

Aan kiemplanten gemeten elektrische potentialen opgevat als Donnan-potentialen *)

door D. MacGillavry en H. J. C. Tendeloo

*

581.1.037 : 541.134

An account is given of the investigation of root potentials measured at seedlings. To explain the observed trends the Donnan theory was applied to several simple and somewhat more complex membrane systems. The theory was extended to cover systems containing components carrying weak ionogenic groups and also systems possessing an isoionic point. The way the pH would be affected according to the theory by the attainment of equilibrium and also itself would influence equilibrium is explained.

The proposed application of the theory of membrane equilibria presupposes that a certain volume fraction of the roots should be freely accessible to electrolytes. In this connection mention is made of the work by Hope and Stevens on the "Apparent Free Space". Entrance of electrolytes into the AFS would not be specific or at least less specific than regular physiological processes. Entrance by free diffusion would be accompanied by ion-exchange with ions held by the protoplasm and other non-permeating materials.

Estimates were derived for the pH of an effective iso-ionic point and for the effective buffer capacity of the non-permeating materials.

Voor zover men verschijnselen, waargenomen in de levende natuur, kan nabootsen met modellen geconstrueerd met levenloze materialen, in zover kan men dergelijke „dode” modellen beschouwen als een analogon van de verschijnselen in de levende natuur. Mag men nu de theorie of interpretatie van het dode model aanvaarden als een verklaring van het verschijnsel-waargenomen aan een levende plant? Deze vraag dient men zich steeds opnieuw te stellen. Als we dit voorbehoud maken, is het niet nodig om op deze vraag verder in te gaan. Trouwens, de bespreking van stationaire potentialen voert nog tot verdere beperkingen, die vanzelf duidelijk zullen worden.

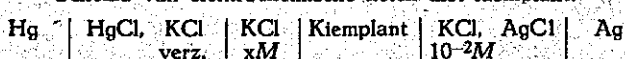
Overall waar men studie maakt van eigenschappen en verschijnselen, is strikt genomen een theorie niet nodig. Voor alles hebben we te maken met de waarnemingen zelf. Deze met de nodige zorg verkregen waarnemingen dienen dan getabuleerd te worden. Maar als in een bepaald gebied de resultaten menigvuldig worden, dan werkt een theoretisch inzicht doorgaans sterk verhelderend, des te meer naarmate de draagwijdte van de theorie groter is.

Maar ook voor dode modellen heeft iedere theorie zijn eigen beperkingen. Dit is wel bekend in de elektriciteitsleer, waar de wet van Ohm op zichzelf goed begrepen kan worden in analogie met het stromen van een „elektrische” vloeistof door buissystemen. Hier is dus het vloeistofmodel een substituut voor de werkelijkheid en kan gebruikt worden om de wet van Ohm te „verklaren”. Het analogon heeft echter geen waarde voor de verklaring van de magnetische verschijnselen, die in werkelijkheid steeds met elektrische stroom gekoppeld zijn. In het kort, men dient zich af te vragen, of niet alle theorieën en analogia steeds met even belangrijke beperkingen behept zijn.

Wanneer nu een kiemplant in een elektrochemische keten wordt opgenomen, zoals aangegeven in Diagram I, dan blijken de potentialen van de keten met

Diagram I

Schema van elektrochemische keten met kiemplant.



de concentratie van de oplossingen te kunnen veranderen. Dit effect wordt niet waargenomen, als de plant uit de keten genomen wordt. De veranderingen van de beide diffusiepotentialen blijken elkaar nage-

Diagram II

Schema van elektrochemische keten zonder kiemplant.



noeg op te heffen.

De aan de kiemplanten waargenomen potentialen, gemeten zonder stroomdoorgang, zal men dienen te interpreteren met behulp van de in de elektrochemie van waterige oplossingen bekende klassen van potentiaalverschillen. De wortelpotentialen zullen moeten ontstaan door bijdragen van

- membraanpotentialen,
- diffusiepotentialen,
- fasengrenspotentialen.

Tenzij dat duidelijk een niet waterige, lipoid fase van belang is, kunnen we fasengrenspotentialen buiten beschouwing laten. Zodoende is alles gereduceerd tot een geheel van contributies, geleverd door lokale membraan- en diffusiepotentialen.

Mochten lokale elektrische stromen eveneens van belang zijn, dan zou men ook het verband tussen lokale potentiaalcontributies en lokale stroomverdeling moeten trachten te begrijpen. Om stroomdoorgang door de gehele keten bij het meten zo goed mogelijk uit te sluiten werden de potentialen gemeten met elektrometers met een zo klein mogelijke ingangscapaciteit en een zo groot mogelijke ingangswaerstand.

De eerste series van metingen werden gedaan met een Cambridge pH-elektrometer, latere series met een Philips pH-meter 1).

De apparatuur is geschetst in Fig. 1.

De elektrochemische keten bestaat uit

- A elektrodehouder met zilverchloride-elektrode in 10⁻² M KCl;
- B buisje met kiemplant, dat met wat gelatine in de vernauwing bevestigd is,
- C tussenvat met x M KCl,
- D vat en agarbrug met verzadigde KCl-oplossing,
- E verzadigd KCl kalomel-elektrode.

*) Gedeelten van deze samenvattende studie werden door één van ons (D. McG.) besproken op de wintervergadering van de Koninklijke Nederlandse Chemische Vereniging te Amsterdam, 22 dec. 1955, en in een voordracht voor de Rotterdamse Chemische Kring op 8 okt. 1956.

De tussenvaten C bevatten een serie KCl-oplossingen en kunnen snel worden verwisseld. Op deze manier wordt dus de afhankelijkheid van de wortelpotentiaal van de KCl-concentratie verkregen.

De resultaten²⁾ van metingen voor Lucerne klaver, *medicago sativa*, zijn weergegeven in Tabel I en in Figuur 2.

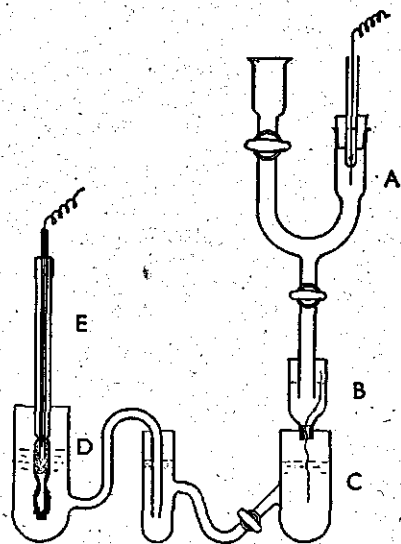


Fig. 1. Elektrochemische keten met kiemplant.

