

Применение принципов коллоидальной химии для получения наиболее чистого препарата тетанотоксина.

(Пробная лекция, прочитанная в заседании Медицинского Факультета Казанского Университета 15 января 1918 г. на соискание звания приват-доцента).

В. М. Аристовского.

Если взять бульонную культуру столбнячной палочки и профильтровать ее через свечу Chamberland'a, то, как известно, при этом получится совершенно прозрачная, стерильная жидкость с резко-выраженными ядовитыми свойствами. Путем выпрыскивания этой жидкости лабораторным животным удастся вызвать у них характерную картину заболевания, не отличающуюся от той, которая наблюдается у животных при заражении их чистой культурой *b. tetani*. Метод фильтрации через свечу, примененный впервые Roux и Yersin'ом на бульонной культуре дифтерийной палочки, дает таким образом возможность получить отдельно от тел столбнячных микробов ту субстанцию, которой микроб только и обязан своим безвредным действием на животный организм. Отсюда понятно и стремление всестороннее изучить эту субстанцию как с биолого-физиологической, так и с химической стороны,—стремление, которое было проявлено различными исследователями тотчас, как только стало возможным иметь в руках сырой материал в виде ядовитого бульонного фильтрата столбнячных бактерий.

Наиболее ценными в этом отношении являются исследования Brieger'a и его школы. Еще в 1890 году Brieger'ом и Frankel'em были сделаны попытки выделить из профильтрован-

ной бульонной культуры столбняка деятельное вещество тетанотоксина в более чистом виде, чем оно находится в бульонном фильтрате. Сущность метода Brieger'a и Fränkel'я сводится к тому, что они насыщали бульонный фильтрат сернокислым аммонием и полученный осадок диализировали для удаления солей и высушивали в вакууме при 40°. Кроме сернокислого аммония, для получения осадка авторы применяли также алкоголь с прибавлением незначительного количества уксусной кислоты. Осадок в этом случае подвергался той же обработке, что и при методе с сернокислым аммонием. Полученный тем или другим путем осадок обладал резкими ядовитыми свойствами, вызывая при впрыскивании животным—белым мышам и морским свинкам—характерную картину столбняка. По химическим свойствам, как и следовало ожидать, осадок этот оказался белковоподобным телом. По исследованиям Brieger'a и Fränkel'я, он дает характерные белковые реакции—биуретовую, милоновскую, ксантопротеиновую; его водные растворы—оптически деятельны, вращая плоскость поляризации влево.

Принимая во внимание, с одной стороны, способность давать белковые реакции, а с другой—ясно выраженную ядовитость препарата, Brieger и Fränkel называют его *токсальбумином*. Названные авторы, таким образом, считают, что свойство давать белковые реакции и ядовитость принадлежат одной и той же субстанции полученного ими порошка, не считаясь с более простым предположением, что порошок этот представляет из себя пеструю смесь различного рода протеиновых веществ и неизвестного нам по своему химическому строению токсина, быть может, ничего общего с белками и не имеющего. В этом именно смысле Brieger'у и Fränkel'ю было сделано возражение в том же самом году Faber'ом, который указал, что белковые реакции так называемого токсальбумина зависят от посторонних токсину веществ, применяющихся к нему из питательной среды при осаждении сернокислым аммонием.

Ряд других авторов,—Vaillard и Vincent, Tizzoni и Cattani, Fermi и Pernossi, Kitasato и Weyl, Ушинский, Федоров и др., работавшие с тетанотоксином,—не внесли ничего существенно-нового в методику получения более чистого препарата тетанотоксина, и работы их являются интересными и ценными, главным образом, в смысле обогащения наших знаний о биолого-физиологических свойствах токсина. Что касается вопроса

о химическом строении яда, то почти все указанные авторы высказываются за протеиновую природу тетанотоксина, указывая в то же время на близость его к классу ферментов. Основанием для последнего взгляда служит известная лабильность токсина по отношению к действию физических агентов (температура, свет и т. д.), активность его в почти-небесомых количествах, а также, между прочим, — как на это впервые указали Vaillard и Vincent, — способность токсина увлекаться из раствора различного рода индифферентными осадками (фосфатами кальция, глиноземом и пр.).

