wobei beträchtliche Teile der beiden zuletzt genannten Farbstoffe molekulardispers in Lösung gehen (vgl. WUNDERLY²); der Nitrofarbstoff Naphthol-gelb geht molekulardispers in Lösung (vgl. BENNHOLD³). Unsere Versuche ergeben eine Abnahme der Bindung an das gespreizte Protein in der Reihenfolge Kongorot > Trypanblau > Trypanrot > Evans-Blue > Naphthol-gelb, wobei die Bindung von Trypanblau zu Trypanrot besonders stark abnimmt (40%) und Naphtholgelb nicht messbar gebunden wird. Stellen wir dieser kolloidchemischen Betrachtung die strukturchemische gegenüber, so ergeben die von P. LAROSE auf Grund der Sulfogruppen errechneten Milläquivalente, in der Reihenfolge abnehmender Bindung, das Folgende: Trypanblau (4 Sulfogruppen) > Trypanrot (5) > Kongorot (2) > Evans-Blue (4, isomer mit Trypanblau). Da diese Reihenfolge offensichtlich stark abweicht von der experimentell gefundenen (siehe oben), müssen wir daran festhalten, dass unsere Resultate durch kolloidchemische Überlegungen besser erklärt werden als durch strukturchemische. Unser ursprünglicher Text zeigte, dass wir keinesfalls die Wichtigkeit der Farbstoffstruktur erkennen, nur ist diese mit unseren Ergebnissen nicht in einen kausalen Zusammenhang zu bringen.

CH. WUNDERLY

Medizinische Universitätsklinik, Kantonsspital Zürich,
den 8. Dezember 1951.

¹ CH. WUNDERLY, Exper. 7, 296 (1951).

² CH. WUNDERLY, Z. ges. Exp. Med. 110, 274 (1942).

³ H. BENNHOLD, E. KYLIN und ST. RUSNYAK, *Die Eiweißkörper des Blutplasmas* (Th. Steinkopff, Dresden 1938), S. 233.

Model Experiments for the Production of Gastric Hydrochloric Acid

Under this title SZABÓ, ORSÓS, and CSÁNYI¹ have recently put forward a hypothesis for the production of gastric hydrochloric acid from a weak acid¹. This depends on the properties shown by ion-exchange resins. The views that the double decomposition of sodium

¹ RUTH A. RAWSON, Amer. J. Physiol. 138, 708 (1943).

¹ Z. G. SZABÓ, S. ORSÓS, and L. CSÁNYI, Exper. 7, 297 (1951).