(Physiologisches Laboratorium in Groningen.)

Zur Darstellung des dialysirten Eiweisses.

Von

D. Huizinga.

Hierzu ein Holzschnitt.

Seit den wichtigen Entdeckungen Graham's hat sich die Dialyse allmählig einen ehrenvollen Platz erworben unter den Hilfsmitteln chemischer Forschung. Und auch in grösserm Massstabe machte Dubrunfaut von derselben eine glückliche Anwendung in seinem bekannten Apparate zur Zuckerfabrikation. Die Anwendung der Dialyse in den Laboratorien ist aber in vielen Fällen mit Uebelständen behaftet, welche ihren Grund haben in der relativen Langsamkeit, womit die dialytische Trennung vor sich geht, ein Uebelstand, der zumal bei leicht zersetzbaren Flüssigkeiten schwer ins Gewicht fällt.

Bei einer Wiederholung der interessanten Versuche von Aronstein und Alex. Schmidt über Eiweissdialyse habe ich einen Apparat verwendet, der wie mir scheint nicht unbedeutende Vorzüge vor den bisher gebräuchlichen besitzt, worüber ich mir im Folgenden einige Mittheilungen erlaube.

Schon Graham und nach ihm viele andere Forscher haben darauf hingewiesen, dass die zu dialysirende Flüssigkeit in dünner Schicht über eine möglichst grosse Oberfläche vertheilt werden soll. Zu diesem Zwecke sind verschiedene Einrichtungen vorgeschlagen. Die gebräuchlichsten sind wohl die bekannten Graham'schen Dialysatoren, in einander schliessende Reife aus Guttapercha worüber Pergamentpapier ausgespannt wird. Heynsius hat später den Guttaperchareif durch einen Rahmen aus Glas ersetzt. Wieder andere Untersucher, u. A. Keferstein, haben einfach Faltenfilter aus Pergamentpapier verwendet, welche in einen Glastrichter eingesetzt wurden. Alle diese Vorrichtungen leiden aber an Uebelständen.

Einestheils indem die dialysirende Flüssigkeit nur an einer Seite mit dem Pergamentpapiere in Contact ist. Die Dialyse findet also nur nach einer Seite hin statt. Offenbar würde es ein grosser Vorthail sein, die Flüssigkeit in dünner Schicht zwischen zwei Papierblättern einzuschliessen, so dass ein dialytischer Strom nach beiden Seiten hin gehen könnte. — Zweitens steht bei den gewöhnlichen Dialysatoren die Trennungswand aus Pergamentpapier mehr oder weniger horizontal, sodass wenn im Verlauf der Dialyse ein Niederschlag sich ausscheidet, die Möglichkeit vorliegt, dass derselbe hinabsinkend sich auf das Papier absetzt und so die Dialyse erschwert.

Erklärung dieser Figur
s. Seite 402.

Von diesen Gesichtspunkten ausgehend suchte ich mir einen nach zwei Seiten hin wirkenden vertical stehenden Dialysator zu construiren, wobei ich nach einigen weniger gelungenen Versuchen schliesslich zu folgender einfacher Vorrichtung gekommen bin.

Man fertigt sich länglich-viereckige Rahmen aus Hartgummi, welche durch Aussägen aus Platten dieser Substanz leicht in jeder Grösse und Form erhalten werden. Die Dicke meiner Hartgummiplatten betrug ungefähr 5 Millimeter. Man trage aber Sorge, die Ränder des Rahmens, welche die Seiten des Vierecks bilden, nicht all zu schmal zu machen. Dieselben sollen wenigstens 1 Centimeter breit sein, da sie, wie sich aus dem Folgenden ergeben wird, einen ziemlich grossen Widerstand zu leisten haben.

Diese Rahmen haben den Zweck, den eigentlichen Dialysator ausgespannt zu halten und zu stützen. Zur Anfertigung des Dialysators hat sich mir folgendes Verfahren als das beste bewährt.