Дальнейшим шагом вперед на пути к очищению столбнячного яда являются последующие работы Brieger'a и его сотрудников. Через три года после того, как Brieger причислил тетанотоксин к токсальбуминам, этот автор совместно с Sohn'ом внес некоторые изменения в первоначальный свой метод получения токсина. По видоизмененному способу профильтрованный столбнячный бульон осаждается сернокислым аммонием, осадок собирается и высушивается, а затем для очищения от примесей подвергается обработке уксуснокислым свинцом с небольшим количеством аммиака, диализируется и вновь высушивается при низкой t° (21° — 22°). Полученный этим путем препарат токсина оказался значительно чище, чем первый препарат Brieger'a. Прежде всего, при испытании он не давал уже больше характерных белковых реакций; лишь от медного купороса с натральной щелочью получалось еще фиолетовое окрашивание, и кроме этой реакции, да способности осаждаться от сернокислого аммония новый препарат ничем более не напоминал белков. Также и в опытах на животных он оказался самым сильным токсином, какой только был известен в то время по литературе. Минимальная смертельная доза для белой мыши, убивающая ее в 48 часов, равнялась $\frac{1}{20.000.000}$.

На основании полученных результатов, Brieger и Sohn заявляют, что специфический тетанотоксин не является истинным белком, так как его свойства никоим образом не соответствуют обычной характеристике белковых тел.

В дальнейшем Brieger'у удалось показать, что даже и свойство выпадать в осадке от сернокислого аммония вовсе не является обязательным для тетанотоксина. Оказывается, что по мере увеличения ядовитости культур в зависимости от продолжительности роста столбнячных микробов, способность токсина осаждаться от сернокислого аммония постепенно уменьшается и, наконец, совершенно исчезает у сильно вирулентных культур. Brieger объяс-

няет это обстоятельство тем, что образование яда идет за счет пептонов и альбумоз, по мере потребления которых бактериями падает, а затем и вовсе исчезает зависящее от присутствия альбумоз выпадение осадка при осаждении бульона сернокислым аммонием. При неполном же израсходовании альбумоз, эти последние при осаждении их сернокислым аммонием увлекают за собой в осадок и находящийся в бульоне токсин, который сам по себе вовсе не осаждается этой солью. Следовательно, здесь дело идет о чисто-механическом увлечении токсина подобно тому, как он увлекается и другими индифферентными осадками.

Исследования Brieger'a на этом не закончились, и вскоре он совместно с Boer'ом опубликовал новый способ получения тетанотоксина в виде его цинкового соединения. Для этого фильтрат обрабатывается сернокислым или, еще лучше, хлористым цинком. Получающийся осадок цинкового соединения токсина не растворяется в воде и потому может быть хорошо промыт ею от примесей. Растворы его в слегка подщелоченной воде или в физиологическом растворе NaCl не дают никаких белковых реакций и оптически являются недеятельными. Поэтому Brieger и Boer считают, что их новый препарат не содержит и следов белка и не является так называемым дериватом последнего.

Таким образом Brieger, начав в своих исследованиях с утверждения, что тетанотоксин есть нечто иное, как ядовитый белок, токсальбумин, в последнем своем слове совершенно отказывается от этого взгляда, считая токсин во всяком случае не белком и даже не дериватом его.

Наши знания о природе тетанотоксина до настоящего времени чрезвычайно скудны. Orpenheimer в своей работе о токсинах и антитоксинах следующим образом резюмирует состояние наших знаний о токсинах вообще и тетанотоксине в частности: „О химической природе токсинов нам неизвестно ровно ничего. Так же, как и энзимы, к которым они очень близки, токсины сначала были отнесены к белкам и названы токсальбуминами. Чем больше, однако, стараний было приложено к тому, чтобы их очистить, тем более склонялись к мысли, что белковые тела являются лишь трудно устранимыми примесями, и что чистые токсины, по всей вероятности,—не белковые тела в обычном смысле слова. И самому Brieger'у, который ввел понятие о токсальбуминах, удалось получить препараты токсинов, которые совершенно не давали белковых реакций. Это—единственная черта, притом отрицательного ха-

рактера, которая нам известна относительно строения токсинов. Приходится ограничиться представлением, что токсины суть тела сложного молекулярного строения, — вероятно, родственные белками, с которыми они сходятся в некоторых свойствах, в особенности же приближаются к загадочным ферментам, с которыми они имеют много общего и по реакциям, и по образу действия“.