Tabel I.
Potentiaal-gemiddelden voor Lucerne klaver.

	pKCl				
	1	2	3	4	5
Eerste Serie	+23,8	+1,4	-34,4	-64,8	
Tweede Serie	+20,3	-0,8	-39,1	-73,9	-87,6

De potentialen bleken redelijk stationair te zijn en reversibel ten opzichte van veranderingen van de samenstelling van de buitenoplossing, ook al werden soms geleidelijke of plotselinge fluctuaties waargenomen, welke wel aan fysiologische processen in de kiemwortels te wijten waren.

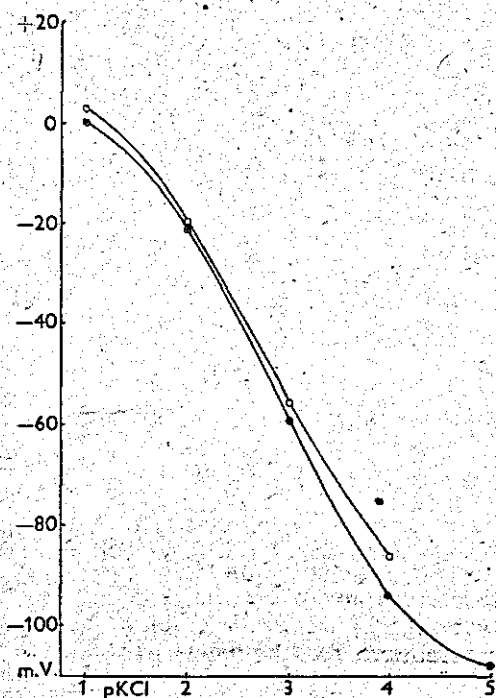


Fig. 2. Potentiaal-gemiddelden voor twee typische meetseries in KCl-oplossingen.

De gemeten waarden van de EMK's van de hele keten zullen behandeld worden, alsof ze de wortelpotentiaal zelf zijn. Dit verdient nadere toelichting.

Allereerst gaat het niet om de absolute waarden, maar om de potentiaalveranderingen, die optreden als de kiemwortel in een andere oplossing overgebracht wordt³⁾. In de tweede plaats zijn er goede experimentele aanwijzingen, dat de optredende potentiaalveranderingen zo goed als geheel resulteren van de veranderingen aan de wortel en niet van veranderingen elders in de keten. Dit is op verscheidene manieren vastgesteld. Als er geen kiemplant in de keten is en de oplossingen in C in direct contact gebracht worden met de monding van de elektrodehouder A, dan worden slechts veranderingen van enkele mV's op zijn hoogst gevonden. De veranderlijke contributies tot de totale EMK's zijn nu alleen de beide diffusiepotentialen, die optreden waar de oplossing in een tussenvat C in contact komt met de meer geconcentreerde oplossingen van de elektrodehouders. De beide diffusiepotentialen werken elkaar steeds tegen. In geval van alleen KCl-oplossingen zouden ze bovendien klein uitvallen⁴⁾.

Als een kiemplant zich in de keten bevindt, zal het veranderen der potentialen toch wegvallen, wanneer het niveau der oplossingen C zo hoog komt dat het met de gelatinekraag in aanraking komt. Klaarblijkelijk kunnen de optredende verschuivingen van elektrische ladingen nu gemakkelijker plaats vinden door de gelatinekraag dan door de plant. In plaats van met de contributies van membraanpotentialen en diffusiepotentialen in de plant heeft men dan te maken met de diffusiepotentialen in de gelatinekraag; het totaal verschilt dan klaarblijkelijk niet noemenswaard van de directe diffusiepotentiaal zonder gelatine. Het zelfde werd geconstateerd als in plaats van de kiemplant een wollen draadje werd aangebracht.

Keren wij nu terug naar figuur 2. De potentialen van de kiemplanten t.o.v. de KCl-oplossingen worden negatiever met toenemende verdunning. De curve vertoont echter een duidelijk buigpunt en heeft de nijging om horizontaal te verlopen in geconcentreerde oplossingen en eveneens in de sterk verdunde oplossingen.

Een overeenkomstig gedrag mag men verwachten voor tamelijk eenvoudige membraansystemen. Reeds voordat Arrhenius de ionisatietheorie van elektrolyten ontwikkelde, had Gibbs⁵⁾ al melding gemaakt van membraanevenwichten van niet-elektrolyten. De eigenlijke stoot tot de studie van dit voor de biologie zo belangrijke gebied is uitgegaan van Donnan⁶⁾.

De theorie werd ontwikkeld voor het ontstaan van concentratieverschillen van diffunderende elektrolyten aan weerszijden van een membraan, als tenminste één component niet door het membraan kan diffunderen. Donnan wees erop, dat zowel een drukverschil tussen binnen- en buitenoplossing kan ontstaan als ook een elektrisch potentiaalverschil. De uitvoerige experimentele studie van Donnan en Allmand⁷⁾ gaf gedeeltelijk quantitative overeenstemming met de theorie. Wat betreft de potentiaalverschillen deden zich experimentele moeilijkheden voor.

De thermodynamische theorie voor membraanevenwichten is later meer exact uitgewerkt door Donnan en Guggenheim⁸⁾. Zij wezen er op, dat het membraanpotentiaalverschil zelf niet afzonderlijk gemeten kan worden, daar behalve het membraan in de elektrische keten steeds andere grensvlakken aanwezig zijn met de hun eigen potentiaalcontributies.

Hieraan werd echter toegevoegd, dat dan ook het membraanverschil zelf niet goed gedefinieerd kan zijn.

Het is zeker niet nodig om zover te gaan. Dit is met klem betoogd door *Wiebenga*⁹⁾ en geheel terecht, daar men zich kan beroepen op de onderzoeken van *Loeb*¹⁰⁾. Deze onderzoeker heeft uitgebreide studies gemaakt omtrent de membraanevenwichten van proteïnen. Het is de door hem aangegeven methode om membraanpotentialen te meten, die ook bij onze onderzoeken is toegepast.

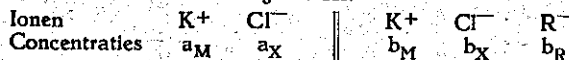
In het type ketens, waarop deze methode berust, heeft men behalve de membraanpotentiaal en de grensvlakpotentialen van de beide metaalelektroden ook nog twee diffusiepotentialen. Op de relatieve betekenis en invloed van al deze potentiaalverschillen bij de bestudering van het gedrag van membraanpotentialen is hierboven gewezen.

Nu dan, voor wat voor soort membraansystemen¹¹⁾ zullen de membraanpotentialen zich gedragen op een manier, waarmee het gedrag van wortelpotentialen gelijkens vertoont?