Man schneidet sich zwei Blättchen Pergamentpapier, etwas kleiner als den äussern Umfang des Rahmens und legt dieselben in Wasser bis sie gut durchfeuchtet sind. Sie vergrössern dabei ihre Dimensionen nicht unbeträchtlich und müssen daher etwas kleiner genommen werden als der Rahmen selbst. Im feuchten Zustand bedecken sie dann den Rahmen ziemlich vollständig.

Es versteht sich von selbst, dass die längere Seite der Blättchen einige Centimeter kürzer sein muss als die längere Seite des Rahmens, denn der obere Theil des Rahmens soll von den Papierblättchen unbedeckt bleiben, damit durch diesen Raum die Flüssigkeiten eingefüllt werden können.

Wenn die Hartgummiplatten, woraus die Rahmen ausgesägt worden sind, polirt sind, wie dies meistens der Fall ist, so muss die glatte Fläche mit Sand oder Schmirgel raugeschliffen werden, damit der sogleich zu beschreibende Leim besser haften. Auch müssen die scharfen Kanten und Ecken des Rahmens abgerundet werden.

Die feuchten oberflächlich abgetrockneten Papierblätter werden nun auf die beiden Seiten des Rahmens aufgeklebt. Als Bindemittel dient der bekannte Chromatleim, wie derselbe in der Photographie seit einigen Jahren verwendet wird, und der die Eigenschaft hat, durch Einwirkung des Lichtes unlöslich zu werden. Wie dieser Leim schon in der Industrie vielfache Verwendung findet (z. B. zur Fabrication künstlicher Wurstdärme u. s. w.), so ist derselbe auch in den Laboratorien vielseitiger Anwendungen fähig. Zur Bereitung des Leimes löste ich 10 Gramm Gelatine in 50 Gramm Wasser und 0,5 Gramm Kalium (bichromat.) in 10 Gramm Wasser. Beide Lösungen werden vermischt und der Leim ist fertig. Derselbe muss im Dunkeln aufbewahrt werden. Doch ist es rathlich, nicht zu grosse Quantitäten auf einmal zu bereiten, da man die Mischung nur zwei oder dreimal gut verwenden kann. Durch wiederholtes Erwärmen nämlich wird der Chromatleim mit der Zeit klumpig und bröcklich, löst sich bei der Erwärmung nicht mehr vollkommen und lässt sich nicht mehr glatt aufstreichen.

Mit diesem Leim werden nun die Papierblättchen auf beiden Seiten des Rahmens aufgeklebt und dann an drei Seiten des Rahmens noch feuchte Pergamentpapierstreifen umgeklebt, so dass der Raum zwischen den beiden Papierblättchen einen an drei Seiten geschlossenen nach oben offenen Behälter bildet.

Der also angefertigte Dialysator wird nun einige Stunden dem diffusen Tageslichte exponirt, damit der Leim unlöslich wird. Es ist besser hierzu nicht das directe Sonnenlicht zu verwenden, da, wenn durch die Sonnenwärme die Austrocknung des Pergamentpapiers all zu rasch vor sich geht, das Papier sich so stark zusammenzieht, dass leicht Risse entstehen.

Nach vollendeter Lichteinwirkung wird der Dialysator auf

seine Wasserdichtigkeit geprüft, indem man denselben mit Wasser anfüllt und beobachtet, ob auch irgendwo ein Tropfen hervorquillt. Ist dies der Fall, so wird die undichte Stelle mit Pergamentpapier und Chromatleim geflickt.

Bevor man nun zur Dialyse schreiten kann, muss erst das überschüssige Chromat ausgezogen werden. Dazu kommt der Dialysator in eine grössere Menge destillirten Wassers, das im Verlaufe von 24 Stunden 2 oder 3 Mal erneuert wird. Nach Ablauf dieser Zeit werden keine nachweisbare Mengen Chromat mehr an das Wasser abgegeben. Dann ist der Dialysator zum Gebrauch fertig. Derselbe wird mit der zu dialysirenden Flüssigkeit gefüllt und in Wasser aufgehängt.