Таким образом в настоящее время мы не знаем, что представляют из себя токсины по составу, да и не можем этого знать, ибо не умеем пока выделять их в чистом виде. Последняя задача была-бы облегчена, если-бы мы знали хоть одно их специфическое свойство, будь то химического или физического характера, и это свойство могло-бы нам дать в руки орудие для выделения токсина в наиболее чистом виде. Для того, чтобы хоть немного приблизиться к разрешению этой задачи, посмотрим сначала, что представляет из себя тот сырой материал, из которого предстоит нам выделить и получить по возможности чистый препарат тетанотоксина.

Профильтрованная через свечу Chamberland's столбнячная бульонная культура представляет из себя пеструю смесь химических веществ, находящихся частью в состоянии истинного раствора, как, напр., альбумозы, пептоны, а также и сам токсин. Здесь я считаю нужным сделать самые краткие замечания по вопросу о том, что представляет из себя истинный раствор и так называемое коллоидальное состояние вещества.

Молекулы вещества, находящегося в состоянии истинного раствора, во многих отношениях ведут себя так, как если-бы вещество это находилось в газообразном состоянии. Законы, выведенные для газообразного состояния, во многих отношениях оказываются совершенно верными и для истинных растворов, в особенности, если дело идет о сильно разведенных растворах. В газообразном состоянии молекулы вещества, как известно, находятся в постоянном прямолинейном движении; с чрезвычайно большой скоростью они пробегают пространство, пока встреча со стенкой сосуда или другой газовой частицей не заставит их изменить направление и скорость их движения. Отдельные молекулы не связаны между собой силой взаимного притяжения, которая проявляет себя на весьма небольшом расстоянии, и газ стремится расшириться и занять возможно больший объем соответственно живой силе газовых частиц. Как известно, увеличивая внешнее давление, мы можем превратить газ в жидкое состояние. Переход этот есть следствие постепенного сближения газовых молекул между собою, так что в известный момент взаимное притяжение между частицами

вступает в свои права и побеждает стремление газа к расширению. Этого притяжения затем оказывается достаточно для того, чтобы еще более сблизить частицы и образовать из них более или менее плотную массу, обладающую свойствами, присущими жидкому состоянию.

Молекулы вещества, находящегося в состоянии истинного раствора, точно так же стремятся распространиться и занять возможно больший объем, ограниченный, правда, в данном случае пределами растворителя. Частицы растворенного вещества находятся под влиянием двух факторов: 1) притяжения частиц растворителя и 2) живой силы их собственного движения. Растворенное вещество удерживается в растворе, причем отдельные молекулы вещества оказываются не связанными между собой силой притяжения, потому что молекулы растворителя притягивают их к себе с большей силой, чем сила взаимного притяжения между отдельными молекулами растворенного вещества. С точки зрения притяжений место, занимаемое частицей растворенного вещества, не имеет значения: где-бы внутри жидкой системы ни находилась эта частица,—езде действие притягательных сил на нее одинаково. Поэтому-то частицы растворенного вещества могут перемещаться, как будто-бы они находились под влиянием энергии их собственного движения; вследствие этого растворенное вещество стремится к увеличению своего объема совершенно так же, как это происходило-бы с эквимолекулярным количеством газообразного вещества, поставленного в те же условия относительно объема и температуры. Однако, такое состояние может существовать только до тех пор, пока силы взаимного притяжения между отдельными молекулами растворенного вещества оказываются как-бы парализованными силами притяжения со стороны молекул растворителя. Наоборот, как только последнего рода силы оказываются несостоятельными вследствие перевеса над ними сил притяжения между молекулами растворенного вещества,—как это бывает, напр., в пересыщенных растворах,—частицы растворенного вещества притягиваются друг к другу и начинают образовывать сначала чрезвычайно мелкие, а потом и более крупные молекулярные конгломераты. Этот конденсационный процесс в пересыщенных растворах протекает таким образом, что первоначально в различных точках системы образуются чрезвычайно мелкие молекулярные конгломераты растворенного вещества, так называемые первоначальные центры, которые затем увеличиваются в объеме, с одной стороны, путем соединения отдельных конгломератов между собой, а с дру-