Voor een membraansysteem met een vaste concentratie van niet-diffunderende anionen¹²⁾, bijv. van organische sulfonaten, geeft een elementaire theorie het volgende, als men mag afzien van het optreden van een drukverschil binnen en buiten het membraan en van een verschil in zuurgraad binnen en buiten. Op het laatste komen wij terug. Wat een drukverschil betreft, dit zal afhangen niet alleen van de concentraties intern en extern, maar ook van de partiele molaire volumina, en kan dus groter en kleiner uitvallen. Voor een membraansysteem zou men het drukverschil direct kunnen meten. Bij een plant is dit niet direct mogelijk. Daar de ladingsdichtheden in de plantencellen niet te geconcentreerd zullen zijn, mag men wel beginnen met van een drukverdeling in de kiemwortel of van een effectief gemiddeld drukverschil af te zien.

Onder die voorwaarden hebben we met het theoretisch eenvoudigste systeem te doen. Het is aangeduid in Diagram III.

Diagram III.



Hier is verondersteld, dat b_R, de concentratie der niet-diffunderende anionen, constant is.

Volgens de Donnan-theorie geldt nu

$$\frac{b_X}{a_X} = v \quad \frac{b_M}{a_M} = v^{-1} \quad \dots \quad (1)$$

In geval van het aanwezig zijn van niet-diffunderende anionen R⁻ is v < 1, in geval van niet-diffunderende kationen R⁺ daarentegen is v > 1.

Verder krijgen we, indien we stellen

$$v = e^z \quad \dots \quad (2)$$

$$E - E_0 = \frac{RT}{F} \ln v = \frac{RT}{F} z \sim 25 z \quad \dots \quad (3)$$

voor een membraanevenwicht bij kamertemperatuur.

Overall in de externe en interne oplossingen zal elektroneutraliteit heersen

$$\therefore a_X = a_K = a \quad \dots \quad (4)$$

$$b_X + b_R = b_K \quad \dots \quad (5)$$

Met behulp van (1), kan (5) geschreven worden in de vorm

$$av + b_R = \frac{a}{v} \quad \dots \quad (6)$$

Als de concentraties bekend zijn, kunnen de bijbehorende waarden v - en dus E - E₀ - berekend worden uit de in v kwadratische vergelijking (7) en

de berekende met de experimenteel gevonden potentialen vergeleken worden.

$$v^2 + \frac{b_R}{a} v - 1 = 0 \quad \dots \quad (7)$$

Uit vergelijking (7) ziet men dadelijk, dat de grootte van v en daarmee alle hier beschouwde membraan-effecten afhangen van de enkele parameter b_R/a. Zijn er nagenoeg geen niet-diffunderende ionen, of is de KCl-concentratie in de buitenoplossing relatief groot - het gaat om de verhouding - dan wordt de parameter te verwaarlozen klein, ∴ v → 1, en dan zullen er geen noemenswaardige concentratieveranderingen zijn, noch zal er een aanmerkelijk potentiaalverschil ontstaan.

Bij het onderzoek van de kiemplanten weten we niet te voren, hoe hoog de effectieve concentratie b_R ligt. Daarentegen is wel E - E₀ direct experimenteel toegankelijk en natuurlijk ook de samenstelling van de buitenoplossing. Als we nu maar een redelijke schatting voor E₀ konden afleiden, het punt waar het elektrische effect verdwijnt, dan zouden we voor elke meting het verhoudingsgetal v weten. Uit de verkregen waarden kunnen dan nu omgekeerd schattingen voor b_R gevonden worden.

Een in principe mogelijke manier¹³⁾ zou zijn de concentratie a van de buitenoplossing zo hoog mogelijk op te voeren, waardoor zoals gezegd de parameter klein wordt en daarmee alle membraan-effecten. Bij de studie van kiemplanten kan men zo wel schattingen verkrijgen, maar de betrouwbaarheid laat te wensen over. Eén reden hiervoor is, dat een te hoge zoutconcentratie niet gebruikt kan worden, daar deze schadelijk op een wortel zou inwerken.

Een andere, voor kiemplanten, zoals gebleken is, meer doeltreffende methode zal hieronder uiteengezet worden. Hierbij hoeft de zoutconcentratie niet dermate hoog te worden opgevoerd.

Laten wij aannemen, dat E - E₀ en dus v bekend zijn. Dan kan de waarde van de parameter van vergelijking (7) heel eenvoudig berekend worden. In verband met de verdere beschouwing van enkele meer gecompliceerde systemen, is het wenselijk om ook voor dit eenvoudigste systeem alle bekende termen van (7) in het rechter lid te schrijven. Dit geeft wegens (2) en in verband met de definitie van de hyperbolische sinus

$$\frac{b_R}{a} = - \left(v - \frac{1}{v} \right) = - (e^z - e^{-z}) = -2 \operatorname{sh} z \quad (8)$$

Hieruit blijkt, dat als we in plaats van met v vergelijking (8) voor de parameter uitdrukken in

$$z = (E - E_0) / 25$$

zelf, de hoofdbewerking van de hele berekening wordt het opzoeken van sinh z in de tabel voor hyperbolische functies. Tevens ziet men geheel expliciet, wat we trouwens al aan (7) zagen, dat de verhouding van a tot b_R de belangrijkste parameter is.

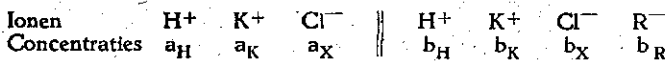
Zowel uit (7) als uit (8) blijkt, dat het klein zijn van de membraanpotentiaal samengaat met a > b_R.

Wanneer a ≪ b_R, dan zou met steeds verder gaande 10-voudige verdunning z telkens 2.3 eenheden negatiever worden, en het potentiaalverschil E - E₀ telkens met 57.5 mV afnemen. Dit volgt uit de definitie voor sinh z en is ook uit de tabel direct af te lezen.

Dit nu is zeker niet wat we vinden voor kiemplanten. Trouwens bij steeds verder gaande verdunning mag men de H⁺-ionenconcentratie van het membraansysteem niet buiten beschouwing laten. Dit kan niet meer gedaan worden zodra a_M ≤ a_H wordt. Om in overeenstemming met de werkelijkheid te blijven

moeten de H^+ -ionen expliciet aangegeven worden ook in het eenvoudigste geval¹⁴). Wij dienen dus te beschouwen het type systeem, zoals weergegeven in Diagram IV.

Diagram IV.



Zowel voor de H^+ - als voor de K^+ -ionen zal volgens de elementaire Donnan-theorie gelden

$$\frac{b_H}{a_H} = v^{-1} \text{ en } \frac{b_K}{a_K} = v^{-1} \dots \dots \dots (1a)$$

zolang we geen rekening hoeven te houden met een drukverschil.