Ein wesentliches Erforderniss jeder kräftigen Dialyse ist die frequente Erneuerung des Aussenwassers, worauf schon von verschiedenen Seiten öfters hingewiesen ist. Dazu verwendete ich folgende einfache Vorrichtung. Das Glas, worin der Dialysator (resp. 2, 3 oder mehrere) aufgehängt ist, wird durch einen auf den Boden reichenden Heber langsam entleert. Den Zufluss erhält das Gefäss mittelst eines zweiten Hebers, der aus einer grössern mit Wasser gefüllten Flasche kommt. Die Mündung dieser Flasche ist mit einem dreifach durchbohrten Stopfen verschlossen. Durch die eine Bohrung geht die Heberöhre, welche bis auf den Boden der Flasche hinabreicht. Durch die zweite Bohrung geht eine Glasröhre, welche nicht in das Wasser taucht und mit Caoutchoucschlauch und Klemme versehen ist. Dieselbe dient dazu, durch Blasen den Heber in Wirksamkeit zu bringen. Die dritte Bohrung endlich nimmt eine ebenfalls nicht in das Wasser tauchende Glasröhre auf. Von dieser geht ein Schlauch zu einer Glasröhre, welche vertical in das Wasser des Dialysegefässes hinabreicht. Diese Röhre muss wenigstens ein Centimeter weit und am unteren Ende schräg abgeschnitten sein. An ihrem oberen Ende trägt sie eine kugelförmige Erweiterung, welche sich etwas höher befindet, als das höchste Flüssigkeitsniveau in der grossen Flasche.

Das Spiel des Apparats ist leicht verständlich. Der Heber läuft nur, wenn die untere Oeffnung der weiteren Röhre frei ist. Sobald dieselbe durch das steigende Wasser verschlossen wird, saugt der Heber das Wasser eine Strecke weit in der weiten Röhre herauf und bleibt dann stehen. Der Zufluss stockt dann und da der Abfluss aus der anderen Heberöhre ununterbrochen vor sich geht, ist

bald das Niveau so weit gesunken, dass die Oeffnung der weiten Röhre wieder frei wird und der Zufluss wieder beginnt.

Mit dieser Vorrichtung kann man das Dialysewasser fortwährend erneuern und braucht keine abnorme Steigung oder Senkung des Niveau's zu befürchten, so lange nur das grosse Wasserreservoir Vorrath enthält.

Die beschriebenen Dialysatoren haben meines Erachtens die zwei schon anfangs bemerkten Vorzüge, dass die Dialyse nach zwei Seiten hin vor sich geht und dass die etwa gebildeten Niederschläge sich nicht auf das Pergamentpapier absetzen. Ausserdem hat man hierbei eine dünne Schicht Flüssigkeit zwischen den zwei Papierblättern eingeschlossen, welche nur eine ganz geringe Verdampfungsoberfläche hat und auch nicht so leicht durch einfallenden Staub und dergleichen verunreinigt werden kann.

Dass meine Dialysatoren kräftig wirken, geht aus Folgendem hervor:

Hühnereiweiss wurde anhaltend mit einer scharfen Scheere zerschnitten, mit dem gleichen Volum Wasser verdünnt und mit Salzsäure neutralisirt. Dann wieder mit der Scheere in der Flüssigkeit herum geschnitten, kräftig geschüttelt und filtrirt.

Die Anfertigung einer leicht filtrirbaren Eiweisslösung ist öfters eine ziemlich missliche Sache. Jedermann, der mit Hühnereiweiss gearbeitet hat, hat wohl Erfahrungen gemacht, wie man oft Eiweisslösungen bekommt, welche selbst mit Hilfe der Bunsen'schen Wasserluftpumpe nur sehr schwer und langsam filtriren und dennoch kein klares Filtrat liefern. Wenn man aber die folgenden Cautelen nicht ausser Acht lässt, so bekommt man jedesmal eine Flüssigkeit, welche mit nur schwacher Wirkung eines Saugfiltrirapparates oder selbst ohne dieselbe ziemlich schnell filtrirt und ein wasserklares Filtrat liefert.

Erstens vermeide man bei dem Herausfliessenlassen des Eiweisses aus der Schale die Chalazen und deren Umgebung mitzunehmen.

Zweitens muss das Zerschneiden recht anhaltend geschehen.