той—за счет присоединения к ним находящихся в растворе и не соединившихся между собой отдельных молекул. Результатом постепенного роста первоначальных центров явится, в конце концов, образование частиц, видимых простым глазом, т. е. образование осадка. Первый процесс, отвечающий образованию первоначальных центров, немного больших по величине, чем молекула, протекает аналогично реакциям в растворах и зависит от степени насыщения и растворимости данного вещества. Второй же процесс, состоящий в увеличении отдельных молекулярных конгломератов, зависит от условий, которые явились следствием первого процесса. Мы можем представить себе такое положение дел, когда образовавшиеся в результате первого процесса конгломераты могут в дальнейшем увеличиваться только путем слияния отдельных конгломератов между собой, тогда как увеличение их на счет присоединения отдельных молекул почти не имеет места, или, наоборот, увеличение идет главным образом за счет второго процесса. Так, напр., если в пересыщенном растворе образовалось лишь очень мало первоначальных центров, то они в дальнейшем могут расти почти исключительно за счет присоединения отдельных молекул, так как, благодаря своей малочисленности, эти центры находятся между собой на значительном расстоянии и потому не могут влиять друг на друга. Наоборот, при известных условиях, напр., при наличии очень сильного пересыщения раствора, с самого начала в системе возникают многочисленные первоначальные центры так, что на образование их из раствора извлекаются почти все молекулы растворенного вещества, или, вернее, такое количество их, что состояние пересыщенности раствора при этом уничтожается, и наступает, таким образом, равновесие между оставшимися в растворе молекулами—с одной стороны и молекулярными конгломератами—с другой. Равновесие это определяется концентрацией полученного раствора и степенью растворимости образовавшихся конгломератов. Понятно, что в дальнейшем при этих условиях рост первоначальных центров может идти только путем слияния отдельных конгломератов между собой.

От недостаточно выясненных в настоящее время условий и действующих здесь сил процесс слияния отдельных конгломератов между собой может протекать весьма медленно. Действуют ли здесь электрические силы в виде одноименных электрических зарядов, сосредоточенных на поверхностях молекулярных конгломератов и препятствующих таким образом слиянию конгломератов между со-

бой, или другие какие-то силы, но процесс дальнейшего роста конгломератов идет вперед чрезвычайно медленно, и в отдельных случаях нужны, быть может, десятки или даже сотни лет, чтобы дело дошло до своего логического конца, т. е. слияния отдельных конгломератов, до образования крупных частиц, видимых простым глазом (флокуляция) и выпадения растворенного раньше вещества из жидкости в виде осадка (седиментация). Таким образом мы имеем здесь дело с совершенно особым состоянием вещества, причем самым характерным признаком этого состояния является наличие конденсационных процессов в виде медленного, но прогрессивного роста взвешенных в жидкости молекулярных конгломератов; эти конденсационные процессы приводят в конце концов к выделению бывшего в растворе вещества в осадок. Такое-то переходное, — так сказать, эволютивное, — состояние и носит название *коллоидального* состояния вещества. С молекулярно кинетической точки зрения между настоящими растворами и коллоидальным состоянием разницы нет никакой; с точки зрения равновесия существенное различие заключается в том, что коллоидальное состояние представляет собой систему, в которой неизбежно, хотя и очень медленно, происходит процесс конденсации, т. е. переход к устойчивому равновесию, тогда как раствор является абсолютно устойчивой системой.