Het is duidelijk, dat we nu zullen krijgen

$$a_X = a_K + a_H \quad (\text{elektroneutraliteit buitenoplossing}) \quad (9)$$

$$b_X + b_R = b_K + b_H \quad (\text{elektroneutraliteit binnenoplossing}) \quad (10)$$

$$\therefore a_X v + b_R = (a_K + a_H) \frac{1}{v} \dots \dots \dots (11)$$

$$\frac{b_R}{a_K + a_H} = -2 \sinh z \dots \dots \dots (12)$$

Uit vergelijking (12) leidt men meteen af, dat voor $a_K > b_R$, z en dus ook $E - E_0$ tot nul zullen naderen. Als $E - E_0$ tegen $p(a_K)$ wordt uitgezet zal de horizontale as asymptotisch benaderd worden. Voor $a_K < a_H < b_R$ verkrijgt het linkerlid van (12) de constante waarde b_R/a_H afhankelijk van a_H , maar onafhankelijk van a_K . Daarom nadert $E - E_0$ in de steeds meer verdunde KCl-oplossingen nu asymptotisch tot een constante negatieve waarde, als tenminste de zuurgraad in de buitenoplossing behoorlijk vast ligt. In werkelijkheid kunnen we dus niet een steeds verder afnemende potentiaal verwachten voor een membraan-evenwicht met bijv. organische sulfonaten of andere niet-diffunderende, sterk geïoniseerde zuren.

In grote lijnen is dit ook het gedrag, dat voor Lucerne klaver¹⁵) en andere gewassen¹⁶) is waargenomen. Als we op grond hiervan aannemen, dat evenals de membraanpotentialen samengaan met het instellen van evenwichten, doordat KCl en eventuele andere elektrolyten door het membraan diffunderen, ook de wortelpotentialen samengaan met diffusie-evenwichten van elektrolyten, dan doet zich allereerst de vraag voor, hoever de buitenelektrolyten even vrij kunnen binnendringen in een wortel, als dit het geval is in het fysisch chemische systeemmodel met een membraan. Kunnen de buitenelektrolyten overal in kiemwortels doordringen of alleen in de meer naar buiten gelegen weefsels?

Het laatste is waarschijnlijker. Immers in het meer inwendige van een kiemwortel, speciaal in de vaat-systemen, mag men wel aannemen, dat een plant zal trachten zo veel mogelijk eigen individualiteit te bewaren. Daar zullen concentraties en diffusiesnelheden in de eerste plaats bepaald worden door de eigen behoeften, eigen aan de soort en aan het individu, tenzij dat toleranties overschreden worden en abnormale toestanden zich gaan voordoen.

In principe zou de vraag beantwoord kunnen worden door de hoeveelheid KCl te meten, die naar binnen diffundeert, als de concentratie in de buitenoplossing op een bepaald tijdstip verhoogd wordt. Dergelijke metingen zijn verricht door Hope en Stevens¹⁷). De gebruikte methode berust op het volgen van het veranderen van het geleidingsvermogen van de buitenoplossing. Deze methode was ook al gebruikt en uitgewerkt door Robertson¹⁸) en medewerkers. Typische resultaten zijn weergegeven in Figuur 3.

Men ziet, dat met het veranderen van de buitenoplossing een voorbijgaande tamelijk snelle diffusie plaats heeft. Daarna vindt een langzamere maar continue diffusie plaats.

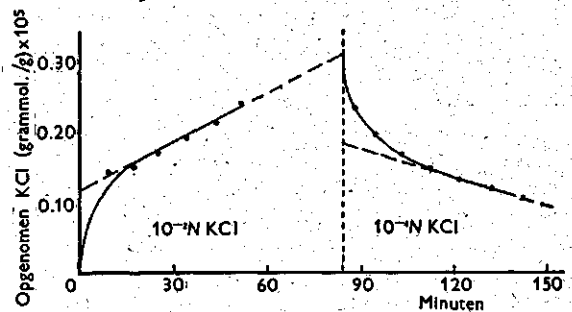


Fig. 3. Het aanvankelijk opnemen en afgeven van KCl door wortelenden van kiemende bonenplanten (*Vicia faba*, L.) in 0.01 M en daarna 0.0001 M KCl. Metingen van Hope en Stevens.

Uit de hoeveelheden, die door extrapolatie tot $t = 0$ uit de grafieken afgeleid kunnen worden, moet men nu trachten de volumefractie van de wortels¹⁹) te berekenen, die voor vrije diffusie door de membranen toegankelijk is, de z.g. „apparent free space”.

Als dit volume F is, dan heeft men

$$m_{KX} = b_X M_{KX} F,$$

als M_{KX} het molgewicht van KCl is en m_{KX} de totale hoeveelheid KCl, die zich in F bevindt. Men heeft ook

$$b_{X_i} = a_{X_i} v_i \text{ dus telkens } b_{X_i} < a_{X_i}$$

$$\text{en } b_{X_i} = b_{K_i} - b_R = \frac{a_{K_i}}{v_i} - b_R$$

$i = 1 \dots \dots n$ overeenkomstig het experiment, waarop de grootheden betrekking hebben.

Voor elke KCl-concentratie a_{X_i} van de buitenoplossing, krijgt men een bepaalde verhouding v_i . Deze verhoudingen zijn in eerste instantie onbekend, alsook b_R en F . Op grond van de gegeven overwegingen heeft Hope verondersteld, dat F en ook b_R constant zijn²⁰). Met behulp van bekende wiskundige methodes kan men nu trachten of aan de veronderstellingen voldaan kan worden en wat dan de beste schattingen zijn voor alle onbekenden.

Voor *Vicia faba* verkreeg Hope het resultaat, dat F 13% van het totale wortelvolume uitmaakt en dat ten minste 10% van de 13% uit celprotoplasma bestaat.

Ook andere fysisch-chemische en fysiologische methodes²¹) zijn toegepast om inzicht te krijgen. De schattingen van F lopen nogal uiteen, van 10-34% van het totale wortelvolume. De diepte van radiaal binnendringen zou dan uitkomen op van 5-20%.

Dat de uitkomsten voor verschillende plantensoorten aanzienlijk uiteen kunnen lopen is niet verwonderlijk. Verder is het ook waarschijnlijk, dat de verschillende methodes niet als volmaakt gelijkwaardig beschouwd mogen worden.

Wat de schattingen voor b_R betreft verkreeg Hope het belangwekkende resultaat, dat b_R met toenemende afstand van het wortelmutsje groter wordt, zoals in Tabel II is weergegeven.

Tabel II.

Schattingen voor de vrije ruimte F en de ladingsdichtheid b_R voor twee plantensoorten volgens Hope.

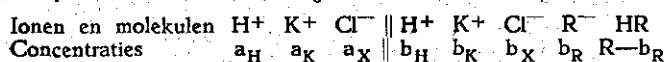
Afstanden van het worteleind	F (%)	b_R (M)
Boonwortels		
eerste 5 mm	14	0.006
derde cm	15	0.04
Maiswortels		
eerste cm	16	0.009
derde cm	17	0.02
vijfde cm	15	0.03

Het belang ligt hierin, dat het toenemen van de in de weefsels aanwezige elektrische ladingen zou kunnen verklaren, waarom zouten gemakkelijker opgenomen worden aan de worteleinden. Daarom is het uiterst gewenst om deze resultaten te bevestigen voor dezelfde en andere plantensoorten. Daarbij zouden de berekeningen ook moeten worden uitgevoerd voor enigszins meer gecompliceerde modellen, die hieronder besproken zullen worden en die meer representatief zijn voor de structuur van plantenweefsels.