Drittens muss die Neutralisation möglichst genau sein; bei einigermassen saurer Reaction geht die Filtration ausserordentlich schlecht, es scheidet sich eine unfiltrirbare feinkörnige Trübung ab und die Filterporen verstopfen sich nach wenigen Tropfen.

Wenn man aber genau wie oben angegeben verfährt, so bekommt

man eine Lösung, welche unter Beihülfe der Saugwirkung eines Tropfenaspirators leicht 100 Ccm. wasserklares Filtrat in einer Viertelstunde liefert.

Die so vorgerichtete neutrale Eiweisslösung kommt in den Dialysator. Nach 6 bis 10stündiger Wirkung, wobei auf 80 Ccm. Eiweisslösung ein Liter Wasser per Stunde den Dialysator umströmt, ist an einer herausgenommenen Probe die Abschwächung der Coagulirbarkeit durch Wärme schon deutlich zu constatiren. Nach 24 Stunden coagulirt die Eiweisslösung, mit dem vierfachen Volum Wasser verdünnt, nicht mehr durch Kochen oder durch Alkohol. Nach 36 Stunden auch nicht mehr durch Silbernitrat oder durch Sublimat. Nach einer Dialyse von 48 Stunden wird die Flüssigkeit aus dem Dialysator herausgenommen. Dabei fällt es auf, dass das Volum derselben nur ganz unbedeutend zugenommen hat, dass also der Wasserstrom in den Dialysator hinein ein ganz schwacher gewesen ist. Das Eiweiss ist flockig trübe und sehr dünnflüssig, so dass es durch ein feines Filter von aschefreiem schwedischem Papier wie Wasser schnell und ganz klar durchläuft.

Eine Portion der Eiweisslösung wird nun in einem gewogenen Platintiegel auf dem Wasserbade verdampft, das Gewicht des trockenen Rückstandes bestimmt und dann vorsichtig verkohlt. Die Kohle wird wiederholt mit heissem Wasser ausgezogen und dieser Auszug im Platintiegel verdampft. Die Kohle enthält aber keine wägbare Menge löslicher Asche, denn nach dem Verdunsten des Wasserauszuges bleibt der Tiegel ohne Anflug und hat sein Gewicht nicht geändert. Nur eine ganz geringe, eben qualitativ nachweisbare Spur Chlor ist im Rückstande des Wasserauszuges zugegen.

Die mit Wasser extrahirte Kohle wird nun vollkommen weiss gebrannt, was viel leichter geht als das Weissbrennen der Asche des gewöhnlichen Eiweisses. Es bleibt eine geringe Menge unbrennlicher Substanz zurück, als deren Bestandtheile Calcium, Eisen, eine Spur Magnesia und Phosphorsäure nachweisbar sind.

Die nähere quantitative Bestimmung ergab Folgendes:

trockenes Eiweiss.	unlösliche Asche.	Procent.
1. 1,1376	0,0064	0,56
2. 0,6402	0,0023	0,35
3. 0,310	0,0012	0,39
4. 0,7988	0,0029	0,36
5. 0,6399	0,003	0,47
6. 0,8278	0,0031	0,37

In keinem dieser sechs Versuche war eine wägbare Menge löslicher Asche (Wasserextract der Kohle) nachweisbar. Ob die UeberEinstimmung im Aschengehalte in den Versuchen 2, 3, 4 und 6 mehr als eine zufällige ist, wage ich nicht zu entscheiden.

Jedenfalls ist es bemerkenswerth, dass gerade in diesen Versuchen Dialysatoren verwendet wurden aus ganz feinem dünnen Pergamentpapier, wovon ich ein Paar Bogen im Vorrathe des Laboratoriums vorfand. Woher es in früherer Zeit bezogen war, konnte ich nicht ermitteln. Alle meine Versuche aber, mir einen grösseren Vorrath dieses dünnen Papiere zu beschaffen, blieben fruchtlos. Dass es das ursprüngliche Graham'sche Papier gewesen sei, womit auch Aronstein gearbeitet hat, wage ich nicht zu behaupten. Hinsichtlich der Eigenschaften des dialysirten Eiweisses habe ich noch Folgendes zu bemerken.