Коллоидальная система состоит, таким образом, из двух составных частей: 1) из жидкости и 2) из распределенного в ней в виде взвеси молекулярных конгломератов вещества. Жидкая часть носит название *дисперсионной среды*, а взвешенные в ней частицы — *дисперсной части*. То и другое вместе называется *дисперсной системой*. Величина взвешенных в жидкости частиц может быть чрезвычайно различна; верхняя граница этой величины приближает коллоиды к механическим взвесям — суспензиям, а нижняя — к растворам, и коллоиды по величине частицы занимают среднее положение между суспензиями и истинными растворами. Вследствие малой величины частиц и большого числа их получается огромное развитие поверхности, отделяющей дисперсную часть от дисперсионной среды. Чрезвычайное развитие поверхности раздела в свою очередь ведет за собой особо важное значение различного рода поверхностных энергий и всех факторов, изменяющих величину этих энергий.

Ограничиваясь пока этими представлениями о коллоидальном состоянии материи, обратимся теперь к нашему токсину. С точки

зрения только что изложенных представлений бульонный фильтрат столбнячной культуры представляет из себя дисперсную систему, в которой в качестве дисперсной части служат, с одной стороны, интересующий нас столбнячный токсин и ряд других продуктов жизнедеятельности микробов, а с другой—сложные органические вещества, находящиеся в каждом бульоне: альбумозы, пептоны и пр. Столбнячный токсин, возникая в результате жизнедеятельности столбнячных микробов, сразу по своем рождении попадает в среду, состоящую из очень пестрой смеси веществ, находящихся в коллоидальном состоянии. В силу присущего мелким частицам свойства адсорбировать приходящие с ними в соприкосновение взвешенные вещества, несомненно, токсин оседает, концентрируется на поверхности взвешенных в бульоне коллоидальных частичек. Факт взаимной адсорбции коллоидов в настоящее время строго установлен, и в нашем случае трудно лишь сказать, на каких именно коллоидальных частицах оседает столбнячный яд в бульонной среде. Не касаясь вопроса о законах адсорбции вообще, укажем лишь, что адсорбция, помимо чисто-физических причин, в значительной степени зависит также и от химического состава адсорбируемого и адсорбирующего вещества. Так как о химической природе токсина нам ничего неизвестно, то само собой понятно, что и о характере адсорбирующих его коллоидальных частиц говорить не приходится. Волей-неволей приходится ограничиваться лишь указанием в общей форме, что токсин оседает на поверхности тех коллоидальных частиц, которые легче всего притягивают его к себе в силу физического притяжения, а также, быть может, и в силу некоторого слабого химического сродства. Но, как-бы то ни было, токсин не распределяется равномерно по всему бульону, а занимает в нем рассеянную диспозицию, и наша задача, следовательно, сводится к тому, чтобы рассеянные частицы собрать вместе и выделить их из бульона.

Подобно всякой другой дисперсной системе, бульонный фильтрат мы должны рассматривать, как систему неустойчивую, где взвешенные в дисперсионной среде коллоидальные частицы стремятся слиться в более крупные образования, выпадающие из жидкости в виде осадка. Процесс этот является результатом действия сил поверхностного натяжения, сосредоточенных на поверхности коллоидальных частиц и обнаруживающих свое действие при столкновениях этих частиц между собой,—столкновениях, которые, как известно, постоянно происходят в дисперсионной среде.

Представим себе взвешенные в жидкости коллоидальные части-

цы в виде образований шаровидной формы. Молекулы, из которых состоит все образование, обладают особым рода силой сцепления, а с другой стороны каждая молекула испытывает на себе действие тех же сил сцепления со стороны окружающих ее молекул. Если мы возьмем молекулу, расположенную где-нибудь внутри молекулярного конгломерата, то нетрудно видеть, что силы сцепления, действующие на эту молекулу со стороны других молекул, окружающих ее со всех сторон, взаимно уничтожаются. Это относится ко всем молекулам, расположенным внутри молекулярного конгломерата, где, следовательно, силы сцепления регулируют лишь величину среднего расстояния между отдельными молекулами. Сказанное относительно взаимного уравнивания сил сцепления, действующих на молекулы внутри молекулярного конгломерата, перестает быть верным для молекул, расположенных у самой поверхности: здесь отдельная молекула окружена другими не со всех сторон и испытывает одностороннее притяжение внутрь вследствие отсутствия притяжения по направлению кнаружи соответственно свободной стороне. Все молекулы поверхностного слоя, находясь в таком именно положении, втягиваются внутрь шаровидного образования, которое, благодаря этому, представляется какой-бы обтянутым снаружи эластической пленкой, стягивающей расположенные внутри молекулы в одну более или менее компактную массу. Сила эта, как известно, носит в физике название *силы поверхностного натяжения*.