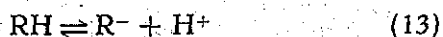
Ofschoon we voor biologische objecten geen exacte overeenkomst met een fysisch-chemische theorie kunnen verwachten, mogen we toch niet met het model type van Diagram IV volstaan. Dit kan niet op grond van belangrijke principiële redenen. Immers, het is geheel onwaarschijnlijk dat men in de plantenwereld volledig geïoniseerde zuren zal aantreffen. We hebben veeleer met zwak ionogene groepen te maken.

Daarom zullen we nu eerst veronderstellen, dat een membraansysteem, zoals in Diagram V is aangegeven, meer-equivalent is met de werkelijkheid. ²²⁾

Diagram V.



In het membraansysteem is aanwezig één zuivere, niet diffunderende component met een zwakke acidoid groep



met ionisatieconstante K. Noch RH, noch R⁻ kunnen door het membraan diffunderen.

Met behulp van $\kappa = K^{-1}$ vindt men gemakkelijk voor de concentraties van de anionen R⁻ en de niet geïoniseerde molekulen RH, als de totale concentratie van de niet diffunderende component R is,

$$[RH] = \frac{\kappa[H^+]}{1 + \kappa[H^+]} R \quad (14)$$

$$[R^-] = b_R = \frac{1}{1 + \kappa[H^+]} R \quad (15)$$

waarin $[H^+] = b_H$

Men zou kunnen denken, dat de wiskundige complicaties aanzienlijk groter moeten worden. Dit is zo, als men v als de onbekende moet beschouwen, want dan zal men te maken hebben met een cubische in plaats van met een kwadratische vergelijking. Wanneer echter v experimenteel bekend is en het doel is de interne concentraties te vinden, dan verandert er betrekkelijk weinig in de hierboven geschetste gang van zaken.

De vergelijking (12) voor de elektroneutraliteit blijft formeel ongewijzigd, alleen is b_R nu niet meer constant. Voor b_R dient de van de H⁺-ionen concentratie afhankelijke uitdrukking (15) gesubstitueerd te worden, waarbij in acht genomen moet worden, dat

$$[H^+]_{\text{intern}} = b_H = \frac{a_H}{v}$$

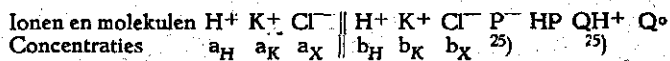
Het is echter niet nodig om deze gedachtengang verder uit te werken. Immers een systeem met één zuivere niet-diffunderende component is nog steeds niet een principiële goed aanvaardbaar model ter verklaring van het gedrag van wortelpotentialen. Want tenslotte bevatten wortelcellen een uiterst complex mengsel van niet-diffunderende stoffen, die ionogene groepen van verschillende aard dragen, en wel niet alleen acidoid- maar ook basoidgroepen.

Hierdoor wordt het voorkomen van een isoionisch punt mogelijk voor het niet-diffunderende materiaal.

Om een theoretisch ideaal systeem te hebben kunnen we het volgende veronderstellen ²³⁾. In het gecompliceerde mengsel zijn alle waarden voor titratieconstanten vertegenwoordigd en alle soorten ionogene groepen zijn in gelijke concentraties aanwezig ²⁴⁾.

Zoals elders is uitgewerkt kan men op een dergelijke manier een interne oplossing samenstellen met een constante buffercapaciteit. Het type membraansysteem met een niet-diffunderend ideaal buffermengsel is schematisch aangegeven in Diagram VI.

Diagram VI.



In zo'n ideale bufferoplossing is over een bepaald pH-bereik de bufferwerking constant. De pH van de oplossing zal met telkens gelijke bedragen veranderen als telkens gelijke hoeveelheden loog worden toegevoegd en dus de concentratie b_R = P⁻-QH⁺ met overeenkomstige hoeveelheden groter wordt. Dit betekent in het kort, dat een „ideaal” buffermengsel gekenmerkt is door een lineaire afhankelijkheid tussen b_R en p_H

$$b_R = L(p_H - \alpha) \quad \text{waar } p_H = p_H(\text{intern}) \quad (16)$$

Hier is L de constante buffercapaciteit en α de pH van het isoionische punt. Als nl. p_H = α , dan gaat b_R de netto elektrische dichtheid door nul, d.w.z. de concentratie van niet-diffunderende kationen is dan even groot als de concentratie van niet-diffunderende anionen.

Met p_H = p_H (extern) gaat (16) over in

$$b_R = L(p_H - \alpha + 0.43 z) \quad (17)$$

immers, wegens (1a) heeft men

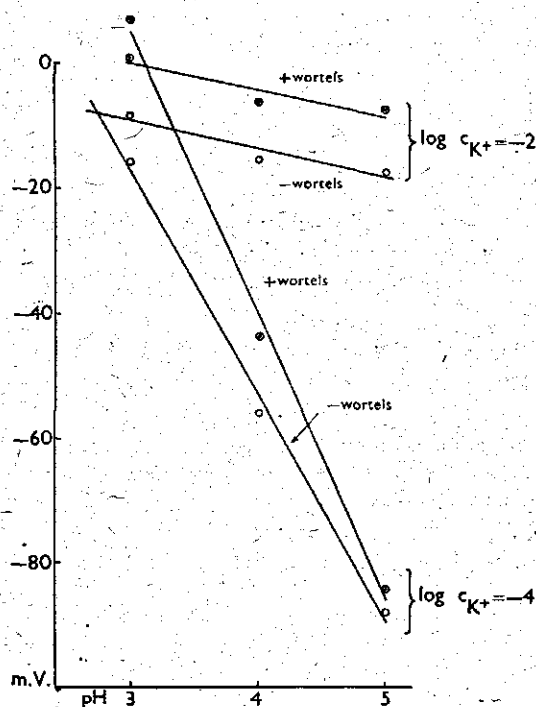
$$p_H(\text{intern}) = p_H(\text{extern}) + \log v = p_H(\text{extern}) + 0.43 z$$

We krijgen tenslotte door substitutie in de nog steeds geldige vergelijking (10) voor de elektroneutraliteit

$$\frac{b_R}{a_K + a_H} = \frac{L(p_H - \alpha + 0.43 z)}{a_K + a_H} = -2 \sinh z \quad (18)$$

Het membraansysteem van diagram VI mag als een redelijk analogon van het wortelmateriaal beschouwd worden, omdat het een isoionisch punt kan hebben. Verder is het systeem VI een uiterst gecompliceerd mengsel, waarin geen enkele component overheerst. Voor de theoretische behandeling is het mengsel geïdealiseerd door aan te nemen, dat de buffercapaciteit L constant is. Om de aard van dit soort mengsel beter te begrijpen kan men ook even teruggaan naar een bufferoplossing van één enkele component. Dit geeft de beste bufferwerking bij die pH, die numeriek gelijk is aan $-\log K = \log \kappa$. In het ideale mengsel is dan voor iedere pH zo te zeggen een component aanwezig, die bij die pH juist de beste bufferwerking heeft. Als nu tegelijkertijd de concentraties van al deze componenten uniform gekozen worden, dan heeft men L = constant. Dit is in woorden, wat in publicatie VII mathematisch is uitgewerkt. In het algemeen zal een buffermengsel niet volmaakt aan deze laatste voorwaarde voldoen. Dan kan men een dergelijk mengsel beschrijven door aan te geven, hoe L in werkelijkheid verandert met pH ²⁶⁾.