In Betreff der Nichtcoagulirbarkeit durch Kochen, Alkohol, Metallsalze u. s. w. fand ich die von Alex. Schmidt gemachten Erfahrungen bestätigt. Durch Kochen oder Alkohol bekommt man niemals mehr als eine Opalescenz, welche vollkommen deutlich von der gewöhnlichen flockigen Coagulation zu unterscheiden ist. Es verdient aber hervorgehoben zu werden, dass es mir nicht gelang, selbst nach längerer Dialyse eine Eiweisslösung zu bekommen, welche schon im unverdünnten Zustande durch Silbernitrat oder Sublimat nicht coagulirte. Fügt man diese Salze zu der unverdünnten Eiweisslösung, so bekommt man ein deutliches flockiges Coagulum. Erst wenn die Eiweisslösung auf das fünffache Volum mit Wasser verdünnt ist, bleibt der durch diese Salze bewirkte Niederschlag aus. Dass aber dieses Ausbleiben nicht von der Eiweissarmuth der verdünnten Flüssigkeit herrührt, stellt sich heraus, wenn man zu der mit Silbersalz versetzten und klar gebliebenen Lösung einen Tropfen Salpetersäure zufügt. Augenblicklich entsteht dann ein starker flockiger Niederschlag.

Merkwürdig ist das Verhalten des dialysirten Eiweisses zu Essigsäure. Schmidt fand, dass der Zusatz von sehr verdünnter Essigsäure die verlorene Coagulirbarkeit durch Kochen wieder herstellt, dass aber eine mit mehr Essigsäure versetzte Lösung beim Kochen klar bleibt. Ich kann diese Angabe vollkommen bestätigen; bei näherer Untersuchung dieses Verhaltens stellte sich aber Folgendes heraus.

5 Cc. einer fünffach verdünnten Eiweisslösung mit 1 Cc. Essig-

säure von $\frac{1}{50}$ % versetzt, coagulirt stark beim Kochen; nimmt man aber Essigsäure von $\frac{1}{100}$ %, so bekommt man nur Opalescenz und keinen Niederschlag.

Lässt sich nun dieses Verhalten vielleicht so erklären, dass die Menge Essigsäure im ersten Falle (0,2 Milligramm $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$) ausreichte zur Zersetzung eines etwaigen Albuminats und im zweiten Fall (0,1 Milligramm $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$) nicht dazu genügte?

Wäre diese Erklärung die richtige, so müsste in der zehnfach verdünnten Eiweisslösung die Essigsäure von $\frac{1}{100}$ % ausreichen. Der Versuch aber bestätigte dies nicht. 5 Cc. der zehnfach verdünnten Lösung mit 1 Cc. Essigsäure $\frac{1}{100}$ % coagulirt beim Kochen ebenfalls nicht, während 1 Cc. $\frac{1}{50}$ % wie im vorigen Fall ausreicht.

Wird die Eiweisslösung zwanzigfach verdünnt, so bekommt man dasselbe Resultat. 5 Cc. Eiweiss + 1 Cc. $\frac{1}{50}$ % Essigsäure coagulirt flockig beim Kochen; 5 Cc. + 1 Cc. $\frac{1}{100}$ % opalescirt nur. Erst wenn dieselbe Eiweisslösung vierzigfach verdünnt ist, bekommt man beim Zusatz von 1 Cc. Essigsäure $\frac{1}{100}$ % zu 5 Cc. Eiweiss Niederschlag beim Kochen.

Zwischen der Menge Eiweiss und der Menge Essigsäure, welche das Eiweiss coagulirbar macht, besteht also keine directe Proportionalität und dies weist darauf hin, dass es sich hierbei nicht handelt um eine Bindung einer mit dem Eiweiss verbundenen Base an die Säure.

Wie verhält sich nun das Eiweiss, wenn man die Concentration der zugefügten Essigsäure steigert? Zur Beantwortung dieser Frage diene folgender Versuch.