Нетрудно видеть, что при столкновениях молекулярных конгломератов между собой сила эта тотчас же перестает действовать в точках соприкосновения конгломератов. В этих точках молекулы того и другого столкнувшегося конгломерата взаимно притягивают друг друга с той именно стороны, которая до сего времени была свободна; этим самым указанные молекулы в смысле действия на них сил сцепления становятся в положение молекул, расположенных внутри молекулярного конгломерата, — другими словами, здесь сила поверхностного натяжения уничтожается. В то же время на протяжении остальной поверхности того и другого столкнувшегося конгломерата силы эти продолжают действовать. Само собою понятно, что результатом такого распределения сил поверхностного натяжения будет как-бы постепенное славливание столкнувшихся конгломератов в одно общеецелое, т. е. образование в конце концов более крупной частицы. Понятно также, что, чем больше в каждом отдельном случае сила поверхностного натяжения, тем вернее в каждом отдельном случае сталкивания частиц обеспечивается на-

ступление процесса слияния, и затрудняется, наоборот, возможность их нового раз'единения под влиянием сил противоположного направления. В зависимости также от величины сил поверхностного натяжения, само собой разумеется, стоит и быстрота процесса слияния и уплотнения частиц.

Будучи предоставлен самому себе, процесс слияния коллоидальных частиц идет в зависимости от устойчивости коллоидальной системы, в общем, чрезвычайно медленно. Не имея возможности, за недостатком времени, останавливаться подробно на вопросе о причинах устойчивости коллоидальных систем, я должен ограничиться лишь самыми общими замечаниями по этому вопросу.

Большинство исследователей считает, что причиной устойчивости служат электрические силы. На молекулярные конгломераты, взвешенные в дисперсионной среде, нужно смотреть, как на носителей электрических зарядов. Заряды эти, будучи одинакового знака, вызывают взаимное отталкивание, препятствующее слиянию коллоидальных частиц между собой, т. е. образованию более крупных агрегатов и выпадению вещества в осадок. Кроме того, раз молекулы коллоидальных частиц заряжены одноименным электричеством, то нужно признать, что электрические силы действуют в направлении противоположном силам молекулярного притяжения, которым, как мы только что видели, обязана своим происхождением сила поверхностного натяжения. Таким образом электрические силы, являясь как-бы антагонистами молекулярных сил, должны понижать поверхностное натяжение коллоидальных частиц, и, если в силу каких-либо причин произойдет уменьшение или нейтрализация электрического заряда, то сила поверхностного натяжения частиц должна увеличиться. Коллоидальные частицы в конечном итоге удерживают свое положение и приобретают устойчивость вследствие взаимодействия двух сил: молекулярной аттракции с одной стороны и электрического отталкивания одноименно заряженных молекул—с другой. Дело сводится, в конце концов, к величине поверхностного натяжения, представляющего собой равнодействующую только что указанных сил, и понятно, поэтому, что все условия, которые ведут к изменению величины электрического заряда, будут влиять и на величину поверхностного натяжения коллоидальных частиц, а, следовательно, и на процесс слияния их между собой: ускорять его в случае увеличения силы поверхностного натяжения и задерживать—в случае понижения.