Laten we de implicaties van (18) nog even scherper bekijken. Uit deze betrekking volgt, dat voor p_H = α , z = 0 wordt, en dus ook E - E_o = 0, terwijl tegelijkertijd ook nu b_R = 0. Bij het isoionische punt verdwijnt het elektrische effect en wordt de membraanpotential nul.



Voor $p_H > \alpha$ zal $z < 0$, $v < 1$, en $b_R > 0$,
een excès van anionen over kationen.

Voor $p_H < \alpha$ zal $z > 0$, $v > 1$, en $b_R < 0$.

d.w.z. een excès van kationen over anionen.

Als men eenmaal zowel α als E_0 weet, dan kan men voor elke waarneming de bijbehorende buffercapaciteit berekenen

$$L = \frac{2(a_K + a_H) \sinh z}{p_H - \alpha + 0,43 z} \frac{A(z)}{B(z)} \quad (19)$$

De vraag is nu, hoe vinden we voor een bepaalde kiemplant een plausibele ligging van α en E_0 . Zoals gezegd is het mogelijk om uit de potentiaalmetingen met KCl-oplossingen de ligging van E_0 af te leiden. In de meer geconcentreerde KCl-oplossingen verliest het effect van de ladingsdichtheid van het niet-diffunderende materiaal snel zijn invloed en nadert de EMK van de hele cel tot een constante waarde, die men als de E_0 -waarde mag beschouwen. Het blijkt echter, dat het betrouwbaarheids-interval verre van klein is.

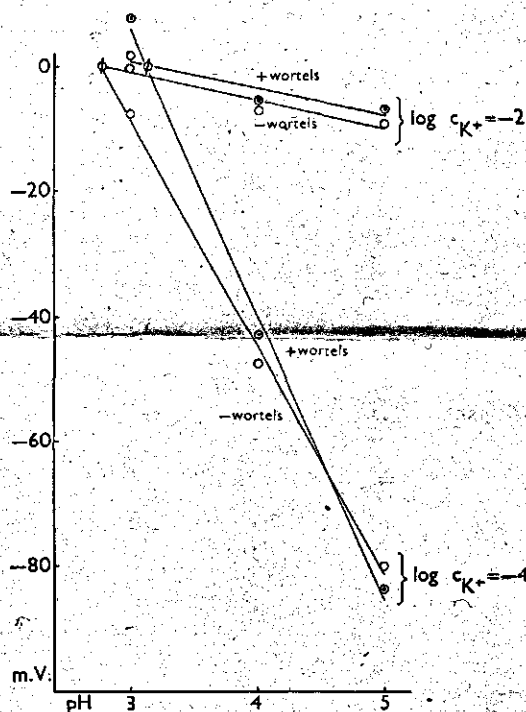
Door het gedrag van de wortelpotentialen in KCl-HCl-oplossingen te bestuderen, verkrijgt men, dat de ladingsdichtheid b_R effectief *nul* wordt in oplossingen met $p_H = \alpha$. Bij deze zuurgraad verdwijnt de effectieve bijdrage van de membraanpotentiaal tot de totale EMK en zal de KCl-concentratie (evenals ook de HCl-concentratie) binnen en buiten even groot zijn, onverschillig ²⁷⁾ hoe hoog ook de KCl-concentratie in de buitenoplossing gekozen is.

Deze overweging opent de mogelijkheid, zoals *Vervelde* ²⁸⁾ heeft aangegeven, tot het direct experimenteel bepalen van het isoionische punt van α en dan ook de E_0 voor de hele cel met de kiemplant, zonder dat het nodig is de KCl-concentratie tot een schadelijke hoogte op te voeren.

Immers, laten we eens een serie oplossingen nemen, alle met dezelfde KCl-concentratie, maar met telkens toenemende HCl-concentraties. Als we de vaste KCl-concentratie laag kiezen, dan zal het effect van de ladingsdichtheid b_R duidelijk merkbaar zijn. Daar verder b_R met de p_H moet veranderen, zal de curve

E vs. p_H een stijl verloop kunnen hebben. In oplossingen met een constante meer geconcentreerde KCl-concentratie zal b_R op dezelfde manier met p_H veranderen, maar het effect op E zal geringer moeten zijn. De curve E vs. p_H zal veel vlakker verlopen. Daar waar de twee curves elkaar snijden, als zij dit doen, zal het isoionische punt moeten liggen. Voor $p_H = \alpha$, zal $b_R = 0$ zijn en dus $E - E_0 = 0$, onafhankelijk van de KCl-concentratie. Tegelijkertijd wordt $v = 1$ en verdwijnen de concentratie-effecten voor alle diffunderende ionen.

Deze voorspelling kon experimenteel bevestigd worden ²⁹⁾. De resultaten zijn weergegeven in fig. 4 en fig. 5. Eén serie metingen werd gedaan met kiemplanten, die in een voedingsoplossing gekweekt waren, aangeduid als +wortels, een tweede serie met kiemplanten, die in gedestilleerd water gegroeid waren, aangeduid als -wortels. Het bleek, dat de experimentele punten voor ieder stel en iedere KCl-concentratie niet significant van de beste rechte lijn afweken. In de terminologie van de variantie-analyse heet dit, dat alleen de lineaire componenten van de respectievelijke regressie-vergelijkingen significant waren.



Verder werd met variantie-analyse getoetst, dat het gedrag van de +wortels en -wortels significant verschillend is. De potentialen van fig. 4 zijn de experimentele waarden. De potentialen van fig. 5 zijn gerekend vanaf de geschatte E_0 -potentiaal voor de +wortels, resp. de E_0 voor de -wortels. De coördinaten van de snijpunten van de beide regressievergelijkingen voor de +wortels en van die voor de -wortels geven de beste schattingen voor α en E_0 . Voor de ligging van de snijpunten werd gevonden

$$\begin{aligned} \text{voor de +wortels } (\alpha; E_0) &= (+3.1; -0.7) \\ \text{" " - " " } (\alpha; E_0) &= (+2.8; -8.2) \end{aligned}$$

Voor een reël verschillende ligging van de beide α 's was echter geen duidelijke aanwijzing.