10fach verdünnte Eiweisslösung.	Zugesetzte Essigsäure.	Ergebniss beim Kochen.
5 Cc.	1 Cc. 0.02 %	flockige Coagulation.
5 Cc.	1 Cc. 0.04 %	unvollkommene Coagulation.
5 Cc.	1 Cc. 0.06 %	Opalescenz.
5 Cc.	1 Cc. 0.08 %	schwache Opalescenz.
5 Cc.	1 Cc. 0.1 %	sehr schwache Opalescenz.
5 Cc.	1 Cc. 0.2 %	eben merkbare Opalescenz.
5 Cc.	1 Cc. 0.25 %	bleibt klar.
5 Cc.	1 Cc. 0.5 %	bleibt klar.

Um also beim Kochen das Eiweiss in Lösung zu erhalten,

muss der Gehalt der Mischung an Essigsäure wenigstens $\frac{1}{24}$ % betragen.

Wenn die zehnfach verdünnte Eiweisslösung durch Kochen opalisirend geworden ist, kann man nachher viel grössere Mengen Essigsäure zusetzen, ohne einen Niederschlag bei erneuertem Kochen zu bekommen. Die durch Kochen opalisirend gewordene Flüssigkeit giebt aber mit Silbernitrat einen flockigen Niederschlag.

Durch grössere Mengen Essigsäure wird das Eiweiss beim Kochen in Lösung gehalten, so dass die Flüssigkeit klar bleibt. Folgende Versuchsreihe wurde angestellt zur quantitativen Untersuchung dieses Verhaltens der Säure.

Um 5 Cc. der zehnfach verdünnten Eiweisslösung beim Kochen klar zu erhalten, ist, wie aus dem vorigen ersichtlich, der Zusatz von 1 Cc. Essigsäure $\frac{1}{4}$ % erforderlich. Darnach würde man voraussetzen, dass, um dieselbe Wirkung auf eine Eiweisslösung von der doppelten Concentration zu erhalten, der Zusatz von 1 Cc. Essigsäure $\frac{1}{2}$ % genügen würde. Dies ist aber nicht der Fall. 5 Cc. der fünffach verdünnten Eiweisslösung erfordern, um klar zu bleiben, beim Kochen den Zusatz von 1 Cc. Essigsäure 1 %.

Steigert man die Concentration der Eiweisslösung noch weiter, so steigt natürlich auch die Menge der zur Lösung erforderlichen Essigsäure, aber nicht im gleichen Verhältniss. Nämlich: Um beim Kochen klar zu bleiben erfordern 5 Cc. einer

4fach verdünnten Eiweisslösung:	1 Cc. Essigsäure	2 %
2fach " "	: 1 Cc. "	20 %
unverdünnten "	: 2 Cc. concentrirte Essigsäure.	

Die zur Lösung erforderliche Menge Säure steigt also in einem Verhältnisse der steigenden Concentration der Eiweisslösung gar nicht entsprechend.

Die unverdünnte Eiweisslösung, so wie sie aus dem Dialysator genommen wurde, enthielt nach mehreren Bestimmungen auf 10 Cc. 0,155 bis 0,350 Gramm Eiweiss also ungefähr $1\frac{1}{2}$ bis $3\frac{1}{2}$ %. Die ursprüngliche Eiweisslösung, welche in den Dialysator kam, hatte einen Gehalt von ungefähr 5 %.

Noch eine interessante Eigenschaft des dialysirten Eiweisses beobachtete ich, nämlich den Geschmack. Dialysirtes Eiweiss von einer Concentration von 2 bis 3 % schmeckt deutlich süss. Der Geschmack tritt hauptsächlich als Nachgeschmack hervor, und ist

nicht unähnlich dem der Süssholzwurzel. Das erhitzte und getrocknete dialysirte Eiweiss ist aber vollständig geschmacklos. Es scheint mir hier eine Analogie vorzuliegen mit dem Verhalten des Wassers. Gewöhnliches Wasser ist geschmacklos, während das reine destillierte Wasser bekanntlich einen unverkennbaren metallischen Geschmack hat. Ebenso ist das gewöhnliche Eiweiss geschmacklos, während das reinere deutlich süss schmeckt. Nähere Versuche werden entscheiden müssen, ob ein schwach süsser Geschmack durch gleichzeitig anwesende Salze so vollkommen maskirt werden kann, dass eine geschmacklose Mischung entsteht.