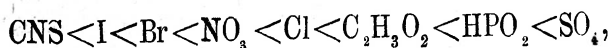
Обращаясь теперь к нашему токсину, мы видим, что задача наша сводится к тому, чтобы ускорить протекающий при нормаль-

ных условиях чрезвычайно медленно процесс слияния нагруженных токсином коллоидальных частиц и таким образом вызвать быструю их седиментацию. Этого мы можем достичь, повысив поверхностное натяжение частиц. Для последней же цели в нашем случае особенно было-бы удобно воспользоваться свойством электролитов. Известно, что электролиты, находясь в растворе, диссоциируют, т. е. распадаются на ионы, снабженные электрическим зарядом, величина и знак которого зависят от химической природы. Находясь в постоянном движении, ионы эти сообщают непрерывные толчки или удары встречающимся на пути их движения препятствиям (обуславливая, между прочим, этим обстоятельством существование осмотического давления у растворов). Само собой разумеется, и взвешенные в жидкости молекулярные конгломераты также будут подвергаться этой как бы бомбардировке со стороны ионов, результаты которой мы можем представить себе в виде равномерного давления со всех сторон на коллоидальную частицу. Это обстоятельство должно привести в свою очередь к повышению поверхностного натяжения частиц. С другой стороны, принимая во внимание существование у ионов электрического заряда, необходимо допустить влияние со стороны ионов и на электрический заряд коллоидальных частиц: уменьшение или нейтрализация этого заряда, как указывалось выше, приводит в конечном итоге к повышению поверхностного натяжения и последующему осаждению коллоидальных частиц из дисперсионной среды.

Нужно отметить, что явления осаждения коллоидов помощью электролитов у различных коллоидов далеко неодинаковы: одни коллоиды осаждаются даже малейшими количествами солей, другие, наоборот, гораздо менее чувствительны к действию электролитов. Коллоиды первой группы, к которым относятся металлы, называются неустойчивыми, тогда как входящие во вторую, — альбумин, желатина и вообще органические коллоиды, а, следовательно, и наш токсин, — носят название устойчивых. Что касается осаждения, или, как принято говорить, коагуляции неустойчивых коллоидов, то, как общее правило, коагулирующая способность электролита к определенному коллоиду зависит только от аниона или только от катиона, но никогда — от обоих вместе, и быстро возрастает соответственно повышению значности активного иона. Поэтому коагулирующая способность разных солей, обладающих одинаковым активным ионом, по отношению к данному коллоиду — одинакова. Радикал, которому принадлежит коагулирующая способность, всегда обладает противо-

положительным электрическим зарядом по сравнению с зарядом коллоида. Поэтому, напр., щелочами осаждаются положительные коллоиды, тогда как отрицательные выпадают от прибавления кислот. Это и понятно, так как коагуляция отвечает понижению заряда или, точнее, есть следствие уменьшения заряда коллоидальных частиц, наличие же заряда, наоборот, служит необходимым условием устойчивости коллоидов.

В случае коагуляции устойчивых коллоидов, когда для осаждения пользуются солями тяжелых металлов, аналогия с только что описанными явлениями у неустойчивых коллоидов — полная. Наоборот, при коагуляции устойчивых коллоидов солями щелочных металлов коагуляция не зависит, как у неустойчивых коллоидов, от ионов одного знака, но оба иона соли действуют одновременно и независимо друг от друга. Поэтому коагуляция нейтральными солями имеет аддитивный характер, слагающийся из суммы действия отдельных ионов. Для коллоидов с ясно выраженной щелочной реакцией коагулирующая способность анионов возрастает в следующем порядке:



а для катионов:



Это — так называемые ряды Hofmeister'a.

Указанное независимое действие отдельных ионов резко отличается этот тип коагуляции от коагуляции неустойчивых коллоидов. Но различие выступает еще резче, если принять во внимание, что прибавлением нейтральных солей удается коагулировать электрически нейтральные устойчивые коллоиды (альбумин). Этот факт указывает, что образование осадка непременно и существенно не связано с процессом электрической природы.