De bij ieder experimenteel punt behorende L-waarden, berekend met vergelijking (19), zijn gegeven in tabel III.

Tabel III.
Schattingen voor de Effectieve Buffercapaciteit L.
A. Wortels van kiemplanten gekweekt in
een voedingsoplossing.

$\log c_K^+$	$\log c_H^+$	$E-E_0$ in mV	A(z)	B(z) x 10 ³	L x 10 ³
-4	-5	-83.5	+0.39	+3.10	8.0
-4	-4	-43.1	+0.11	+1.08	9.8
-4	-3	+7.5	-0.01	-0.67	(67.0)
-2	-5	-7.0	+1.74	+5.69	3.3
-2	-4	-5.6	+0.76	+4.57	6.0
-2	-3	+1.5	-0.12	-1.14	(9.5)

B. Wortels van kiemplanten gegroeid in
gedestilleerd water.

$\log c_K^+$	$\log c_H^+$	$E-E_0$ in mV	A(z)	B(z) x 10 ³	L x 10 ³
-4	-5	-79.8	+0.83	+2.67	3.2
-4	-4	-47.8	+0.39	+1.32	3.4
-4	-3	-7.6	+0.09	+0.68	(7.5)
-2	-5	-9.3	+2.06	+7.63	3.7
-2	-4	-7.3	+1.09	+6.02	5.5
-2	-3	-0.3	+0.21	+0.26	(1.2)

De tussen haakjes geplaatste waarden zijn niet betrouwbaar, omdat de pH voor deze punten te dicht bij α ligt, waardoor zowel A(z) als B(z) dan klein worden en aan precisie inboeten.

Terwijl α en E_0 , op deze directe manier bepaald, een redelijke betrouwbaarheid hebben, mag men uit de waarden van L slechts tot een waarschijnlijke orde van grootte concluderen. Wel kan men zeggen, dat de orde van grootte van L overeenkomst vertoont met de schatting voor $b_R = L(p_H - \alpha)$ verkregen door Hope. Men bedenke, dat de factor $(p_H - \alpha)$ ten hoogste enkele eenheden groot kan zijn.

Een gelijke orde van grootte is alles wat men mag verwachten, daar de waarden voor b_R in tabel II verkregen werden uit berekeningen voor het wiskundig eenvoudigste model; waarbij dus aangenomen werd, dat $b_R = \text{constant}$ en $p_H(\text{intern}) = p_H(\text{extern})$. Dit komt hierop neer, dat de invloed op b_R van de pH, veranderlijk of niet, verwaarloosd wordt. De door Hope verkregen schattingen zullen wat de orde van grootte betreft wel juist zijn. Want ook al is de pH en dan ook b_R wel veranderlijk, de veranderlijkheid van b_R zal gewoonlijk tamelijk beperkt blijven, daar de veranderlijkheid van $p_H(\text{intern})$ redelijke grenzen niet mag overschrijden, wil men dat de plant niet nadelig beïnvloed wordt. Mocht b_R ook veranderlijk blijken met de KCl-concentratie, dan wordt het veel moeilijker een theoretisch inzicht te krijgen. Deze invloed zal binnen nauwe grenzen dienen te blijven. Al met al zal b_R wel veranderlijk zijn, in ieder geval met de pH, ook al blijft de veranderlijkheid numeriek binnen een beperkt gebied. Verdere onderzoekingen over de interne buffercapaciteit en de hiermee in verband staande ladingsdichtheid blijven gewenst.

E_0 blijkt individueel te zijn voor iedere plant, zoals die gemonteerd is. Daarentegen moet α eerder als specifiek voor de plantensoort beschouwd worden.

Met Lucerne klaver zijn ook vergelijkende metingen uitgevoerd in KCl-HCl- en NaCl-HCl-oplossingen.

- ¹⁾ Dorsman, C., Philips Tech. Tijdschr. 7, 24 (1942).
- ²⁾ MacGillavry, D. en Tendeloo, H. J. C., Proc. Koninkl. Ned. Akad. Wetenschap. 57, 513 (1954).
- ³⁾ Terwille van de numerieke berekeningen, nodig voor de variantie-analyse, waarbij het werken met kleine getallen veel tijd en moeite uitspaart, werden de afgelezen potentiaalwaarden verminderd met een constant bedrag.
- ⁴⁾ Zelfs indien bijv. HCl wordt toegevoegd aan de KCl-oplos-

Alle oplossingen bevatten $5 \times 10^{-5} N$ HCl. De resultaten zijn weergegeven in Tabel IV.

Tabel IV.
Potentiaal gemiddelden voor Lucerne klaver.

Serie I.				
Molariteit	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}
CNaI	-15.5	-14.8	+4.2	+35.8
KCl	-41.3	-34.4	+3.5	+40.0
Serie II				
Molariteit	10^{-4}	5×10^{-4}	2×10^{-3}	10^{-2}
KCl	-29	-10.5	+9.5	+35.5
NaCl	-21	-12.5	+2.0	+26.5

De metingen van Serie I werden eerst gedaan in NaCl en daarna in KCl. Met Serie II werd de volgorde omgekeerd. Steeds werd gevonden, dat het verloop met de concentratie voor NaCl minder is dan voor KCl. Met behulp van variantie-analyse kon worden aangetoond, dat het verschil in gedrag inderdaad significant is.

Het is wel bekend, dat in fysiologisch opzicht K^+ en Na^+ veel verschillen. Als de hierboven geschetste zienswijze juist is, dat het gedrag van de wortelpotentialen fysisch-chemisch begrepen kan worden, dan dient het verschil in gedrag van de K^+ - en Na^+ -ionen een fysisch-chemische reden te hebben. Butler³⁰⁾ opperde in dit verband het verschil in grootte van de gehydrateerde ionen.

Voor de interpretatie van deze onderzoekingen is de variantie-analyse een doeltreffend hulpmiddel gebleken. Behalve op de voornaamste vragen, is ook op verschillende detailvragen uitsluitel verkregen. Hierop zal niet nader worden ingegaan, daar het de bedoeling was de grote lijnen te schetsen.

Hiermee wensen wij onze erkentelijkheid te betuigen aan Ir. A. E. Mans, wiens ervaringen in de toegepaste fysische chemie zeer nuttig bevonden werden, en aan Prof. Dr. E. C. Wassink en Dr. J. A. J. Stolwijk, die behulpzaam waren bij het speuren in de botanische en fysiologische literatuur.

Samenvatting. Om het gedrag van aan kiemplanten gemeten elektrische potentialen te verklaren werd de theorie van Donnan membraan-evenwichten uitgewerkt voor membraan-systemen, die men als representatief mag beschouwen voor de buitenste wortelcellen. Om deze theorie te kunnen toepassen dient men aan te nemen, dat een zekere volumem fractie van de wortels van jonge planten vrij toegankelijk is voor het binnendringen van electrolyten. Dit binnendringen gaat dan samen met een uitwisseling van H^+ en eventueel andere ionen, die in het inwendige van de toegankelijke cellen aanwezig zijn.