Aronstein und Schmidt haben bekanntlich aus ihren Versuchsergebnissen den Schluss gezogen, dass unsere bisherigen Anschauungen über die Löslichkeit des Eiweisses einer gründlichen Umänderung bedürfen und dass das Eiweiss nicht, wie man bisher annahm, nur durch Säuren, Basen oder Salze in Lösung erhalten werde, sondern dass die reine Substanz an und für sich ohne Vermittelung eines anderen Körpers in Wasser löslich sei. Heynsius hat dagegen die Eigenschaften des dialysirten Eiweisses in Uebereinstimmung mit der bisherigen Theorie gedeutet und gegen die Anschauungen Schmidt's schwerwiegende Einwendungen gemacht. Da es mir hier hauptsächlich um die Darstellung des dialysirten Eiweisses zu thun war, als Prüfungsmittel meiner Dialysatoren, will ich mich hier an dieser Controverse nicht betheiligen und weise nur darauf hin, dass, so lange es nicht gelingt die Ergebnisse Aronstein's zu bestätigen und das Eiweiss vollkommen aschefrei zu erhalten, sondern im dialysirten Eiweiss immer noch ein nicht unbeträchtlicher Aschegehalt gefunden wird, nichts im Wege steht, diesen Aschebestandtheilen eine Rolle bei der Lösung des Eiweisses zuzuschreiben.

Am Schlusse erlaube ich mir noch auf eine Anwendung der vorher erwähnten Chromatgelatine hinzuweisen, welche vielleicht Beachtung verdient. Dieselbe ist nämlich, wie mich einige vorläufige Versuche lehrten, sehr geeignet zur Aufbewahrung mikroskopischer Präparate und könnte vielleicht in vielen Fällen den Canadabalsam oder den Dammarfirniss mit Vortheil ersetzen. Diese harzigen Aufbewahrungsmittel erfordern nämlich eine möglichst vollständige

Entwässerung und daher eine ziemlich umständliche Vorbereitung der Präparate mit absolutem Alkohol, Nelkenöl und was sonst gebräuchlich ist. Bei einem wässerigen Conservierungsmittel können diese Vorbereitungen natürlich wegfallen.

Hierzu kann man aber den gewöhnlichen Chromatleim nicht verwenden, da derselbe, unter dem Deckgläschen erstarrend und austrocknend, leicht Risse und Sprünge bekommt. Diesem lässt sich aber vorbeugen durch einen Zusatz von Glycerin. Ich verwendete eine Lösung von 10 Gramm Leim auf 100 Cc. Wasser, der 10 Cc. Glycerin und 1 Gramm Kalium bichromat. zugesetzt wurde. Beim Gebrauche stellt man die warme Lösung in Wasser von 35 bis 40 Grad, bei welcher Temperatur sie hinreichend flüssig bleibt. Frische oder erhärtete Gewebstücke werden einfach in einen Tropfen Leim gebettet und mit dem Deckglase bedeckt.

Wenn zur Härtung starker Alkohol verwendet ist, müssen die Schnitte erst etwas mit Wasser ausgewaschen werden. Seit 2 bis 3 Monaten haben sich in dieser Weise aufbewahrte Präparate von verschiedenen Geweben, Muskeln, Drüsen, Bindegewebe sehr befriedigend conservirt mit Erhaltung der feineren Structurverhältnisse. Die Anwendung des Chromatleims scheint mir also auch in dieser Hinsicht des Versuchs nicht unwerth zu sein; vielleicht ist das Verfahren weiterer Ausbildung fähig.

Erklärung der Figur.

- a. Dialysator.
- b. Zuflussröhre.
- c. Abflussröhre.
- d. Steigröhre.
- e. Wasserbehälter.

Die Röhren b, c und d tauchen in das den Dialysator umspülende Wasser, nicht in den Dialysator selbst. Auch die Röhre b muss bis unter das Wasserniveau reichen, damit keine Luft in diese Heberröhre aufsteigt.