Каков-бы ни был в каждом отдельном случае механизм действия электролита, несомненно лишь, что в нем мы имеем средство, при помощи которого можно повысить поверхностное натяжение коллоидальных частиц и тем самым вызывать их седиментацию. В нашем случае со столбнячным токсином нам нужно прежде всего выбрать такую концентрацию электролита, которая была-бы достаточна для осаждения нагруженных токсином коллоидальных частиц из бульонной среды, в которой ведь кроме них имеется целый ряд других коллоидальных частиц. Предполагая, что различного рода частицы обладают различным поверхностным натяжением, мы

должны допустить, что, в зависимости от взятой нами концентрации электролита, будут седиментироваться лишь те частицы, поверхностное натяжение которых не меньше некоторой предельной величины, и чем меньше поверхностное натяжение частицы, тем большая концентрация электролита нужна для повышения поверхностного натяжения до величины, достаточной для наступления седиментации. Таким образом путем постепенного повышения концентрации электролита мы можем получить в осадке фракции коллоидов, характеризующихся одним общим признаком, именно, величиной поверхностного натяжения коллоидальных частиц. В одной из таких фракций должен находиться и интересующий нас токсин. Определить заранее, в какой именно фракции соберется наш токсин, совершенно не представляется возможным. В каждом отдельном случае в зависимости от качества продуктов, из которых приготовлен бульон, от токсичности разводки и т. д. условия адсорбции токсина коллоидальными частицами будут меняться, равно как будет меняться и величина поверхностного натяжения нагруженных токсином частиц. Учесть заранее характер этих изменений совершенно невозможно, и практическая задача найти необходимые условия для получения по возможности чистой фракции токсина под силу лишь одному эмпиризму.

Из опытов, поставленных с этой целью мной совместно с д-ром Лондоном во время работ в лаборатории на форте Император Александр I по приготовлению противостолбнячной сыворотки для нужд действующей армии, выяснилось, что при концентрации сернокислого аммония, взятого нами в качестве электролита, равной 18—20‰, получается такое увеличение поверхностного натяжения токсиноносных частиц, которого как раз достаточно для того, чтобы наступило их взаимное слияние с последующей седиментацией. Отсюда ясно, что для получения наиболее чистого препарата тетанотоксина нужно вначале осадить все то, что выпадает при более низкой концентрации сернокислого аммония, равной примерно 17‰ этой соли, и то, что выпало, отцентрифугировать и отбросить; затем остается прибавить к жидкости 1‰—3‰ сернокислого аммония, причем полученный при этих условиях осадок и будет представлять из себя концентрированный токсиноносный коагулят. В целях дальнейшего очищения осадок следует подвергнуть повторному растворению с последующим осаждением сернокислым аммонием соответствующей концентрации вплоть до того момента, пока опыт на животных не покажет, что дальнейшая очистка не ведет к уси-

лению ядовитости препарата. Таким путем нам удалось получить препарат токсина, минимальная смертельная доза которого для белой мыши, убивающая ее в 48 часов, равнялась $\frac{1}{60.000.000}$ т. е. препарат в 3 раза сильнее Brieger'овского.

В заключении я хотел-бы сделать еще одно маленькое замечание, а именно: согласно изложенным выше представлениям отдельные фракции коллоидов при дробном осаждении характеризуются, как общим признаком, величиной поверхностного натяжения коллоидальных частиц. Нужно здесь, однако, иметь в виду, что кроме величины поверхностного натяжения при дробном осаждении будет иметь также значение и величина коллоидальных частиц: чем больше по своему объему данные частицы, тем скорее они дадут при своем слиянии настолько крупные образования, что наступит их седиментация. Поэтому-то мало-дисперсные системы, т. е. системы с крупными по величине коллоидальными частицами, осаждаются уже при малых концентрациях электролита, для высоко-дисперсных же систем концентрация электролита, необходимая для наступления коагуляции, должна быть выше. Все это указывает, что полученный путем дробного осаждения осадок должен представлять из себя все таки пеструю смесь веществ, и, конечно, не может быть и речи о получении этим путем химически-чистого препарата тетанотоксина. Тем не менее, метод этот, не являющийся сам по себе новым, будучи применен для специальной цели в озвещении и с точки зрения принципов коллоидальной химии, дал весьма удовлетворительные результаты. Этим путем удалось получить препарат тетанотоксина в 3 раза сильнее, а, следовательно, и чище, чем самый чистый известный в литературе препарат Brieger'a. Кроме того этим же методом Лондо ну и Па хотипой удалось из поджелудочного сока, содержащего в себе, как известно, очень пеструю смесь ферментов, получить раздельно ферменты—амилолитический, протеолитический и липолитический.