Het aantrekkelijke van deze zienswijze, als een eerste eenvoudigste theorie, ligt hierin, dat het hele evenwicht in bijv. KCl-HCl oplossingen beschreven kan worden met behulp van één parameter, de verhouding van de interne ladingsdichtheid en de som van de concentraties van de K^+ - en H^+ -ionen. De interne ladingsdichtheid zal van de interne pH afhangen. Deze afhankelijkheid is besproken. Schattingen werden verkregen voor de ligging van een effectief isoionisch punt en voor de effectieve buffercapaciteit.

singen in C en de diffusiepotentialen aanmerkelijke waarden zouden kunnen aannemen, dan zullen nog steeds de beide diffusiepotentialen elkaar tegenwerken. Ofschoon men niet mag stellen, dat de diffusiepotentialen additief uit de logaritmen van de activiteiten berekend kunnen worden, toch zullen uiteindelijk de verschillen ten gevolge van de werkelijke contributies minem blijven. Men zie hieromtrent: Plettig, V., Ann. Phys. (5), 5, 735 (1930); Planck, M., Sitz.-Ber. Akad. Wiss. 1931, 113.

- 5) Gibbs, J. W., Collected Works, Vol. I, p. 83.
- 6) Donnan, F. G., Z. Elektrochem. 17, 572 (1911).
- 7) Donnan, F. G. en Allmand, A. J., J. Chem. Soc. 105, 1941 (1914).
- 8) Donnan, F. G. en Guggenheim, E. A., Z. physik. Chem. 162, 346 (1932).
- 9) Wiebenga, E. H., Tweede Symposium over sterke elektrolyten en over de elektrische dubbellaag. Ned. Chem. Ver., Utrecht, 1944, p. 90.
- 10) Loeb, J., "Proteins and the Theory of Colloidal Behavior" McGraw-Hill Book Co., New York, 1922, Hoofdstuk VIII.
- 11) In de volgende uiteenzettingen zal de gedachtengang gevolgd worden, die ontwikkeld is in een serie publicaties onder de algemene titel „Electrochemical Behaviour of Ion-Exchanging Substances”:
 Tendeloo, H. J. C., Vervelde, G. J. en Zwart Voorspuy, A. J., Rec. trav. chim. 63, 97 (1944) I; 65, 539 (1946) II; Versl. Ned. Akad. Wetenschap. 53, 169 (1944) III;
 Molen, W. H. van der en Tendeloo, H. J. C., Proc. Koninkl. Ned. Akad. Wetenschap. 50, 763 (1947) IV;
 Vervelde, G. J., Proc. Koninkl. Ned. Akad. Wetenschap. 51, 308 (1948) V;
 Vervelde, G. J. en Tendeloo, H. J. C., Rec. trav. chim. 72, 62 (1953) VI;
 MacGillavry, D. en Tendeloo, H. J. C., Rec. trav. chim. 73, 15 (1954) VII;
 Tendeloo, H. J. C. en MacGillavry, D., Proc. Koninkl. Ned. Akad. Wetenschap. 57, 509 (1954) VIII;
 MacGillavry, D. en Tendeloo, H. J. C., Proc. Koninkl. Ned. Akad. Wetenschap. 57, 513 (1954) IX;
 MacGillavry, D. en Tendeloo, H. J. C., Bull. Central Electrochem. Res. Institute, Karaikudi, India, 2, 46 (1955) X;
 MacGillavry, D., Proc. Koninkl. Ned. Akad. Wetenschap. 59, 73 (1956) XI;
 MacGillavry, D. en Tendeloo, H. J. C., Proc. Koninkl. Ned. Akad. Wetenschap. 59, 343 (1956) XII.
- 12) Zie 11) I.
- 13) Zie 11) V.
- 14) Zie 11) I.
- 15) Zie 11) IX.
- 16) Vervelde, G. J., „Zoutophoping door Plantenwortels”. Dissertatie, Wageningen 1952.
- 17) Hope, A. B. en Stevens, P. G., Australian J. Sci. Research B 5, 335 (1952).
- 18) Robertson, R. N., Australian J. Exptl. Biol. Med. Sci. 19, 265 (1941); 22, 237 (1944). Robertson, R. N., Turner, J. S. en Wilkins, M. J., Australian J. Exptl. Biol. Med. Sci. 25, 1 (1947).
- 19) Hope, A. B., Australian J. Sci. Research B 6, 396 (1953).
- 20) Zie 19).
- 21) Butler, G. W., Physiologia Plantarum 6, 617 (1953).
- 22) Zie 11) II, III en IV.
- 23) Zie 11) V, VI, VII en XII.
- 24) Mocht een bepaalde component wel in grotere concentratie aanwezig zijn, dan gaan we in de richting van een zuivere stof. Wat betreft de betekenis van titratie-constanten en het gebruik ervan in plaats van ionisatie-constanten, raadplege men Simms, H. S., J. Am. Chem. Soc. 48, 1239 (1926); Muralt, A. L. van, J. Am. Chem. Soc. 52, 3518 (1930).
- 25) Voor het meest ideale geval kan men stellen, wanneer symbolen voor soorten tevens de concentraties voorstellen
- $$P^- = L_P (p_H - p) \quad QH^+ = L_Q (q - p_H)$$
- $$\therefore b_R = P^- - QH^+ = (L_P + L_Q)p_H - (L_P p + L_Q q) =$$
- $$= L p_H - L \alpha = L (p_H - \alpha).$$
- 26) Men zou voor een nagenoeg constante buffercapaciteit kunnen schrijven $L = L^* + \lambda p_H$. Als λ numeriek niet groot is, zal de term λp_H relatief weinig kunnen veranderen, daar p_H intern, in de vrije diffusie-ruimte, zeker minder variabel is dan extern. Dit kan men uit de formules afleiden of, zo men wil, met enkele numerieke voorbeelden controleren. Men zal vinden, dat p_H intern steeds dichter bij α ligt dan de gekozen p_H extern.
- 27) Gemakshalve is aangenomen, dat het effectieve isoionische punt α een constante is. Het is echter mogelijk, dat α enigszins verschuift met de KCl-concentratie. Men raadplege hieromtrent Tendeloo, H. J. C., „Lading en Hydratatie” (H. J. Paris, Amsterdam 1926); Kruyt, H. R. en Tendeloo, H. J. C., Verslag Kon. Akad. Wetenschap. Amsterdam 34, 408 (1925); J. Phys. Chem. 29, 1303 (1925).
- 28) Zie 16).
- 29) Zie 11) XII.
- 30) Butler, G. W., Physiologia Plantarum 6, 617 (1953).